

**ТОКСИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ СТАВКОВИКА ОЗЕРНОГО *LYMNAEA STAGNALIS* ЗА ДІЇ НА НЬОГО ЙОНАМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

*Досліджено вплив важких металів (міді, цинку та свинцю) на деякі фізіологічні та гістологічні параметри ставковика озерного *Lymnaea stagnalis*.*

Водяні легеневі моллюски належать до гідробіонтів, які досить поширені у континентальних водоймах України. Ці тварини відіграють важливу роль у кругообігу речовин і енергії у природних та штучних екосистемах, є невід'ємною частиною кормового раціону низки видів бентичних риб, а також водоплавних і болотяних птахів. Разом з тим моллюски є проміжними і додатковими хазяями багатьох видів трематод, марити яких паразитують у представниках різних класів хребетних, викликаючи небезпечні захворювання тварин – трематодози. Останні супроводжуються зниженням продуктивності рибиництва, птахівництва та тваринництва. Життєдіяльність легеневих моллюсків, а також їх зараженість паразитами залежать в значній мірі від рівня забруднення водного середовища. А серед чинників антропогенного впливу на водні екосистеми все більшого значення набуває забруднення їх іонами важких металів.

Отже, актуальність нашого дослідження зумовлена, по-перше, прогресуючим збільшенням валового вмісту важких металів у водоймах, по-друге, недостатнім рівнем висвітлення впливу цих токсикантів на бентичні організми, що суттєво утруднює побудову екологічної системи ГДК та, нарешті, поширеністю обраного нами об'єкту дослідження у внутрішніх водоймах України, що дозволяє до певної міри екстраполювати отримані результати на близькі за способом життя види та прогнозувати вірогідні зміни бентичних біоценозів під впливом досліджених полютантів.

*Аналіз останніх досліджень та публікацій*

У науковій літературі відомості щодо гістологічної картини отруєння ставковика озерного важкими металами відсутня. Поведінкові та швидкі фізіологічні реакції вивчались, як правило, поверхнево, на фоні інших фізіологічних чи біохімічних досліджень.

**Матеріал і методика досліджень**

*Об'єкт дослідження* – 720 екз. ставковика озерного *Lymnaea stagnalis* (Linné, 1758), зібраного в залежності від глибини водойми, пори року та щільності населення популяції, різними загальноприйнятими гідробіоло-

гічними способами [4] в басейні р. Тетерів у період з 1997 по 2002 рр. Токсикологічні досліді поставлено за методикою В. А. Алексеєва [1]. Експозиція – 48 год.

### Результати досліджень

Процес отруєння ставковика, як і інших гідробіонтів [2], носить фазний характер. У його перебігу виділяють п'ять фаз: байдужість, стимуляція, депресія, сублетальна та летальна фази. В результаті досліджень встановлено, що у моллюсків, уміщених у воду з концентрацією 0,1 мг/дм<sup>3</sup> сульфату міді, 1 мг/дм<sup>3</sup> хлориду цинку та нітрату свинцю всі життєві процеси проходять у межах норми. Піддослідні тварини активно пересуваються у пошуках їжі, добре засвоюють її, зі звичайною періодичністю здійснюють акти дефекації та вентиляції легеневої порожнини. При концентрації 1 мг/дм<sup>3</sup> сульфату міді та 10 мг/дм<sup>3</sup> хлориду цинку та нітрату свинцю в середовищі ставковика вже через 10–30 хв від початку досліду переходять у збуджений стан, швидко здійснюючи цілеспрямоване пересування у одному напрямку – вгору по стінках акваріумів, де вони й збираються над урізом води. Це одна з форм захисної поведінки ставковиків, які знаходяться у токсичному середовищі – реакція уникнення. Очевидно, вона полягає у намаганні тварин опинитися за межами небезпечного для них середовища. Але пізніше моллюски, котрим вдалося на деякий час уникнути токсичного середовища, знову повертаються туди ж, після чого повністю втрачають рухову активність. Динаміка патологічного процесу у ставковика відображена у таблиці. З неї видно, що однаковий рівень поведінкових та фізіологічних реакцій викликається, як правило, неоднаковими концентраціями використаних у досліді токсикантів, а саме: більш низькими концентраціями сульфату міді та більш високими (в середньому на порядок) концентраціями хлориду цинку та нітрату свинцю.

Виходячи з отриманих даних, констатуємо, що згідно з діючою в наш час шкалою токсичності отруйних речовин для гідробіонтів [5] сульфат міді для ставковика озерного є сполукою сильно токсичною, а хлорид цинку та нітрат свинцю – помірно токсичними сполуками. На початкових етапах отруєння пристосування до умов токсичного середовища відбувається за рахунок змін у етології тварин. Майже одночасно з ними реєструються і швидкі фізіологічні захисно-приспосувальні реакції. У подальшому починають переважати патологічні зрушення, що в решті решт призводять до летальних наслідків.

При перебуванні піддослідних тварин у концентраціях сульфату міді, нижчих за 0,1 мг/дм<sup>3</sup>, протягом 48 год ніяких морфологічних змін у гістологічній структурі голови, ноги та гепатопанкреаса не відмічено. Ці концентрації токсиканту вимагають довготриваліших дослідів для встанов-

лення повної клінічної картини отруєння молюсків і є неперспективними для подальшого гістологічного дослідження при 48-годинній експозиції.

Таблиця 1. Фази процесу отруєння ставковика за дії різних концентрацій солей важких металів (мг/дм<sup>3</sup>)

Фаза отруєння	Токсикант		
	Сульфат міді	Хлорид цинку	Нітрат свинцю
Байдужість	0–0,1	0–1	0–1
Стимуляція	0,1–1	1–10	1–10
Депресія	1–10	10–100	10–100
Сублетальна	10–100	100–1000	100–1000
Летальна	100 і більше	1000 і більше	1000 і більше

При 1 мг/дм<sup>3</sup> токсиканту у воді вже через 24 год після початку досліду спостерігається набрякання циліндричного миготливого епітелію голови та ноги. Форма його клітин зазнає значних змін – вони стають майже кубічними. При цьому епітеліальний шар починає потроху відставати від базальної мембрани. Однак цей процес носить локальний характер і спостерігається не у всіх особин, а приблизно лише у 30 % ставковиків. За нашими спостереженнями, вплив сульфату міді на епітелій голови та ноги можна поділити на декілька фаз, а вищеописана картина гістологічних зрушень при цьому якраз і відповідає першій з них. При цій же концентрації токсиканту за 48-годинної експозиції у молюсків відбувається злущування та відторгнення епітелію. Цей процес охоплює до 25 % загальної поверхні тіла ставковиків, разом з цим спостерігається руйнування міжклітинного цементу. Такий рівень ушкодження відповідає другій фазі впливу токсиканту на гістологічну картину покривів тіла та вистилки порожнини легень.

При 10 мг/дм<sup>3</sup> сульфату міді у воді чітко фіксуються перша та друга фази перебігу патологічного процесу (12 та 24 год від початку експозиції відповідно), а при 100 мг/дм<sup>3</sup> через 6 год від початку досліду спостерігається наступна (третя) його фаза. На ній патологічний процес заходить іще далі, а злущення епітелію відбувається на ділянках, що становлять від 25 до 50 % загальної поверхні тіла ставковика. Іноді ж спостерігається й інтенсивний цитоліз покривного епітелію. Через 12 год від початку досліду з концентрацією полутанту 100 мг/дм<sup>3</sup> зафіксовано четверту (останню) фазу дегенерації епітелію голови та ноги. Вона відрізняється від попередньої, перш за все, ступенем ушкодження покривів тіла (епітелій злущується на ділянках, що охоплюють понад 50 % поверхні тіла тварин). Крім того, тут досить часто реєструються цитоліз та каріолізис. Йони важких металів, проникаючи у сполучнотканинний та м'язевий шари, викликають деструктивні процеси, котрі призводять в решті решт до руйнування значних ділянок цих тканин.

Витримування ставковиків у розчинах, які містять йони важких металів, супроводжується різким гальмуванням ендogenousного дихання у

гепатопанкреасі, зниженням цитохромоксидазної активності та змінами окисно-відновного потенціалу [7]. Під дією цих токсикантів відбуваються деструктивно-некротичні зміни травної залози ставковика. Найголовнішими з них є деформація клітин і каріопікноз, каріорексис та каріолізіс клітин печінкової паренхіми, деструкція основної речовини сполучної тканини, тощо. Ми виділяємо такі фази гістологічних зрушень гепатопанкреаса, які мають місце у перебігу процесу отруєння цих тварин. На першій з них ( $0,1 \text{ мг/дм}^3$ ; 24–48 год) спостерігаються незначні деструктивні зміни, які полягають, перш за все, у деформації клітин сполучної тканини. Друга фаза ( $1 \text{ мг/дм}^3$ ; 36–48 год) характеризується дегенерацією клітин сполучної тканини та клітин стінок ацинусів, з'являються перші ознаки деструкції клітинних елементів сполучної тканини, котра втрачає при цьому свої цементуючі властивості. Іноді спостерігається плазморексис, який відбувається внаслідок втрати тваринами частини тканинної води. Однак усі вищеописані явища на цій фазі отруєння молюсків зачіпають зазвичай лише незначні за площею ділянки залози. При  $10 \text{ мг/дм}^3$  (36 год після початку дослідження) на третій фазі отруєння ці процеси посилюються, а руйнація охоплює до 40–50 % сполучної тканини гепатопанкреаса. Посилюється також процес руйнування вапнякових та печінкових клітин. Звичайним для цієї фази є й ушкодження сполучнотканинної капсули, що оточує травну залозу. Остання – четверта фаза патологічних змін гепатопанкреаса ( $100 \text{ мг/дм}^3$ ; 6 год від початку експозиції) – супроводжується подальшим поглибленням усіх цих процесів, а обсяг зруйнованих тканин при цьому, як правило, значно перевищує 50 %.

Подібні зрушення відбуваються й у статевій залозі. Зі збільшенням часу експозиції та концентрації токсиканту дегенерації та руйнуванню підпадають сполучна тканина, ацинуси та гермінативні клітини статевої залози ставковиків.

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

Гістологічні зрушення у ставковиків, які мають місце під впливом хлориду цинка та нітрату свинцю, суттєво не відрізняються від таких, що

спостерігаються у відповідних концентраціях сульфату міді. Але патологічні зміни однакового ступеня викликаються за умов однакової екс-позиції, загалом, на порядок більшими концентраціями цинку та свинцю.

Ставокки часто були інвазовані партенітами (редіями) та личинками (церкаріями) ехіностоматидних трематод (родина *Echinostomatidae*), марити яких є паразитами кишківника водоплавних, водно-болотяних та навколводних птахів. Найчастіше ми реєстрували *Echinoparyphium aconiatum* (Dietz). Партеніти (редії різного ступеня зрілості) та личинки (сформовані церкарії) цих трематод локалізуються в гепатопанкреасі моллюсків. При невисокій інтенсивності інвазії їх відмічають в базальній і медіальній частині згаданого органа, а при генеральній інвазії – також і в апікальній його частині.

Рівень патологічних змін за дії інвазії залежить від її інтенсивності. За невисокої ураженості патологічні зміни досить незначні та зазвичай мають локальний характер. Як правило, вони проявляються у деформації клітин, які утворюють стінки ацинусів та значно рідше – у втраті на невеликих ділянках цементуючих властивостей сполучної тканини. Із підвищенням інтенсивності інвазії патологічний процес охоплює все більші ділянки органу, призводячи до значних дегенеративно-некротичних змін у ньому (лізис ядер, руйнування ацинусів та сполучної тканини, що їх оточує).

Дія гельмінтів на тканини гепатопанкреаса полягає, перш за все, у механічному тиску на прилеглі до них ділянки травної залози, по-друге, у активному поїданні редіями клітин гепатопанкреаса. За високої інтенсивності інвазії кровоносні судини та лакуни настільки стискаються паразитами, що у ділянки цієї залози, обслуговувані ними, припиняється або майже припиняється надходження гемолімфи, а з нею – поживних речовин і кисню. Через це у гепатопанкреасі з'являються так звані “блоковані ділянки” [8], у межах яких розвиваються спочатку дегенеративні, а потім і некротичні зміни, що поширюються як на цитоплазму, так і на ядро. Перша з них за достатньо великої інтенсивності інвазії підпадає вакуоляризації, яка, можливо, є наслідком автолізу – звичайного явища у клітинах “блокованих” ділянок гепатопанкреаса. У паренхімних клітинах травної залози спостерігається пікноз ядер, іноді має місце каріорексис і навіть каріолізис. Крім того, за інвазії руйнується сітка ретикулінових волокон та різко скорочується загальна кількість аморфної речовини міжацинарної сполучної тканини [6].

За генеральної інвазії спостерігається руйнування покривів гепатопанкреаса. Починається цей процес із ушкодження сполучнотканинного шару залози, далі він охоплює базальну мембрану, ще пізніше – покривний одношаровий плоский епітелій. “Сорочка” травної залози при цьому проліферується партенітами трематод, що відбувається найвірогідніше за рахунок ферментативної деполімеризації міжклітинної речовини, здійсненої паразитами [3].

За нашими спостереженнями, сукупний вплив важких металів та інвазії на різні органи і тканини ставковика подібний до дії на нього паразитів та має фазовий характер. На першій фазі дегенеративно-некротичні зміни локальні, на другій – охоплюють до 25 % площі органа чи тканини, третя характеризується дегенерацією від 25 до 50 % об'єму органу, четверта – руйнуються більше 50 % тканин органів. Інвазія та важкі метали викликають у ставковика суттєві дегенеративно-некротичні зрушення. Генеральна інвазія при цьому веде до дегенерації сполучної тканини травної залози, а потім її структурних елементів (ацинусів), а важкі метали, крім вказаних вище змін, викликають руйнацію всіх покривів тіла моллюсків.

### Висновки

Наведені вище результати наших досліджень свідчать про те, що патологічний процес, який має місце при отруєнні ставковика озерного важкими металами має чітко виражену фазність. На наш погляд, цю особливість можна використати при застосуванні нашого об'єкта як біоіндикатора рівня забрудненості водойм.

### Перспективи подальших досліджень

У подальших дослідженнях необхідно провести підгострий та хронічний досліди для вивчення динаміки обговорюваних вище показників під впливом важких металів. Це дозволить точніше встановити механізми токсичної дії цих політантів на вторинноводних легеневих моллюсків та достовірніше прогнозувати зміни бентичних біоценозів з плином часу за дії важких металів.

### Література

1. *Алексеев В. А.* Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. Журн. – 1981. – Т. 17, № 3. – С. 92–100.
2. *Веселов Е. А.* Основные фазы действия токсических веществ на организмы // Тез. докл. Всесоюз. научн. конф. по вопросам водной токсикологии. – М.: Наука, 1968. – С. 15–16
3. *Гинецинская Т. А.* Трематоды, их жизненные циклы, биология и эволюция. – Л.: Наука, 1968. – 410 с.
4. *Жадин В. И.* Методы гидробиологического исследования. – М.: Высшая школа, 1960. – 189 С.
5. *Метелев В. В., Канаев А. И., Дзасохова Н. Г.* Водная токсикология. – М.: Колос, 1971. – 247 с.
6. *Стадниченко А. П.* Гистологическое и гистохимическое изучение строения гепатопанкреаса моллюсков рода *Fagotia* (Pulmonata, Melanopsidae), инвазированных партенитами трематод. – Деп. в УкрНИИТИ 08.01.88, № 152-Ук88. – 14 с.
7. *Babu G., Ramesh Rao P.* Effect of copper sulphate on respiration, electron transport, and redox potential in the digestive gland of the snail-host,

*Lymnaea luteola* // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. – 1985. – Vol. 34, №3. – P. 396–402.

8. *James B. L.* The effect of parasitism by larval Digenea on the digestive gland of the intermedial prosobranch *Littorina saxatilis* (Olivi) subsp. *tenebrosa* (Montagu) // Parasitology. – 1965. – Vol.55, №1. – P. 93–115.