

SUNKIŪJŲ METALŲ IR JŲ BINARINIO MIŠINIO POVEIKIO ŽUVŲ
KARDIORESPIRACINEI SISTEMAI ANKSTYVOJOJE ONTOGENEZĖJE TYRIMAIAistė Liekytė¹, Raimondas Leopoldas Idzelis², Nijolė Kazlauskienė³^{1,2}Vilniaus Gedimino technikos universitetas³Gamtos tyrimų centrasEl. paštas: ¹aiste.liekyte@gmail.com; ³kazlauskiene.nijole@gmail.com

Santrauka. Šiame straipsnyje nagrinėjamas sunkiųjų metalų (Ni, Cu) ir jų binarinio mišinio (Ni + Cu) toksinis poveikis vaivorykštinio upėtakio (*Oncorhynchus mykiss*) lervų kardiorespiracinei sistemai, priklausomai nuo veikiamo metalo rūšies, metalų koncentracijos ir ekspozicijos trukmės. Vaivorykštinio upėtakio vienadienės lervos buvo veikiamos Ni (0,1; 0,2 mg/l), Cu (0,25; 0,5 mg/l) ir jų binariniu mišiniu. Ilgalaikio tyrimo metu (30 parų) buvo registruojami lervų fiziologiniai rodikliai – širdies ir kvėpavimo dažniai (krt./min.) po 5, 10 ir 20 parų ekspozicijos. Atlikus eksperimentinius tyrimus, nustatytas sunkiųjų metalų ir jų binarinio mišinio poveikis vaivorykštinio upėtakio lervų širdies ir kvėpavimo dažniams, priklausomai nuo veikiamo metalo rūšies, koncentracijos ir ekspozicijos trukmės. Tyrimo rezultatai rodo, kad atskirų sunkiųjų metalų (Ni, Cu) poveikis lervų kardiorespiracinei sistemai silpnesnis, nei veikiant metalų binariniu mišiniu.

Reikšminiai žodžiai: varis, nikelis, binarinis mišinys, kardiorespiracinė sistema, žuvis, lervos.

Įvadas

Viena iš svarbiausių aplinkosaugos problemų Lietuvoje yra paviršinių vandenų kokybė (Sakalauskiene *et al.* 2002). Lietuvos vandens telkinių pagrindiniai taršos šaltiniai yra komunalinis ūkis ir pramonė (taškinė tarša), žemės ūkis ir sąvartynai (pasklodoji tarša), pavieniai pavojingųjų medžiagų taršos avariniai atvejai (lokalinė tarša). Teršiančios medžiagos, patekusios į vandens telkinius, tampa vienu iš pagrindinių gamtinių vandenų taršos rizikos veiksnių, nes keičia cheminę vandens sudėtį, ardo biologinę pusiausvyrą, sutrikdo savivalos procesus, kurie gali sukelti neprognozuojamus ekologinės sistemos pokyčius (Vosyliene *et al.* 2003).

Sunkieji metalai iš gamtinių šaltinių ir antropogeninės veiklos patenka į vandens sistemas, todėl kelia rimtą grėsmę dėl toksinio poveikio, kaupimosi ir ilgo išlikimo maisto grandinėje (Eisler 1988).

Esant normaliam metabolizmui pagrindiniai metalai turi būti paimti iš vandens ar maisto, tačiau per didelis suvartojamų pagrindinių metalų kiekis gali sukelti toksinį poveikį.

Eksperimentiniais tyrimais nustatyta, kad sunkiųjų metalų kaupimasis žuvyse labiausiai priklauso nuo jų koncentracijos aplinkos vandenyje ir veikimo laikotarpio, nors kai kurie kiti veiksniai, tokie kaip vandens druskingumas, pH, kietumas ir temperatūra, dydis ir amžius, gyvavimo ciklas, žuvų mitybos įpročiai, taip pat turi didelę reikšmę metalų kaupimuisi žuvyse (Canli, Atli 2003).

Gamtiniai vandenys gali būti stipriai užteršti, bet netoksiški ir atvirkščiai – mažai užteršti, tačiau toksiški.

Todėl būtina žinoti ne tik teršiančių medžiagų koncentracijas vandenyje, bet ir jų sukiamus biologinius (toksinius) efektus, kurie gali būti įvertinti tik naudojant biologinių testų kompleksą (Kazlauskienė 2007).

Toksikologiniams tyrimams dažniausiai pasirenkamos žuvis, kadangi jos yra geriausiai ištyrinėti vandens organizmai, be to, daugybė tyrimų rodo, kad žuvis ankstyvuojų vystymosi laikotarpiu yra labai jautrios teršalams (Vosyliene *et al.* 2003; Svecevičius *et al.* 2003; Kazlauskienė *et al.* 2004; Vosyliene *et al.* 2005).

Sunkiųjų metalų tarša gali turėti neigiamą poveikį ekologiškai pusiausvyrai, aplinkos ir vandens organizmų įvairovei. Žuvis yra plačiai naudojamas siekiant įvertinti vandens ekosistemų būklę, nes teršalai kaupiasi maisto grandinėje, todėl pagal jas sprendžiama apie neigiamus padarinius vandens sistemoms (Yousafzai *et al.* 2010).

Dauguma tyrimų rodo, kad lervos, ypač ritimosi metu, yra labiausiai pažeidžiamos įvairios kilmės teršalų. Biologinio poveikio vertinimo testais nustatčius ir įvertinus gamtinių vandenų įvairaus pobūdžio taršos lygį, galima prognozuoti taršos poveikį vandens organizmų populiacijoms ir bendrijoms (Kazlauskienė 2007).

Kaupiantis sunkiesiems metalams, sutrinka žuvų atskiros organizmo sistemos, pakinta imuninės reakcijos, kraujo rodiklių charakteristikos, išsenka organizmo adaptacinės galimybės (Idzelis *et al.* 2007).

Cu yra būtinas beveik visų organizmų, įskaitant ir žuvų, normaliam augimui ir metabolizmui. Tačiau kai reikalingas kiekis viršijamas, šis metalas gali būti kenksmingas vandens biotai ir tapti vienu iš labiausiai toksiškų sunkiųjų metalų. Ankstyvuojų vystymosi laikotarpiu, priklausomai nuo Cu koncentracijos ir veikimo laiko, Cu gali turėti įtakos žuvų išlikimui, augimui ir sukelti įvairių tipų apsigimimus (Stasiūnaitė 2005).

Eksperimentinių tyrimų tikslas – nustatyti sunkiųjų metalų (Ni, Cu) ir jų binarinio mišinio poveikį vaivorykštinio upėtakio (*Oncorhynchus mykiss*) lervų kardiorespiracinei sistemai, priklausomai nuo veikiamo metalo rūšies, koncentracijos ir ekspozicijos trukmės.

Eksperimentinio tyrimo metodika

Eksperimentinis tyrimas buvo atliekamas Hidrobiontų ekologijos ir fiziologijos laboratorijoje (Gamtos tyrimų centras). Ilgalaikio tyrimo testas darytas su vienadienėmis lervomis (nuo tik išsiritusių vienadienių lervų iki trynio rezorbcijos, trukmė – 30 parų). Eksperimentiniams tyrimams kiekvienoje grupėje buvo paimta 140 vaivorykštinio upėtakio vienadienių lervų.

Vaivorykštinio upėtakio ikrai iš žuvivaisos įmonės (Žeimena, Lietuva) buvo atgabenti vėlyvos „akutės“ stadijos. Ikrai buvo pervežami izoterminėje dėžėje su ledais ne aukštesnėje kaip 5 °C temperatūroje. Ikrai laikomi 2–3 val. šaldytuve visiškoje tamsoje, kol temperatūra pakyla iki 10±0,5 °C, kuri yra optimali šiai žuvų rūšiai.

Ikrai tamsoje išdėliojami į plastmasinius lovelius, kurie dedami į 1000 ml indus su vandeniu ir bandymo tirpalais. Tyrimo indų tūris turi būti pakankamas, kad bet kuriuo tyrimo metu kintantis krūvis 1 g žuvies 1 litre vandens nebūtų viršytas (Kazlauskienė 2007).

Tyrimams naudojamas artezinis vanduo, kuris prieš kiekvieną tirpalo keitimą parą papildomai aeruojamas. Artezinio vandens parametrai: pH – 8, kietumas – 284 mg/l CaCO₃, šarmingumas – 244 mg/l HCO₃, ištirpusio deguonies kiekis – 8–10 mg/l (Stasiūnaitė 1999).

Kontrolinis vanduo ir bandymų tirpalai atnaujinami ne rečiau kaip kartą per 24 val. Eksperimentinio tyrimo metu buvo registruojami vaivorykštinio upėtakio lervų fiziologiniai rodikliai: širdies dažnis (krt./min.) ir kvėpavimo dažnis (krt./min.).

Fiziologiniai rodikliai buvo fiksuojami praėjus 5, 10 ir 20 parų nuo eksperimento pradžios.

Tyrimo metu lervos buvo veikiamos sunkiųjų metalų Ni 0,1; 0,2 mg/l ir Cu 0,25; 0,5 mg/l koncentracijų tirpalais ir jų binariniu mišiniu (0,1 + 0,25; 0,2 + 0,5 mg/l). Tirpalai buvo pagaminti iš chemiškai grynų druskų: CuSO₄·5H₂O;

NiSO₄·7H₂O. Remiantis Europos Parlamento ir Tarybos Direktyva 2000/60/EB, Ni 0,2 mg/l ir Cu 0,5 mg/l koncentracijos apibrėžiamos kaip didžiausios leidžiamos išleisti į vidaus vandenį (Europos Parlamento ir Tarybos Direktyva 2000/60/EB).

Duomenys, gauti eksperimentinio tyrimo metu, išanalizuoti ir gauti rezultatai apibendrinti. Rezultatai išreikšti: vidutinė reikšmė±standartinė paklaida. Gauti rezultatai įvertinti, naudojant Stjudento t-testą. Vertės p < 0,05; p < 0,001 laikytos statistiškai reikšmingomis.

Eksperimentinio tyrimo rezultatai ir jų analizė

Kvėpavimo dažnis. Metalai gali būti kvėpavimo pakenkimo priežastis, kuris pasireiškia kvėpavimo dažnėjimu ar sutrikimu. Padidėjęs kvėpavimo dažnis rodo metalų sukeltus kvėpavimo sutrikimus, atsirandančius pažeidus žiaunų epitelį. Metalų toksinis poveikis žuvies organizme didina deguonies trūkumą. Sulėtėjęs kvėpavimas gali rodyti bendrą žuvies aktyvumo sumažėjimą, kuris neretai pasibaigia individo mirtimi (Jeziarska, Witeska 2001).

Atlikus eksperimentinius tyrimus nustatyta, kad vaivorykštinio upėtakio lervų kvėpavimo dažnis priklauso nuo sunkiųjų metalų Ni ir Cu bei jų binarinio mišinio koncentracijos ir nuo poveikio trukmės (1 lentelė).

G. Svecevičius ir M. Vosylienė (1996) tyrė ūminį Cu toksinį poveikį penkioms gėlavandenių žuvų rūšims ir nustatė, kad medianinė letalinė koncentracija (96 val. LC50) svyravo nuo 0,62 iki 1,49 mg Cu/l.

Tyrimai parodė, kad Ni 0,1; 0,2 mg/l ir Cu 0,25; 0,5 mg/l koncentracijos ir jų binariniai mišiniai sukelia lervų kvėpavimo dažnio padidėjimą ir sumažėjimą.

Ni 0,1 mg/l koncentracija neturėjo įtakos lervų kvėpavimo dažnio pokyčiams praėjus 5 ir 20 parų nuo eksperimento pradžios.

Po 5 parų ekspozicijos lervų kvėpavimo dažnis patikimai sumažėjo lyginant su kontroliniu bandiniu veikiant Cu 0,5 mg/l koncentracija. Veikiant Ni 0,2 mg/l ir Cu 0,25; 0,5 mg/l koncentracijomis ir jų binariniais mišiniais, lervų kvėpavimo dažnis reikšmingai (p < 0,05) padidėjo nuo 87,4±4,4 krt./min. iki 97,4±4,8 krt./min. (1 pav.).

Po 10 parų ekspozicijos, veikiant Ni + Cu binariniu mišiniu (0,1 + 0,25 mg/l) reikšmingesnio kvėpavimo dažnio mažėjimo ar didėjimo nenustatyta. Veikiant Ni 0,1; 0,2 mg/l ir Cu 0,25 mg/l koncentracijomis ir Ni + Cu binariniu mišiniu (0,2 + 0,25 mg/l), lervų kvėpavimo dažnis reikšmingai (p < 0,05; p < 0,001) padidėjo lyginant su kontroliniu bandiniu nuo 91,6±4,0 iki 101,4±4,8 krt./min. (1 pav.).

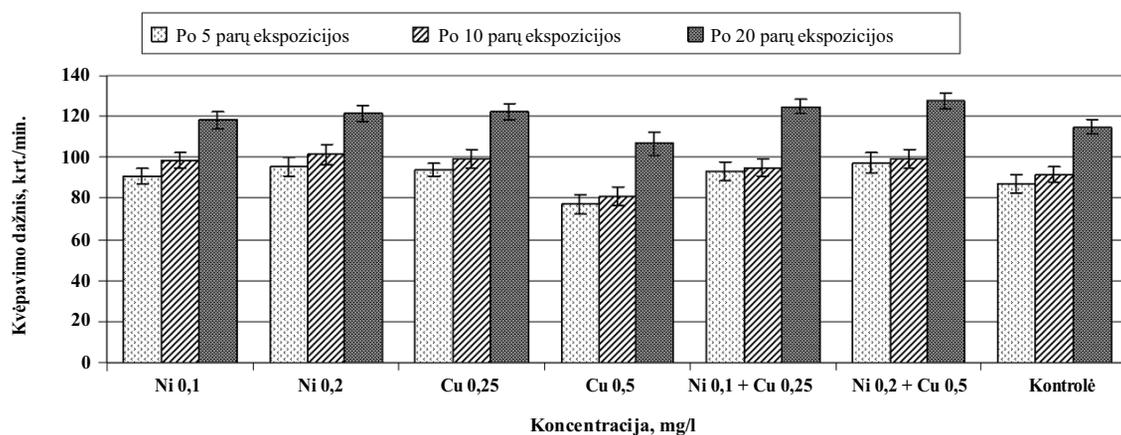
Be to, po 10 parų ekspozicijos, veikiant Cu 0,5 mg/l koncentracija, lervų kvėpavimo dažnis reikšmingai (p < 0,001) sumažėjo nuo 91,6±4,0 iki 81,2±4,7 krt./min.

1 lentelė. Sunkiųjų metalų (Ni, Cu) ir jų binarinio mišinio (Ni + Cu) poveikis vaivorykštinio upėtakio lervų kvėpavimo dažniui, priklausomai nuo ekspozicijos trukmės (N = 10, vidurkis±standartinė paklaida)

Table 1. The effect of heavy metals and their binary mixture on the gill ventilation frequency of rainbow trout larvae depending on the duration of exposure (N = 10, mean±standard error)

Sunkiųjų metalų koncentracija, mg/l		Lervų kvėpavimo dažnis (krt./min.)		
		Po 5 parų ekspozicijos	Po 10 parų ekspozicijos	Po 20 parų ekspozicijos
Ni	0,1	91,0±4,1	98,6±4,0*	118,2±4,6
	0,2	95,6±4,7*	101,4±4,8**	121,9±3,8*
Cu	0,25	94,2±3,0*	99,4±4,9*	122,4±3,5*
	0,5	77,2±4,4**	81,2±4,7**	107,0±5,7*
Ni + Cu mišinys	0,1 + 0,25	93,6±4,5*	95,2±3,9	125,0±3,3**
	0,25 + 0,5	97,4±4,8*	99,4±4,3*	127,6±3,9**
Kontrolė		87,4±4,4	91,6±4,0	115,0±3,4

* Statistiškai reikšmingas skirtumas lyginant su kontroliniu mėginiu (*p < 0,05; **p < 0,001)



1 pav. Sunkiųjų metalų (Ni, Cu) ir jų binarinio mišinio (Ni + Cu) poveikis vaivorykštinio upėtakio lervų kvėpavimo dažniui

Fig. 1. The effect of heavy metals and their binary mixture on the gill ventilation frequency of rainbow trout larvae

Po 20 parų ekspozicijos didesnio lervų kvėpavimo dažnio didėjimo ar mažėjimo nenumatyta, veikiant Ni 0,1 mg/l koncentracija. Reikšmingi ($p > 0,001$) kvėpavimo dažnio pokyčiai, t. y. kvėpavimo dažnio padidėjimas, nustatyti veikiant Ni + Cu binariniais mišiniais (0,1 + 0,25; 0,2 + 0,5 mg/l). Veikiant Cu 0,5 mg/l koncentracija nustatytas reikšmingai ($p < 0,05$) sumažėjęs kvėpavimo dažnis (1 pav.).

N. Kazlauskienė ir M. Z. Vosylienė (2008) tyrė Cu ir Zn mišinio poveikį vaivorykštiniam upėtakiui esant ontogenezei. Vienadienes lervas paveikus 0,09 mg/l (0,25 LC50 lervoms) Cu koncentracija nustatytas reikšmingai sumažėjęs kvėpavimo dažnis: nuo 98,8±0,4 krt./min. prieš bandymą iki 88,0±0,4 krt./min. po 4 dienų poveikio.

Veikiant lervas Cu ir Zn mišiniu (0,09 + 0,24 mg/l) kvėpavimo dažnis reikšmingai sumažėjo nuo 100,2±0,4 iki 82,2±0,4 krt./min. po 4 parų ekspozicijos (Kazlauskienė, Vosylienė 2008).

Tačiau veikiant vaivorykštinio upėtakio jauniklius 0,16 mg/l Cu (0,25 LC50 suaugusių žuvų) koncentracija,

kvėpavimo dažnis reikšmingai padidėjo nuo 70,0±2,6 iki 83,0±3,4 krt./min.

Veikiant jauniklius Cu ir Zn mišiniu (0,16 + 0,95 mg/l) nustatytas reikšmingai padidėjęs kvėpavimo dažnis po 4 parų ekspozicijos (Kazlauskienė, Vosylienė 2008).

Didesnių vienadienių lervų kvėpavimo dažnio pokyčių nenumatyta veikiant 0,125 LC50 Cu (0,045 mg/l) bei Cu ir Zn mišiniu (0,045 + 0,12 mg/l). Tačiau jauniklius veikiant Cu + Zn mišiniu (0,08 + 0,48 mg/l) nustatytas reikšmingai padidėjęs kvėpavimo dažnis nuo 73,8±3,3 iki 83,8±3,3 krt./min.

Veikiant lervas 0,08 mg/l Cu koncentracija kvėpavimo dažnis reikšmingai padidėjo nuo 73,3±2,8 iki 82,7±4,4 krt./min. (Kazlauskienė, Vosylienė 2008).

Šiais tyrimais nustatyta, kad vaivorykštinio upėtakio jautrumas skirtinguose vystymosi etapuose sunkiesiems metalams buvo skirtingas (remiantis 96 val. LC50): jautriausios buvo lervos, mažiau jautrios – suaugusios žuvys ir ikrai (Kazlauskienė, Vosylienė 2008).

Širdies susitraukimų dažnis. Širdies susitraukimų dažnis yra parametras, susijęs su metaboliniu aktyvumu, kuris dažnai kinta, priklausomai nuo metalo toksinio poveikio. Metalai gali didinti ar mažinti širdies susitraukimų dažnį. Metalų toksinis poveikis priklauso nuo kvėpavimo ir metabolizmo aktyvumo. Padidėjusį širdies susitraukimų dažnį gali veikti sumažėjęs deguonies kiekis, susidaręs metalams pažeidus žiaunas, dėl ko sulėtėja ir kvėpavimo dažnis (Jeziarska, Witeska 2001).

Atlikus eksperimentinius tyrimus nustatyta, kad vaivorykštinio upėtakio lervų širdies dažnis priklauso nuo sunkiųjų metalų Ni ir Cu bei jų binarinio mišinio koncentracijos, priklausomai nuo ekspozicijos trukmės (2 lentelė).

Veikiant Ni 0,1; 0,2 mg/l koncentracijomis širdies dažnis reikšmingai (atitinkamai $p < 0,05$; $p < 0,001$) padidėjo lyginant su kontroliniu bandiniu po 5 parų ekspozicijos.

Veikiant 0,25 mg/l Cu, lervų širdies dažnis ($p < 0,05$) reikšmingai padidėjo, o veikiant 0,5 mg/l Cu, ($p < 0,001$) širdies dažnis reikšmingai sumažėjo lyginant su kontroliniu bandiniu. Nustatyta, kad sunkiųjų metalų (Ni + Cu) binarinių mišinių toksinis poveikis širdies dažniui buvo gerokai didesnis nei atskirų metalų (2 pav.).

Po 10 parų ekspozicijos lervų širdies dažnis reikšmingai ($p < 0,001$) padidėjo lyginant su kontroliniu bandiniu, veikiant Ni 0,1; 0,2 mg/l koncentracijomis. Veikiant Ni + Cu binariniu mišiniu (0,1 + 0,25; 0,2 + 0,5 mg/l) po 10 parų ekspozicijos nustatytas reikšmingas (atitinkamai $p < 0,001$; $p < 0,05$) širdies dažnio sumažėjimas lyginant su kontroliniu bandiniu (2 pav.).

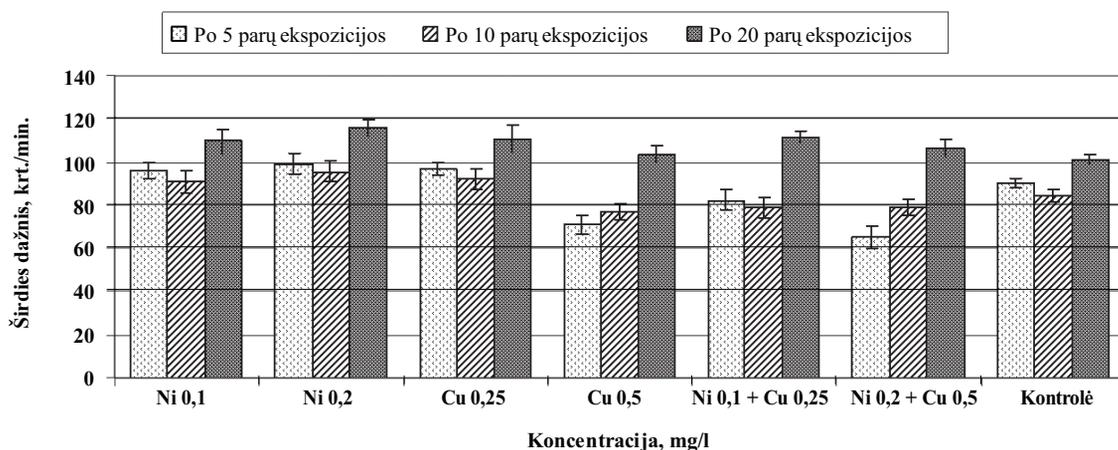
Po 20 parų ekspozicijos nustatytas reikšmingai (atitinkamai $p < 0,05$; $p < 0,001$) padidėjęs širdies dažnis veikiant Ni 0,1; 0,2 mg/l koncentracijomis. Didinant žuvų lervas veikiančią Ni koncentraciją, taip pat didėjo ir lervų širdies

2 lentelė. Sunkiųjų metalų (Ni, Cu) ir jų binarinio mišinio (Ni + Cu) poveikis vaivorykštinio upėtakio lervų širdies dažniui, priklausomai nuo ekspozicijos trukmės (N = 10, vidurkis±standartinė paklaida)

Table 2. The effect of heavy metals and their binary mixture on the heart rate of rainbow trout larvae depending on the duration of exposure (N = 10, mean±standard error)

Sunkiųjų metalų koncentracija, mg/l		Lervų širdies dažnis, krt./min.		
		Po 5 parų ekspozicijos	Po 10 parų ekspozicijos	Po 20 parų ekspozicijos
Ni	0,1	96,0±3,8*	90,8±4,9**	109,6±5,4*
	0,2	99,2±4,7**	95,6±4,6**	116,0±3,7**
Cu	0,25	96,4±2,9*	92,2±4,8**	111,0±6,2*
	0,5	71,0±4,5**	76,8±3,7*	103,6±4,0
Ni + Cu mišinys	0,1 + 0,25	82,4±4,9*	78,8±4,9**	111,6±2,5*
	0,25 + 0,5	65,4±5,0**	79,2±3,4*	106,6±4,0*
Kontrolė		90,2±2,2	84,5±2,9	101,0±2,2

* Statistiškai reikšmingas skirtumas lyginant su kontroliniu bandiniu (* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$)



2 pav. Sunkiųjų metalų (Ni, Cu) ir jų binarinio mišinio (Ni + Cu) poveikis vaivorykštinio upėtakio lervų širdies dažniui
Fig. 2. The effect of heavy metals and their binary mixture on the heart rate of rainbow trout larvae

dažnis. Taip pat širdies dažnis reikšmingai ($p < 0,05$) padidėjo veikiant 0,25 mg/l Cu koncentracijomis bei Ni + Cu mišiniu (0,1 + 0,25; 0,2 + 0,5 mg/l) (2 pav.).

N. Kazlauskienė ir M. Z. Vosylienė (1999) tyrė Cu poveikį vaivorykštiniam upėtakiui ir per trumpalaikius (10 parų) ir ilgalaikius (6 mėn.) bandymus įvertino kardiorespiracinės sistemos parametrų ir hematologinių rodiklių pokyčius, veikiant žuvis 0,05–0,5 mg/l Cu koncentracijomis. Nustatyta, kad mažos Cu koncentracijos atliekant trumpalaikius bandymus sukelia grįžtamus pokyčius kardiorespiracinėje sistemoje ir keičia hematologinius rodiklius. Didelė Cu koncentracija (0,5 mg/l) sukelia negrįžtamus širdies ritmo ir jo periodinės struktūros pokyčius. Nustatyta, kad, esant ilgalaikiam poveikiui mažomis Cu koncentracijomis, žuvis gali prisitaikyti – tai rodo tyrimai žuvų, veiktų 6 mėn. 0,1 mg/l Cu koncentracija. Visų tirtų fiziologinių sistemų rodikliai po ilgalaikės žuvų ekspozicijos atitiko kontrolinį bandinį.

M. Z. Vosylienė ir N. Kazlauskienė (1999) taip pat tyrė žuvų organizmo funkcinės būklės rodiklių pokyčius, paveikus sunkiųjų metalų mišiniu: Cu 0,0005 mg/l; Zn 0,001 mg/l; Cr 0,0025 mg/l; Ni 0,005 mg/l; Fe 0,005 mg/l. Nustatyta, kad sunkiųjų metalų mišiniu veikiant vaivorykštinį upėtakį ankstyvuose vystymosi etapuose, po 10 parų ekspozicijos kvėpavimo ir širdies dažniai labai sumažėjo lyginant su kontroliniu bandymu. Sunkiųjų metalų mišinys taip pat turėjo įtakos ir suaugusiųjų žuvų fiziologiniams rodikliams: padidėjo „kosėjimo“ dažnis, eritrocitų kiekis, sumažėjo hemoglobinas.

P. Stasiūnaitė (2005) atliko Cu toksinio poveikio įvertinimą, taikydama trumpo ir ilgalaikio toksinio poveikio nustatymo metodus. Vaivorykštinio upėtakio embrionų reikšmingai ($p < 0,05$) sumažėjęs širdies dažnis nustatytas veikiant didesne nei 0,13 mg/l Cu koncentracija. Taip pat nustatyta mažiausią poveikį sukelianti Cu koncentracija – 0,06 mg/l. Po 25 dienų lervų širdies dažnis reikšmingai sumažėjo veikiant didesne nei 0,03 mg/l Cu koncentracija. Nustatyta, kad kuo didesne Cu koncentracija buvo veikiama lervos, tuo širdies dažnis buvo mažesnis. Apskaičiuota mažiausia širdies dažniui poveikį lervoms turinti Cu koncentracija – 0,03 mg/l, o poveikio širdies dažniui nesukelianti koncentracija – 0,015 mg/l.

Taip pat buvo ištirtas toksinis Cu poveikis raudonųjų jūros karšių embrionams ir lervoms, atliekant trumpalaikius (0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 mgCu/l) ir ilgalaikius (0; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,10; 0,12 mgCu/l) bandymus. Nustatyta, kad embrionai buvo mažiau jautresni Cu poveikiui nei lervos. Cu reikšmingai nepaveikė embrionų širdies ritmo, tačiau gerokai sumažėjo ką tik išsiritusių lervų širdies susitraukimų dažnis, veikiant didesne nei 0,08 mg/l Cu koncentracija (Cao *et al.* 2010).

Kadangi natūraliomis sąlygomis gyvus organizmus beveik visada veikia ne viena, bet iš karto kelios medžiagos, todėl gamtiniuose vandenyse esantys metalų mišiniai gali sumažinti žuvų išgyvenimą esant ankstyvajai ontogenezei, sutrikdyti jų vystymąsi ir išsiritimą, kurie savo ruožtu gali turėti neigiamų pasekmių žuvų vėlesnių kartų kokybei ir visai populiacijai (Kazlauskienė *et al.* 2004; Jezierska *et al.* 2009).

Išvados

1. Atlikus eksperimentinius tyrimus nustatyta, kad sunkieji metalai (Ni, Cu) ir jų binarinis mišinys (Ni + Cu) sukelia žuvų lervų kardiorespiracinės sistemos pokyčius, kurie priklauso nuo metalo rūšies, koncentracijos ir ekspozicijos trukmės.
2. Nustatyta, kad Ni 0,1; 0,2 mg/l koncentracijos sukėlė didelius ($p < 0,05$; $p < 0,001$) lervų kvėpavimo ir širdies dažnių pokyčius (padidėjimą), priklausomai nuo ekspozicijos trukmės.
3. Veikiant Cu 0,25 mg/l koncentracija, lervų širdies ir kvėpavimo dažniai reikšmingai ($p < 0,05$) padidėjo, tačiau veikiant didesne Cu koncentracija (0,5 mg/l) šie parametrai labai ($p < 0,001$; $p < 0,05$) sumažėjo.
4. Veikiant lervas Ni + Cu binariu mišiniu (0,1 + 0,25; 0,2 + 0,5 mg/l) po 5 ir 10 parų širdies dažnis reikšmingai ($p < 0,05$; $p < 0,001$) sumažėjo lyginant su kontroliniu bandymu, tačiau po 20 parų labai ($p < 0,05$) padidėjo. Tačiau veikiant sunkiųjų metalų binariu mišiniu lervų kvėpavimo dažnis reikšmingai ($p < 0,05$) padidėjo po 5 ir 10 parų ekspozicijos bei po 20 parų ekspozicijos ($p < 0,001$).
5. Tyrimų rezultatai parodė, kad atskirų sunkiųjų metalų (Ni, Cu) poveikis lervų kardiorespiracinei sistemai yra silpnesnis už šių metalų binarinio mišinio (Ni + Cu) poveikį.

Literatūra

- Canli, M.; Atli, G. 2003. The relationships between heavy metals (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species, *Environmental Pollution* 121: 129–136. doi:10.1016/S0269-7491(02)00194-X
- Cao, L.; Huang, W.; Liu, J.; Ye, Z.; Dou, S. 2010. Toxicity of short-term copper exposure to early life stages of red sea bream *Pagrus major*, *Environmental Toxicology and Chemistry* 29(9): 2044–2052.
- Eisler, R. 1988. *Lead Hazards to Fish, Wildlife and Invertebrates: a Synoptic Review. Biological Report*. Laurel: U. S. Fish Wildlife Service. 94 p.
- Europos Parlamento ir Tarybos Direktyva 2000/60/EB. 2000 m. spalio 23 d. nustatanti Bendrijos veiksmų vandens politikos srityje pagrindus.

- Idzelis, R. L.; Kesminas, V.; Venslovas, A. 2007. Sunkiųjų metalų poveikis kuojoms ir ešeriams Šešupės upėje, iš *Aplinkos apsaugos inžinerija* [Environmental protection engineering]: 10-osios Lietuvos jaunujų mokslininkų konferencijos „Mokslas – Lietuvos ateitis“ [10th Conference of Junior Researchers Science – Future of Lithuania], įvykusios Vilniuje 2007 m. kovo 29 d., pranešimų medžiaga. Vilnius: Technika, 196–201.
- Yousafzai, A. M.; Chivers, D. P.; Kban, A. R.; Siraj, I. M. 2010. Comparison of heavy metals burden in two freshwater *Wallago attu* and *Labeo dyocheilus* with regard to the habits in natural ecosystem, *Pakistan J. Zool.* 42(5): 537–544.
- Jeziarska, B.; Witeska, M. 2001. *Metal Toxicity to Fish*. Siedlce: University of Podlasie. 318 p.
- Jeziarska, B.; Ługowska, K.; Witeska, M. 2009. The effects of heavy metals on embryonic development of fish, *Fish Physiology and Biochemistry* 35: 625–640.
doi:10.1007/s10695-008-9284-4
- Kazlauskienė, N. 2007. *Žuvys ankstyvojoje ontogenezėje toksikologiniuose tyrimuose* [interaktyvus], [žiūrėta 2010 m. sausio 7 d.]. Prieiga per internetą: <<http://www.eko.lt/lt/pages/view/?id=169>>.
- Kazlauskienė, N.; Svecevičius, G.; Vosylienė, M. Z.; Marčiulionienė, D.; Montvydienė, D. 2004. Comparative study of higher plants and fish to heavy fuel oil, *Environmental Toxicology* 19(4): 449–451.
doi:10.1002/tox.20048
- Kazlauskienė, N.; Vosylienė, M. Z. 1999. Peculiarities of the physiological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to copper, *Acta Zoologica Lituanica* 2: 56–70.
- Kazlauskienė, N.; Vosylienė, M. Z. 2008. Characteristic features of the effect of Cu and Zn mixtures on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* in Ontogenesis), *Polish Journal of Environmental Studies* 17(2): 291–293.
- Sakalauskienė, G.; Valatka, S.; Virbickas, T. 2002. Nuotekų įtaka paviršinių vandenų kokybei bei upių klasifikacija į „lašišinius“ ir „karpinius“ vandenį, *Aplinkos tyrimai, inžinerija ir vadyba* 2(20): 3–10.
- Stasiūnaitė, P. 1999. Heavy metal mixture toxicity to rainbow trout, *Acta Zoologica Lituanica* 9(2): 40–45.
- Stasiūnaitė, P. 2005. Toxicity of copper to embryonic development of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Acta Zoologica Lituanica* 15(3): 259–265.
- Svecevičius, G.; Kazlauskienė, N.; Vosylienė, M. Z. 2003. Toxic effects of orimulsion on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, *Environmental Science and Pollution Research* 10(5): 281–283.
- Svecevičius, G.; Vosylienė, M. Z. 1996. Acute toxicity of copper to common freshwater fishes of Lithuania, *Ekologija* 2: 17–21.
- Vosylienė, M. Z.; Kazlauskienė, N.; Svecevičius, G. 2003. Complex study into the effect of heavy metal model mixture on biological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, *Environmental Science and Pollution Research* 10(2): 103–107.
- Vosylienė, M. Z.; Kazlauskienė, N. 1999. Alterations in fish health state parameters after exposure to different stressors, *Acta Zoologica Lituanica* 9(2): 83–94.
doi:10.1065/espr2002.02.109
- Vosylienė, M. Z.; Kazlauskienė, N.; Jokšas, K. 2005. Toxic effects of crude oil combined with oil cleaner simple green on yolk-sac larvae and adult rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, *Environmental Science and Pollution Research* 12(3): 136–139.
doi:10.1065/espr2005.04.245

RESEARCH INTO THE EFFECT OF HEAVY METALS AND THEIR BINARY MIXTURE ON THE CARDIO-RESPIRATORY SYSTEM OF FISH LARVAE

A. Liekytė, R. L. Idzelis, N. Kazlauskienė

Abstract

This article investigates toxic effects of heavy metals (Ni, Cu) and their binary mixture (Ni+Cu) on the cardio-respiratory system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae depending on the type of metal, metal concentration and the duration of their exposure. The one-day larvae of rainbow trout were exposed to Ni (0,1; 0,2 mg/l, respectively), Cu (0,25; 0,5 mg/l, respectively) and their binary mixture. During long-term exposure (30 days), the physiological parameters of larvae, e.g. heart rate (counts/min), gill ventilation frequency (counts/min) after 5, 10 and 20 days of exposure were recorded. During experimental studies, the effects of heavy metals and their binary mixture on the heart rate and gill ventilation frequency of rainbow trout larvae depending on the type of metal, their concentrations and exposure duration were determined. Consequently, comparative studies on toxic effects of heavy metals and their binary mixture on the cardio-respiratory system of rainbow trout larvae showed that the binary mixture was more toxic to larvae than to single metals.

Keywords: copper, nickel, binary mixture, cardio-respiratory system, fish, larvae.