

УДК 591. 5: 594.3

А. П. Стадниченко

ВЛИЯНИЕ СЕРНОКИСЛОГО ЖЕЛЕЗА НА БЫСТРЫЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КАТУШКИ РОГОВОЙ (MOLLUSCA, GASTROPODA, PULMONATA)

Исследовано влияние сернокислого железа $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (5,5, 7,5, 9,5 мг/дм³) на быстрые (48 ч) поведенческие и физиологические реакции катушки роговой *Planorbarius corneus* (Linnaeus, 1758). Установлены сроки проявления реакций избегания, ослизнения тела, развития разлитого отека, потери животными тактильной чувствительности, наступления летального исхода.

Ключевые слова: *Planorbarius corneus*, сернокислое железо, отравление, поведенческие и физиологические реакции.

В настоящее время одной из приоритетных групп поллютантов (по объему поступления их в водные бассейны) являются тяжелые металлы – высокотоксичные и долго сохраняющиеся в водных экосистемах биологически активные агенты, характеризующиеся значительной токсичностью в относительно невысоких концентрациях [3, 5, 12, 14, 17]. К числу их относится железо – Fe (II) и Fe (III). В гидробиоценозах мигрирует, главным образом, Fe (II), поскольку Fe (III) при отсутствии комплексообразующих веществ не может в значительных количествах находиться в растворенном в воде состоянии [5]. В поверхностных водах Украины содержание железа колеблется от 0,1 до 1 мг/дм³, иногда немногим более [5]. Однако в промышленных ее регионах в местах поступления в природные водоемы недостаточно очищенных или совсем неочищенных сбросов

предприятий металлургической, металлообрабатывающей, лакокрасочной, текстильной промышленности, а также шахтно-рудничных производств содержание железа в стоках составляет до 400 мг/дм^3 [4].

В связи с токсичностью ионов железа для человека и гидробионтов при определенных их концентрациях уровень содержания Fe (II) в водоемах санитарно-гигиенического и рыбохозяйственного назначения регламентируется. Принятым в настоящее время лимитирующим показателем (ПДК) для водоемов хозяйственно-питьевого водоснабжения является $0,3 \text{ мг/дм}^3$, для водоемов рыбохозяйственного назначения – $0,05 \text{ мг/дм}^3$ [10].

Учитывая прогрессирующее год от года ухудшение качества поверхностных вод в Украине в связи с загрязнением их промышленными стоками [9], необходимо установить, как сказывается это на жизнедеятельности гидробионтов, находящихся в столь неблагоприятных для них условиях среды.

Целью настоящего исследования было выяснить в острых опытах, какие быстрые поведенческие и физиологические реакции наблюдаются у катушки роговой при воздействии на нее растворами сернокислого железа, концентрации которых значительно превышают рыбохозяйственную ПДК, при разной длительности экспозиции. Имеющиеся в литературе сведения такого рода крайне малочисленны и весьма скудны. На сегодня известно относительно гидробионтов, в том числе и моллюсков, что соли железа являются агентами локального воздействия, оказывающими на них влияние двоякого характера [7]. Во-первых, вследствие химических преобразований входящие в их состав ионы Fe (II) образуют с гидроксил-ионом гидроокись. Она плохо растворяется в воде и в виде плотного налета оседает на поверхности кладок моллюсков, вызывая гибель эмбрионов от асфиксии. Во-вторых, как отмечают цитированные выше авторы, ионы железа оказывают на моллюсков специфическое токсическое воздействие,

но в чем оно состоит – не указывают. Другие исследователи к обычным нарушениям у легочных моллюсков (*Lymnaea*) при подобных отравлениях относят деформацию раковины и изменение окраски тела, а у морских видов (*Mytilus*) – нарушения нерестового периода [14].

Материал и методика исследований. Экспериментальным материалом послужили 936 экз. катушки роговой *Planorbarius corneus* (Linnaeus, 1758) из р. Тетерев (с. Заречаны Житомирской обл.), собранные вручную в июне-августе 2013 года. В лаборатории животные были подвергнуты 15-суточной акклимации [15]. Ее условия: объем аквариумов – 100 л, плотность посадки моллюсков – 3 экз./л, температура воды – 20–22°C, водородный показатель (pH) – 7,2–7,7, содержание кислорода – 8,5–8,9 мг/дм³. Использована отстоянная (1 сут) вода из житомирской водопроводной сети. Ежедневно осуществляли замену $\frac{1}{3}$ ее объема.

Животных подкармливали мацерированными в речной воде (5 – 6 сут) листьями салата-латука, тонкими (2–3 мм) пластинками моркови и белокочанной капусты.

В токсикологическом эксперименте [1] для затравливания среды использовано сернокислое железо FeSO₄ · 7H₂O (ч.д.а.) в концентрациях 5,5, 7,5, 9,5 мг/дм³ (в пересчете на ионы Fe (II) – 1,1, 1,5, 1,9 мг/дм³). Экспозиция – 48 ч. Через 24 ч от момента постановки эксперимента производили полное обновление среды. Результаты снимали через 10 и 30 мин, 1, 3, 6, 12, 24, 48 ч. Опыты проведены в трехкратной повторности и сопровождались контролем.

Результаты исследований и их обсуждение

У моллюсков, пребывающих в токсических средах (5,5, 7,5, 9,5 мг/дм³), через 10 мин от начала эксперимента наблюдаются первые признаки отравления, проявляющиеся возрастанием двигательной активности животных. Сначала в течение 4–7 мин они совершают короткие беспорядочные разнонаправленные перемещения преимущественно по дну аквариумов (реакция «беспокойства»), а затем целенаправленно устремляются по их стенкам к урезу воды, располагаясь непосредственно над ним, т.е. за пределами затравленной среды (реакция избегания). Количество животных, у которых регистрируется такая форма оборонительного поведения, прямо пропорционально концентрации токсиканта и продолжительности его воздействия на подопытных особей (табл. 1).

1. Наличие реакции избегания у *P. corneus* в зависимости от содержания серноокислого железа в среде и длительности экспозиции

Токсикант, мг/дм ³	Экспозиция, мин	
	10	30
5,5	4,4	8,3
7,5	8,5	18,2
9,5	14,7	34,9

Избегание затравленной среды – одна из наиболее быстрых поведенческих защитных реакций, характерных для моллюсков. Она обусловлена наличием у них нервной связи между органами восприятия химических раздражений – осфрадиями и мускулатурой, ответственной за перемещение в пространстве. Отметим, что она наблюдается не у всех подопытных животных. Так, при 5,5 мг/дм³ токсиканта над урезом воды оказались всего лишь 12,7%, при 7,5–26,7, при 9,5 мг/дм³ – 49.6% *P. corneus*.

Удлинение экспозиции до 1 ч и более вызывает сначала угнетение, а затем – полное подавление реакции избегания. Последние по времени случаи ее

(отмечены у единичных особей) зарегистрированы через 1 и 3 ч с момента постановки эксперимента.

Сернокислое железо как токсикант локального действия [7] оказывает на эпителиальные покровы *P. corneus* «прижигающее» воздействие, обусловленное частичным коагулированием обволакивающей их слизи с образованием альбуминатов. При этом сначала происходит нарастающее с течением времени помутнение слизистого слоя, а затем – образование в нем небольших, но весьма многочисленных комочков молочнобелого цвета. Позже из них формируются короткие тонкие нити, преобразующиеся впоследствии в короткие же, но широкие тяжи. Некоторая часть всех перечисленных выше типов образований, отделившись от кожных покровов *P. corneus*, сперва зависает в толще воды, а впоследствии медленно оседает на дно аквариумов. Этот процесс сопровождается оголением кожного эпителия, увеличением объема, позже – сморщиванием его клеток, а далее – слущиванием их и некротическим распадом. На пораженных участках кожи появляются изъязвления. В тяжелых случаях таким повреждениям подвергаются не только кожные покровы, но, что особенно опасно для этих животных, и респираторный эпителий, выстилающий полость их легкого. Последнее нередко становится причиной образования кровоподтеков разного размера и более или менее обильных подкожных кровоизлияний, чреватых опасными для жизни *P. corneus* кровопотерями.

Не отслоившиеся участки кожного и дыхательного эпителия часто приобретают разной интенсивности бурую окраску в связи с тем, что на них оседает гидроокись железа. Толщина ее слоя возрастает с повышением концентрации сернокислого железа в среде и с увеличением длительности экспозиции подопытных животных.

Обволакивание слизью поверхности тела и полости легкого *P. corneus* является результатом возрастания секреторной активности клеток железистого эпителия, вызванного воздействием на них токсиканта. Умеренное ослизнение тела моллюсков можно расценивать как защитно-приспособительную реакцию, поскольку утолщенный (но только до определенных пределов) слой слизи в некоторой мере затрудняет доступ ионов железа к тканям тела подопытных катушек. Очень толстый слой слизи, однако, представляет собой значительную угрозу для моллюсков, поскольку способствует развитию у них аноксии. Учитывая то, что *P. corneus*, как и все остальные легочные моллюски, одну половину необходимого для их жизнеобеспечения кислорода получают через легкое, а другую - через кожу [11], становится понятным, что условия дыхания их в этом случае резко ухудшаются. В проявлении реакции слизиотделения важную роль играет фактор времени. Первые случаи возрастания слизиотделения у *P. corneus* (отмечены у единичных особей) были зарегистрированы через 1 ч экспонирования их при 7,5 и 9,5 мг/дм³ серноокислого железа в среде (табл. 2).

2. Ослизнение тела (%) у *P. corneus* в зависимости от концентрации серноокислого железа в среде и длительности экспозиции

Токсикант, мг/дм ³	Экспозиция, ч				
	1	3	12	24	48
5,5		6,2	8,1	10,8	12,3
7,5	1	10,1	11,3	13,0	14,6
9,5	2	12,9	15,5	21,1	24,5

Интенсивность обсуждаемого процесса с течением времени возрастает, как и количество подопытных животных, у которых эта реакция имеет место. Ослизнение тела, однако, наблюдается не у всех подопытных *P. corneus*: при 5,5 мг/дм³ токсиканта – у 37,4%, при 7,5 – у 50, при 9,5 мг/дм³ – у 76%.

Важным симптомом отравления *P. corneus* серноокислым железом является обводнение тканей их тела, прежде всего головы и ноги. Сначала оно проявляется появлением очагов слабо выраженной пастозности, которые характеризуются размягчением тканей и незначительным осветлением расположенных над ними кожных покровов. В дальнейшем пастозность усиливается, охватывая всю поверхность пораженных частей тела моллюсков, и переходит в ярко выраженный разлитой отек. При 7,5 и 9,5 мг/дм³ токсиканта в среде первые случаи пастозности отмечены через 1 ч от начала опыта, а через 3 ч выраженный отек головы и ноги обнаруживался при 7,5 мг/дм³ серноокислого железа у 16, а при 9,5 мг/дм³ – у 22% особей. При 5,5 мг/дм³ токсиканта единичные отечные моллюски появляются через 12 ч пребывания их в затравленной среде, а через 24 и 48 ч они составляют 4 и 6% соответственно от общего количества подопытных *P. corneus*.

Обводнение тканей гидробионтов при их отравлении обычно связывают с обогащением водой цитоплазмы их клеток [8] в условиях повышения содержания углекислоты в их организме [13]. Набухшие части тела *P. corneus*, будучи резко увеличенными в объеме (в 1,5–2,5 раза), как правило, не вмещаются в полости раковины и вывисяют через ее устье наружу (реакция выпадения).

Роль обводнения тканей в ходе патологического процесса, вызванного отравлением моллюсков, неоднозначна. С одной стороны, возрастание массы тела вследствие умеренного его набухания (до реакции выпадения), сопровождающееся «разбавлением» находящихся в организме животных токсикантов, можно рассматривать как защитный процесс, способствующий хоть в какой-то мере ослаблению их повреждающего воздействия. С другой же стороны, развитие разлитого отека головы и ноги, и, как результат его, реакция выпадения, могут быть следствием развития у *P. corneus* адаптивно-компенсаторного процесса, состоящего в частичном (а иногда и полном)

«переключении» аэробного метаболизма углеводов на гликолиз. Известно [2, 6], что при несостоятельности аэробного расщепления углеводов это позволяет отравленным токсикантами моллюскам использовать альтернативный способ получения необходимой для поддержания их жизнедеятельности энергии, хотя и менее эффективный с точки зрения энергетического выхода. При анаэробном расщеплении углеводов энергетический субстрат, как известно [16], расходуется примерно в 10 раз быстрее, чем при аэробнозе. А посему сопряженное с реакцией выпадения обездвиживание *P. corneus*, «переключивших» аэробный обмен углеводов на гликолиз, можно расценивать как защитное приспособление, направленное на экономное расходование ими своих энергетических ресурсов. При всем этом, однако, не следует забывать, что реакция выпадения свидетельствует о крайне тяжелом течении патологического процесса, при котором обратимость отравления невозможна.

У *P. corneus* с выраженной реакцией выпадения к симптомокомплексу отравления растворами сернокислого железа добавляется полная потеря ими тактильной чувствительности. При 9,5 мг/дм³ сернокислого железа в среде через 12 ч экспозиции 4% животных не реагируют на механические раздражения, через 24 ч такие особи составляют 12, а через 48 ч – 20%. При 7,5 мг/дм³ токсиканта это имеет место у 8% моллюсков через 24 ч и у 14% – через 48 ч. При 5,5 мг/дм³ сернокислого железа такое нарушение регистрируется только лишь через 48 ч и всего лишь у 10% особей.

Клиническая картина острого отравления *P. corneus* растворами сернокислого железа не ограничивается лишь приведенными выше симптомами. К ним следует добавить быстрое одномоментное выделение обильных фекалий, завершающееся нередко выведением пустых перитрофических мембран; выметывание неполноценных кладок; «выпотевание» гемолимфы. Следует отметить, однако, что все эти нарушения наблюдаются очень редко и только при

далеко зашедшем, необратимом патологическом процессе, неизбежно ведущем к летальному исходу.

К моменту завершения эксперимента выживаемость *P. corneus* контрольной группы составила 100% (табл. 3).

3. Смертность (%) *P. corneus* в зависимости от концентрации сернокислого железа в среде и от длительности экспозиции

Токсикант, мг/дм ³	Экспозиция, ч			
	3	12	24	48
5,5		4,3	12,2	16,5
7,5	4,1	10,4	18,2	26,3
9,5	8,0	12,1	22,3	46,6

Экспонирование *P. corneus* во всех затравленных средах неизменно сопровождалось гибелью части животных. К моменту завершения эксперимента в среде при 5,5 мг/дм³ токсиканта выживаемость *P. corneus* составила 67%, при 7,5 – 41, при 9,5 мг/дм³ – 11%. Сроки наступления летального исхода у подопытных животных находились в прямо пропорциональной зависимости от концентрации токсиканта в среде и от длительности экспозиции. При 7,5 и 9,5 мг/дм³ сернокислого железа летальное время для *P. corneus* оказалось в 4 раза меньшим, чем при 5,5 мг/дм³ этого токсиканта.

Выводы

1. Время от момента погружения *P. corneus* в среды, затравленные сернокислым железом (5,5, 7,5, 9,5 мг/дм³), до появления первых признаков отравления составляет от 10 мин до 1 ч, а летальное время – от 3 до 12 ч.

2. Симптомокомплекс патологического процесса, вызванного отравлением моллюсков, включает быстрые поведенческие (проявление «беспокойства», реакция избегания) и физиологические реакции (усиление ослизнения тела, образование кровоподтеков, кровоизлияний, отслаивание и разрушение клеток кожного и респираторного эпителия, пастозность, разлитой отек головы и ноги, реакция выпадения, утрата тактильной чувствительности).
3. Клиническая картина отравления усугубляется с повышением концентрации токсиканта в среде и с увеличением длительности экспозиции.
4. При отравлении *P. corneus* сернокислым железом функцией-мишенью является легочное и кожное дыхание. Гибель отравленных животных наступает от асфиксии.

*Досліджено вплив сірчаноокислого заліза $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (5,5, 7,5, 9,5 мг/дм³) на швидкі (48 год) поведінкові і фізіологічні реакції витушки рогової *Planorbarius corneus* (Linnaeus, 1758). Встановлено концентрації токсикантів і строки проявлення реакції уникнення, ослизнення тіла, розвитку розлитого набряку його і повної втрати тваринами тактильної чутливості.*

The influence of the sulphur iron $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (5,5, 7,5, 9,5 mg/dm³) on the rapid (48 hours) conductive and physiological reactions have been investigated. The concentration of toxic substances and the terms of realization of avoid reaction, the secrete of plentiful mucus on the body surface, the development of gravity dropey of the head and the foot and loss of the sensibility have been detected.

1. *Алексеев В.А.* Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. – 1981. – Т. 17, №3. – С. 92–100.
2. *Биргер Т.И.* Метаболизм водных беспозвоночных в токсической среде. – Киев: Наук. думка, 1979. – 190 с.
3. *Брагинский Л.П.* Некоторые итоги исследований по водной токсикологии в Украине // Актуальные проблемы водной токсикологии. – Борок: ИБВВ РАН, 2004. – С. 11–13.
4. *Гайдаш Ю.К.* Динамика развития макрозообентоса Днепропетровского водохранилища (оз. Ленина) в условиях зарегулированного стока и промышленного загрязнения: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.16 – «Гидробиология». – Днепропетровск, 1986. – 20 с.
5. *Гусева Т.В., Молчанова Я.П., Заша Э.А. и др.* Гидрохимические показатели состояния окружающей среды. – М.: Эколайн, 2000. – 127 с.
6. *Маляревская А.Я.* Биохимические механизмы адаптации гидробионтов к токсическим веществам // Гидробиол. журн. – 1985. – Т. 21, № 3. – С. 70–82.
7. *Метелев В.В., Канаев А.И., Дзасохова Н.Г.* Водная токсикология. – М.: Колос, 1971. – 247 с.
8. *Насонов Д.М., Александров В.Я.* Реакция живого вещества на внешние воздействия. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1940. – 352 с.
9. Національна доповідь про стан навколишнього середовища в Україні у 2011 році. – К.: Міністерство екології та природних ресурсів України, 2012. – 184 с.
10. Правила охорони поверхневих вод від забруднення зворотними водами // Постанова КМ від 25.03.1999 р. №465 (із змінами, внесеними згідно Постанови КМ №748 від 07.08.2013). – К. – 5 с.
11. *Проссер Л., Браун Ф.* Сравнительная физиология животных. – М.: Мир, 1967. – 766 с.

12. *Романенко В.Д.* Основы гідроекології. – К.: Обереги, 2001. – 723 с.
13. *Строганов Н.С.* Роль среды в пластическом обмене у рыб // Обмен веществ и биохимия рыб. – М.: МГУ, 1967. С. 23–30.
14. *Филенко О.Ф., Михеева И.В.* Основы водной токсикологии. – М.: Колос, 2007. – 142 с.
15. *Хлебович В.В.* Акклимация животных организмов. – Л.: Наука, 1981. – 136 с.
16. *Harnish O.* Studien zum anaeroben und Erhollungsstoffwechsel der Larve von *Chironomus thummi* // *Z. Vergl. Physiol.* - 1938. – Bd. 28. – S. 200 - 240.
17. *Ramade F.* Ecotoxicology. – Chichester (West Sussex); New York: Wiley, 1987. – 262 p.

Житомирский государственный университет
им. И.Франко

Поступила