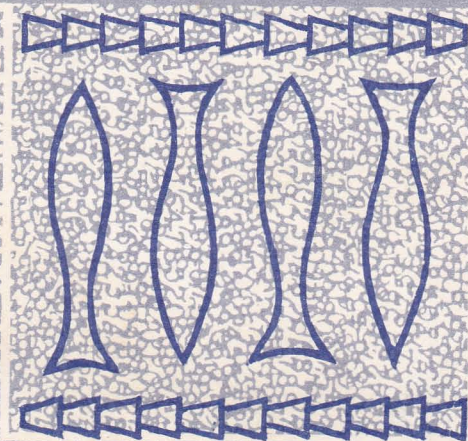




ФИЗИОЛОГИЯ И ПАРАЗИТОЛОГИЯ ПРЕСНОВОДНЫХ ЖИВОТНЫХ



1979



«НАУКА» ЛЕНИНГРАДСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

А К А Д Е М И Я Н А У К С С С Р

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД

ТРУДЫ, вып. 38 (41)

ФИЗИОЛОГИЯ И ПАРАЗИТОЛОГИЯ ПРЕСНОВОДНЫХ ЖИВОТНЫХ



Л Е Н И Н Г Р А Д

«Н А У К А»

ЛЕНИНГРАДСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

1 9 7 9

Сборник посвящен физиологическим и паразитологическим исследованиям пресноводных животных. В статьях рассматриваются физиологические механизмы действия распространенных токсических веществ, низких значений pH, вопросы иммунологии рыб. Приводятся сведения о паразитофауне рыб водохранилищ, влияния на нее экологических факторов, о морфо-физиологических особенностях основных форм паразитов рыб. Издание рассчитано на широкий круг специалистов в области физиологии, токсикологии и паразитологии водных животных, преподавателей и студентов гидробиологического профиля.

Главный редактор
Н. В. БУТОРИН

Ответственный редактор
Б. А. ФЛЕРОВ

**ФИЗИОЛОГИЯ И ПАРАЗИТОЛОГИЯ
ПРЕСНОВОДНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Труды, вып. 38 (41)

*Утверждено к печати
Институтом биологии внутренних вод
Академии наук СССР*

Редактор издательства Л. М. Маковская
Художник В. П. Сысалов
Технический редактор М. Э. Карлайтис
Корректоры Г. Н. Атлас, Е. А. Гинстлинг и С. И. Семиглазова

ИБ № 8871

Сдано в набор 1.03.79. Подписано к печати 21.08.79. М-05964.
Формат 70×108^{1/16}. Бумага № 1. Гарнитура обыкновенная. Печать
высокая. Печ. л. 12^{3/4} + 12 вкл. (1^{1/2} печ. л.)=19,95 усл. печ. л. Уч.-изд.
л. 20.74. Тираж 1350. Изд. № 7034. Тип. зак. № 144. Цена 3 р. 20 к.

Ленинградское отделение издательства «Наука»
199164, Ленинград, В-164, Менделеевская лин., 1

Ордена Трудового Красного Знамени
Первая типография издательства «Наука»
199034, Ленинград, В-34, 9 линия, 12

ЗАКИСЛЕНИЕ ВОДОЕМОВ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА МЕТАБОЛИЗМ У ПРЕСНОВОДНЫХ ЖИВОТНЫХ

Концентрация водородных ионов особенно важное значение имеет для пресноводных животных, поскольку пресные воды подвержены существенным сезонным и суточным изменениям кислотности и имеют чрезвычайно широкий спектр значений рН. Большую роль в жизни водных организмов играет рН среды. Величина рН и ее колебания нередко сказываются на продуктивности водоемов и распределении фауны и флоры [12].

В природных водоемах значение рН регулируется в основном системой CO_2 —бикарбонат—карбонат. В общей форме величина рН кислотноосновной пары выражается уравнением Гендерсона—Гассельбаха:

$$\text{pH} = \text{pK}'_a + \lg \frac{(\text{сопряженное основание})}{(\text{сопряженная кислота})},$$

где K'_a — кажущаяся константа равновесия. В пределах значений рН, близких к нейтральным, кислотно-щелочные свойства воды зависят от соотношения

$$\text{pH} = \text{pK}'_a + \lg \frac{[\text{HCO}_3]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}.$$

При температуре 25° pK'_1 составляет около 6.4, поэтому данная кислотноосновная система обладает наибольшей буферностью при рН 6.4. Кроме положения данной точки рН на кривой диссоциации, сила буфера зависит от его концентрации: сила буфера $= 2.303C \times (1-a)$, где a — отношение числа молей сопряженного основания к сумме числа молей сопряженной кислоты и сопряженного основания, C — исходная концентрация кислоты. В бикарбонатной буферной системе угольная кислота находится в обратном равновесии с растворенным CO_2 . Углекислота должна находиться в свою очередь в равновесии с газовой и водной фазами. Поскольку парциальное давление CO_2 в атмосфере относительно постоянно, то эффективность бикарбонатной системы зависит в основном от концентрации бикарбонатов. В пресных водах концентрация бикарбоната определяется главным образом содержанием солей щелочных и щелочноземельных металлов. Поэтому слабоминерализованные водоемы подвержены в первую очередь опасности закисления.

Природными источниками закисления могут быть избыточное накопление CO_2 , стоки болотных вод, содержащие большое количество органических кислот, гидролиз железистых солей, приводящих к образованию серной кислоты. Болотные и железистые воды часто имеют рН ниже 4.0 [1, 27]. Поступление кислот в водоемы происходит также с атмосферными осадками. Выпадение кислых осадков является важнейшим поставщиком в водоемы H_2SO_4 . Влияние кислотных осадков на физико-химический режим рек и озер особенно усилилось за последние 10—15 лет. По данным канадских исследователей [32], из 150 озер департамента Онтарио в 33 величина рН была ниже 4.5, что привело к почти полному уничтожению фауны, в 37 озерах составляла 4.5—5.5, а остальные озера находились

на грани закисления. Процесс ацидофикации в этих озерах происходит чрезвычайно интенсивно. В среднем на протяжении 10 лет (1961—1971) pH за год снижается на 0.1—0.2. Аналогичное явление наблюдается в озерах и реках Швеции, Норвегии, Финляндии.

Большинство авторов считает причиной такого катастрофического закисления водоемов Северной Америки и Европы загрязнение атмосферы в первую очередь окислами серы [50, 52, 81]. В ряде работ подмечена важность дождя и снега как импортера ионов в озера и реки Швеции, Англии и Финляндии [45, 50]. Выпадение снега с pH 4.0 вызвало колебание pH в скандинавских реках. Данные о повышенном содержании SO_3 в атмосферных осадках под Ленинградом приводятся в монографии О. А. Алекина [1]. На побережье Рыбинского водохранилища (пос. Борок) мы наблюдали выпадение осадков в течение мая 1977 г. со значениями pH 4.1—5.0.

В ряде работ имеются сведения, что атмосферные осадки, содержащие соединения серы, могут разноситься на большие расстояния [32, 52]. Кислые осадки, выпадающие в Швеции, являются следствием загрязнения атмосферы продуктами сгорания сернистых соединений в промышленных районах Центральной Европы [31]. Наиболее низкие pH наблюдаются в период таяния снега. С талыми водами в водоемы поступает большое количество кислых соединений, в то же время концентрация щелочноземельных и щелочных элементов в воде уменьшается, что вызывает снижение ее буферной емкости. В результате этих процессов в норвежских реках и озерах весной 1975 г. наблюдалось резкое снижение pH до 4.6, вызвавшее массовую гибель лососевых [60]. Значительное закисление пресных водоемов происходит также в результате сброса разнообразных промышленных и бытовых стоков. По данным Пакера и Дунсона [72], реки Пенсильвании загрязнены кислотными отходами горнодобывающей промышленности на протяжении более 1000 км. Кроме того, существенное значение в колебаниях pH имеет массовое развитие синезеленых водорослей. Отстой синезеленых водорослей имеет pH 4.5. Суточные изменения pH в результате цветения воды могут достигать нескольких единиц [24]. Эффект высоких концентраций водородных ионов на физиологические функции водных организмов в настоящее время изучен недостаточно. В первую очередь это касается беспозвоночных животных.

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ЗНАЧЕНИЙ pH НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ ВОДНЫХ ЖИВОТНЫХ

В отношении рыб имеется информация, позволяющая в общих чертах охарактеризовать пределы кислотности, приемлемые для их существования. Пресноводные рыбы могут выживать в воде с pH не ниже 5.0 [41]. Оптимум pH воды для рыбных популяций находится в пределах 6.7—8.6, нижний экстремальный предел равен 6.3. У лососевых рыб (*Salmo gairdneri*) 50%-я гибель наблюдается при pH 4.5 в течение 4—10 дней и зависит от содержания в воде двуокси углерода. Для различных видов прудовых рыб была также обнаружена токсичность воды с pH ниже 5.4. Низкие значения pH в значительной степени угнетают репродуктивную способность популяции рыб [32].

Естественно, что разные виды рыб обладают различной резистентностью к закислению. Опасная для карпов ацидофикация находится в пределах 4.8—5.4. Лещ, плотва и окунь не встречаются в воде с pH 4.2—4.4 [32].

В обследованных шведских озерах, где повышенная кислотность (pH 4.6) возникла за счет выпадения загрязненных атмосферных осадков, содержащих серную кислоту, были встречены лишь щуки и угри. Обитающий там ранее окунь обнаружен не был. В озере с pH 4.8 обитали щуки, угри и окуни. Авторы отмечают полное отсутствие молоди рыб, в том числе и щуки, уменьшение количества взрослой рыбы [32]. В водоемах с кислой

реакцией (рН 4.0—4.5) может размножаться лишь щука [12]. Из трех видов рыб (щука, окунь, плотва) наибольшей резистентностью обладает щука, наименьшей — плотва [9]. Продуктивность пресных вод с рН ниже 5.0 резко снижена, что помимо токсического эффекта приводит к уменьшению численности популяции рыб.

Распространение моллюсков с известковыми раковинами в значительной степени ограничено кислой реакцией среды. В водоемах с рН ниже 6.5 моллюски практически не встречаются, так как происходит растворение раковин. Многие ракообразные не переносят закисления среды. Молодь *Gammarus pulex* погибает в воде с рН 6.0—6.2. Отмечался токсический эффект рН ниже 6.0 у *Astacus pallipes* [90]. Веслоногие рачки *Calanus helgolandicus* также не переносят рН ниже 6.0 [6].

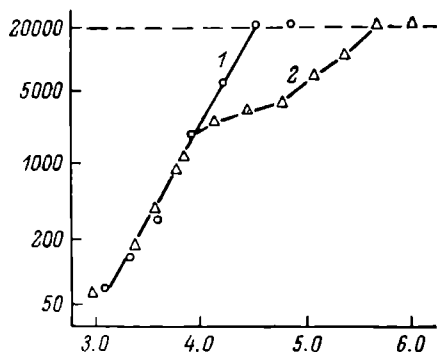


Рис. 1. Влияние CO_2 на резистентность форели (*S. gairdnerii*) в зависимости от рН воды (по: [62]).

1 — 1.5, 2 — 50 мг/л CO_2 . По оси ординат — среднее время жизни, мин; по оси абсцисс — значение рН.

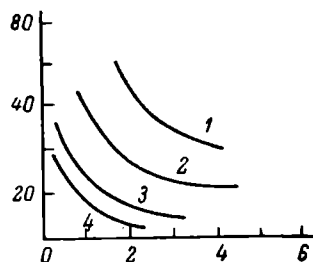


Рис. 2. Токсичность сульфида натрия для молоди карпа в зависимости от рН среды (по: [61]).

рН: 1 — 8.2, 2 — 7.4, 3 — 6.0, 4 — 5.2. По оси ординат — продолжительность жизни; по оси абсцисс — концентрация Na_2S , мг/л.

В природных условиях снижение рН воды зачастую тесно связано с изменением таких физико-химических характеристик, как концентрация минеральных и органических соединений, содержание кислорода и углекислоты. Очевидно, что резистентность видов к закислению при отклонении других абиотических факторов от оптимума может существенно отличаться от результатов однофакторных исследований. К сожалению, в настоящее время накоплено мало сведений о возможном взаимном действии закисления и других факторов внешней среды как естественных, так и антропогенных. Токсичность никель-цианистого комплекса при закислении среды от 7.5 до 6.5 увеличивается более чем в 100 раз [40]. Исследовано взаимное влияние на водных животных понижения рН и увеличения растворенного CO_2 [62]. Углекислота в концентрации 50 мг/л на порядок уменьшает время выживания лососей (*S. gairdnerii*) при рН 4.2—4.5 по сравнению с 1.5 мг/л CO_2 . Различия в токсичности высоких и низких концентраций CO_2 не наблюдается, если рН среды выше 5.5 (рис. 1). Подобные результаты содержатся и в других работах [6, 24]. Токсичность аммония для водных животных определяется формой NH_3 , а не NH_4^+ [97, 98]. Соотношение $\text{NH}_3 \rightleftharpoons \text{NH}_4^+$ в водных растворах зависит главным образом от рН и в меньшей степени от температуры [43]. В кислой среде токсичность аммония для рыб значительно ниже, чем в щелочной. Ядовитость сульфида натрия напротив увеличивается в десятки раз в кислой среде (рис. 2). Токсичность меди также во многом определяется рН среды, поскольку в водных растворах медь образует карбонатные и гидрокарбонатные соединения, имеющие разные константы диссоциации [62, 74].

Прогрессирующее кислотное загрязнение пресных водоемов и связанные с ним гибель ценных видов рыб, ухудшение качества воды, обеднение

биоценозов, снижение продуктивности рек и озер вызвали необходимость проведения эколого-физиологических исследований, посвященных изучению влияния низких рН на водных животных.

МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Еще сравнительно недавно концентрация водородных ионов как абиотический фактор в аутоэкологии недооценивался по сравнению с такими факторами, как температура, соленость, содержание кислорода и микроэлементов. Проведенные в последнее время исследования выявили глубокие физиолого-биохимические изменения, наступающие в организме в результате отклонения рН окружающей среды от оптимальных значений.

Механизмы регуляции кислотно-щелочного равновесия внутренней среды у водных животных исследовались многими авторами. Имеется ряд сводок, посвященных этому вопросу [21, 24, 30, 56]. Частично регуляция кислотно-щелочного равновесия осуществляется на уровне чисто физико-химических реакций, содержащих такие параметры, как константа диссоциации воды, кислот и буферных веществ, растворимость CO_2 и т. д. Эти величины зависят от температуры и ионной силы. Кроме того, важную роль играют концентрации веществ, включенных в кислотно-щелочной баланс. Это могут быть различные электролиты, белки плазмы, гемоглобин и другие буферные вещества. Поскольку уголекислота обладает способностью связываться катионами и образовывать соли, в основном бикарбонаты, то содержание CO_2 во внутренней среде зависит от ее буферной емкости. Двуокись углерода, образующаяся в результате метаболических реакций, диффундирует из тканей в кровь или полостную жидкость и переносится в виде растворенного CO_2 . Большая часть поступающего в плазму CO_2 проникает в эритроциты, где под действием фермента карбоангидразы образует угольную кислоту. Незначительная часть CO_2 непосредственно в плазме реагирует с водой, а образовавшаяся H_2CO_3 связывается буферными системами, как правило, белками. Отмечено, что чем выше содержание сывороточных белков и эритроцитов, тем больше буферная емкость крови рыб. В общей форме зависимость концентрации CO_2 от рН выражается уравнением Гендерсона—Гассельбаха. У беспозвоночных буферная емкость крови также создается во многом за счет белков и зависит от содержания дыхательных пигментов. Константы диссоциации угольной кислоты pK_1 и pK_2 в значительной степени определяются температурой и ионной силой. Так, pK_1 у краба *Carcinus maenas* с увеличением температуры от нуля до 20° изменяется от 6.12 до 6.06. При солености 35‰ pK_1 равна 6.14, а при 10‰ — 6.04. В тех же границах изменения солености и температуры pK_2 колеблются в больших пределах: от 9.69 до 9.13 в первом случае и от 9.53 до 9.41 во втором [94]. Таким образом, снижение температуры и увеличение ионной силы сдвигают константу диссоциации угольной кислоты в щелочную сторону, что может иметь защитное действие для организма при закислении среды.

У водных животных напряжение кислорода в крови или в целомической жидкости не уравновешено непосредственно его парциальным давлением в атмосфере. Как правило, дыхательные пигменты насыщаются при значительно более низком парциальном давлении кислорода. Если пигмент насыщается при высоком парциальном давлении, то он имеет низкое сродство к кислороду и наоборот. Сродство к кислороду принято выражать через парциальное давление $\text{O}_2(\text{PO}_2)$, при котором половина молекул дыхательного пигмента насыщена кислородом (P_{50}). Обычно кривая диссоциации оксигемоглобина выражается приближенным уравнением:

$$Y = \frac{100\text{HBO}_2}{(\text{HB} + \text{HBO}_2)},$$

где Y — процент гемоглобина, связанного с кислородом.

При снижении рН крови у большинства водных животных наблюдается уменьшение сродства гемоглобина к кислороду, и кривая диссоциации смещается в сторону большего PO_2 (нормальный эффект Бора). Эффект Бора отражает взаимосвязь между сродством дыхательных пигментов к кислороду и их кислотными свойствами. У многих рыб обычно S-образная кривая диссоциации оксигемоглобина при снижении рН не только смещается вправо, но и изменяет свою форму (рис. 3) [80]. Как правило, наблюдается взаимосвязь между эффектом Бора и количеством SH-групп в молекуле гемоглобина. Высказывается мнение, что на кислород может реагировать не только SH-группа, но и другие, способные присоединять протон и находящиеся в той части белка, которая подвергается конформационным изменениям в момент присоединения кислорода [67].

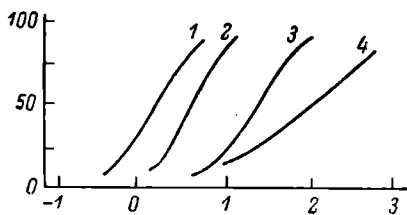


Рис. 3. Насыщение гемоглобина карпа кислородом в зависимости от его парциального давления и рН (по: [79]).

рН: 1 — 7.5, 2 — 7.0, 3 — 6.5, 4 — 5.6. По оси ординат — содержание гемоглобина, связанного с кислородом при 20°, %; по оси абсцисс — логарифм парциального давления растворенного кислорода (PO_2).

Таким образом, нарушение кислотно-щелочного баланса приводит к угнетению процесса газообмена. Закисление среды вызывает дефицит кислорода и способствует накоплению углекислоты в организме. Особо выраженный токсический эффект наблюдается при ацидофикации в воде с низким содержанием кислорода, когда незначительное снижение рН

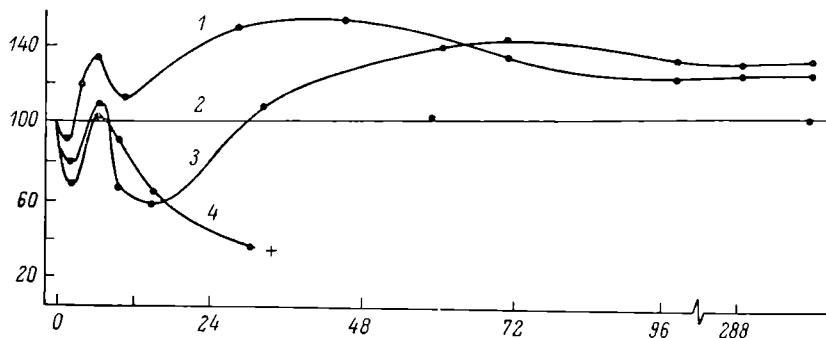


Рис. 4. Влияние снижения рН среды на дыхание карася (по: [23]).

рН: 1 — 6.0, 2 — 8.0, 3 — 4.5, 4 — 3.9, (+) — гибель животных. По оси ординат — интенсивность потребления кислорода, % от контроля; по оси абсцисс — время акклимации, ч.

крови может вызвать асфиксию и быструю гибель животных. Угнетение дыхания у рыб при снижении рН среды развивается также и при нормальном содержании кислорода в воде [73]. Однако в этом случае снижение потребления кислорода носит временный характер и через определенное время восстанавливается (рис. 4). Это связано с тем, что в основе адаптации газообменной функции рыб к закислению среды и к гипоксии лежат сходные механизмы [23]. У рыб, предварительно акклимированных к низкому содержанию кислорода, угнетение дыхания в кислой среде при нормальном содержании кислорода не наблюдается.

Как известно, накопление CO_2 в крови и снижение парциального давления кислорода включают ряд компенсаторных адаптивных реакций, направленных на нормализацию газообмена: усиление циркуляции крови, увеличение частоты дыхательного ритма и кислородной емкости крови, усиление экскреции водорода [42, 96]. Результаты позволяют считать, что при величинах рН, когда наблюдается эффект Бора, гибель водных животных не связана с асфиксией при кислотном стрессе.

В середине 60-х годов была выявлена взаимосвязь между процессами осмотической ионной регуляции и регуляцией кислотно-щелочного равновесия у рыб и ракообразных. Было показано, что ионы аммония и бикарбонаты активно экскретируются жабрами [49, 63—65]. В этих работах была доказана возможность абсорбировать натрий и хлор с различными скоростями, а также поглощать один ион независимо от другого. Измерения электропроводности наружной среды показали, что, несмотря на поглощение ионов, она постоянна. Это позволило предположить наличие обмена между экскретируемым и абсорбируемым ионами. Присутствие ионов аммония во внешней среде вызывает подавление притока натрия у рыб. Интерперитониальная инъекция аммония стимулирует противоположный эффект, хлоридный баланс при этом значительно не изменяется. Добавление бикарбонатов к наружной среде вызывает уменьшение притока хлора, а при их инъекции происходит стимуляция транспорта хлора через жабры. Ингибирование карбоангидразы вызывает одновременное подавление поглощения как натрия, так и хлора. Результаты этих экспериментов привели к 2 принципиальным выводам. Во-первых, они показали, что метаболиты NH_4^+ и HCO_3^- , от концентраций которых во многом зависит рН крови и внутриклеточное содержание ионов водорода, интенсивно экскретируются через жабры. Во-вторых, что способность к абсорбции катионов принципиально не зависит от абсорбции анионов и коррелирует с экскрецией ионов аммония и бикарбонатных ионов.

По вопросу ионной и осмотической регуляции накоплена литература и опубликован ряд сводок [10, 14, 19, 28, 36, 59, 89, 90]. Обязательным компонентом осмотической регуляции у пресноводных животных служит активный транспорт натрия и хлора через жабры из воды во внутреннюю среду. Другие биологически важные катионы и анионы также поступают в организм в основном через жабры. Угнетение работы механизмов транспорта электролитов в жабрах приводит к обессоливанию организма. Большое значение для процессов ионной регуляции имеет проницаемость эпителия жабр для воды и солей [7, 14, 87], а также сродство ионабсорбирующих механизмов к концентрации субстрата в наружной среде, которая обычно характеризуется константой полунасыщения [8, 51, 86, 92, 93].

В работах, посвященных $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$, H^+/Na^+ обменам через жабры пресноводных рыб, было показано, что экскреция NH_4^+ не зависит от концентрации Na^+ в наружной среде и скорости его поглощения. Скорость выделения H^+ меняется (не стехиометрически) с изменением транспорта Na^+ [46, 54]. Таким образом, жабры рыб работой двух ионообменных систем одновременно обеспечивают несколько метаболических функций, которые разделены между почкой и легкими у наземных позвоночных.

Исследования, проведенные в последние годы, позволили пересмотреть некоторые представления о механизме регулирования кислотно-щелочного равновесия у водных животных. Было показано, что важная роль в поддержании рН крови принадлежит Na^+/H^+ , $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$, $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ обменам в жабрах, обмену Na^+ , K^+/H^+ между кровью и тканями [34, 35, 42, 77, 78]. Восстановление буферной емкости крови при кислотном стрессе во многом объясняется активацией ионных насосов жаберного эпителия (рис. 5).

Впервые угнетение транспорта Na^+ через жабры у речного рака при закислении среды обнаружил Шоу [88]. Поглощение натрия резко падает при рН ниже 6.0, а при 4.0 почти полностью прекращается. Спустя десятилетие, было обнаружено сходное действие низких рН у гольца [72, 73]. Авторы наблюдали полное подавление поглощения натрия при рН 4.0. В последующих работах этот эффект был обнаружен и у других костистых рыб (рис. 6) [63, 64].

При рН ниже 3.9—4.5 происходит значительное увеличение проницаемости жаберного эпителия для ионов натрия [72, 73], калия, кальция и хлора (рис. 7).

Соотношение величин скоростей утечки ионов натрия, калия, кальция и хлора в кислой среде находится в соответствии с концентрацией этих ионов в крови и их подвижностью. Добавление в наружную среду солей кальция в концентрации более 40 мг/л Ca^{++} подавляет патологическую утечку натрия через жабры (рис. 8). Однако при дальнейшем снижении рН до 3.0—3.4 защитная роль ионов кальция проявляется лишь частично.

Обессоливание рыб и ракообразных в кислой среде было отмечено как в лабораторных, так и в полевых исследованиях [9, 60, 64, 72, 73, 83]. Ряд исследователей считает, что угнетение поглощения натрия при отклонениях рН от оптимума происходит вследствие изменения электростати-

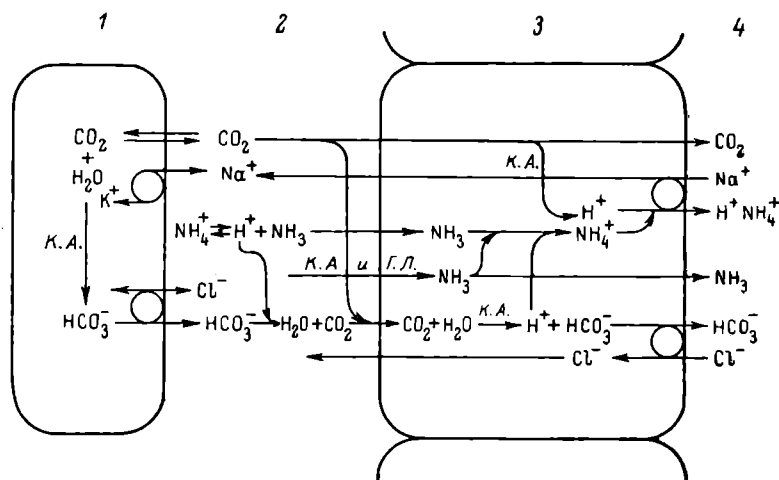


Рис. 5. Схема, иллюстрирующая значение ионного обмена в жабрах пресноводных животных для поддержания кислотно-щелочного, ионно-осмотического гомеостаза внутренней среды и удаление аммиака.

1 — эритроцит, 2 — кровь, 3 — клетки, 4 — наружная среда. Кружки — ионнообменные насосы Na^+/K^+ , Na^+/H^+ , NH_4^+ , $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$. К. А. — карбоангидраза, Г. Л. — глутамин (по: [65, 76]).

ческих характеристик ионных каналов и селективных свойств мембран для ионов натрия, водорода, аммония [39, 64]. У лососей в период закисления рек особенно сильно снижается уровень хлора и натрия в крови [60]. Концентрация двухвалентных катионов изменяется в меньшей степени.

Возможной причиной угнетения транспорта натрия и хлора вследствие изменения рН внешней среды может быть снижение активности различных ферментов. В первую очередь это касается Na^+ , K^+ и Mg^{++} активируемых АТФ-аз. У пресноводных видов главное значение для поглощения натрия имеет локализованная в жабрах и находящаяся в непосредственном контакте с наружной средой нечувствительная к оуабайну АТФ-аза, которая рассматривается в последнее время как «пресноводный» натриевый насос [29, 75].

Интенсивность и направленность транспорта ионов и воды в жабрах и почках у рыб зависят от активности этих ферментов [18, 44]. Было показано, что АТФ-азная активность отличается у разных видов рыб и имеет четко выраженные оптимумы рН [33].

Обессоливание, развивающееся при кислотном стрессе, приводит к глубоким изменениям в метаболизме организмов [17, 38, 70, 71]. Вслед за снижением натрия и хлора изменяется содержание в мышцах и в крови белка, аминокислот и сахаров [65, 84]. У аммонийотелесных животных (рыб, ракообразных) ионы натрия и хлора принимают участие в регуляции

активности энзима глутаматдегидрогеназы, катализирующей реакцию образования α -кетоглутарата из глутаминовой кислоты и в связи с этим играющей важную роль как в энергетическом обмене, так и в метаболизме аммиака [82].

Снижение уровня натрия в крови у *Carassius auratus* вызывало пятикратное увеличение аммония в плазме [64]. Токсические свойства аммония хорошо известны. Водные растворы аммиака обладают сильными основными свойствами (pK_a около 9.15). Накопление аммония может существенно изменить кислотно-щелочное равновесие в биологических жидкостях. Ионы аммония ингибируют катаболизм аминокислот и образование энергии в клетке за счет смещения реакции, активируемой глутаматдегидрогеназой, в сторону образования глутамата.

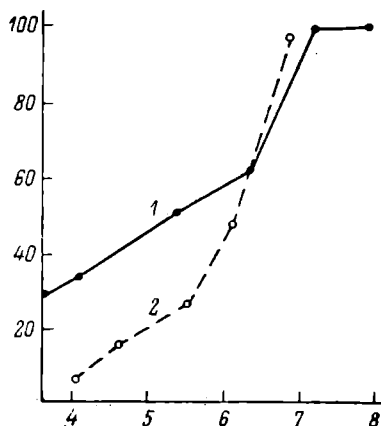


Рис. 6. Влияние различных значений pH на потребление O_2 *C. carassius* (1) и поглощение Na^+ *T. mossambica* (2). По оси ординат — потребление O_2 и поглощение Na^+ , %; по оси абсцисс — pH.

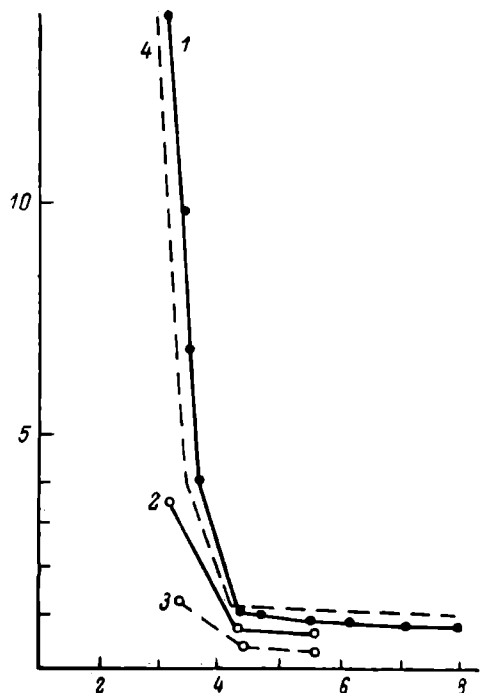


Рис. 7. Влияние низких значений pH на скорость общей потери различных ионов карасями в дистиллированной воде. 1 — Na^+ , 2 — K^+ , 3 — Ca^{++} , 4 — Cl^- . По оси ординат — скорость потери, мкм/г в час; по оси абсцисс — pH.

Соли аммония нарушают градиент водорода через митохондриальную мембрану, угнетают аккумуляцию калия митохондриями, что сказывается на энергетическом балансе клеток [76]. Показано, что внутриклеточное содержание сахаров, аминокислот, органических кислот снижается вслед за уменьшением концентрации неорганических ионов. Например, у речного рака изменение концентрации электролитов вызывает уменьшение содержания аминокислот и сахаров почти в 2 раза (см. таблицу). Концентрация белка в мышцах сохраняется на прежнем уровне, однако в жабрах его количество уменьшается [58].

Приведенные данные согласуются с представлением о взаимосвязи транспорта сахаров через клеточные мембраны и ионами натрия [20, 25, 84]. Установлено, что для накопления сахара в эпителиальных клетках кишечника и переноса его против градиента концентрации необходимо присутствие ионов натрия в достаточно высокой концентрации [26, 55]. Зависимость транспорта сахара от активного переноса натрия доказывается торможением накопления сахаров в тканях при действии специфических ингибиторов натриевого насоса [37, 69].

**Внутриклеточное содержание органических веществ
в зависимости от акклимации *Orconectes limnosus*
к пресной и морской воде [91]**

Вещества	Пресная вода	Морская вода
Неорганические ионы	99	170
Аминокислоты	62 ± 6	107 ± 10
Нейтральные сахара	23 ± 15	50 ± 16
Органические кислоты	85	117
Белки	960 ± 68	909 ± 54
Жиры	149 ± 10	150 ± 12
Полисахариды	4 ± 3	6 ± 3

В опытах на «тенях» эритроцитов было показано, что оптимум поглощения глюкозы находится при pH 7.0 [47], закисление pH до 5.2 изменяет максимальную скорость транспорта сахара [53].

Транспорт аминокислот во многом подобен транспорту сахаров, но в отличие от последних аминокислоты накапливаются большинством клеток. Как и транспорт сахаров, аккумуляция аминокислот зависит от натрия [84] и определяется градиентом натрия [95]. Накопление аминокислот угнетается увеличением концентрации сахара [68], что свидетельствует о конкуренции на уровне снабжения энергией транспортных систем сахаров и аминокислот, связанных с активным переносом натрия [20, 48, 85].

Контроль за поглощением натрия в жабрах у рыб осуществляется интерренальной системой [66]. Гормональная регуляция активного транспорта ионов происходит и в других тканях [3, 22]. Считается, что компенсаторные механизмы, ответственные за поддержание гомеостаза внутренней среды, при обессоливании начинают функционировать одновременно для метаболизма солей, сахаров, аммония, аминокислот и находятся под контролем гипофизарно-интерренальной системы [64].

Регуляторная система, работающая по принципу положительной и отрицательной обратной связи, характеризуется нелинейными переходными процессами [11], которые проявляются в функциональных изменениях при продолжительных отклонениях тех или иных параметров внешней среды от оптимума [4, 5, 15, 56, 57]. При длительном изменении pH среды в пределах толерантного диапазона у рыб наблюдается угнетение поглощения натрия с последующим его полным или частичным восстановлением (рис. 9). Величина первоначальных отклонений от нормы и скорость перестройки функциональной активности натрий-транспортирующей системы определяются степенью закисления среды [23]. Исследования проницаемости жабр для ионов и поглощения натрия в хронических экспериментах при воздействии различных pH позволили прийти к заключению, что граница устойчивости рыб к закислению определяется теми значениями pH, при которых происходит увеличение проницаемости

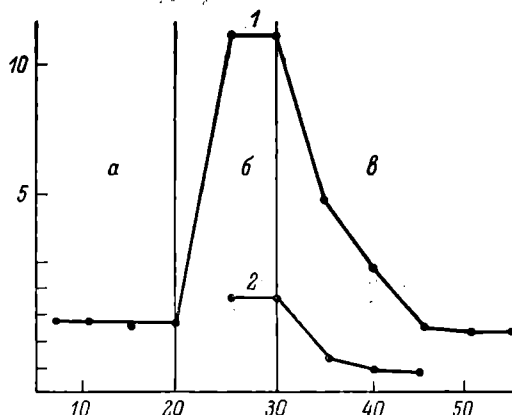


Рис. 8. Эффект Ca^{++} на скорость потери ионов при низком значении pH у карася.

Дистиллированная вода: а — pH 5.5, б — pH 3.6, в — pH 3.6, Ca^{++} 40 мг/л. 1 — Na^+ , 2 — K^+ . По оси ординат — скорость потери, мкм/г в час; по оси абсцисс — время, мин.

эпителия жабр для ионов. Эти значения различны у разных видов рыб и хорошо согласуются с результатами экологических исследований. Однако, как отмечалось ранее, взаимосвязь между изменением проницаемости и величиной концентрации водородных ионов во многом обусловлена содержанием в воде солей кальция. Поэтому в слабо минерализованных водоемах с низкими концентрациями ионов кальция толерантные границы величины pH для одних и тех же видов рыб могут иметь разные значения.

При рассмотрении действия pH , вызывающего патологическую утечку солей, у рыб обнаруживаются серьезные деструктивные изменения жаберного эпителия. Эпителий местами отслаивается от капилляров, наблюдается его поднятие, образуются большие полости, заполненные жидкостью. Ткань жабр пористая, клетки разобщены (рис. 10, а; см. вкл.). Наблюдается гипертрофия хлоридных, мукозных и дыхательных клеток (рис. 10, б). Изменения, возникающие в жабрах рыб при действии pH

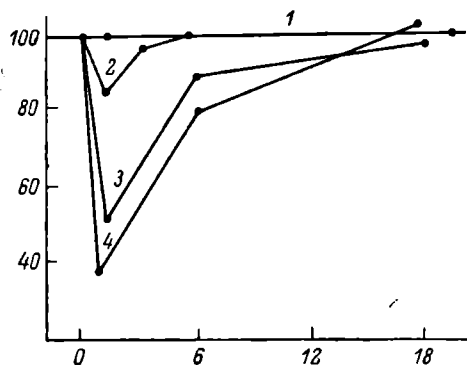


Рис. 9. Поглощение *T. mossambica* Na^+ при акклимации к низким значениям pH наружной среды (по: [23]).

pH : 1 — 8.0, 2 — 6.5, 3 — 5.0, 4 — 4.5. По оси ординат — скорость поглощения, % от контроля; по оси абсцисс — время, ч.

ниже 3.5, носят еще более выраженный характер. Наблюдаются многочисленные кровоизлияния и выход эритроцитов в межклеточное пространство. Подобная деструкция жаберного эпителия неспецифична и отмечалась ранее рядом авторов при действии высоких концентраций фенола, хлорофоса, полихлорпинена, солей тяжелых металлов [2, 13, 16].

Структура жаберных лепестков в значительной степени восстанавливается при добавлении в среду кальция (рис. 10, в). По сравнению с контролем (рис. 10, г) можно отметить лишь гиперемию жабр и инфильтрацию жаберной ткани лимфоцитами, но не столь значительную, как при действии бескальциевой среды.

Проницаемость эпителиальных тканей во многом обусловлена межклеточной проницаемостью [10, 19], которая в значительной мере зависит от ионов кальция. Роль кальция в поддержании клеточного контакта объясняется тем, что его ионы способствуют образованию между клетками так называемых «кальциевых мостов», стабилизирующих межклеточное пространство. Вероятно, этим обуславливается защитная роль кальция и его способность нормализовать структуру и проницаемость жаберного эпителия для ионов при кислотном стрессе.

Последние десятилетия в водоемах с низкой минерализацией ряда областей Северной Америки и Северной Европы наблюдается прогрессирующее понижение pH . Увеличение кислотности рек и озер является следствием выпадения кислых осадков, вызванных загрязнением атмосферы. Увеличение концентрации водородных ионов в пресных водах приводит к обеднению биоценозов, снижению продуктивности водоемов, вызывает массовую гибель рыбы и в первую очередь лососевых. Наиболее сильные колебания pH наблюдаются в период таяния снега. Когда в водоемы поступает большое количество воды с повышенной кислотностью. В это время pH может достигать величин 4.5—5.0, токсичных для большинства животных.

Низкие величины pH способствуют увеличению концентрации в воде углекислого газа, растворению карбонатов. Последнее имеет важное значение для выживания моллюсков с известковыми раковинами.

Увеличение концентрации водородных ионов и углекислоты в воде угнетает дыхание многих пресноводных животных. Потребление кислорода частично или полностью восстанавливается за счет изменений, происходящих в организме при адаптации к гипоксии. Особенно опасно закисление среды при низком парциальном давлении кислорода вследствие угнетения сродства дыхательных пигментов к содержанию кислорода.

Большое значение для понимания токсического эффекта низких рН имеют работы, в которых выявлена взаимосвязь между функционированием ионных насосов жабр, обеспечивающих высокую по сравнению с внешней средой концентрацию электролитов у пресноводных животных, и концентрацией водородных ионов в наружной среде. Сдвиг рН в кислую сторону на 1—2 единицы угнетает активный транспорт натрия и хлора в жабрах рыб и ракообразных. В результате нарушения ионной регуляции происходит снижение осмотического давления и содержания электролитов в организме. Работа натриевых насосов и концентрация натрия в клетках и в внеклеточной жидкости влияют на транспорт сахаров, аминокислот и их катаболизм, на экскрецию аммония из организма. Закисление среды одновременно с нарушением поглощения натрия и хлора могут вызывать изменения метаболизма аммония, сахаров и аминокислот, кислотно-щелочного баланса и иметь решающее значение для выживания вида при длительных незначительных отклонениях рН от оптимальных значений. Более низкие рН (менее 4.0—5.0) увеличивают проницаемость жаберного эпителия у рыб и ракообразных для ионов и в том числе водорода. В этом случае скорость диффузии солей из организма возрастает в несколько раз. Одновременно концентрация электролитов в крови быстро снижается, происходит интенсивное поступление водорода по градиенту концентрации во внутреннюю среду и параллельно с обессоливанием развивается ацидоз. При еще более низких значениях рН отмечаются серьезные деструктивные изменения в жаберном эпителии, которые наиболее интенсивно протекают в среде, содержащей менее 20—40 мг/л кальция. Обессоливание и ацидоз в этих условиях протекают настолько быстро, что делают невозможным выживание организмов сколь-либо длительное время. Значения рН, вызывающие изменения проницаемости жаберного эпителия, коррелируют с нижними границами величин рН, при которых те или иные виды рыб встречаются в природных условиях.

Л и т е р а т у р а

1. А лекс и н О. А. Общая гидрохимия. Л., 1948. 208 с.
2. А ндрес Т. Г., Куражковская Т. Н. Гистопатологические изменения у леща (*Abramis brama* L.) при остром отравлении фенолом в эксперименте. — В кн.: Физиология водных организмов и их роль в круговороте органического вещества. Л., 1969, с. 73—86.
3. Б е км у х а м е т о в а З. У. Гормональная регуляция транспорта ионов. Ташкент, 1975. 140 с.
4. Б е рг е р В. Я., Л у к а н и н В. В., Л а п ш и н В. Н. Дыхание некоторых беломорских литоральных моллюсков в процессе акклиматизации к изменениям солености среды. — Экология, 1970, т. 1, № 5, с. 68—72.
5. Б е рг е р В. Я., Х а з а р о в а А. Д. Исследование субстанциональных изменений и синтеза белка в процессе адаптации некоторых беломорских моллюсков к понижению солености среды. — Цитология, 1971, т. 13, № 10, с. 1299—1303.
6. Б е р е з и н а М. А. Гидробиология. М., 1973. 495 с.
7. В и н о г р а д о в Г. А. Осмотическая регуляция некоторых ледниковых реликтовых ракообразных в связи с особенностями их экологии и происхождения. — В кн.: Соленостные адаптации водных организмов. Л., 1976, с. 176—209.
8. В и н о г р а д о в Г. А., Д р о б ы ш е в В. П. Некоторые параметры осморегуляции и дыхания пресноводной амфилозы *Gammaranthus lacustris* Sars. в процессе акклимации. — ДАН СССР, 1973, т. 213, № 4, с. 956—958.
9. В и н о г р а д о в Г. А., С о к о л о в В. А., Ф л е р о в а Г. И. Потеря иона натрия и изменения рН крови у рыб, подвергнутых действию кислой среды. — Тез. докл. на III Всесоюз. конф. по экологической физиол. рыб. Киев, 1976, ч. 1, с. 76—77.

10. Гинецкий А. Г. Физиологические механизмы водносолевого равновесия. М.—Л., 1964. 427 с.
11. Гродин Ф. Теория регулирования биологических систем. М., 1966. 506 с.
12. Дажо Р. Основы экологии. М., 1975. 415 с.
13. Дзасохова Н. Г. Изучение сравнительной эффективности терапевтического действия аммиака, поваренной соли, хлорофоса и других препаратов при эктопаразитах рыб. — Автореф. канд. дис., М., 1968. 24 с.
14. Карандеева О. Г. Процессы, обеспечивающие осморегуляцию у водных беспозвоночных. — В кн.: Физиология морских животных. М., 1966, с. 176—232.
15. Луканин В. В. Исследование адаптивных реакций сцифомедузы Белого моря *Aurelia aurita* (L.) к изменению солености внешней среды. — В кн.: Соленостные адаптации водных организмов. Л., 1976, с. 26—59.
16. Межнин Ф. И. Патогистологические изменения органов и тканей гуппи при остром отравлении полихлорпином, фенолом и при повышенной солевой нагрузке. — В кн.: Влияние фенола на гидробионтов. Л., 1973, с. 44—66.
17. Наточин Ю. В. Адаптация к обессоливанью животных с различным типом осморегуляции. — ЖЭБиФ, 1965, т. 1, № 6, с. 523—530.
18. Наточин Ю. В., Краюшкина Л. С., Маслова М. И., Соколова М. М., Бахтеева В. Г., Лаврова Е. А. Активность ферментов в жабрах и почках и эндокринные факторы регуляции ионного обмена у покатной и нерестующей нерки *Oncorhynchus nerka* (Walb.). Вopr. ихтиол., 1975, т. 15, № 1, с. 131—140.
19. Наточин Ю. В., Чапек К. Методы исследования транспорта ионов и воды. Л., 1976. 283 с.
20. Никольский Н. Н., Трошин А. С. Транспорт сахаров через клеточные мембраны. Л., 1973. 219 с.
21. Проссер Л., Браун Ф. Сравнительная физиология животных. М., 1967. 766 с.
22. Протасова Т. Н. Гормональная регуляция активности ферментов. М., 1975. 237 с.
23. Соколов В. А., Виноградов Г. А. Изучение адаптации рыб к различным значениям pH наружной среды. — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1977, № 33, с. 55—59.
24. Строганов И. С. Экологическая физиология рыб. М., 1962, т. 1. 444 с.
25. Файтельберг Р. О. Всасывание углеводов, белков и жиров в кишечнике. Л., 1967. 237 с.
26. Файтельберг Р. О., Алексеева З. М. О механизме совместного всасывания глюкозы, глицина и хлористого натрия в тонком кишечнике собак. — Физиол. журн. СССР, 1966, т. 52, № 1, с. 91—98.
27. Хатчинсон Д. Лимнология. М., 1969. 591 с.
28. Хлебович В. В. Критическая соленость биологических процессов. Л., 1974. 235 с.
29. Хочачка Д., Сомеро Д. Стратегия биохимической адаптации. М., 1977. 398 с.
30. Albers S. Acid—Base Balance. Fish Physiology. IV. N. Y.—San Francisco—L., p. 173—205.
31. Barrett E., Brodin G. The acidity of Scandinavian precepitation. — Tellus, 1955, vol. 7, N 2, p. 251—257.
32. Beamish R. I., Harvey H. H. Acidification of the La Cloche Mountain Lakes, Ontario and Resulting Fish Mortalities. — J. Fish. Res. Board Canada, 1972, vol. 29, N 8, p. 1131—1143.
33. Bonting S. Studies on sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase. XV. The rectal gland of the elasmobranch. — Compt. Biochem. Physiol., 1966, vol. 17, N 4, p. 953—966.
34. Cameron F. N., Polhemus F. A. Theory of CO₂ exchange in trout gills. — J. Exptl Biol., 1974, vol. 60, N 1, p. 183—194.
35. Cameron F. N., Randall D. F. The effect of increased ambient CO₂ on arterial CO₂ tension, CO₂ content and pH in rainbow trout. — J. Exptl Biol., 1972, vol. 57, N 3, p. 673—680.
36. Conte F. P. Salt Secretion. — In: Fish Physiology. N. Y.—L., 1969, vol. 1, p. 141—283.
37. Csaky T. Z., Hara G. Inhibition of active intestinal sugar transport. — Amer. J. Physiol., 1965, vol. 200, N 3, p. 459—460.
38. Cuthbert A. W., Maetz J. The effects of calcium and magnesium on sodium fluxes through gills of *Carassius auratus* L. — J. Physiol., 1972, vol. 221, N 3, p. 633—643.
39. Diamond J. M., Wright E. M. Biological membranes the physical basis of ion and nonelectrolyte selectivity. — Ann. Rev. Physiol., 1969, vol. 31, p. 581—646.
40. Doudoroff P. Some experiments on the toxicity complex cyanides to fish. — Sewage Industr. Wastes, 1956, vol. 28, N 5, p. 1020—1040.
41. Doudoroff P., Katz M. Critical review of literature on the toxicity of industrial wastes and their components to fish. I. Alkalines acids and inorganic gases. — Sewage Industr. Wastes, 1950, vol. 22, N 6, p. 1432—1458.

42. E d d y F. B. Acid-base balance in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Subjected to acid stresses. — J. Exptl Biol., 1976, vol. 64, N 1, p. 159—171.
43. E m e r s o n K., R u s s o R. C., L u n d R. E., T h u r s t o n R. V. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. — J. Fish. Res. Board Canada, 1975, vol. 32, N 10, p. 2379—2383.
44. E p s t e i n F., K a t z A., P i c k f o r d G. Sodium and potassium-activated adenosine triphosphatase of gills: Role in adaptation of teleosts to salt water. — Science, 1967, vol. 156, N 6, p. 1245—1247.
45. E r i k s s o n E. Air borne salt and the chemical composition of river waters. — Tellus, 1955, vol. 7, N 1, p. 243—250.
46. E v a n s D. H. Ionic exchange mechanisms in fish gills. — Compt. Biochem. Physiol., 1975, vol. 51, A, N 3, p. 491—495.
47. F a u s t R. G. Monosaccharide penetration into human red blood cells by altered diffusion mechanism. — J. Cellular and Compar. Physiol., 1960, vol. 56, N 2, p. 103—121.
48. F r i z z e l l R. A., S c h u l t z S. G. Distinction between galactose and phenylalanine effects on alanine transport in rabbit ileum. — Biochim. et biophys. acta, 1971, vol. 78, N 4, p. 773—774.
49. G a r c i a R o m e u E., M a e t z J. The mechanism sodium and chloride uptake by the gills of a fresh-water fish *Carassius auratus*. I. Evidence for an independent uptake of sodium and chloride ions. — J. Gen. Physiol., 1964, vol. 47, N 7, p. 1195—1207.
50. G o r h a m E. Factors influencing supply of major ions to inland waters, with special reference to the atmosphere. — Geol. Soc. Amer. Bull., 1961, vol. 72, N 4, p. 795—840.
51. H a r r i s R. R. Aspects of sodium regulation in a brackish water and a marine species of the isopod genus *Sphaeroma*. — Marine Biol., 1972, vol. 12, N 1, p. 8—27.
52. I u n g e C. E. Atmospheric chemistry. — Advances Geophys., 1958, vol. 4, N 4, p. 1—108.
53. J u n g G. J., C a r l s o n Z. M., W h a l e y D. S. Glucose transport carrier activities in extensively washed human red cell ghosts. — Biochim. et biophys. acta, 1971, vol. 241, N 2, p. 613—627.
54. K e r s t e t t e r T. H., K i r s c h n e r L. B., R a f u s e D. D. On the mechanisms of sodium ion transport by the irrigated gills of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). — J. Gen. Physiol., 1970, vol. 56, N 3, p. 342—359.
55. K i m i c h G. A. Active sugar accumulation by isolated intestinal epithelial cells. A new model for sodium-dependent metabolite transport. — Biochemistry, 1970, vol. 9, N 19, p. 3669—3678.
56. K i n n e O. Non-genetic adaptation to temperature and salinity. — Helgol. Wiss. Meeresuntera, 1964, vol. 9, N 1—4, p. 433—458.
57. K i n n e O. Salinity-Animals Invertebrates. — Marine Ecology (Environmental Factors), 1971, vol. 1, N 2, p. 820—995.
58. K i n n e O. Marine Ecology. L.—N. Y.—Sidney—Toronto, 1975, vol. 2. 570 p.
59. K r o g h A. Osmotic regulation in aquatic animals. Cambridge, 1939. 242 p.
60. L e i v e s t a d H., M u n i z I. P. Fish kill at low pH in a Norwegian river. — Nature, 1976, vol. 259, N 5, p. 391—392.
61. L i e b m a n n H. Handbuch der Frischwasser und Abwasser Biologie. Jena. 1960, Bd 2, L. 5, S. 641—800.
62. L l o y d R., J o r d a n D. H. Some factors affecting the resistance of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) to acid waters. — Air Water Pollut. Int. J., 1964, vol. N 2, p. 393—403.
63. M a e t z J. Branchial sodium exchange and ammonia excretion in the goldfish *Carassius auratus*. Effects of ammonia loading and temperature changes. — J. Exptl Biol., 1972, vol. 56, N 3, p. 601—620.
64. M a e t z J. $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$, Na^+/H^+ exchanges, NH_3 movement across gill of *Carassius auratus*. — J. Exptl Biol., 1973, vol. 58, N 1, p. 255—275.
65. M a e t z J., G a r c i a R o m e u F. The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of a freshwater fish *Carassius auratus*. II. Evidence for $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$ and $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ exchanges. — J. Gen. Physiol., 1964, vol. 47, N 7, p. 1029—1229.
66. M a e t z J., M o t a i s R., M a y e r N. Isotopic kinetic studies on endocrine control of teleostean ionoregulation. — Excerpta med. Int. Congr. series, 1968, vol. 184, N 2, p. 226—232.
67. M a n w e l l C. Comparative physiology: Blood pigments. — Ann. Rev. Physiol., 1960, vol. 22, N 1, p. 191—244.
68. M u n c k B. G. Amino acid transport by the small intestine of the rat. Effects of glucose on transintestinal transport of proline and valine. — Biochim. et biophys. acta, 1968, vol. 150, N 1, p. 82—91.
69. N e w e y H., S a n f o r d I. A., S m y t h D. H. Some effects of a ouabain and potassium on transport and metabolism in rat small intestine. — J. Physiol., 1968, vol. 194, N 1, p. 237—248.
70. O l i v e r a u M. Influence d'un sejour en eau demineralisee sur le systeme hypothalamo-surrenalienne de languille. — Annis. Endocr. Paris, 1966, vol. 27, N 3, p. 665—678.

71. Oliverau M. Reactions observees chez l'anguille maintenue dans un milieu prive d'electrolites en particulier au niveau du systeme hypothalamo-hypophysaire. — Z. Zellforsch. mikrosk. Anat., 1967, vol. 80, N 2, p. 264—285.
 72. Packer R. K., Dunson W. A. Effects of low environmental pH on blood pH and sodium balance of brook trout. — J. Exptl Zool., 1970, vol. 74, N 1, p. 65—72.
 73. Packer R. K., Dunson W. A. Anoxia and sodium loss associated with the death of Brook Trout at low pH. — Compt. Biochem. Physiol., 1972, vol. 41 A, N 1, p. 17—26.
 74. Pagenkopf G. K., Russo R. C., Thurston R. V. Effects of Complexation on toxicity of Copper to Fishes. — J. Fish. Res. Board Canada, 1973, vol. 31, N 3, p. 462—465.
 75. Pfeiler E., Kirshner L. B. Studies on gill ATP-ase of rainbow trout. — Biochim. biophys. acta, 1972, vol. 282, N 2, p. 301—310.
 76. Prosser L. Comparative animal physiology. Philadelphia—Toronto—L., 1973, vol. 1, ch. 7, p. 279—316.
 77. Randall D. J., Camerton J. N. Respiratory control of arterial pH as temperature changes in rainbow trout *Salmo gairdneri*. — Amer. J. Physiol., 1973, vol. 225, N 5, p. 997—1002.
 78. Renizis G., Maetz J. Studies on the mechanisms of chloride absorption by the goldfish gill; relation with acid-base regulation. — J. Exptl Biol., 1973, vol. 59, N 2, p. 339—358.
 79. Riggs A. Properties of fish hemoglobins. In: Fish physiology. N. Y.—San Francisco, 1970, vol. 4, p. 209—246.
 80. Root R. The respiratory function of the blood of marine fishes. — Biol. Bull., 1931, vol. 61, N 3, p. 427—456.
 81. Schindler D. W. A hypothesis to explain differences and similarities among lakes in the Experimental Lakes Area, northwestern Ontario. — J. Fish Res. Board Canada, 1971, vol. 28, N 2, p. 295—301.
 82. Schoffeniels E. Effects of inorganic ions on the activity of L-glutamic acid dehydrogenase. — Sci. Life, 1964, N 3, p. 845—850.
 83. Schoffeniels E. The control of intracellular hydrogen transport by inorganic ions. — Arch. internat. Physiol. Biochem., 1968, vol. 76, p. 319—343.
 84. Schultz S. G., Curran P. E. Coupled transport of sodium and organic solutes. — Physiol. Rev., 1970, vol. 50, N 4, p. 637—718.
 85. Semenza G. On the mechanism of mutual inhibition among sodium-dependent transport systems in the small intestine, A hypothesis. — Biochim. et biophys. acta, 1971, vol. 241, N 2, p. 637—646.
 86. Shaw J. The adsorption of sodium ions by the crayfish *Astacus pallipes* Lereboullet. I. The effect of external and internal sodium concentrations. — J. Exptl Biol., 1959, vol. 36, N 1, p. 126—144.
 87. Shaw J. Salt and water balance in the East African Freshwater crab *Potamon niloticus* (M. Eduw.). — J. Exptl Biol., 1959, vol. 3, N 1, p. 157—176.
 88. Shaw J. The absorption of sodium ions by the crayfish *Astacus pallipes* Lereboullet. III. The effect of other cations in the external solution. — J. Exptl Biol., 1960, vol. 37, N 3, p. 548—556.
 89. Shaw J. The mechanisms of osmoregulation. — In: Comparative biochemistry. — N. Y.—L., 1960, vol. 11, N 9, p. 571—618.
 90. Shaw J. Sodium balance in *Eriocheir sinensis*. The adaptation of *Crustacea* to freshwater. — J. Exptl Biol., 1961, vol. 38, N 1, p. 153—162.
 91. Siebers D. Mechanismen der intrazellularen isoosmotischen Regulation der Aminosäurekonzentration bei dem Flusskrebs *Orconectes limosus*. — Z. vergl. Physiol., 1972, vol. 76, N 1, p. 97—114.
 92. Sutcliffe D. W. Sodium regulation and adaptation to freshwater in *gammarid crustaceans*. — J. Exptl Biol., 1968, vol. 48, p. 355—380.
 93. Sutcliffe D. W. Sodium influx and loss in freshwater and brackishwater population of the amphipod *Gammarus duebeni* Lilljeborg. — J. Exptl Biol., 1971, vol. 54, N 255, p. 268.
 94. Truchot J. P. Carbon dioxide combining properties of the blood of the shore crab *Carcinus maenas* (L.): Carbon dioxide solubility coefficient and carbonic acid dissociation constants. — J. Exptl Biol., 1976, vol. 64, N 1, p. 45—57.
 95. Vidaver G. A. Glicine transport by hemolyzed and restored pigeon red cells. — Biochemistry, 1964, vol. 3, N 6, p. 795—798.
 96. Weber R. E., Lykkeboe G., Jonansen K. Physiological properties of eel haemoglobin: hypoxic acclimation, phosphate effects and multiplicity. — J. Exptl Biol., vol. 64, N 1, p. 75—88.
 97. Wührmann K., Woker H. Beiträge zur Toxikologie der Fische. II. Experimentelle untersuchungen über die Ammoniak- und Blausäurevergiftung. — Schweiz. Z. Hydrol., 1948, Bd 11, H. 2, S. 210—244.
 98. Wührmann K., Zehender F., Woker H. Über die fischereibiologische Bedeutung des Ammonium und Ammoniak gehalten flussender Gewässer. — Vierteljahrsschr. Naturforsch. Ges. Zürich, 1947, vol. 92, S. 198—204.
-

АДАПТАЦИЯ ВОДНЫХ ЖИВОТНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ОСМОРЕГУЛЯЦИИ К ПОНИЖЕНИЮ pH ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

В последние годы при изучении биологии пресноводных организмов все более актуальной становится проблема взаимодействия гидробионтов с абиотическими факторами среды. В ответ на изменения абиотических условий организм отвечает компенсаторными функциональными перестройками деятельности различных систем. Способность к адаптивным реакциям зависит от генетической природы исследуемых видов [14]. Вопрос об адаптационной пластичности организма непосредственно связан с вопросом о пределах фенотипической адаптации, определяемой нормой реакции. Следует отметить, что механизмы процессов, осуществляющих приспособление к изменению pH среды, фактически не изучены. В связи с этим существенное значение могут иметь эксперименты, в которых исследуются реакции пресноводных животных в ответ на различные по продолжительности и величине изменения pH.

Исследование транспорта ионов, осуществляемого специализированными клетками жабр рыб и ракообразных, представляет интерес для многих разделов биологии, поскольку в клетках этих органов мембранные механизмы переноса ионов получили в процессе эволюции максимальное развитие. Изучение влияния различных абиотических факторов среды на трансэпителиальный перенос ионов и осморегуляцию имеет особое значение для пресноводной аутоэкологии.

Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что функционирование осморегуляторных систем у пресноводных животных в значительной степени зависит от pH среды обитания [6, 20].

Выбор в качестве подопытных объектов как пресноводных, так и эвригалинных форм обусловлен желанием избежать тех методических трудностей, которые возникают при работе со стеногалинными видами.

Опыты проводили на эвригалинном бокоплаве (*Gammaracanthus lacustris*) весом 0.3—0.6 г, эвригалинной рыбе колюшке трехиглой (*Gasterosteus aculeatus*) — 0.8—1.2 г, карпе (*Ciprino carpio*) — 5—10 г, морской полихете (*Arenicola marina*) — 8—11 г, пресноводном моллюске (*Limnaea stagnalis*) — 1—2 г. Эксперименты с эвригалинными и морскими видами ставили при температуре 5—10°, с карпами и прудовиками — при 18—20°. Животных акклиматизировали к пресной воде (ПВ), разбавленной морской воде, содержащей 250 мМ/л NaCl (РМВ), и к морской воде соленостью 24—25‰ (МВ).

Активное поглощение и общую потерю натрия изучали методом фотометрии в пламени. Содержание электролитов в гемолимфе и потерю солей определяли кондуктометрическим методом. Концентрацию водородных ионов измеряли на pH-метре. Количество растворенного кислорода определяли полярографическим методом на полярографе ОН-102. Одновременно измерения проводили на 4—14 особях. В экспериментальных аквариумах pH поддерживали на заданном уровне добавлением соляной кис-

лоты. Отклонения рН от первоначальных значений в течение опыта не превышали ± 0.15 .

Исследование выживаемости показало, что бокоплавы в РМВ переносят более значительное закисление среды (рН 4.1—4.2), чем в ПВ (рН 5.0—5.1). Гибель рачков в разбавленной морской и пресной воде происходит при разных значениях рН гемолимфы и концентрации в ней ионов (см. таблицу).

Концентрация электролитов и рН гемолимфы перед гибелью бокоплавов в кислой среде и дистиллированной воде (ДВ)

рН среды	Среда акклиматизации	Концентрация электролитов и Na в гемолимфе, мм/л (в пересчете на NaCl) $M \pm m$		рН гемолимфы $M \pm m$	n
		электролиты	натрий		
3.1	РМВ	310 ± 15	255 ± 5	6.35 ± 0.1	5
3.5	ПВ	105 ± 10	100 ± 10	6.6 ± 0.2	4
3.5	РМВ	305 ± 15	255 ± 10	6.4 ± 0.1	5
4.5	ПВ	105 ± 15	90 ± 15	6.95 ± 0.15	6
7.0	ДВ	—	90 ± 5	7.6 ± 0.1	6

У гаммаракантусов, адаптированных к морской воде, транспорт через жабры находится в инактивированном состоянии. Содержание ионов в гемолимфе обусловлено содержанием их в наружной среде, полостная жид-

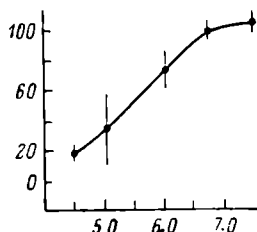


Рис. 1. Влияние рН на скорость поглощения натрия *G. lacustris*.

По оси ординат — скорость поглощения Na, % от контроля; по оси абсцисс — рН.

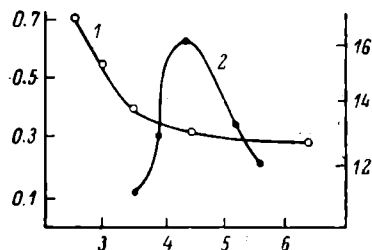


Рис. 2. Зависимость скорости общей потери натрия и концентрации электролитов в дистиллированной воде, оттитрованной HCl, от рН среды *G. lacustris*.

1 — скорость общей потери Na, 2 — суммарная концентрация электролитов. По оси ординат: слева — скорость потери Na в дистиллированной воде, мг/г в час, справа — концентрация электролитов, мм/л (в пересчете на NaCl); по оси абсцисс — рН наружной среды.

кость изотонична внешней среде. В пресной воде гемолимфа гипертонична по отношению к наружной среде.

Концентрация электролитов в полостной жидкости поддерживается активным поглощением ионов из воды жаберным эпителием [4]. В разбавленной морской воде бокоплавы погибают при рН гемолимфы 6.3—6.4, в пресной — при более высоких значениях. Содержание ионов в гемолимфе у рачков из пресной воды при закислении среды уменьшается и достигает перед гибелью таких же критических значений, как и при обессоливании в дистиллированной воде. Закисление среды ниже рН 6.5 угнетает активное поглощение натрия (рис. 1) и увеличивает общую потерю этого иона в дистиллированной воде (рис. 2). Оба процесса вызывают нарушения в осмотической и ионной регуляции у бокоплавов. Уменьшение скорости переноса натрия смещает баланс этого иона в сторону преобладания диффузии над активным транспортом. Вследствие этого происходит

снижение содержания натрия и падение осмотического давления в гемолимфе. Токсический эффект низких pH резко усиливается при концентрации натрия в воде менее 0.6—0.7 мм/л. Гаммаракантусы, адаптированные к воде, содержащей 0.4 мм/л NaCl, погибали при pH 5.5—5.7. Это связано, вероятно, с уменьшением поглощения натрия из воды, содержащей менее 0.6 мм/л NaCl, и снижением концентрации натрия и осмотического давления в гемолимфе вследствие недостаточного средства натрий-транспортирующей системы в этом диапазоне концентраций [4, 5]. Увеличение проницаемости также приводит к уменьшению натрия в гемолимфе и обессоливаннию организма. Очевидно, что в период линьки, когда проницаемость покровов значительно увеличивается и содержание ионов в гемолимфе уменьшается, снижение pH в среде будет наиболее токсично. Фактически нижняя граница выживаемости вида по отношению к pH будет отличаться от летальных значений pH (5.0—5.1) в экспериментах с животными, находящимися в межлиночном периоде.

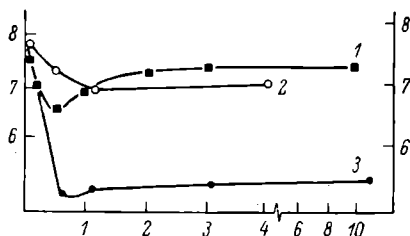


Рис. 3. Динамика изменения содержания натрия и pH гемолимфы при акклимации *G. lacustris* к кислой среде.

1 — значение pH гемолимфы при акклимации к pH 5.1—5.2, 2 — концентрация Na в гемолимфе при акклимации к pH 5.5—5.6, 3 — то же при акклимации к pH 5.1—5.2. По оси ординат: слева — содержание Na в гемолимфе (г/л) в пересчете на NaCl, справа — pH гемолимфы; по оси абсцисс — время акклимации, сутки.

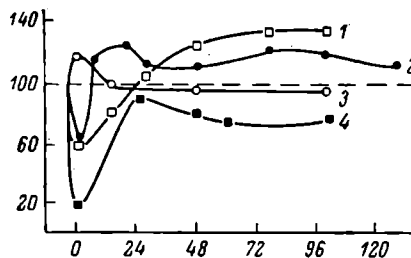


Рис. 4. Потребление кислорода (карп) при акклимации к низким pH среды.

pH: 1 — 3.8, 2, 3 — 4.5, 4 — 3.8 (1, 3 — рыбы предварительно адаптированы к гипоксии). По оси ординат — потребление кислорода, % от контроля; по оси абсцисс — продолжительность акклимации, ч.

Исследование концентрации электролитов в дистиллированной воде, оттитрованной HCl и H₂SO₄ до различных значений pH, после помещения в нее на 10 мин бокоплавов показало, что содержание электролитов в воде с pH 4.1 уменьшается, несмотря на значительное поступление в среду NaCl из организма. Результаты этого опыта свидетельствуют о значительном изменении проницаемости для ионов водорода и солей при pH среды менее 4.1—4.2. Именно эти значения pH летальны для бокоплавов, адаптированных к морской воде.

Потребление кислорода не отличается от контроля, если его содержание в воде выше 4 мг/л (pH 4.0). При более низкой концентрации кислорода у гаммаракантуса, как и у других ракообразных [11], проявляется эффект Бора. Константа полунасыщения в норме составляет 1.2—1.3 мг/л O₂, в кислой среде (pH 4.0) — 2.4—2.6 мг/л O₂.

Таким образом, основной причиной гибели бокоплавов в морской воде при кислотном стрессе служит понижение pH гемолимфы до 6.3—6.4. Это обусловлено увеличением проницаемости покровов для ионов, в том числе для H⁺. В пресной воде (pH 4.1—4.2) токсическое действие вызывается угнетением транспорта ионов в жабрах и увеличением проницаемости покровов. При более высоких pH (4.2—5.0) к гибели приводит постепенное обессоливание животных через 2—6 суток в результате угнетения механизма абсорбции ионов из воды на 50—60%.

Исследование влияния закисления среды на pH гемолимфы гаммаракантусов, акклимированных к пресной и разбавленной морской воде,

изотоничной гемолимфе (12.5%), показало, что изменение концентрации водородных ионов при помещении животных в среду с рН 5.7—5.1 носит фазный характер. Первоначально в течение 12—14 ч наблюдается закисление полостной жидкости до значений рН, близких к летальным (6.6—6.8). Затем происходит постепенное увеличение рН гемолимфы. Этот процесс развивается синхронно у бокоплавов, акклимированных к пресной и морской воде (рис. 3). В дальнейшем рН гемолимфы постепенно увеличивается. Компенсаторная фаза адаптации заканчивается через 2—3 суток. Новый уровень концентрации водородных ионов в гемолимфе на 0.4—0.6 рН ниже исходного и на 0.6—0.8 выше летального.

Такого рода колебательные процессы, наблюдающиеся при адаптации животных к изменению абиотических факторов (температура, соленость и др.), отмечены многими авторами [7—10, 12].

Обычно под фазностью адаптационного процесса подразумевается особенность реагирования живых систем, которая заключается в отклонении от нормы первоначальной реакции в ответ на изменение фактора, сопровождающееся впоследствии возвращением к норме или стабилизацией функции на другом уровне регулирования [7—9].

Анализ результатов исследования концентрации натрия в гемолимфе в процессе адаптации к рН 5.0 показал, что регуляция содержания натрия и других ионов в низких рН угнетается в большей степени, чем механизмы, поддерживающие кислотно-щелочное равновесие (рис. 3). Концентрация электролитов в гемолимфе после ее снижения на первом этапе адаптации восстанавливается незначительно. Новый уровень регулирования содержания ионов позволяет поддерживать концентрацию ионов в полостной жидкости лишь в диапазоне значений, близком критическому (см. таблицу). Снижение рН в наружной среде до 4.7—4.9 приводит к быстрой гибели животных.

При адаптации гаммаракантусов к рН 5.5 наблюдается постепенное снижение концентрации натрия в полостной жидкости, которое заканчивается через 2 суток. В дальнейшем содержание натрия в гемолимфе не изменяется, оно стабилизируется при значениях, более высоких, чем при адаптации к рН 5.0. Динамика исследованных процессов показывает, что при акклимации к закислению среды компенсаторная фаза адаптации натрий-транспортующей системы в отличие от таковой гомеостатических механизмов, регулирующих поддержание концентрации водородных ионов, выражена менее значительно.

Ряд данных, имеющих в литературе, свидетельствует о том, что в процессе адаптации к внешнему воздействию в клетке наблюдаются обратимые изменения в метаболизме белка и РНК [2, 10, 13]. В частности, стимуляция биотических процессов увеличивает синтез $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{АТФ-азы}$, участвующей в активном транспорте ионов [2]. Вещества, ингибирующие синтез белков, в том числе актиномицин Д, подавляющий биосинтез белка на стадии транскрипции [3], приводят к снижению адаптационной пластичности. Предполагается, что организм компенсирует изменения, вызванные внешним воздействием, заменой менее устойчивых белков и путей метаболизма на более устойчивые [4].

В наших экспериментах изучалось влияние актиномицина Д на способность бокоплавов адаптироваться к понижению рН. Гаммаракантусы в течение суток выдерживались в воде (рН 7.5) с концентрацией актиномицина Д 10, 50, 250 мкг/мл и помещались в среду, не содержащую антибиотика (рН 5.0—5.2). В каждой серии использовалось по 8 животных. Применявшиеся концентрации и продолжительность обработки были выбраны с учетом результатов экспериментов, выполнявшихся на водных животных [3]. В опытах тестировалась выживаемость бокоплавов в течение 7 суток. Исследование показало, что уровень смертности во всех концентрациях актиномицина Д не превышал 25% и достоверно не отличался от контроля.

Gammaracanthus lacustris — арктический вид, обитающий при температуре 4—5°. В эксперименте гаммаракантусы длительное время живут при температуре 18—20°. В этой связи были выполнены опыты по изучению влияния температуры на адаптацию бокоплавов к понижению рН. Животные (по 10 шт.) помещались в пресную воду (рН 4.8) с температурой 5 и 15°. Контролем служили бокоплавы, посаженные в воду с рН 7.5 и температурой 15°. Через 18 ч все животные в кислой среде при температуре 15° погибли. В двух других вариантах опыта в течение 24 ч гибели не наблюдалось.

При акклимации карпов к рН 4.5—3.8 максимум снижения потребления кислорода приходился на первые часы опыта. В воде с рН 4.5 дыхание быстро восстанавливалось и через 12—24 ч после воздействия потребление O_2 превосходит исходный уровень. В дальнейшем потребление кисло-

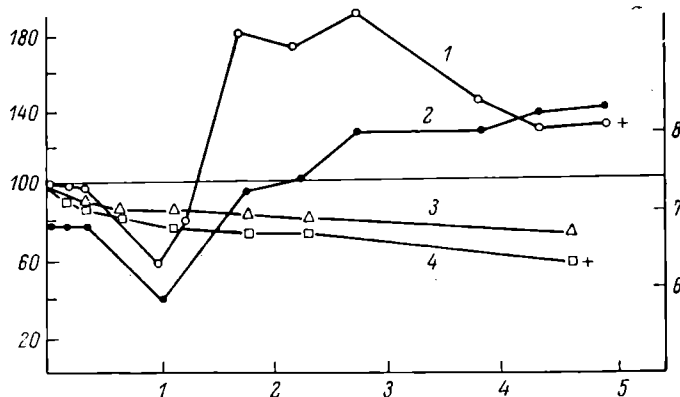


Рис. 5. Потребление кислорода *A. marina* при акклимации к низким значениям рН.

1 — потребление кислорода в среде с рН 5.5, 2 — то же с рН 4.5, 3 — рН полостной жидкости по-
 лыхет в процессе акклимации к среде с рН 5.5, 4 — то же с рН 4.5, (+) — гибель животных. По оси
 ординат: слева — потребление кислорода, % от контроля, справа — рН полостной жидкости; по оси
 абсцисс — продолжительность акклимации, сутки.

рода снижается и на 5-е сутки достоверно не отличается от контроля (рис. 4). В среде с рН 3.8 поглощение кислорода через сутки восстанавливается, однако в дальнейшем оно снова угнетается и к моменту гибели составляет 65—70% исходной величины. Предварительная акклимация в течение 3—4 суток к гипоксии существенно изменяет реакцию рыб на закисление среды. В этом случае в опыте с рН 4.5 угнетения дыхания не наблюдается, а в опыте с рН 3.8 снижение потребления кислорода менее выражено, чем у неадаптированных к гипоксии рыб, интенсивность потребления кислорода восстанавливается и вплоть до гибели сохраняется на высоком уровне. Результаты этих опытов указывают на общность адаптационных механизмов, реагирующих на закисление среды и гипоксию.

Совершенно иной характер реагирования на снижение рН у пескожила *Arenicola marina*, гемоглобин которого в отличие от гемоглобина карпов не обладает выраженным эффектом Бора и Рута. Заметное угнетение дыхания происходит лишь через несколько часов после закисления среды. Максимум подавления интенсивности потребления кислорода наблюдается через сутки. Компенсаторные реакции развиваются медленно. Стабилизация дыхания происходит лишь на 4—5-е сутки (рис. 5). Подобная реакция отмечена рядом авторов у морских беспозвоночных в ответ на изменение солености [7]. Было показано, что изменение уровня метаболизма целого организма совпадает с изменениями метаболизма тканей [7, 9, 12]. По современным представлениям подавление дыхания связывается с повреждающим действием смены солености, температуры, приводящим к альтерации клеток. Последующее восстановление метаболизма объясняется репарацией повреждения в результате акклимации, которая

во многом обусловлена конформационными изменениями полипептидных цепей белка и активацией его синтеза [1]. По всей вероятности, подавление метаболизма у карпов в кислой среде связано с изменением рН в капиллярной системе жабр, вызывающем эффект Рута. Последующее изменение дыхания обусловлено включением компенсаторных адаптивных перестроек, происходящих у рыб в условиях кислородного дефицита и не затрагивающих клеточного метаболизма. При воздействии более низких рН у рыб, как и у пескожила, наблюдаются значительные медленно протекающие отклонения в уровне метаболизма, которые происходят, вероятно, из-за серьезного изменения параметров внутренней среды и клеточного повреждения.

В отличие от динамики интенсивности потребления кислорода при акклимации пескожила к закисленной среде рН полостной жидкости не претерпевает фазных изменений. Происходит постоянное падение рН полостной жидкости и при значениях 6.2—6.4 животные погибают, несмотря на высокий уровень потребления кислорода. Из сопоставления данных видно, что угнетение дыхания происходит лишь после уменьшения рН в полостной жидкости ниже оптимальных значений (рис. 5).

Исследование у карпов скорости общей потери натрия и скорости его поглощения при рН 4.5 выявило высокую пластичность осморегуляторной системы. Максимум угнетения натрия происходит через 1—3 ч. Заметное восстановление этого процесса наблюдается уже через 6 ч, а через 48 ч поглощение натрия становится близким к начальным значениям. Скорость общей потери натрия в ходе акклимации к кислой среде первоначально возрастает, затем снижается и через 72—96 ч стабилизируется (рис. 6).

После семидневной акклимации к рН 4.5 карпы были перенесены в воду с рН 7.8. В нормальной воде поглощение натрия увеличилось на 25% по сравнению с исходной скоростью поглощения. Через 48 ч абсорбция натрия нормализовалась. Общая потеря натрия в течение 72 ч увеличивалась и через 120 ч достигла исходных значений (рис. 7).

Динамика поглощения натрия у колюшки в кислой среде (рН 5.0) в общих чертах сходна с процессами, наблюдающимися у карпов (рис. 8). Зависимость скорости общей потери натрия у прудовика от рН среды имеет экспоненциальный характер. Значительное приращение скорости потери натрия происходит при рН ниже 4.5 (рис. 9). В отличие от прудовика и бокоплава у пескожила такой зависимости не наблюдается. В диапазоне значений рН от 3.5 до 6.0 выход натрия из тела происходит с постоянной скоростью. При исследовании способности прудовика к кислотной акклимации оказалось, что его осморегуляторная система обладает мощными компенсаторными механизмами. Поглощение натрия после почти полного торможения уже через 16 ч пребывания моллюска в воде с рН 4.7 полностью восстанавливается. У прудовиков, адаптированных к кислой среде, скорость потери и поглощения натрия превышает их значения в нейтральной среде, что не наблюдается ни у рыб, ни у ракообразных.

Как известно, эвригалинные рыбы в гипотоничной среде поглощают натрий, а в гипертоничной — экскретируют. В наших опытах колюшки акклимировались в течение 3 дней к морской воде. После адаптации рыб омывали струей дистиллированной воды и в течение первых 15 мин исследовали скорость общей потери натрия. Затем часть рыб была помещена в подкисленную морскую воду (рН 5.5), часть — в нормальную. В течение 5 дней проводилось определение скорости потери натрия у рыб из морской воды. После этого колюшки из воды с рН 5.5 вновь были помещены в нормальную морскую воду.

Скорость общей потери натрия после помещения рыб в кислую среду увеличивается. У колюшек, адаптированных к пресной воде, напротив, наблюдается уменьшение потери натрия. Через 48—72 ч у рыб из морской

воды скорость потери натрия приближается к начальному уровню. Однако после перенесения рыб в нормальную морскую воду скорость потери натрия падает и восстанавливается до начальных значений через 24—48 ч (рис. 10).

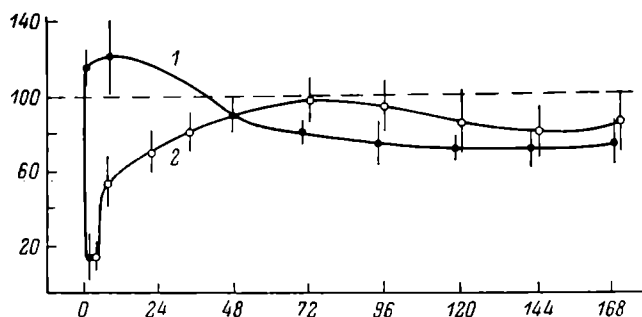


Рис. 6. Поглощение (2) и общая потеря (1) натрия в дистиллированной воде при акклимации карпов к pH 4.5.

По оси ординат — поглощение и потеря Na, % от контроля; по оси абсцисс — продолжительность акклимации, ч.

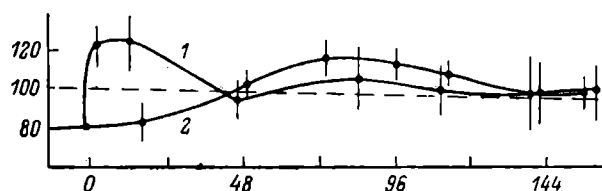


Рис. 7. Динамика изменения скорости поглощения (1) и общей потери (2) натрия у карпов в процессе деакклимации (pH 7.8) после пребывания в воде с pH 4.5.

Обозначения те же, что на рис. 6.

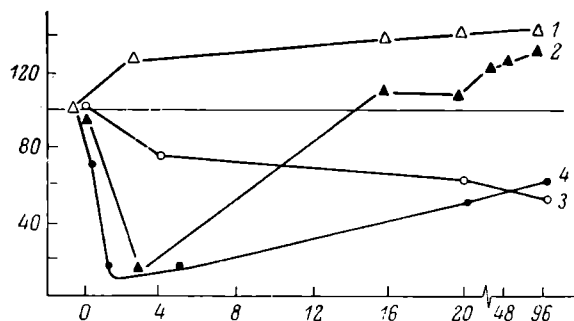


Рис. 8. Поглощение и общая потеря натрия у прудовика (1, 2) и колюшки трехиглой (3, 4) при акклимации к кислой среде.

По оси ординат — скорость поглощения и потери Na, % от контроля; по оси абсцисс — продолжительность опыта, ч.

Трактовать эти результаты, исходя из изменения скорости диффузионных потерь (изменения проницаемости), затруднительно, поскольку у рыб, адаптированных к пресной воде, этого не наблюдается и при pH 5.0. Вероятно, в пресной воде работа натрийабсорбирующих механизмов «пресноводного насоса» угнетается высокой концентрацией водородных ионов снаружи, а «экскретирующего насоса» — стимулируется. Об этом свидетельствуют и результаты по деакклимации рыб.

Сравнительный анализ результатов по изучению адаптационной пластичности пресноводных стеногалинных (карп, прудовик), полупресно-

водной (гаммарокантус), эвригалинной (колюшка) и типично морской (пескожил) форм показывает, что наиболее развитыми механизмами, позволяющими организму быстро адаптироваться к изменению pH внешней среды, обладают типично пресноводные организмы — карп и прудовик. Осморегуляторная система у гаммарокантуса при закислении среды не обладает достаточной пластичностью и адаптивными возможностями. Система, обеспечивающая кислотно-щелочной гомеостаз, развита у него в большей степени. Примерно то же самое можно сказать и о чувствительности к закислению осморегуляторной системы трехиглой колюшки. Совершенно иначе реагирует на ацидофикацию среды морская полихета, у которой приспособление к изменению ионной концентрации внешней среды осуществляется не за счет регуляции электролитов во внутренней среде, а за счет «привыкания» тканей, естественно в допустимых пределах.

Проблема происхождения пресноводной фауны издавна привлекала исследователей. Высказано предположение, что основное требование

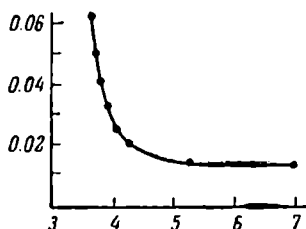


Рис. 9. Скорость общей потери натрия в дистиллированной воде у прудовика в зависимости от pH наружной среды.

По оси ординат — скорость потери Na, мг/г в час; по оси абсцисс — pH.

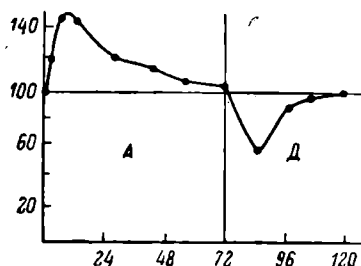


Рис. 10. Скорость потери натрия в дистиллированной воде у колюшки при акклиматизации (А) к морской воде с pH 5.5 и при деакклиматизации (Д) с pH 7.8.

По оси ординат — скорость потери Na, % от контроля; по оси абсцисс — продолжительность опыта, ч.

для пресноводных видов — низкая проницаемость их покровов для солей и воды [21]. Показано [22], что исключительно важное значение для приспособления к жизни в пресной воде имеет способность поглощать натрий из низких концентраций. По нашим данным, пресноводные формы сформировались из солоноватоводных видов, проницаемость покровов которых была в известной мере «преадаптирована», т. е. намного ниже, чем у других солоноватоводных форм [5].

Роль pH среды в формировании пресноводных видов до настоящего времени не рассматривалась, несмотря на то что значения pH в пресных водоемах, особенно с малой акваторией, отличны от таковых в морских и океанических бассейнах и подвержены значительным колебаниям. Отмечалась взаимосвязь между осморегуляцией и регуляцией кислотно-щелочного равновесия [18, 19]. В частности, выявлено, что поглощение ионов натрия и хлора у пресноводных видов осуществляется в обмен на экскрецию таких метаболитов, как ионы водорода, аммония и бикарбоната. В последующих работах выяснено важное значение «пресноводных» ионообменных насосов, локализованных в жабрах, для поддержания кислотно-щелочного гомеостаза и экскреции продуктов метаболизма [15, 16]. В связи с этим высказано предположение [17], что первичный ионообменный механизм пресноводного типа, по крайней мере у рыб, сформировался на основе экскреции метаболитов и поддержания кислотно-щелочного баланса, что и послужило в последующем основой для проникновения животных в среду с низким содержанием солей и большими флюктуациями pH.

Результаты нашей работы не противоречат этой интересной гипотезе.

Л и т е р а т у р а

1. Александров В. Я., Полянский Ю. И., Румянцев Р. Р. Регуляторные процессы в клетках. — В кн.: Руководство по цитологии. Л., 1966, т. 2, гл. 17, с. 590—622.
2. Бекмухамедова З. С. Гормональная регуляция транспорта ионов. Ташкент, 1975. 272 с.
3. Бергер В. Я., Луканин В. В., Хлебович В. В. Действие актинотомидина Д на способность медузы *Aurelia aurita* и моллюсков *Ehperia vineta* к акклимации при изменении солёности среды. — ЖЭБ и Ф, 1970, т. 6, № 6, с. 636—638.
4. Виноградов Г. А. Функционирование систем осмотической регуляции пресноводной амфиоды в воде различной солёности. — Экология, 1973, № 6, с. 77—84.
5. Виноградов Г. А. Осмотическая регуляция некоторых ледниковых реликтовых ракообразных в связи с особенностями их экологии и происхождения. — В кн.: Солёностные адаптации водных организмов. Л., 1976, с. 167—210.
6. Виноградов Г. А., Соколов В. А., Флерова Г. И. Потеря иона натрия и изменения рН крови у рыб, подвергнутых действию кислой среды. — Тез. докл. на III Всесоюз. конф. по экол. физиологии рыб, Киев, 1976, с. 76—77.
7. Карандеева О. Г. Процессы, обеспечивающие осморегуляцию у водных беспозвоночных. — В кн.: Физиология морских организмов. М., 1966, с. 176—232.
8. Луканин В. В. Изменение обмена и активности у беломорских мидий при акклимации к различным солёностям. — В кн.: Моллюски. Пути, методы и итоги их изучения. Л., 1971, с. 36—37.
9. Луканин В. В. Исследование адаптивных реакций сцифомедузы Белого моря *Aurelia aurita* к изменению солёности внешней среды. — В кн.: Солёностные адаптации водных организмов. Л., 1976, с. 26—58.
10. Меерсон Ф. З. О взаимосвязи физиологической функции и генетического аппарата клетки. М., 1963. 90 с.
11. Проссер Л., Браун Ф. Сравнительная физиология животных. М., 1967. 766 с.
12. Олдатова И. Н., Турпаева Е. П. О продолжительности адаптации при изменении солёности среды у двусторчатого моллюска *Teredo navalis* и многощетинкового червя *Mercierella inigmatica*. — ДАН СССР, 1960, т. 130, № 3, с. 646—648.
13. Харазова А. Д. Авторадиографическое исследование синтеза белка и РНК при паранекрозе и последующей репарации. — Цитология, 1971, т. 13, № 1, с. 69—75.
14. Шлипер К. Экологические адаптации и реакции клеток, наблюдаемые на переживаемой изолированной ткани жабр двусторчатых моллюсков. — В кн.: Клетка и температура среды. Л., 1964, с. 37—38.
15. Самерон F. N. Branchial ion uptake in arctic grayling: Resting values and effects of acid-Base disturbance. — J. Exptl Biol., 1976, vol. 64, N 3, p. 711—725.
16. Eddy F. B. Acid-base balance in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) subjected to acid stresses. — J. Exptl Biol., 1976, vol. 64, N 1, p. 159—173.
17. Evans D. H. Ionic exchange mechanisms in fish gills. — Compt. Biochem. Physiol., 1975, vol. 51, N 3, p. 491—495.
18. Maetz J. Na/NH₄, Na/Hexchange and NH₄ movement across the gills of *Carassius auratus*. — J. Exptl Biol., 1973, vol. 58, N 1, p. 255—275.
19. Maetz J., Garsia R. M. The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of a freshwater fish *Carassius auratus*. II. Evidence for NH₄/Na and HCO₃/Cl exchange. — Gen. Physiol., 1964, vol. 47, N 7, p. 1029—1227.
20. Packer R. K., Dunson W. A. Anoxia and sodium loss associated with death of brook trout at low pH. — Compt. Biochem. Physiol., 1972, vol. 41, N 1, p. 17—26.
21. Potts W. W. The inorganic composition of the blood of *Mitilus edulis* and *Anadonta cygnea*. — J. Exptl Biol., 1954, vol. 31, N 3, p. 376—385.
22. Shaw F. Sodium balance in *Eriocheir sinensis* the adaptation of Crustacea to freshwater. — J. Exptl Biol., 1961, vol. 38, N 1, p. 153—162.

ДЕЙСТВИЕ ПОЛИХЛОРПИНЕНА И ГЕКСАХЛОРАНА НА ДЫХАНИЕ И ОСМОРЕГУЛЯЦИЮ КАРАСЕЙ

Широкое применение хлорорганических соединений в сельском хозяйстве в качестве химических средств защиты растений от болезней, вредителей и сорняков создает опасность загрязнения пестицидами и гербицидами различных объектов внешней среды. Токсичность хлорорганических соединений (ХОС) усугубляется их высокой способностью длительно сохраняться и накапливаться в различных средах, циркулировать в биосфере и мигрировать в организм животных и человека с водой, воздухом и продуктами питания.

Интенсификация сельского хозяйства и дальнейшее развитие химической промышленности за последние десятилетия приводят к загрязнению ХОС больших водных массивов.

Водные животные обладают сравнительно большой диффузионной поверхностью, через которую осуществляется газообмен. Известно, что помимо газообмена жабрами осуществляется ионная и осмотическая регуляция [3, 5]. Изучение активного транспорта ионов калия и натрия через плазматическую мембрану выявило зависимость этого процесса от дыхания и от АТФ [9].

В ряду соединений, угнетающих ферментативную активность, стоят хлорорганические пестициды.

Устойчивость гидробионтов к полихлорпину (ПХП) и гексахлору (ГХЦГ) изучена недостаточно. Существующие данные касаются действия острых концентраций, в то время как токсичность и кумулятивные свойства перечисленных пестицидов ставят на первый план изучение их действия в хроническом опыте [11]. Установлено, что ГХЦГ изменяет проницаемость для ионов натрия у брюхоногих моллюсков [1]. Под влиянием ПХП и ГХЦГ у рыб и беспозвоночных отмечены аномалии газообмена [2].

Жабры рыб и других водных животных находятся в непосредственном контакте со средой обитания. Они служат удобной моделью при изучении первичных реакций и функциональных нарушений, происходящих в организме гидробионтов в результате изменения параметров наружной среды. В литературе существуют работы, касающиеся изменения морфологии жабр под действием хлорорганических пестицидов [8]. Однако действие этих токсикантов на осморегулирующую функцию жабр остается неизученным.

Действие ПХП и ГХЦГ исследовалось на половозрелых карасях (*C. carassius*) размером 5—6 см и весом 3—5 г. Восемь серий опытов было проведено на рыбах весом до 38 г и размером 12—15 см. Работа выполнялась в весенне-летний период (апрель—июль) при температуре 18—19°. Исходный раствор приготавливался разведением химически чистого ПХП в этиловом спирте до концентрации 20 мг/л. Использовались рабочие растворы 0.5, 0.15, 0.1, 0.02 мг/л. ГХЦГ употреблялся в форме 12%-го дуста. Расчеты осуществлялись по активно действующему веществу. Использовался также раствор гамма-изомера гексахлорана (линдан), который растворялся в этиловом спирте до максимальной концентрации 5—6 мг/л.

Доза токсиканта подбиралась экспериментально и испытывалась на 10 рыбах. Степень токсического эффекта для большинства рыб учитывалась по времени гибели 50% животных.

Активное поглощение натрия из внешней среды оценивалось по разности между потерей натрия в дистиллированной воде и в среде, содержащей соли. Перед опытом животные акклиматизировались в воде с пониженным содержанием солей (концентрация натрия 12—14 мг/л) в течение 2—

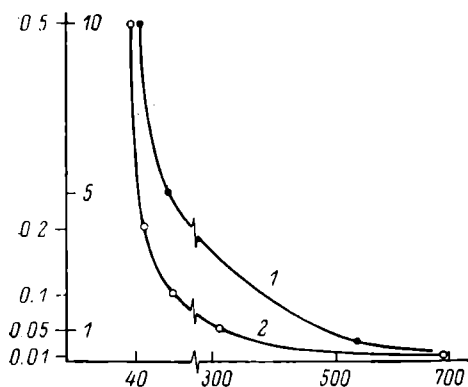


Рис. 1. Выживаемость карасей в растворах ГХЦГ (1) и ПХП (2).

По оси ординат: слева — концентрация ПХП, мг/л, справа — концентрация ГХЦГ, мг/л; по оси абсцисс — время, ч.

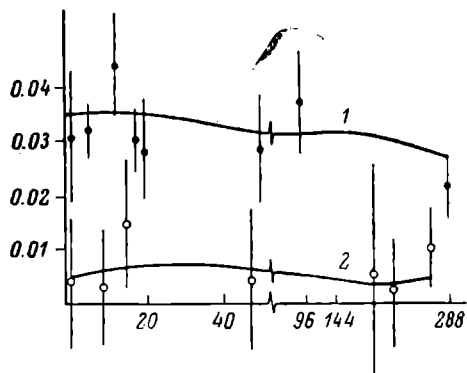


Рис. 2. Скорость потери ионов натрия в дистиллированной воде (1) и в среде, содержащей натрий (2), под действием ГХЦГ.

По оси ординат — скорость потери ионов, мг/г в час; по оси абсцисс — время, ч.

4 дней, для того чтобы снизить концентрацию полостной жидкости и максимально активировать натрий-сорбирующий механизм. Натрий определялся методом фотометрии в пламени. Перед опытом изучался ионный баланс и потеря натрия в дистиллированной воде. Первые сутки после внесения токсиканта показания регистрировались каждые 3 ч. В дальнейшем пробы брались 1—2 раза в сутки.

Концентрацию кислорода измеряли методом полярографии с использованием платиново-платиновых электродов и полярографа ОИ-102. Потребление кислорода рыбами, помещенными в токсикант, сравнивалось с дыханием контрольных животных. До опыта у рыб, используемых в опытах, записывалось потребление кислорода в нормальных условиях. Об отклонениях в интенсивности дыхания судили по поглощению кислорода в опыте и контроле.

Исследование действия ПХП и ГХЦГ на карасей позволило установить логарифмическую зависимость времени выживания рыб от концентрации токсикантов (рис. 1). ПХП более токсичен по отношению к рыбам, чем ГХЦГ: концентрации последнего, вызывающие гибель 50% рыб, выше, чем концентрации ПХП, приблизительно в 20 раз.

Скорость потери ионов натрия в дистиллированной воде и его поглощение под действием как острых (10 мг/л), так и хронических (6 мг/л) концентраций ГХЦГ не изменялись. Использование химически чистого токсиканта (линдана) в концентрации 10 мг/л не привело к изменению скорости транспорта ионов натрия (рис. 2).

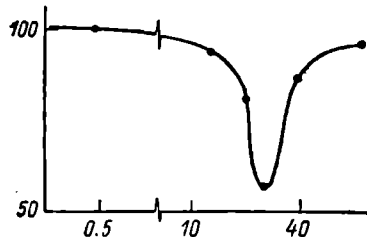


Рис. 3. Действие гексахлорана на интенсивность потребления кислорода.

По оси ординат — изменение интенсивности потребления кислорода, % от контроля; по оси абсцисс — время, ч.

У карасей, помещенных в раствор ГХЦГ (10 мг/л), вслед за уменьшением потребления кислорода на 45% происходит восстановление нормального уровня дыхания (рис. 3). Параллельно угнетению дыхания наблюдается полная потеря двигательной активности и резкое снижение ритма дыхательных движений.

Результаты проведенных экспериментов по действию гексахлорана на дыхание карасей сопоставимы с данными по этому вопросу, имеющимися в литературе. В летальных и сублетальных концентрациях ГХЦГ в первые часы у семги и плотвы наблюдается интенсификация дыхания. Сила эффекта зависит от концентрации: с ее увеличением до 4 мг/л интенсивность дыхания понижается на 60% по сравнению с действием 1.5 мг/л ГХЦГ [11]. В наших опытах использовалась концентрация ГХЦГ 10 мг/л. Применение жестких концентраций ГХЦГ не влекло за собой заметного усиления дыхания в первые часы контакта с токсикантом.

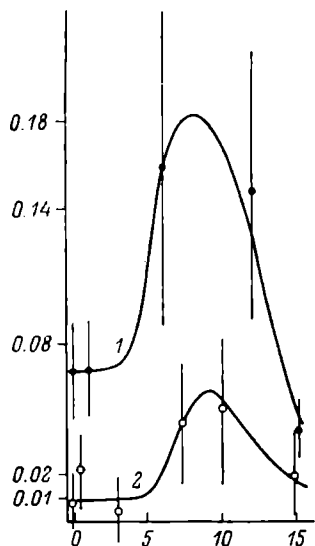


Рис. 4. Влияние ПХП (0.1 мг/л) на обмен натрия жабрами карасей.

1 — потеря в дистиллированной воде, 2 — натриевый баланс. По оси ординат — скорость общей потери Na, мг/г в час; по оси абсцисс — время, ч.

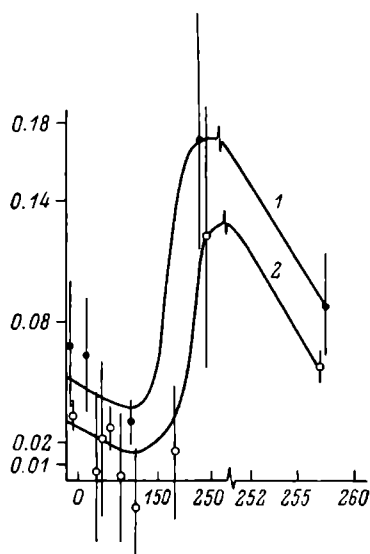


Рис. 5. Действие ПХП (0.02 мг/л) на транспорт ионов натрия.

1 — потеря в дистиллированной воде, 2 — скорость потери в среде, содержащей Na, мг/г в час. По оси ординат — скорость утечки ионов, мг/г в час; по оси абсцисс — время, ч.

В отличие от гексахлорана ПХП оказывает выраженное действие на проницаемость для натрия. Как летальные (0.5, 0.2, 0.1 мг/л), так и сублетальные концентрации (0.02 мг/л) приводят к увеличению скорости утечки ионов и одновременно к возрастанию уровня общей проницаемости для натрия (рис. 4). Соотношение величин скорости потери ионов натрия в разных средах (дистиллированная вода, среды, содержащие соли) указывает на то, что увеличение выхода натрия происходит не за счет изменений в механизме активного транспорта (рис. 5). Увеличение общей проницаемости для ионов натрия связано в первую очередь с изменением выхода этого иона через жабры, при этом скорость потери настолько велика, что организм не в состоянии скомпенсировать ее путем реабсорбции натрия.

Изменению скорости выхода ионов при действии ПХП предшествует разворачивание симптомокомплекса отравления: повышается возбудимость, нарушается координация движений, рыбы плавают у поверхности, захватывая воздух. После пика натриевого дисбаланса (рис. 6) уровень потери ионов возвращается к прежнему состоянию; взаимосвязь между выходом натрия и его реабсорбцией восстанавливается. Нормализация

экстракренальных потерь сопровождается снижением двигательной активности. Изменение проницаемости жабр для натрия в разных концентрациях ПХП проявляется через неравные промежутки времени. ПХП в концентрации 0.1 мг/л вызывает увеличение скорости выхода ионов через 12 ч, 0.02 мг/л (хроническая концентрация) — через 248–250 ч (рис. 7).

Действие ПХП на ионный обмен иллюстрируется логарифмической кривой, аналогичной кривой выживаемости рыб в растворах с разной концентрацией токсиканта. Кривая изменения скорости проницаемости ионов под действием ПХП сдвигается относительно оси времени. Таким образом, эффект изменения проницаемости предшествует летальному исходу (рис. 8).

Динамика интенсивности потребления кислорода зависит от концентрации ПХП. У карасей, помещенных в воду, содержащую 0.1 мг/л ПХП, наблюдалось усиление потребления кислорода через 8 и 38 ч от начала опыта соответственно на 37 и 96%. Вследствие этого за каждым пиком резкого усиления дыхания наступало некоторое восстановление интенсивности потребления кислорода. Сходные результаты были получены при изучении дыхания семги [10]. Полихлорпинен в концентрациях 0.05 и 0.15 мг/л повышал интенсивность дыхания у семги и снижал ее у плотвы. Дальнейшее увеличение концентрации токсиканта приводило к противоположному эффекту: к интенсификации дыхания у плотвы и к его угнетению у семги [10].

Известно, что ПХП вызывает некрозы, слущивания жаберного эпителия вплоть до полного обнажения респираторных пластинок [8]. Полу-

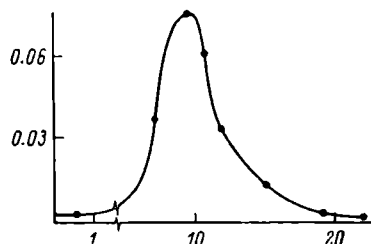


Рис. 6. Действие ПХП (0.5 мг/л) на проницаемость жабр для натрия.

По оси ординат — скорость потери Na, мг/г в час; по оси абсцисс — время, ч.

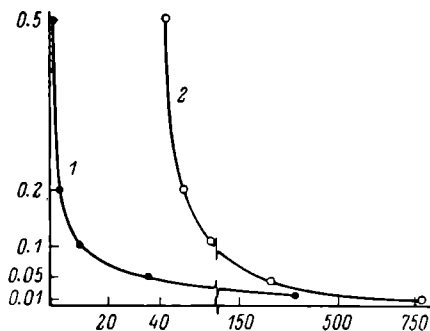


Рис. 7. Изменение скорости потери ионов рыбами в разных концентрациях ПХП (1) и выживаемость карасей в полихлорпинене (2).

По оси ординат — концентрация токсиканта, мг/л; по оси абсцисс — время, ч.

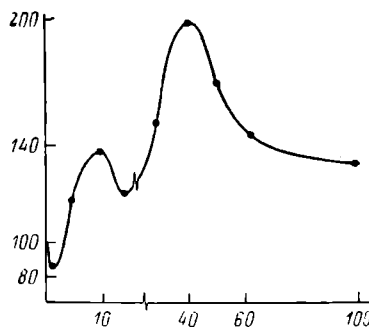


Рис. 8. Действие ПХП на интенсивность потребления кислорода рыбами.

По оси ординат — интенсивность потребления кислорода, % от контроля; по оси абсцисс — время, ч.

ченные нами результаты выявляют специфическое действие ПХП и ГХЦГ на функциональную активность жабр у карасей. Так, ПХП приводит к увеличению интенсивности газообмена, в то время как действие ГХЦГ на дыхание рыб носит противоположный характер. Возможно, что угнетение потребления кислорода рыбами в растворе ГХЦГ (10 мг/л) связано почти с полной потерей дыхательных движений и двигательной активности.

Параллельно изучению действия токсикантов на функцию дыхания и водно-солевого обмена у карасей фиксировались морфологические изменения в жабрах под действием ПХП и ГХЦГ [7]. Действие ПХП в концентрации 0.1 и 0.02 мг/л приводило к выраженным изменениям морфологии жабр, специфической особенностью которых является увеличение межклетников за счет разобщения клеток вставочного эпителия. Разрыхление и слущивание эпителиальной ткани под действием ПХП могут служить причиной увеличения скорости диффузии кислорода в кровь. Подобный эффект должен сопровождаться усилением интенсивности потребления кислорода рыбами. Разобщение клеток вставочного эпителия сменяется некоторым уплотнением этой ткани, что в свою очередь отражается на нормализации уровня дыхания.

ГХЦГ в концентрации 10 мг/л вызывает специфическое уплотнение эпителиальной ткани, что, видимо, приводит к снижению скорости свободной диффузии сквозь жаберную стенку. ГХЦГ в низких концентрациях (0.01 мг/л) угнетает дыхательную активность у бычка, особенно в 1-й день [4]. В последующие 2 дня потребление кислорода возрастает. Эффект усиливается с возрастанием концентрации пестицида.

На основании приведенных данных можно говорить о специфическом, угнетающем действии ГЦХ на дыхание рыб. Проведение экспериментов на протяжении достаточно длительного промежутка времени и применение концентраций, близких к предельно допустимым, позволили установить различие в действии ПХП и ГХЦГ на осморегулирующую функцию жабр. Так, ПХП усиливает скорость потери ионов натрия почти в 2 раза, в то время как действие ГХЦГ не вызывает подобных изменений. На основании того, что различие между потерей ионов в дистиллированной воде и в воде с нормальной соленостью недостоверно, а неспецифическое увеличение утечки ионов натрия наступает в обоих случаях параллельно, мы полагаем, что ПХП не действует на активный транспорт. Данные морфологических исследований подтверждают наши результаты. Несмотря на наблюдаемые морфологические изменения, при действии ПХП клетки находятся в состоянии высокой функциональной активности [6, 7]. Наличие симптомокомплекса, предшествующего пику изменения проницаемости при действии ПХП, свидетельствует о том, что наблюдаемый эффект носит вторичный характер и не является причиной отравления. Однако всегда после феномена изменения скорости утечки ионов наступает гибель рыб, что заставляет считать увеличение проницаемости причиной, усугубляющей действие токсиканта.

Таким образом, зависимость времени выживания карасей от концентрации ПХП и ГХЦГ носит логарифмический характер.

Как ПХП, так и ГХЦГ влияют на интенсивность потребления кислорода рыбами, при этом действие их на карасей строго противоположно: ПХП усиливает дыхание, ГХЦГ временно его угнетает.

В отличие от ГХЦГ ПХП увеличивает скорость пассивной диффузии натрия, не влияя на активный транспорт ионов.

Время наступления изменения скорости проницаемости зависит от концентрации токсиканта.

Феномен увеличения скорости потери ионов натрия предшествует летальному исходу и в острой концентрации ПХП наступает за 40—50 ч до него.

Л и т е р а т у р а

1. Б у р т н а я И. П. Влияние изомеров токсических гексахлорана (ГХЦГ) на брюхоногих моллюсков методом осмотической нагрузки. — В кн.: Самоочищение, биопродуктивность и охрана водоемов и водотоков Украины. Киев, 1975, с. 101—102.
2. В е с е л о в Е. А., П о м а з о в с к а я Н. В., П а р а м о н о в а К. О., Р е м е з о в а Е. И. Токсическое действие ПХП и ГХЦГ на рыб и водных беспозвоночных. В кн.: Вопросы гидробиологии. М., 1965, с. 64—69.

3. Г е н и ц и н с к и й А. Г. Физиологические механизмы водно-солевого равновесия. М., 1964. 427 с.
 4. З а м б р и б о р щ Ф. С., Б у й Л а й. Влияние гексахлорана ГХЦГ на потребление кислорода бычками: кругляком и песчаником. — В кн.: Экологическая физиология рыб. Киев, 1976, с. 52—53.
 5. К а р а н д е е в а О. Г. Процессы, обеспечивающие осморегуляцию у беспозвоночных. — В кн.: Физиология морских животных. М., 1966, с. 176—232.
 6. К р а ю ш к и н а Л. С. Хлоридсекретирующие клетки рыб (обзор). — Архив анатом., гистол., эмбриол., 1974, т. 67, № 11, с. 92—99.
 7. М а т е й В. Е., М а л ь г и н а Н. А. Действие пестицидов на жаберный эпителий карася. Наст. кн.
 8. М е ж н и н Ф. И. Патологические изменения органов и тканей гуппи при остром экспериментальном отравлении полихлорпинолом, фенолом и при повышенной солевой нагрузке. — В кн.: Влияние фенола на гидробионтов. Л., 1973, с. 53—67.
 9. Н е й ф а х С. А. Механизмы интеграции клеточного обмена. Л., 1976. 345 с.
 10. П о м а з о в с к а я И. В. Влияние пестицидов на интенсивность дыхания некоторых гидробионтов. — В кн.: Экспериментальная водная токсикология. Рига, 1973, вып. 5, с. 84—96.
 11. Ф л е р о в Б. А. Полихлорпинен и его влияние на водные организмы (обзор литературы). — В кн.: Экспериментальная водная токсикология. Рига, 1973, вып. 4, с. 104—114.
-

ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ РЫБ СЕМ. *CYPRINIDAE* С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ХЛОРОФОСУ

Токсичность фосфорорганических соединений связывают с антихолинэстеразными свойствами [4, 8, 16]. Механизм их взаимодействия с холинэстеразами изучен довольно подробно и обусловлен сходством структуры фосфорорганических веществ со структурой ацетилхолина. Это взаимодействие, как и в случае с ацетилхолином, представляет собой не простое присоединение, а реакцию ацилирования [16].

Аналогично ацетилхолину фосфорорганические соединения, по-видимому, взаимодействуют с эстеразным центром фермента. Однако при этом ацитилирование осуществляется фосфорной кислотой (фосфорилирование), а не уксусной (ацетилирование), как с ацетилхолином. Обратная реакция — дефосфорилирование, протекает исключительно медленно. В результате происходит так называемое «необратимое» ингибирование энзима. Одна из главных причин медленности дефосфорилирования обусловлена необходимостью разрыва алкилкислородной, а не ацилкислородной связи. Поскольку энзим к такому расщеплению не приспособлен, реактивация его протекает со скоростью спонтанного водного гидролиза, т. е. очень медленно [9].

В настоящее время выделяют 2 типа ферментов с холинэстеразной активностью (ацетилхолинэстераза—ацетилхолин-гидролаза, шифр 3.1.1.7 и холинэстераза—ацилхолин-ацилгидролаза, шифр 3.1.1.8) [15], отличающихся друг от друга по ряду существенных свойств (см. таблицу).

Основные свойства ацетилхолинэстеразы и холинэстеразы [4, 16]

	Ацетилхолинэстераза	Холинэстераза
Наиболее быстро гидролизуемый субстрат	Ацетилхолин	Пропионил- и бутирилхолин
Не гидролизует	Большинство нехолиновых эфиров, бутирилхолин, бензоилхолин	Ацетил-β-метилхолин
Избыток субстрата	Тормозит	Не тормозит
Активность каталитического центра	$7 \cdot 10^5$ — $9 \cdot 10^5$ молекул ацетилхолина гидролизуются в минуту	$5 \cdot 10^4$ — $9 \cdot 10^4$ молекул ацетилхолина гидролизуются в минуту
Орган, ткань, наиболее богатые ферментом	Мозг, эритроциты, симпатические ганглии	Сыворотка крови, печень, слизистая оболочка кишечника

Роль ацетилхолинэстеразы в организме в настоящее время более или менее ясна. Видимо, одной из основных функций этого фермента является гидролиз ацетилхолина — медиатора холинэргических синапсов нервной системы [13]. Имеются также данные, свидетельствующие о непосредствен-

ном участии системы ацетилхолин—ацетилхолинэстераза в осуществлении таких физиологических функций, как нервное проведение вдоль аксона [14, 36], регуляция активного или пассивного переноса ионов через мембраны (плацента, эритроциты) [24], участие в движении ресничек в жаберных пластинках моллюсков, в эпителии пищевода лягушки, в трахее кролика, где движение ресничек не зависит от иннервации [2].

Функция холинэстеразы до настоящего времени остается почти невыясненной. Вероятно, как и ацетилхолинэстераза, она связана с метаболизмом ацетилхолина, но является вспомогательным ферментом [17, 18, 34]. Интересно, что удалось снизить активность сывороточной холинэстеразы до нуля без видимых патологических явлений [31].

Основные свойства ацетилхолинэстеразы и холинэстеразы (строение ферментов, их субстратная специфичность, чувствительность к ингибиторам) изучались в основном на ферментах млекопитающих. Классическим примером ацетилхолинэстеразы считается фермент эритроцитов бычьей крови, а холинэстеразы — фермент сыворотки крови лошади. Однако показано, что очищенный препарат холинэстеразы из сердца крысы содержит 2 формы фермента, причем главная фракция отличается по ряду свойств как от ацетилхолинэстеразы (шифр 3.1.1.7), так и от холинэстеразы (шифр 3.1.1.8) [32].

При изучении кинетики реакций с различными субстратами и ингибиторами обнаружено, что в сыворотке крови человека присутствуют 3 различные холинэстеразы [23]. В электрофоретических исследованиях все фракции холинэстеразы сыворотки крови человека, за исключением наиболее подвижной, полностью ингибировались эзеринном; ингибирование быстрой фракции наблюдалось лишь частично [22].

В дальнейшем эти исследования были продолжены с сыворотками других видов животных [28]. В сыворотке обезьяны обнаружены 2 полосы, в сыворотке кошки — 3. В обоих случаях все фракции активно гидролизуют ацетилхолин и бутирилхолин, чувствительны к эзерину. В то же время при исследовании сыворотки крови кролика выявляются 3 чувствительные к эзерину полосы, обладающие активностью в отношении бутирилхолина.

При изучении холинэстераз морских червей в мышцах ректракторов хоботка *Physcosoma japonicum* выявлены 2 фермента холинэстеразы [3]. Один из них гидролизует ацетилхолин и пропионилхолин, другой — бутирилхолин. Фермент, гидролизующий бутирилхолин, более чувствителен к эзерину и фосфорорганическим соединениям. В спинных мышцах *Lumbriconeris imipatiens* тоже обнаружены 2 фермента. Однако эти ферменты гидролизуют одни и те же субстраты — ацетилхолин, пропионилхолин, ацетил- β -метилхолин. Гидролиз бутирилхолина не обнаружен. Один фермент подобен ацетилхолинэстеразе, другой отличается от холинэстераз пониженной чувствительностью к эзерину и некоторым фосфорорганическим ингибиторам.

Холинэстеразы двухстворчатых, брюхоногих и головоногих моллюсков также характеризуются разнообразием специфичности. У них имеются холинэстеразы, очень близкие по свойствам к ацетилхолинэстеразе (основное и жаберное сердце осьминога, гемолимфа нептунии и мидии, зрительный ганглий элдоны, кальмара, каракатицы); ферменты, в равной степени обладающие свойствами ацетилхолинэстеразы и холинэстеразы (сердце нептунии, основное и жаберное сердце каракатицы, зрительные ганглии кальмара и каракатицы); ферменты, у которых преобладают свойства холинэстеразы (сердце мидии, основное и жаберное сердце и гемолимфа кальмара) [5, 6, 20, 35].

Холинэстеразы сыворотки крови рыб практически не изучены. Известно только, что холинэстеразы из плазмы крови рыб, рептилий, амфибий, а также птиц выделены в особый класс и названы пропионилхолинэстеразами, так как они проявляют высокую активность в отношении пропионовых эфиров холина [21].

При интоксикации рыб фосфорорганическими пестицидами изучалось изменение активности ацетилхолинэстеразы [1, 7, 12, 19, 25—27, 29, 33]. Сведения о действии фосфорорганических соединений на холинэстеразу сыворотки крови рыб отсутствуют.

Вместе с тем выявлена различная чувствительность рыб к фосфорорганическим пестицидам. Концентрация хлорофоса, вызывающая гибель 50% подопытных животных, для форели и щуки — 1 мг/л, для карпа — более 100, для окуня — 0.75, для плотвы — 30 мг/л [12]. Пескари более чувствительны к бензофосфату, чем карпы [7].

Настоящая работа выполнялась с целью изучения устойчивости 4 видов рыб сем. *Cyprinidae*, имеющих хозяйственное значение, к широко применяемому в сельском хозяйстве фосфорорганическому пестициду — хлорофосу — и сопоставления токсичности хлорофоса для рыб с чувствительностью к нему холинэстеразы сыворотки крови.

Эксперименты ставились на леще (*A. brama*), синце (*A. ballerus*), карпе (*C. carpio*) и плотве (*R. rutilus*). Лещ, синец и плотва отлавливались в Рыбинском водохранилище; карп получен из прудового хозяйства «Варегово».

При определении токсичности хлорофоса опыты проводились в 150-литровом аквариуме с подачей воздуха от компрессора при температуре воды 16—18° на рыбах, адаптированных к условиям эксперимента. В аквариум помещали по 10 рыб. Экспозиция в растворе токсиканта составляла 48 ч.

Использовали технический хлорофос, содержащий 80% действующего вещества, — 0,0-диметил-2,2,2-трихлороксиэтилфосфон. Для биохимических исследований кровь из хвостовой вены собирали в чистую пробирку и помещали в холод. После образования сгустка фибрина сыворотку переносили в другую пробирку и хранили при температуре 4°.

Холинэстеразы и белки сыворотки крови рыб изучали методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле [11] с использованием блок-камеры, изготовленной в мастерской института. Разделение белков осуществляли в системе 7%-го геля. Разделяющий гель полимеризовали на буфере трис-HCl (pH 8.9) в течение 1 ч, концентрирующий гель получали фотополимеризацией с рибофлавином на буфере трис-HCl (pH 6.7). Электродные сосуды заполняли трис-глициновым буфером (pH 8.3). Для удаления непрореагировавших продуктов полимеризации (акриламид, бис-акриламид, персульфат аммония), которые могут взаимодействовать с веществами, подлежащими разделению, проводили «холостую» разгонку в течение 2 ч при силе тока 100 мА.

В каждую ячейку полиакриламидного блока вносили по 0.04 мл образца сыворотки, приготовленного на 20%-й сахарозе. Время электрофореза 1 ч 20 мин; первые 10—15 мин сила тока 30 мА, остальное время — 100 мА.

Для получения белкового спектра блоки геля окрашивали 3 мин 1%-м раствором амидочерного 10-B, приготовленного на 7%-й уксусной кислоте; излишки красителя отмывали 7%-й уксусной кислотой. Зоны белков проявлялись в виде синих полос.

Холинэстеразы выявляли по методу Карновского и Роотс [30] с использованием субстратов фирмы «Хемапол»: ацетилтиохолинйодид, ацетилтиохолинбромид, пропионилтиохолинйодид, пропионилтиохолинбромид, тиохолинйодид. По окончании электрофореза блоки геля помещали на 30 мин в 10%-й охлажденный формалин, промывали дистиллированной водой и на 30 мин переносили в прединкубационную среду. При изучении действия хлорофоса (10^{-2} — 10^{-6} М) и эзерина (10^{-4} — 10^{-5} М) их вносили в прединкубационную среду. В инкубационной среде (pH 7.5) гели выдерживали 1 ч 30 мин. При исследовании влияния на активность холинэстераз избытка субстрата использовали ацетилтиохолинйодид в концентрации в 20 раз больше оптимальной.

Электрофореграммы денситометрировали. В качестве денситометра использовали микрофотометр МКФ-4 с потенцирующей приставкой.

Предварительно строились калибровочные графики потенцирования. Каждая электрофореграмма подвергалась денситометрии дважды, из 2 значений находилось среднее арифметическое. Относительную электрофоретическую подвижность холинэстераз (ОЭП) высчитывали по формуле:

$$\text{ОЭП} = \frac{\text{расстояние от старта до середины зоны белка}}{\text{расстояние от старта до отметки красителя}}.$$

В сыворотке крови плотвы и синца выявляются 2 зоны с холинэстеразной активностью, у леща и карпа — 1. Первая фракция у плотвы, синца и зона с холинэстеразной активностью у леща и карпа имеют ОЭП ~ 0.07

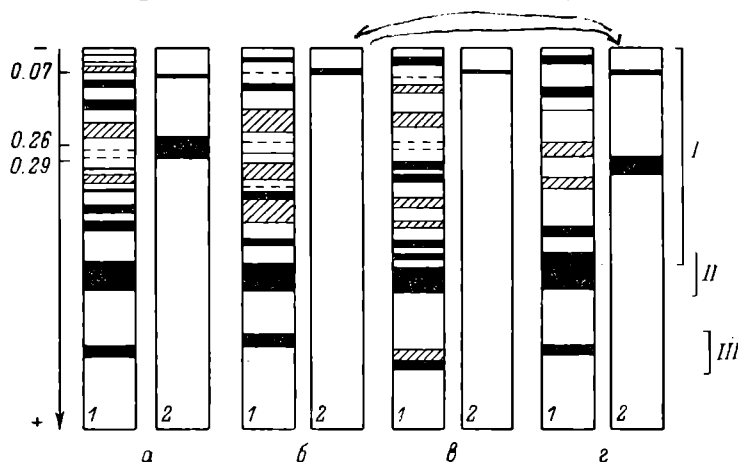


Рис. 1. Электрофореграммы белков (I) и холинэстераз (2) сыворотки крови рыб а — плотва, б — синец, в — карп, г — лещ. I — глобулины, II — альбумины, III — преальбумины. По вертикали — относительная электрофоретическая подвижность.

и локализуются в области γ -глобулинов. Вторая фракция у плотвы имеет ОЭП 0.26, у синца — 0.29; проявляются эти фракции также в области глобулинов (рис. 1).

СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ

У плотвы первая зона с холинэстеразной активностью выявляется в присутствии субстратов: ацетилтиохолинйодида, ацетилтиохолинбромида, пропионилтиохолинйодида, пропионилтиохолинбромида. Бутирилтиохолинбромид этим ферментом не гидролизует. Наибольшим сродством фермент обладает к ацетилтиохолинйодиду (рис. 2, а—в).

Вторая зона с холинэстеразной активностью проявляется при наличии в инкубационной среде ацетилтиохолинйодида, ацетилтиохолинбромида, бутирилтиохолинбромида, пропионилтиохолинйодида, пропионилтиохолинбромида и тиохолинйодида. С наибольшей скоростью фермент гидролизует бутирилтиохолинбромид (рис. 2, а—в).

Высокая концентрация ацетилтиохолинйодида не оказывает влияния на активность фермента с ОЭП 0.26 и угнетает гидролизующую способность фермента с ОЭП ~ 0.07 .

Холинэстераза сыворотки крови карпа гидролизует ацетилтиохолинйодид, ацетилтиохолинбромид, пропионилтиохолинйодид и пропионилтиохолинбромид. Наибольшим сродством энзим обладает к ацетилтиохолинйодиду (рис. 2, а, б). Бутирилтиохолинбромид и тиохолинйодид фермент не гидролизует. При концентрации ацетилтиохолинйодида в 20 раз больше оптимальной активность этого фермента угнетена. При исследовании субстратной специфичности холинэстераз сыворотки крови леща и синца не использовали ацетилтиохолинбромид и пропионилтио-

холинбромид, так как было установлено, что у плотвы и карпа ферменты обладали к бромидам меньшим сродством, чем к йодидам.

Холинэстераза сыворотки крови леща обладает способностью гидролизовать ацетилтихохолинйодид и пропионилтихохолинйодид (рис. 2, а, б). По отношению к бутирилтихохолинбромиду активность фермента не выявлена и угнетается высокими концентрациями ацетилтихохолинйодида.

У синца первая фракция с холинэстеразной активностью гидролизует ацетилтихохолинйодид и пропионилтихохолинйодид. Сродством к бутирилтихохолинбромиду данный фермент не обладает. С наибольшей скоростью

расщепляется ацетилтихохолинйодид. Вторая фракция активна в отношении ацетилтихохолинйодида, бутирилтихохолинбромид и пропионилтихохолинйодида. Наиболее интенсивно фермент взаимодействует с бутирилтихохолинбромидом (рис. 2).

Активность 1-й фракции угнеталась ацетилтихохолинйодидом при избыточном содержании его в инкубационной среде. Субстратного торможения 2-й фракции в присутствии ацетилтихохолинйодида не наблюдалось.

Таким образом, использование метода электрофореза в полиакриламидном геле позволило установить, что у плотвы и синца в сыворотке крови имеются 2 фермента с холинэстеразной активностью. Один фермент (ОЭП ~ 0.07) по субстратной специфичности ближе к ацетилхолинэстеразе, так как гидролизует ацетилтихохолинйодид и не обладает сродством к бутирилтихохолинбромиду, активность его тормозится избытком ацетилтихохолинйодида. Второго

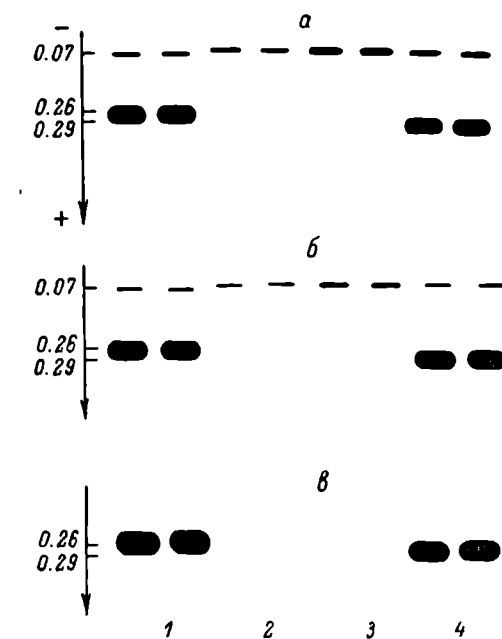


Рис. 2. Электрофореграммы холинэстераз сыворотки крови рыб.

Субстрат: а — ацетилтихохолинйодид, б — пропионилтихохолинйодид, в — бутирилтихохолинбромид. 1 — плотва, 2 — карп, 3 — лещ, 4 — синь. По вертикали — относительная электрофоретическая подвижность.

у синца — 0.29) проявляет свойства холинэстеразы — активно расщепляет бутирилтихохолинбромид. В сыворотке крови синца и плотвы фермент со свойствами холинэстеразы содержится в большем количественном соотношении, чем фермент со свойствами ацетилхолинэстеразы.

Фермент сыворотки крови леща и карпа по субстратной специфичности идентичен ферменту плотвы и синца с ОЭП ~ 0.07 . У леща в единице объема содержится этого фермента больше, чем у карпа.

Холинэстеразы сыворотки крови всех исследованных видов рыб способны гидролизовать препараты пропионилтихохолина.

ИНГИБИРОВАНИЕ ЭЗЕРИНОМ

Эзерин — специфический ингибитор холинэстераз [10]. Считается, что наибольшим сродством к нему обладает ацетилтихохолинэстераза.

Эзерин в концентрации 10^{-5} М в одинаковой степени инактивировал холинэстеразу сыворотки крови леща и карпа. В концентрации 10^{-4} М несколько больше снижалась активность фермента леща. Так, после инкубации гелей в растворе эзерина 10^{-4} М реакционная способность холинэстеразы крови карпа снизилась на 55%, леща — на 64% (рис. 3, а, б).

Фермент плотвы, обладающий свойствами ацетилхолинэстеразы, ингибировался эзеринном подобно ферменту карпа и леща (рис. 3, *е*). Холинэстераза, специфичная к бутирилтиохолинбромиду, чувствительна к эзерину в меньшей степени, чем холинэстераза, специфичная к ацетилтиохолинйодиду. В концентрации 10^{-5} М эзерин не оказывал влияния на активность этого фермента к бутирилтиохолинбромиду, а в концентрации 10^{-4} М угнетая ее лишь на 4.4%.

Активность фермента сыворотки крови синца, специфичного к ацетилтиохолинйодиду, подавлялась эзеринном в концентрации 10^{-5} М на 33%,

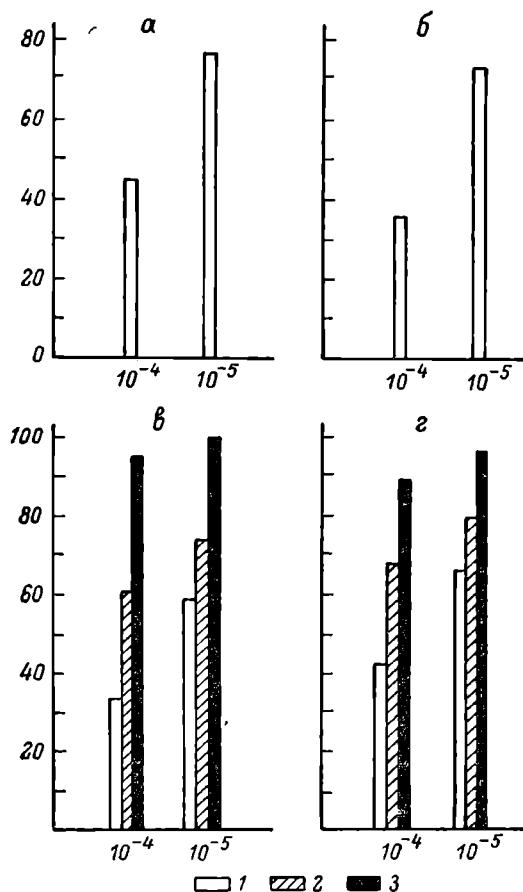


Рис. 3. Влияние эзерина на активность холинэстеразы сыворотки крови рыб.

а — карп, *б* — лещ, *в* — плотва, *г* — синец. 1 — фракция с ОЭП ~ 0.07 , субстрат ацетилтиохолинйодид; 2 — фракция с ОЭП 0.26 и 0.29, ацетилтиохолинйодид; 3 — с ОЭП 0.26 и 0.29, бутирилтиохолинбромид. По оси ординат — активность фермента, %; по оси абсцисс — концентрация эзерина, моли.

в 10^{-4} М — на 57.5% (рис. 3, *г*). Фермент, гидролизующий бутирилтиохолинбромид, менее чувствительный к эзерину, его активность при концентрации эзерина 10^{-5} М была снижена на 3%, в 10^{-4} М — на 10%.

Результаты исследований по ингибированию холинэстераз сыворотки крови рыб эзеринном, так же как и данные по субстратной специфичности, свидетельствуют о том, что у плотвы и карпа в сыворотке крови присутствуют 2 различных фермента. Холинэстеразы сыворотки крови карпа, леща, а также плотвы и синца с ОЭП ~ 0.07 по своим свойствам ближе к ацетилхолинэстеразе, ферменты плотвы (ОЭП 0.26) и синца (ОЭП 0.29) — к холинэстеразе.

При инкубации гелей в растворе хлорофоса 10^{-2} М холинэстераза сыворотки крови карпа инактивировалась полностью (рис. 4, а). В концентрации 10^{-3} М хлорофос снижал реакционную способность фермента на 57 %, в 10^{-4} М — на 33 %. Токсикант в 10^{-5} М не оказывал влияния на

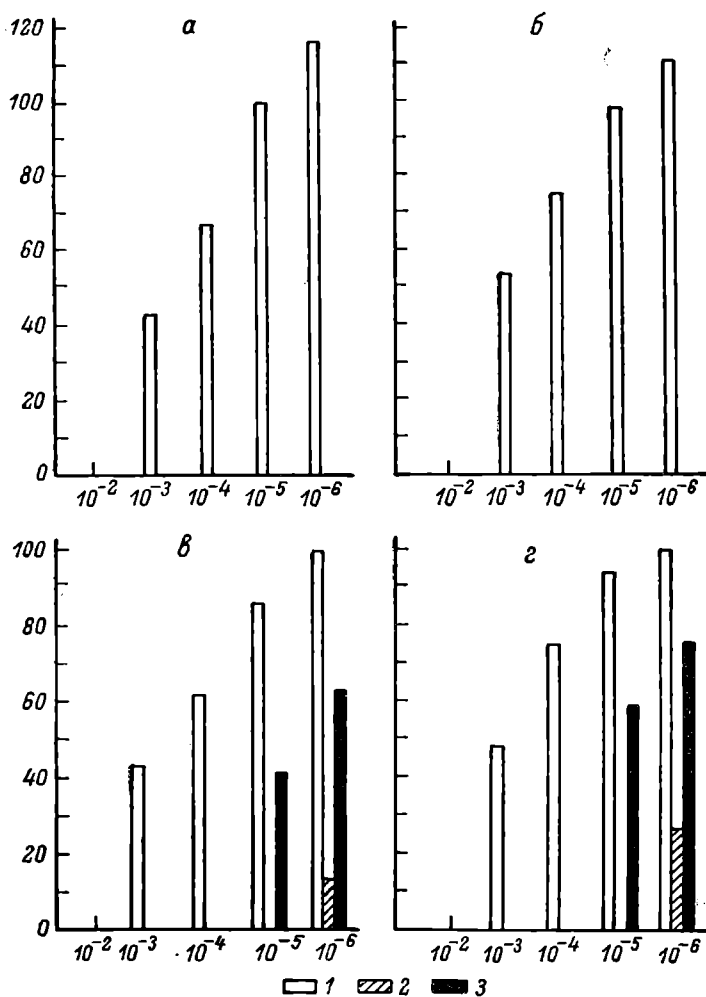


Рис. 4. Влияние *in vitro* хлорофоса на активность холинэстеразы сыворотки крови рыб.
По оси абсцисс — концентрация хлорофоса, моли. Остальные обозначения те же, что на рис. 3.

фермент, а в еще меньшей концентрации (10^{-6} М) даже его активировал — реакционная способность холинэстеразы возрастала на 16.3 %.

Холинэстераза сыворотки крови леща полностью ингибировалась хлорофосом 10^{-2} М (рис. 4, б). С уменьшением концентрации токсиканта реакционная способность фермента в некоторой степени сохранялась. В 10^{-5} М хлорофос практически не угнетал активность фермента, а в 10^{-6} М активировал его гидролизующую способность на 10.3 %.

Активность фермента плотвы, имеющего ОЭП ~ 0.07 , не изменялась при воздействии хлорофосом 10^{-6} М (рис. 4, в). В больших концентрациях токсиканта наблюдалась его инактивация. Степень снижения реакционной способности данного фермента пропорциональна увеличению концентрации хлорофоса. Фермент с ОЭП 0.26 оказался более чувствительным к хлорофосу. После инкубирования гелей в растворе токсиканта 10^{-2} , 10^{-3} и 10^{-4} М

фермент был полностью инактивирован (рис. 4, в). Хлорофос в концентрации 10^{-6} М снижал активность фермента к ацетилтихолинйодиду на 85.2%, к бутирилтихолинбромиду — на 36.6%.

Холинэстеразу синца с ОЭП ~ 0.07 в наибольшей степени хлорофос ингибировал в концентрации 10^{-2} и 10^{-3} М (рис. 4, г). Токсикант в концентрациях 10^{-4} и 10^{-5} М незначительно изменял реакционную способность фермента (на 24.5 и 5.7% соответственно). В 10^{-6} М хлорофос совершенно не влиял на активность фермента. Холинэстераза с ОЭП 0.29 полностью инактивировалась хлорофосом 10^{-2} , 10^{-3} и 10^{-4} М. После воздействия хлорофосом в меньших концентрациях активность фермента сохранялась к бутирилтихолинбромиду на 59.3% (10^{-5} М) и на 75.4% (10^{-6} М), к ацетилтихолинйодиду — на 26.3% (10^{-6} М).

СОПОСТАВЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ФЕРМЕНТОВ И УСТОЙЧИВОСТИ РЫБ К ХЛОРОФОСУ

В токсикологической серии опытов были определены абсолютно летальные дозы токсиканта (LC_{100}) для всех изучаемых видов.

Наиболее устойчивым к хлорофосу оказался карп (LC_{100} 500 мг/л), наименее устойчивой — плотва (LC_{100} 60 мг/л). 100%-я гибель синца наблюдалась при концентрации токсиканта 70 мг/л, леща — 200 мг/л.

Сопоставление устойчивости рыб к пестициду с чувствительностью к нему ферментов позволило выявить некоторые особенности. Виды, имеющие холинэстеразу, активность которой угнетается хлорофосом в низких концентрациях (рис. 4, в, г), погибают от небольших доз токсиканта (плотва, синец). Напротив, карп и лещ, в сыворотке крови которых присутствует фермент, менее чувствительны к хлорофосу, выживают в более концентрированных растворах токсиканта.

Таким образом, хотя плотва, лещ, синец, карп относятся к одному сем. *Cyprinidae*, однако проведенные методом электрофореза в полиакриламидном геле исследования холинэстераз сыворотки крови этих рыб позволили установить, что у плотвы и синца присутствуют 2 фермента с холинэстеразной активностью, у карпа и леща — 1.

У всех рыб имеется фермент со свойствами ацетилхолинэстеразы (шифр 3.1.1.7), который обладает большим сродством к ацетилтихолинйодиду, но гидролизует также и пропионилтихолинйодид. Активность этого фермента угнетается избытком субстрата (ацетилтихолинйодида) и эзеринном 10^{-4} — 10^{-5} М. Его электрофоретическая подвижность ~ 0.07 .

В сыворотке крови плотвы и синца содержится еще фермент со свойствами холинэстеразы (шифр 3.1.1.8). Он специфичен к бутирилтихолинбромиду и довольно интенсивно гидролизует ацетилтихолинйодид и пропионилтихолинйодид, но менее чувствителен к эзерину и имеет относительную электрофоретическую подвижность у плотвы — 0.26 и у синца — 0.29.

В количественном соотношении в сыворотке крови плотвы и синца содержится больше фермента со свойствами холинэстеразы, чем фермента, обладающего свойствами ацетилхолинэстеразы.

Большей чувствительностью к хлорофосу обладает фермент, относящийся к типу холинэстеразы: у плотвы с ОЭП 0.26, у синца с ОЭП 0.29.

Устойчивость изучаемых видов рыб (плотва, лещ, синец, карп) коррелирует с чувствительностью их ферментов к токсиканту.

Л и т е р а т у р а

1. А б б а с А. Сравнительное изучение действия пестицидов различного химического состава на рыб (*Cyprinus carpio* L.). — Автореф. канд. дис. М., 1976. 23 с.
2. Б е р н Г. Функции химических передатчиков вегетативной нервной системы. М., 1961. 173 с.

3. Бриг И. Л. Холинэстеразы мышц морских червей *Physcosoma japonicum* и *Lumbriconereis impatiens*. — В кн.: Биохимическая эволюция. Л., 1973, с. 56—66.
4. Голиков С. Н., Розенгарт В. И. Холинэстеразы и антихолинэстеразные вещества. Л., 1964. 382 с.
5. Григорьева Г. М. Холинэстеразы зрительного ганглия кальмара *Illex illecebrosus*, каракатицы *Sepia officinalis* и эледоны *Eledone moshata* (*Cephalopoda*). — В кн.: Сравнительная нейрхимия. Л., 1976, с. 3—13.
6. Григорьева Г. М., Розенгарт Е. В., Турнаев Т. М. Характеристика специфичности холинэстераз сердечной мышцы и гемолимфы моллюсков. — В кн.: Физиология и биохимия беспозвоночных. Л., 1968, с. 166—175.
7. Грищенко Л. И., Верховский А. П., Тронина Г. А. Механизм действия бензофосфата (фозалона) на организм рыб. — В кн.: Экспериментальная водная токсикология. Рига, 1976, вып. 6, с. 195—203.
8. Дам П. Токсикологическое действие фосфорорганических соединений на насекомых. — Бюл. Всемирной организации здравоохранения, 1972, вып. 44, № 1—3, с. 217—222.
9. Кабачник М. И., Бресткин А. П., Михельсон М. Я. О механизме физиологического действия ФОС. — Докл. на пленарном заседании IX Менделеевского съезда общей и прикладной химии. М., 1965. 32 с.
10. Лили Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М., 1969. 645 с.
11. Маурер Г. Диск-электрофорез. М., 1971. 244 с.
12. Метелев В. В., Канаев А. И., Засохова Н. Г. Водная токсикология. М., 1971. 247 с.
13. Михельсон М. Я., Зеймаль Э. В. Ацетилхолин. Л., 1970. 280 с.
14. Нахманзон Д. Перспективы исследования молекулярных основ активности нервов. — В кн.: Молекулярная биология. Проблемы и перспективы. М., 1964, с. 282—303.
15. Номенклатура ферментов. Рекомендации международного биохимического союза. М., 1966. 253 с.
16. О'Брайн Р. Токсические эфиры кислот фосфора. М., 1964. 631 с.
17. Панюков А. Н. О роли неспецифической холинэстеразы в головном мозгу. — Тез. докл. 1-го Всесоюз. биохим. съезда, М.—Л., 1963, вып. 2, с. 134—135.
18. Португалов В. В., Яковлев В. А. Холинэстеразы и антихолинэстеразные вещества. — Вопр. мед. химии, 1953, № 5, с. 188—192.
19. Прокопенко В. А., Косинова Н. Р., Волинская Э. М. Некоторые особенности токсического действия метилнитрофоса и изофоса на личинку севрюги *Asipenser stellatus*. — В кн.: Экспериментальная водная токсикология. Рига, 1976, вып. 6, с. 178—186.
20. Турпаев Т. М., Абашкина Л. И., Бресткин А. П., Бриг И. Л., Григорьева Г. М., Карташова Н. В., Панюков А. Н., Невзнер Д. Л., Розенгарт В. И., Розенгарт Е. В., Сахаров Д. А. Холинэстераза зрительных ганглиев кальмара *Ommatostrephes sloanei-pacificus*. — В кн.: Физиология и биохимия беспозвоночных. Л., 1968, с. 121—129.
21. Augustinsson K. B. Electrophoresis studies on blood plasma esterases. II. Avian, reptilian amphibian and piscine plasmata. — Acta chem. scand., 1959, vol. 13, N 3, p. 1081—1096.
22. Bernsohn J., Barron K. D., Hess A. D. Multiple nature of acetylcholinesterase in nerve tissue. — Nature, 1962, vol. 195, N 4838, p. 285—286.
23. Berry W. K. Biochim. et biophys. Acta, 1960, vol. 39, p. 346. Цит. по: Bernsohn J., Barron K. D., Hess A. R. Multiple nature of acetylcholinesterase in nerve tissue. — Nature, 1962, vol. 195, N 4838, p. 285—286.
24. Bull G., Hebb C., Ratkovic D. Choline acetylase in the human placenta at different stages of development. — Nature, 1961, vol. 190, N 4782, p. 1202.
25. Carpage D. L., Matthews E. Brain acetylcholinesterase inhibition in a marine teleost during lethal and sublethal exposures to 1,2-dibrom-2,2-dichloroethyl dimethyl phosphate (naled) in seawater. — Toxicol. and Appl. Pharmacol., 1975, vol. 31, N 1, p. 128—133.
26. Gibson J. R., Ludke J. L. Effect of SKF-525A on brain acetylcholinesterase inhibition by parathion in fishes. — Bull. Environ. Contam. and Toxicol., 1973, vol. 9, N 3, p. 140—142.
27. Goldstein G. Biochemical indicators of environment pollutin. — In: Indicators of Environmental Quality. N. Y.—L., 1972, p. 109—131.
28. Hess A. R., Angel R. W., Barron K. D., Bernsohn J. Clin. Chim. Acta, 1963, vol. 8, p. 656. Цит. по: Уилкинсон Д. Изоферменты. М., 1968. 220 с.
29. Hogan J. W. Brain acetylcholinesterase from cutthroat trout. — Trans. Amer. Fish. Soc., 1971, vol. 100, N 4, p. 672—675.
30. Karnovsky M. J., Roots L. A directcoloring thiocholine method for cholinesterases. — J. Histo-Cytochem., 1964, vol. 12, N 3, p. 219—221.

31. M a z u r A., B o d a n s k y O. J. — J. Biol. Chem., 1946, vol. 163, p. 261—276.
Цит. по: Смусин Я. С. Судебно-медицинская экспертиза отравлений антихолин-эстеразными веществами, М., 1968. 191 с.
 32. O r d M. G., T h o m p s o n R. H. S. The Preparation of Soluble Cholinesterases from Mammalian Heart and Brain. — Biochem. J., 1951, vol. 49, N 2, p. 191—199.
 33. P o s t G., L e a s u r e R. A. Sublethal effect of malathion to three salmonid species. — Bull. Environ. Contam. and Toxicol., 1974, vol. 12, N 3, p. 312—319.
 34. T h o m p s o n R. H. S. Cholinesterases. — Brit. Med. Bull., 1953, vol. 9, N 2, p. 138—141.
 35. W a c h t e n d o n k D. Über das vorkommen von Acetylcholinesterase (E. C. 3.1.1.7) in der Hämolymphe der Miesmuschel *Mytilus edulis*. — Z. Naturforsch., 1976, Bd 31, N 5—6, S. 333—334.
 36. W i l d e r W. H. Histochemical localization of cholinesterase in larvae of *Culiseta inornata* (Diptera : Culicidae). — Ann. Entomol. Soc. America, 1970, vol. 63, N 6, p. 1620—1624.
-

ИЗМЕНЕНИЕ БЕЛКОВОГО СОСТАВА СЫВОРОТКИ КРОВИ КАРПА ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ХЛОРОФОСОМ И ПОЛИХЛОРПИНОМ

В настоящей работе рассматривается влияние широко применяемых в сельском хозяйстве препаратов хлорофоса и полихлорпина на состав белков сыворотки крови рыб.

Известно, что белки сыворотки крови адекватно отражают физиологическое состояние организма, работу его органов, обмен веществ. Различные патологические процессы сопровождаются изменением в содержании тех или иных белков сыворотки крови [3, 8, 15].

У лиц, работающих в течение нескольких лет с хлорорганическими (ДДТ, полихлорпинен, гексахлоран) и фосфорорганическими (меркаптофос, метилмеркаптофос, вофотокс) пестицидами, установлено повышение количества общего белка в сыворотке крови, снижение содержания альбуминов и увеличение α - и γ -глобулинов. Изменения рассматриваются как следствие нарушения функции печени [2, 5, 12].

Аналогичная картина (гиперпротеинемия, гипоальбуминемия и увеличение глобулиновой фракции) наблюдалась у кроликов при токсическом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом CCl_4 [11]. Такие же изменения отмечены и у рыб (*S. guingueradiata*), получавших по 0.1 мг CCl_4 на 100 г веса. После инъекции CCl_4 в дозе 0.2 мл на 100 г веса число белковых фракций на электрофореграммах сыворотки крови опытных рыб увеличивалось [20]. При ежедневном введении свинца кроликам в дозе 100 мг/кг в течение 60 суток наблюдалось снижение содержания в сыворотке альбуминов, увеличение α -глобулинов и в меньшей степени — β - и γ -глобулинов [14]. При действии пропанида у рыб альбуминовая фракция также уменьшалась, а количество β - и отчасти γ -глобулинов возрастало [9].

У крыс после 3-месячного ежедневного введения хлорофоса по 1/10, 1/20, 1/50 ДЛ₅₀ обнаружено снижение синтеза всех сывороточных белков (по включению глицина — C^{14}). Особенно сильно угнетался синтез γ -глобулинов [13]. Аналогичные изменения от сублетальных доз хлорофоса наблюдали в сыворотке крови крупного рогатого скота. Пониженный уровень удерживался в течение 10 дней опыта [16].

Метилнитрофос в сублетальных концентрациях вызывал у рыб снижение только α - и β -глобулинов [10].

Однократное введение кроликам 475 мг/кг фосфамида сопровождалось увеличением общего белка, альбуминов и β -глобулинов [6].

Результаты этих исследований свидетельствуют о значительном влиянии токсических веществ на количественный и качественный состав белкового спектра сыворотки крови.

Вероятно, степень и картина изменений зависит от природы, дозы воздействующего вещества, а также от вида организма, подвергнувшегося отравлению.

Влияние хлорофоса и полихлорпинена на карпов изучали в условиях острого опыта и при суммировании эффекта действия токсиканта. В аквариум, в котором содержалась рыба, вносили ежедневно препарата 1/10 дозы острого опыта. Концентрация полихлорпинена в острых опытах 1 мг/л, хлорофоса — 500 мг/л.

Опыты ставились в 150-литровом аквариуме, продуваемом воздухом от компрессора, при температуре 20—22°. В аквариум помещали по 20 рыб, всего в опытах было использовано 210 карпов.

По мере проявления симптомов отравления у рыб брали кровь. Пробирки с кровью помещали в холодильник, после образования сгустка фибрина отделяли сыворотку.

Суммарное содержание белков в сыворотке крови рыб определяли спектрофотометрическим методом [7]. Белковый состав сыворотки крови изучался методом диск-электрофореза в полиакриламидом геле [18]. Использовали прибор фирмы «Реанал» и систему 7%-го геля. Разделяющий гель полимеризовали на буфере трис-HCl (pH 8.9), концентрирующий гель получали световой полимеризацией с рибофлавином тоже на буфере трис-HCl (pH 6.7). Электродные сосуды заполняли трис-глициновым буфером (pH 8.3).

Для удаления непрореагировавших акриламида, бис-акриламида, персульфата аммония, которые могут вступать во взаимодействие с веществами, подлежащими разделению, проводили их электрофоретическое удаление при силе тока 20 мА на прибор.

В каждую трубку вносили по 0.2 мл образца сыворотки, приготовленного на 20%-й сахарозе и содержащего ~200 мкг белка (0.01 мл сыворотки).

Время электрофореза 2 ч 15 мин: при силе тока 0.5 мА на одну трубочку в течение первых 30 мин, 3 мА на трубочку — остальное время. Окрашивали гели 1%-м раствором амидочерного 10-B в 7%-й уксусной кислоте, отмывали — 7%-й уксусной кислотой. Зоны белка проявлялись в виде синих полос. Идентифицировали белковые фракции расчетом их относительной электрофоретической подвижности (ОЭП) по формуле:

$$\text{ОЭП} = \frac{\text{расстояние от старта до середины зоны белка}}{\text{расстояние от старта до отметки красителя}}.$$

Для количественной оценки электрофореграммы денситометрировали.

БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ СЫВОРОТКИ КРОВИ КАРПА В ОПЫТАХ С ХЛОРОФОСОМ

Проявление симптомов отравления хлорофосом в условиях острой интоксикации: 3 ч опыта — повышение общей возбудимости на звуковые и тактильные раздражения; 7 ч опыта — резкая общая заторможенность (слабые реакции на внешние раздражения, низкая общая двигательная активность); 24 ч опыта — расстройство координации движений, тремор скелетной мускулатуры, значительная интенсификация окраски, падение рыб на дно, обездвиживание, наступление смерти.

При остром отравлении хлорофосом содержание белков в сыворотке крови рыб увеличивается (табл. 1). Наиболее существенные изменения в белковом составе крови происходят в области альбуминов. Уже через 3 ч опыта электрофоретическая подвижность этой зоны уменьшается (в опыте ОЭП 0.62, в контроле — 0.75). Альбумины сливаются с трансферинном (рис. 1), процентное соотношение их в сыворотке крови возрастает (табл. 2). Через 24 ч опыта при нарушении координации движений изменения в зоне альбуминов сохраняются, но подвижность белков несколько увеличивается и выявляется одна полоса трансферина. У погибших или погибающих рыб количество альбуминов и их электрофоретическая подвижность близки к контролю (рис. 1).

Таблица 1

Изменения в содержании белков сыворотки крови карпа в опытах с хлорофосом и полихлорпинеом (спектрофотометрический метод), мг/мл

	Время опыта, ч	Хлорофос		Полихлорпинеи	
		опыт	контроль	опыт	контроль
Острая интоксикация	3	35.5±3.6 *	21.3±1.1	31.5±3.4	29.4±1.4
	7	33.7±1.8 *	21.3±1.1	41.2±1.3 *	29.4±1.4
	24	28.5±1.1 *	21.3±1.1	49.1±1.8 *	29.4±1.4
При внесении в аквариум токсиканта 1/10 дозы острого опыта	6 дней	20.2±0.8 *	25.4±0.9	27.3±1.9	28.7±1.7

Примечание. * — различие между опытом и контролем достоверно при доверительном уровне 0.99.

В области глобулинов (ОЭП 0.15—0.3) появляются новые мелкие фракции, наиболее четки эти изменения у рыб с нарушенной координацией движений (рис. 1).

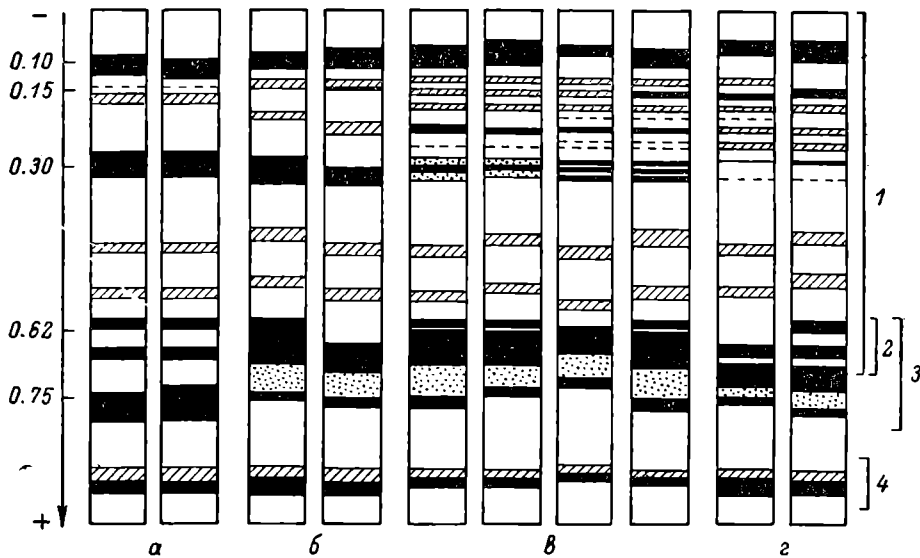


Рис 1. Электрофореграммы белков сыворотки крови карпа в остром опыте с хлорофосом.

а — контроль, б — через 3 ч опыта, в — через 24 ч у рыб с нарушенной координацией движений, г — через 24 ч у рыб, лежащих на дне аквариума. 1 — глобулины, 2 — трансферин, 3 — альбумины, 4 — преальбумины. По вертикали — относительная электрофоретическая подвижность.

Симптомокомплекс отравления при внесении в аквариум хлорофоса в течение 6 дней по 50 мг/л растянут во времени, и степень проявления соответствующих симптомов менее выражена.

Белковый спектр в этом опыте исследовался на 7-е сутки, когда у рыб наблюдалось нарушение координации движений. Электрофореграммы белков при таком отравлении сходны с картиной изменений белков в остром опыте. В области альбуминов появляется белок с меньшей электрофоретической подвижностью и новые фракции в области глобулинов (ОЭП 0.15—0.3) (рис. 2). Содержание альбуминов больше, чем в контроле (табл. 2). Однако количество белков, определяемых спектрофотометрическим методом, уменьшается (табл. 1).

Таблица 2

Содержание альбуминов и глобулинов в сыворотке крови карпа при отравлении полихлорпином и хлорофосом (метод электрофореза), %

Токсикант	Белки	Острая интоксикация			При внесении в аквариум токсиканта 1/10 дозы острого опыта в течение 6 дней	Контроль
		3 ч	7 ч	24 ч		
Хлорофос	Альбумины	46.0	44.2	42.9	43.7	31.3
	Глобулины	54.0	55.8	58.1	56.3	68.7
Полихлорпирин	Альбумины	33.1	29.1	30.6	31.3	32.5
	Глобулины	66.9	70.9	69.4	68.7	67.5

БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ СЫВОРОТКИ КРОВИ КАРПА В ОПЫТАХ С ПОЛИХЛОРПИНОМ

Состояние белков сыворотки крови при острой интоксикации анализировали при проявлении следующих симптомов отравления: 3 ч опыта — повышение общей возбудимости на звуковые и тактильные раздраже-

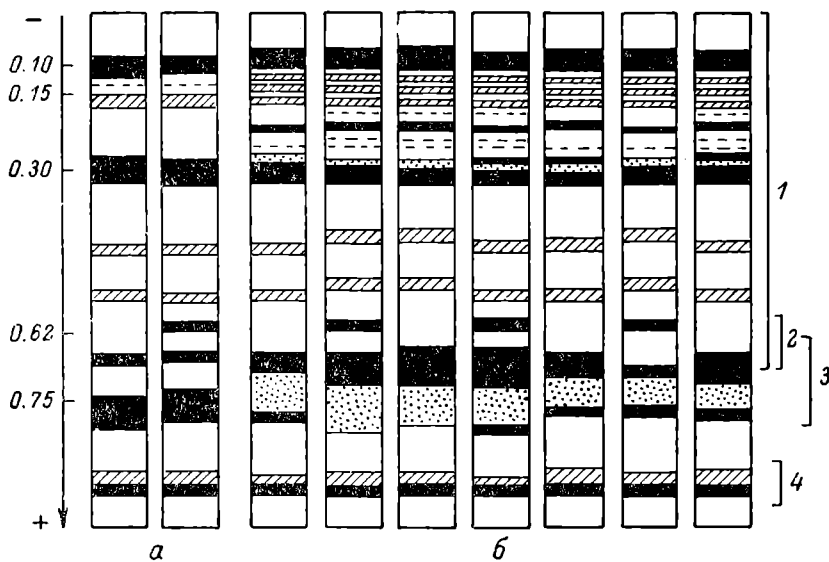


Рис. 2. Электрофореграммы белков сыворотки крови карпа при внесении в аквариум хлорофоса по 50 мг/л в течение 6 дней.

а — контроль, б — на 7-е сутки опыта у рыб с нарушенной координацией движений. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

ния, бурная двигательная активность; 7 ч опыта — рыбы всплывают к поверхности и заглатывают воздух; 24 ч опыта — нарушение рефлекса равновесия (плавание в боковом положении, обездвиживание, наступление смерти).

Через 3 ч опыта наличие белков, определяемых спектрофотометрическим методом, меняется незначительно. Однако при сравнении электрофореграмм белкового спектра сыворотки крови опытных и контрольных рыб заметно увеличение зоны глобулинов с электрофоретической подвижностью 0.30 (рис. 3). Количество белков в этой зоне в дальнейшем продолжает увеличиваться — максимум приходится на 7 ч опыта; одновременно возрастает их электрофоретическая подвижность. В этот период

существенно меняется и содержание белков, выявляемых спектрофотометрическим методом (табл. 1).

При острой интоксикации полихлорпиненом, так же как при отравлении хлорофосом, преобладают альбумины с меньшей электрофоретической подвижностью (рис. 3), но процентное содержание их в сыворотке снижено (табл. 2).

При внесении в аквариум полихлорпинена по 0.1 мг/л в течение 6 дней симптомокомплекс выражен слабо и растянут во времени; содержание белков, определенных спектрофотометрическим методом, почти не

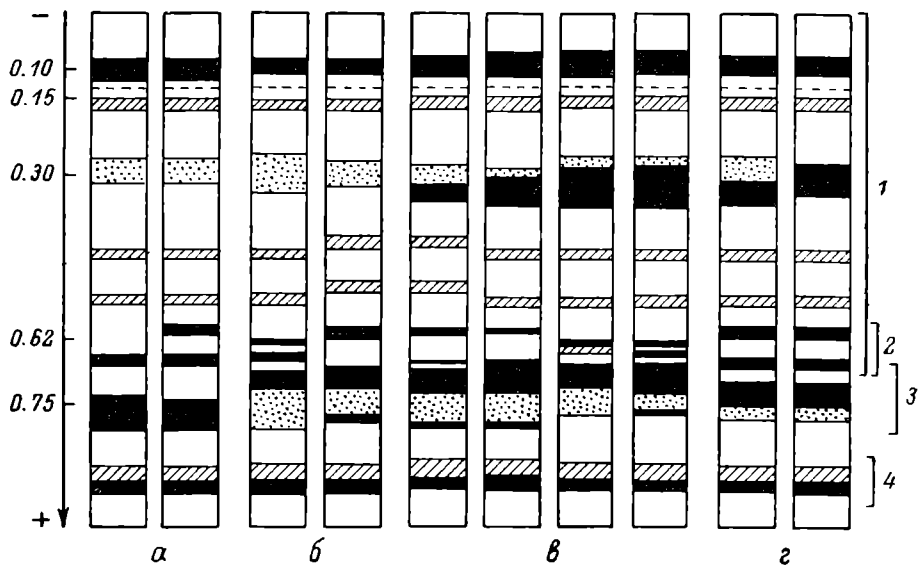


Рис. 3. Электрофореграммы белков сыворотки крови карпа в остром опыте с полихлорпиненом.

а — контроль, б — через 3 ч опыта, в — через 7 ч, г — через 24 ч у рыб с нарушенной координацией движений. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

меняется. Однако изменения в спектре белков повторяют картину острого опыта (рис. 4). Используя систему 10%-го геля, удалось выяснить, что фракция глобулинов с электрофоретической подвижностью 0.30 состоит из нескольких компонентов и число их в опыте больше, чем в контроле (рис. 4).

Были поставлены специальные опыты по влиянию непосредственного действия токсикантов на белки сыворотки крови, поскольку имеются сведения, что альбумины участвуют в процессах детоксикации [1]. Кроме того, сообщается о способности белков плазмы крови связывать пентобарбитал натрия, салицилаты, пеницилины, столбнячный токсин [4, 17, 19, 21]. Сыворотку крови инкубировали с раствором хлорофоса 500 мг/л и раствором полихлорпинена 1 мг/л (при выборе концентраций токсических веществ исходили из условий острого опыта). В опытах *in vitro* ни хлорофос, ни полихлорпинен не оказали влияния на белковый спектр сыворотки крови (рис. 5). Следовательно, выявленные изменения в составе белков сыворотки крови при интоксикации рыб хлорофосом и полихлорпиненом не связаны непосредственно с присутствием токсикантов в крови. Их следует расценивать как определенную реакцию организма на действие хлорофоса и полихлорпинена.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что при отравлении полихлорпиненом и хлорофосом со смертельным исходом белковый спектр сыворотки крови карпа значительно изменяется. Под

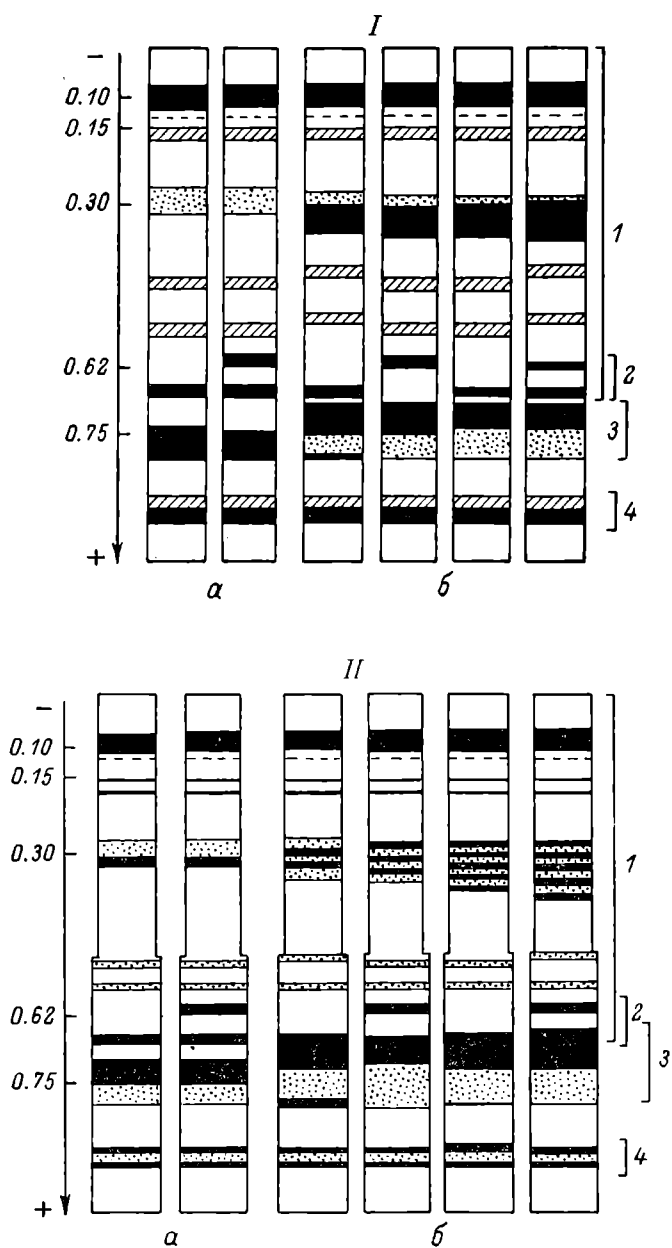


Рис. 4. Электрофореграммы белков сыворотки крови карпа при внесении в аквариум полихлорпинена по 0.1 мг/л в течение 6 дней.

а — контроль, *б* — на 7-е сутки опыта у рыб с нарушенной координацией движений. I — система 7%-го геля, II — комбинированный гель 7—10%. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

влиянием хлорофоса увеличивается число фракций в области глобулинов с ОЭП 0.15—0.3, а под влиянием полихлорпинена — с ОЭП 0.30. Общее в действии обоих препаратов — появление в зоне альбуминов белка с меньшей электрофоретической подвижностью. Его количество изменяется в процессе отравления.

Сопоставление определения белков спектрофотометрическим методом и электрофоретического исследования белкового спектра выявило некото-

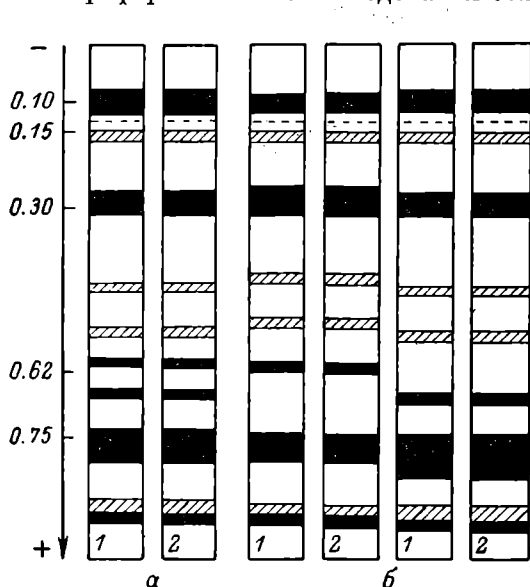


Рис. 5. Влияние *in vitro* хлорофоса 10^{-5} М и полихлорпинена 1 мг/л на белки сыворотки крови карпа.

а — хлорофос, б — полихлорпинен. 1 — опыт, 2 — контроль. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

рые особенности в патогенезе отравления токсикантами в зависимости от способа их применения. При острой интоксикации содержание белков в сыворотке крови подопытных рыб возрастает, о чем свидетельствуют как спектрофотометрические, так и электрофоретические исследования. Однако, если вносить токсиканты в аквариум по 1/10 дозы острого опыта в течение 6 дней, наблюдается увеличение белков, обладающих сродством только к амидошварцу 10 В, а количество белков, определяемых спектрофотометрическим методом, имеет тенденцию к снижению.

Л и т е р а т у р а

1. А с а т я н и В. С. Химия нашего организма. М., 1969. 303 с.
2. Б у ш у е в а Т. И., З а б о з л а е в а Е. А., Я к у б о в А. Я. К вопросу о действии ядохимикатов на активность сывороточных ферментов и белковую картину крови. — Тр. Тадж. мед. ин-та, 1968, вып. 98, с. 39—142.
3. Г р а б а р П., Б у р т е н П. Иммуноэлектрофоретический анализ. М., 1963. 206 с.
4. И в а ш и н В. Л. Влияние столбчатного токсина на электрофоретические свойства белков сыворотки крови. — Вопр. мед. хим., 1972, № 6, с. 636—638.
5. К а с к е в и ч Л. М., Б е з у г л ы й П. П. Некоторые показатели функционального состояния печени у лиц летно-технического состава, занятых на авиационных работах. — В кн.: Гигиена применения, токсикология пестицидов и клиника отравлений. Киев, 1968, вып. 6, с. 507—611.
6. К о х т ю к Ф. П. Морфологические и биохимические показатели крови животных при отравлении фосфамидом. — Бюл. Всесоюз. ин-та эксперим. вет., 1967, вып. 1, с. 34—37.
7. К о ч е т о в Г. А. Практическое руководство по энзимологии. М., 1971. 352 с.
8. М а у р е р Г. Диск-электрофорез. М., 1971. 247 с.
9. М е т е л е в В. В. Токсичность и некоторые вопросы механизма действия пропана на организм рыб. — Тр. ВНИИ вет. санитарии, 1974, вып. 50, с. 72—75.
10. М е т е л е в В. В., К а н а е в А. И., Д з а с о х о в а Н. Г. Водная токсикология. М., 1971. 247 с.
11. М у с т а ф ь е в М. А. Влияние АКТГ на белковую картину крови при токсическом гепатите. — Учен. зап. Азерб. с.-х. ин-та. Сер. вет., 1973, № 3, с. 73—75.
12. П а р а м о н ч и к В. М. Влияние хлорорганических ядохимикатов на некоторые функции печени. — В кн.: Гигиена применения, токсикология пестицидов и клиника отравлений. Киев, 1968, вып. 76, с. 512—515.
13. П е т р о в В. С., К е н и н г с б е р г Я. Э. Нарушение биосинтеза сывороточных белков у крыс при подострой интоксикации хлорофосом. — В кн.: Гигиенические аспекты охраны внешней среды в условиях научно-технического прогресса. Минск, 1974, с. 85—86.
14. С у б б о т и н а С. Б., Б е л о н о ж к о Г. А. Влияние севина на термостойчивость и фракционный состав белков сыворотки крови. — В кн.: Гигиена при-

- менения, токсикология пестицидов и клиника отравлений. Киев, 1968, вып. 6, с. 621—625.
15. Т у м а н о в А. К. Сывороточные системы крови. М., 1968. 230 с.
 16. Ц а р е в С. Г. Токсикология ядохимикатов, применяемых в сельском хозяйстве. М., 1969. 176 с.
 17. A l e x a n d e r F., N i c h o l s o n J. D. The blood and saliva clearances of phenobarbitone and pentobarbitone in the horse. — *Biochem. Pharmacol.*, 1968, vol. 17, N 2, p. 203—210.
 18. D a v i s B. J. Disc electrophoresis. II. Methods and application to human serum proteins. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1964, vol. 121, N 2, p. 404—427.
 19. K i v m a n G. J., J a k o v l e v V. P. Interakce polosyntetických penicilinů s krevními proteiny a kinetika preparátů v organismu. — *Časop. lékařů česk.*, 1968, vol. 107, N 1, S. 1—4.
 20. S a k a g u c h i H., H a m a g u c h i A. Nixon syisan gakkaisi. — *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 1975, vol. 41, N 3, p. 283—290.
 21. S t u r m a n J. A., S m i t h J. H. The binding of salicylate to plasma proteins in different species. — *J. Pharmacy a. Pharmacol.*, 1967, vol. 19, N 9, p. 621—622.
-

Л. Н. Лапкина, Б. А. Флеров

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ ПИЯВОК НЕКОТОРЫМИ ТОКСИЧЕСКИМИ ВЕЩЕСТВАМИ

Роль пиявок в жизни водоемов освещена достаточно подробно. Большая часть из них паразиты-гематофаги (кровососы млекопитающих, водоплавающих птиц, рыб, рептилий, ракообразных, моллюсков), часто приводящие своих хозяев к истощению, заболеваниям и гибели. Некоторые пиявки — ценные пищевые объекты для рыб, птиц, млекопитающих [2, 4, 7, 9—11, 17, 20, 21, 23, 27, 28, 32]. Однако вопросу о влиянии на пиявок различных токсических веществ, и особенно пестицидов, уделено недостаточно внимания; сведения по токсикологии этих животных малочисленны [1, 5, 16, 24—26, 30—33]. Поэтому важно сравнительное изучение действия токсических веществ на разные виды пиявок, позволяющее установить степень их устойчивости, а также прогнозировать последствия влияния токсического фактора. Такое исследование необходимо также как звено в комплексе работ по отбору эффективных токсических соединений, избирательно действующих на пиявок-паразитов, и мало-токсичных — для их хозяев.

Цель настоящей работы — сравнение симптомов отравления и токсикологических характеристик у разных видов пиявок при действии широко распространенных токсических веществ (фенол, фосфор- и хлорорганические пестициды).

Исследования проводились на следующих представителях (рис. 1; см. вклейку) 4 семейств пиявок: отр. *Rhynchobdellea* (хоботные пиявки), сем. *Glossiphoniidae* (плоские пиявки), *Protoclepsis tessulata* (O. F. M.), *Hemiclepsis marginata* (O. F. M.), *Glossiphonia* (*Glossiphonia*) *complanata* (L.), *G. (Alboglossiphonia) heteroclita* (L.), *Helobdella stagnalis* (L.), сем. *Ichthyobdellidae* (рыбьи пиявки), *Piscicola geometra* (L.), отр. *Arhynchobdellea* (бесхоботные пиявки), сем. *Hirudinidae* (челюстные пиявки), *Hirudo medicinalis* (L.), *Haemopsis sanguisuga* (L.), сем. *Herpobdellidae* (глоточные пиявки), *Herpobdella* (*Herpobdella*) *octocolata* (L.), *H. (H.) testacea* (Savigny), *H. (H.) nigricollis* (Brandes), *H. (Dina) lineata* (O. F. M.).

Пиявок отлавливали в окрестных водоемах Борка (кроме *H. medicinalis*, которых приобретали в аптеках) и акклиматизировали в течение 3 суток к лабораторным условиям. При температуре 18—21° испытывались приготовленные на отстоянной водопроводной воде растворы фенола (50—1000 мг/л), хлорофоса (0.0001—300 мг/л), карбофоса (0.01—50 мг/л), рогора (1—100 мг/л) и полихлорпинена (0.1—30 мг/л). Крупные виды пиявок *H. medicinalis* и *H. sanguisuga* помещали по 1 экз. в заполненные до краев раствором 200-миллилитровые сосуды, которые плотно прикрывали крышкой, чтобы предотвратить бегство червей. Крышки убирали после нарушения локомоции у животных. Средние и мелкие виды пиявок помещали по 5—10 экз. в 500-миллилитровые сосуды. Весь опыт длился 5 суток: 2-суточная экспозиция в растворе токсиканта и 3-суточная отмывка в многократно заменяемой чистой воде. Отмывка необходима

из-за трудности определения смерти у обездвиженных пиявок. На испытание одной концентрации токсиканта приходилось от 5—10 до 20—50 червей, а всех его концентраций — от 40 до 250 червей. При регистрации симптомокомплекса пиявок взвешивали.

ФЕНОЛ

Пиявки устойчивы к действию фенола (табл. 1). При LC_{50} активность помещенных в раствор фенола пиявок изменяется мало, при LC_{100} она значительно возрастает и является рефлекторным ответом на раздражающее действие яда, поскольку реакция развивается мгновенно. Через 10—20 мин наступает нарушение координации движений, черви падают на дно, покрываются слизью, тела их судорожно изгибаются.

Пиявки *H. medicinalis* и *H. sanguisuga* (сем. *Hirudinidae*) с трудом прикрепляются к стенкам сосуда, фиксируя обе присоски вблизи друг друга, и повисают в виде петли. Через 1—2 ч они лежат на дне в неестественных позах: тела одеревенелые, сжаты, изуродованы перетяжками и утолщениями, совокупительный орган находится снаружи. Иногда животным удается прикрепиться задней присоской и они принимают необычную вертикальную позу. Затем наступает постепенное расслабление мускулатуры, неподвижность и смерть (рис. 2, а, см. вклейку).

У представителей сем. *Herpobdellidae* после прекращения судорожных движений тело укорачивается, деревенеет и обильно покрывается слизью, перед смертью мускулатура расслабляется.

Плоские пиявки сем. *Glossiphoniidae* в результате потери координации движений лежат вверх брюшком или на боку; тела, вначале сильно сжатые, постепенно вытягиваются (рис. 2, б—г). Перед смертью пиявки выбрасывают хоботок.

В летальных концентрациях фенола вес червей постепенно нарастает (рис. 3, а). У контрольных пиявок он значительно падает из-за выделения слизи в момент обсушивания их фильтровальной бумагой перед взвешиванием. Динамика изменения веса в большей мере зависит от индивидуальных особенностей животных, чем от концентрации фенола. Длительное нахождение пиявок на последних стадиях отравления приводит к образованию внутренних очагов кровоизлияний, особенно в об-

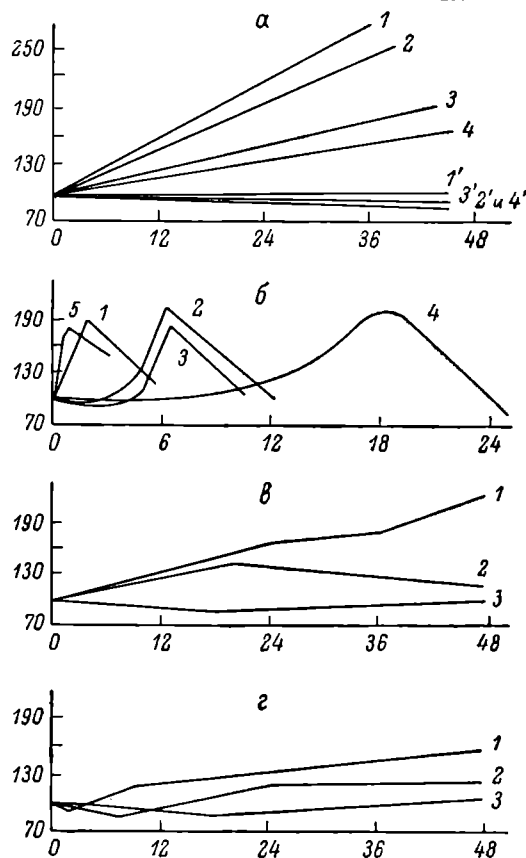


Рис. 3. Изменение веса пиявок в токсических растворах.

а — фенол: 1 — *G. complanata* при концентрации 1000 мг/л, 2 — *H. octoculata* (400), 3 — *H. sanguisuga* (800), 4 — *H. medicinalis* (400), 1'—4' — контроль; б — *H. medicinalis*, хлороформ: 1 — 20, 2 — 5, 3 — 1 мг/л, 5 — эзерин $5 \cdot 10^{-8}$ М; в — *H. sanguisuga*, хлороформ (15 мг/л): 1 — гибнущие к концу опыта, 2 — частично выживающие, 3 — выживающие; г — *H. medicinalis*, карбофос — 10 мг/л (1), рогор — 30 мг/л (2), полихлорпиперин — 10 мг/л (3). По оси ординат — изменение веса, %; по оси абсцисс — ч.

Таблица 1

Токсикологические параметры фенола (мг/л) для разных видов пиявок при 48-часовой экспозиции и температуре 18—21°

Вид	Возраст	Размер, мм	Месяцы	Количество, экз.	МПК	LC ₅₀	LC ₁₀₀
<i>Glossiphonia complanata</i>	Взрослые	15—20	VIII	40	500	800	1000
<i>Hirudo medicinalis</i>	»	60—80	V—VI	50	225	290	400
<i>Herpobdella (H.) octoculata</i>	С пояском	45	V—VI	60	160	290	400
<i>H. (H.) nigricollis</i>	То же	25—40	V—VI	65	150	220	300
<i>H. (H.) testacea</i>	» »	40	V—VI	65	100	160	250

ласти пояса и передних головных сегментов. При отмывке у многих червей наблюдается обратимость фенольной интоксикации, однако у некоторых головные сегменты подвергаются некрозу.

ФОСФОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

Х л о р о ф о с. У *H. medicinalis* продолжительный латентный период (5—6 ч) предшествует развитию 1-го симптома отравления — скручиванию задних сегментов тела при плавании. Постепенно происходит закручивание в тугую спираль всей пиявки и движения ее прекращаются. Далее в результате последовательных сокращений диагональной и продольной мускулатуры пиявка распрямляется, длина ее становится равной 1—2 см, тело покрывается слизью, глотка открывается, можно наблюдать ритмические движения 3 челюстей при полной неподвижности червя, происходит заглатывание воды [3]. Со временем мускулатура расслабляется, совокупительный орган выпадает наружу, тело вытягивается и перед смертью выгибается дугой так, что вентральная сторона образует внешнюю ее поверхность (рис. 4; см. вклейку). При отравлении хлорофосом очень характерны фазные изменения веса медицинской пиявки (рис. 3, б).

У *H. sanguisuga* последовательность нарастания внешних патологических явлений подобна таковым у медицинской пиявки, но динамика изменения веса иная (рис. 3, в).

У пиявок из сем. *Herpobdellidae* первый признак отравления проявляется в крючкообразных позах, затем тела червей перекручиваются, принимая формы штопора, колец, петель, спирали и т. д. (рис. 5; см. вклейку).

Симптомы отравления у разных видов сем. *Glossiphoniidae* отличаются друг от друга из-за морфологических различий в строении тела пиявок.

Плотная и короткая *G. complanata* сворачивается кольцом (рис. 6, а; см. вклейку); мелкая, но более мягкая *H. stagnalis* сначала подворачивает задние сегменты (рис. 6, б); длинная *H. marginata* застывает в причудливой позе, сворачивается спиралью, разворачивается, удлиняется, подгибает, а затем закручивает передние сегменты тела (рис. 6, в); *P. tessulata* после стадии сворачивания несколько распрямляется, часто вытягивает переднюю присоску, в дальнейшем на теле образуются вздутия (рис. 6, г, д).

Рыбья пиявка *P. geometra* прекращает движение, застывает в неестественной позе, укорачивается, перекручивается.

К а р б о ф о с. В концентрациях выше LC₅₀ *H. medicinalis* проявляет высокую двигательную активность сразу после посадки ее в токсикант. Затем следует кратковременное скручивание задних сегментов, активность падает, пиявка сжимается, плотно припадает ко дну, лишь самые передние сегменты вытягиваются и ощупывают поверхность. Когда и эти движения прекращаются, глотка открывается, отрывается кровь; движения челюстей и заглатывания воды, как в хлорофосе, не наблюдается. В момент расслабления мускулатуры и вытягивания тела

начинается обильное выделение слизи или слюны, передняя присоска часто распухает до величины задней.

У червей сем. *Herpobdellidae* также выражена повышенная активность, сменяющаяся судорожными перекручиваниями тел.

Симптомы отравления этих пиявок в рогоре почти не отличаются от таковых в карбофосе. Изменение веса пиявок *H. medicinalis* в этих ядах подобно таковому в хлорофосе у *H. sanguisuga* (рис. 3, г).

Токсикологические характеристики хлорофоса, карбофоса и рогора приведены в табл. 2.

Таблица 2

Токсикологические параметры фосфорорганических пестицидов (мг/л) для разных видов пиявок при 48-часовой экспозиции и температуре 18—21°

Вид	Возраст	Размер, мм	Месяцы	Количество	МПК	LC ₅₀	LC ₁₀₀
Х л о р о ф о с							
<i>Proclepsis tessulata</i>	Молодые	15	IX—XI	75	5	80—130	300
		25—35	IX—XI	15	—	—	>300
<i>Hemiclepsis marginata</i>	Взрослые	15—22	IX—XI	53	20	80—120	>300
<i>Glossiphonia (A.) heteroclita</i>	Разный	8—10	IX—XI	40	10	—	>300
<i>G. (G.) complanata</i>	Взрослые	15—25	IX—XI	48	15	—	>300
<i>Helobdella stagnalis</i>	Разный	5—10	IX—XI	250	3	10—100	250
<i>Haemopsis sanguisuga</i>	С пояском	70—90	VI—VII	83	2.5	10	25
<i>Herpobdella (D.) lineata</i>	Без пояса	20—40	VIII—IX	83	1	3.5	8
<i>H. (H.) octoculata</i>	То же	30—45	VI—VII	50	0.5	1.5	3.5
	С пояском	40—55	VI—VII	55	0.2	0.6	1
<i>H. (H.) testacea</i>	То же	30—45	VI—VII	68	0.1	0.35	1
<i>H. (H.) nigricollis</i>	» »	25—35	VI—VII	112	0.03	0.2	0.8
<i>Hirudo medicinalis</i>	» »	80	VI—VIII	50	0.05	0.3	0.6
<i>Piscicola geometra</i>	Взрослые	20—35	IX—XI	55	0.01	0.8	1.5
К а р б о ф о с							
<i>Hirudo medicinalis</i>	С пояском	60—80	VIII	50	6.5	11	14
<i>Herpobdella (H.) octoculata</i>	Без пояса	30—45	VIII	43	4.5	6.5	8
<i>H. (H.) nigricollis</i>	То же	20—30	VIII	50	1	4.7	7
Р о г о р							
<i>H. (H.) octoculata</i>	Без пояса	30—45	VII—VIII	40	5	—	100
<i>H. (H.) nigricollis</i>	» »	20—30	VII—VIII	58	3	—	100
<i>Hirudo medicinalis</i>	С пояском	60—80	VII—VIII	50	2	28	40

ХЛОРОГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

П о л и х л о р п и н е н. У *H. medicinalis* повышенная двигательная активность при LC₅₀ сменяется угнетением: пиявка фиксирует заднюю присоску, а головные сегменты или всю переднюю часть тела подгибает под брюшко (рис. 7); при раздражении энергично плавает, затем вновь замирает, иногда отрывает кровь. Чередование бурной активности с периодами угнетения длится часами. Незадолго до смерти развиваются гиперемия, кровоизлияния, судороги, сменяющиеся расслаблением мускулатуры, выпадением совокупительного органа. У *H. sanguisuga*, которая гибнет при более высоких концентрациях яда (табл. 3), наблюдаются те же симптомы, но при этом на теле возникают волдыри, ранки, более обширные очаги кровоизлияний, прямая кишка выпадает и образует складки вокруг ануса (рис. 7; см. вклейку).

Т а б л и ц а 3

Токсикологические параметры полихлорпинена (мг/л) для разных видов пиявок при 48-часовой экспозиции и температуре 18—21°

Вид	Возраст	Размер, мм	Месяцы	Количество, экз.	МПК	LC ₅₀	LC ₁₀₀
<i>Herpobdella (D.) lineata</i>	Без пояска	30	VIII—IX	60	10	16.5	27
<i>Haemopis sanguisuga</i>	С пояском	70—90	V—VI	45	6	10	20
<i>Hirudo medicinalis</i>	Взрослые	70	VI	55	2.5	5—7	10
<i>Herpobdella (H.) octoculata</i>	С пояском	45	VI	55	1.2	2.7	5.6
<i>H. (H.) nigricollis</i>	То же	25—40	VI	60	0.1	1.5	2

У представителя сем. *Herpobdellidae* — *H. nigricollis*, при LC₁₀₀ плавание сменяется угнетением, пиявка прикрепляется ко дну, ощупывает передними сегментами субстрат, но движения лишены плавности, прерывисты и постепенно переходят в ритмические подергивания; при более высоких концентрациях возможно кратковременное перекручивание тел. У части особей через мужскую гонопору выпадают петли семенпровода. Коконообразующая оболочка со множественной перфорацией лопается в продольном направлении, спадает с червя, внутри нее встречаются погибшие одиночные яйца. У *H. (D.) lineata* вслед за прекращением плавательной активности и ритмических судорог появляются на теле волдыри, раны, кровоизлияния, выпадает прямая кишка.

У пиявок из сем. *Glossiphoniidae*, как и у *H. medicinalis*, подворачивание головных сегментов под брюшко — характерный симптом при отравлении этим ядом (рис. 7; см. вклейку).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В симптомокомплексе отравлений пиявок при действии различных токсических веществ наблюдаются как общие, так и характерные специфические черты. Повышенная двигательная активность, выделение слизи, гиперемия, очаги кровоизлияний, судороги, нарастание веса — общие симптомы для всех видов пиявок при остром отравлении всеми испытанными токсикантами. Степень их выраженности определяется индивидуальными особенностями червей и концентрацией яда. Некоторые из симптомов — общие для токсикантов одного класса и присущи всем видам пиявок. Фенольное отравление характеризуется быстрой потерей подвижности и высокой степенью обратимости интоксикации. При отравлении фосфорорганическими соединениями наблюдаются специфическое сворачивание задних сегментов и перекручивание тел пиявок. Отравление полихлорпиненом протекает с судорогами, но без значительного перекручивания тела и характеризуется подгибанием под брюшко головных сегментов и более выраженными патоморфологическими изменениями.

Специфичность в симптомах отравления отмечается как от вида к виду при действии одного яда, так и у одного и того же вида под влиянием разных токсикантов. В последнем случае она выражена более ярко и, вероятно, может быть использована для разработки биотестов по определению различных классов токсикантов. В этом отношении показательны симптомы отравления у *H. medicinalis*, как наиболее отчетливые и специфичные: для фенола — фиксация в виде петли, развитие на теле перетяжек и утолщений; для хлорофоса, карбофоса, рогора — скручивание задних сегментов, характерное изменение веса — фазное в хлорофосе (производное фосфорной кислоты), постепенное в карбофосе и рогоре (производные дитиофосфорной кислоты); для полихлорпинена — подворачивание передних сегментов под брюшко.

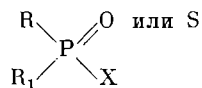
У некоторых видов пиявок ярче, чем у других, проявляются симптомы, позволяющие идентифицировать используемый яд: например, ритмические судорожные движения тела и нарушение воспроизводительной системы у *H. nigricollis* в полихлорпине. Даже по таким единично зарегистрированным симптомам можно установить тип используемого в наших опытах токсиканта. Это определение будет более совершенным при регистрации всех симптомов и увеличении числа видов пиявок, используемых в качестве тест-объектов. Более того, в некоторых случаях по времени проявления симптомокомплекса отравления возможно выяснить пределы концентраций яда. Современные физико-химические методы, предназначенные для идентификации и количественной оценки пестицидов в воде, считаются удовлетворительными, если их чувствительность находится в пределах 10^{-4} — $10^{-7}\%$ [8], т. е. 1—0.001 мг/л. Чувствительность *H. medicinalis* к хлорофосу удовлетворяет этим требованиям.

Изучение симптомокомплекса отравления ориентирует поиск механизмов действия токсических веществ. Так, у *H. medicinalis*, помещенных в растворы хлорофоса и эзерина — специфического ингибитора ацетилхолинэстеразы, наблюдаются абсолютно сходные симптомы отравления и фазные изменения веса (рис. 3, б). В то же время отравление этих пиявок фенолом, полихлорпинеом и детергентом «Лотос-71» [15] вызывает иные нарушения локомоции и веса червей. Поэтому мы связываем действие хлорофоса, а также карбофоса и рогора, симптомокомплекс которых отличается незначительно от такового в хлорофосе, с их антихолинэстеразными свойствами, тем более что у пиявок афферентные и эфферентные звенья нервной системы холинэргичны [14]. Различный характер изменения веса пиявок в испытанных ядах указывает на разные механизмы нарушения водно-солевого обмена.

В настоящей работе даны токсикологические параметры фенола для *G. complanata*, *H. medicinalis* и 3 видов пиявок сем. *Herpobdellidae*. В литературе имеются сведения по его токсичности (LC_{100} , мг/л) для пиявок *H. stagnalis* (1400), *G. complanata* (1200), *H. sanguisuga* (800), *H. octoculata* (600) [1].

Вероятно, видовые различия чувствительности пиявок к ядам связаны с условиями поступления их в организм, т. е. с проницаемостью кожных покровов этих червей, с возможностью детоксикации в организме и со способностью их выведения. В ботриодной ткани *H. sanguisuga* обнаружена фенолазная, полифенолоксидазная и пероксидазная активность. Предполагается, что эта ткань играет активную роль в окислении и детоксикации ароматических соединений феноловой природы и накапливает их в ботридиосомах уже в неактивном состоянии [22].

Устойчивость испытанных пиявок к фосфорорганическим соединениям (ФОС) определяется, по-видимому, химическим строением этих ядов. В химическом отношении это высокомолекулярные эфиры различных фосфорных кислот: фосфорной, тио- и дитиофосфорной, пиропосфорной, фосфористой и других. Общая формула большинства ФОС [19] (табл. 4):



Препараты, где фосфор соединен с серой, менее токсичны по сравнению с соединениями, где он замещен кислородом [13]. Поэтому карбофос и рогор — производные дитиофосфорной кислоты, в которой фосфор связан с 2 атомами серы, оказались для пиявок не столь ядовитыми, как хлорофос — производное фосфорной кислоты (табл. 4).

В литературе имеются сведения по токсичности некоторых ФОС для других, не исследованных нами видов пиявок [25, 29, цит. по: 33]. Они также свидетельствуют, что действие этих соединений на представителей класса пиявок, как и на другие группы животных, определяется их

Таблица 4

Характеристика ФОС [18], действие которых испытано на пиявках

Производные кислот	Синонимы	Химическое название и эмпирическая формула	Структурная формула
Фосфорной	Хлорофос, Байер 13/59, вотекс, гетеротекс (хлорофос+рогор), диконтал, дилокс, дилон, диптерекс, польфосхлор, проксол, ричифон, сольдеп, трихлорфон, тувон, тугон, формитокс, эмитол	О,О-Диметил-(1-окси-2,2,2-трихлорэтил)фосфонат — $C_4H_8O_4Cl_3P$	$\begin{array}{c} CH_3O \\ \diagup \\ P \\ \diagdown \\ CH_3O \end{array} \begin{array}{c} O \\ \parallel \\ CH-CCl_3 \end{array} \begin{array}{c} OH \\ \parallel \end{array}$
Тиофосфорной	Байтекс, Байер, 29493, лебайпид, С-1752, сульфидофос, тигувон, фентион, энтекс	О,О-Диметил-О-(4-метилтио-3-метилфенил)тиофосфат — $C_{10}H_{15}O_3S_2P$	$\begin{array}{c} CH_3O \\ \diagup \\ P \\ \diagdown \\ CH_3O \end{array} \begin{array}{c} S \\ \parallel \\ O- \end{array} \begin{array}{c} \text{---} \text{C}_6\text{H}_3\text{---} \\ \\ S-CH_3 \\ \\ CH_3 \end{array}$
	Диазинон, алоксон Д, алфатокс, базудин, Гейги 24480, дицид, экзодин	О,О-Диэтил-О-(2-изопропил-4-метилпиримидил-6)тиофосфат — $C_{12}H_{21}O_3N_2SP$	$\begin{array}{c} C_2H_5O \\ \diagup \\ P \\ \diagdown \\ C_2H_5O \end{array} \begin{array}{c} S \\ \parallel \\ O- \end{array} \begin{array}{c} C-CH_3 \\ \diagup \quad \diagdown \\ HC \quad N \quad CH_3 \\ \quad \quad \\ C \quad C \quad CH \\ \quad \quad \\ N \quad \quad CH_3 \end{array}$
Дитиофосфорной	Карбофос, бетимал, грифон-ликвидо, кипфос, малапур, малатион, малатокс, малатон, малацид, МЛТ, олан, ТМ 4049, сумитокс, ФОГ 3, фостион, фосфотион, церемал	О,О-Диметил-S-[1,2-ди(карбоэтокс)этил]дитиофосфат — $C_{10}H_{19}O_3S_2P$	$\begin{array}{c} CH_3O \\ \diagup \\ P \\ \diagdown \\ CH_3O \end{array} \begin{array}{c} S \\ \parallel \\ S- \end{array} \begin{array}{c} CHCOOC_2H_5 \\ \\ CH_2COOC_2H_5 \end{array}$
	Рогор, астоат, Би-58, гетеротекс, дафен, диметоат, дитрам, ЕФ 590, перфектион, роксион, роксон, сепифор, си-стемин, токсион, фектион, фостион ММ, фосфотокс, церил, цигон	О,О-Диметил-S-(N-метилкарбамоилметил)дитиофосфат — $C_5H_{12}O_3NS_2P$	$\begin{array}{c} CH_3O \\ \diagup \\ P \\ \diagdown \\ CH_3O \end{array} \begin{array}{c} S \\ \parallel \\ S- \end{array} \begin{array}{c} CH_2C-NHCH_3 \\ \\ O \end{array}$

структурой. Так, LC_{100} (мг/л) для 2 ФОС на 5 видах пиявок следующие [29]:

Виды пиявок	Дилокс (синоним хлорофоса)	Байтекс
<i>Erpobdella punctata</i>	0.5	0.5
<i>Piscicola salmostica</i>	0.5	1
<i>Illinobdella moorei</i>	0.125	1
<i>Theromyzon</i> sp.	0.2	1
<i>Placobdella parasitica</i>	0.125	0.25

Байтекс — соединение, производное эфира тиофосфорной кислоты, в котором фосфор связан с атомом серы (табл. 4). Это и определяет его меньшую токсичность по сравнению с хлорофосом.

По данным других авторов [25], значения LC_{50} для *H. pirennea* для 3 ФОС следующие: диазинон — 1.5—7 мг/л, байтекс — 20—28, малатион (синоним карбофоса) — 17—45 мг/л. Диазинон — производное тиофосфорной кислоты, более ядовит по сравнению с байтексом и карбофосом, так как токсичность производных эфиров тио- и дитиофосфорных кислот

в большей степени зависит от строения радикалов R и R₁. Там, где фосфор связан с 2 метоксигруппами (байтекс, карбофос), наблюдается меньшая токсичность веществ, чем там, где при фосфоре находятся 2 этоксигруппы (диазинон) [13] (табл. 4). Правда, данные по токсичности ФОС для пиявок *Hirudo* sp. с о. Тайвань [24] находятся в противоречии с вышесказанным. Так, LC₁₀₀ для байтекса 10 мг/л, а для диазинона и малатиона — 15 мг/л.

Виды сем. *Glossiphoniidae* оказались наиболее устойчивыми к действию хлорофоса, в том числе паразиты-кровососы птиц *P. tessulata* и рыб — *H. marginata*. Но паразит рыб *Piscicola geometra* из сем. рыбных пиявок чувствителен к этому яду, а рыбы более устойчивы к нему (LC₁₀₀ при 48-часовой экспозиции для плотвы — 60 мг/л, синца — 70, леща — 200, карпа — 500 мг/л [6]. По этой причине возможно использование хлорофоса как средства уничтожения писциколлид. В Польше он был испытан с этой целью в полевых условиях и дал положительный результат при концентрации 2 мг/л [30].

Пиявки, судя по *H. (H.) octoculata*, в период размножения более чувствительны к ядам по сравнению с пиявками, не достигшими половой зрелости, но достаточно крупными.

По нашим наблюдениям, сезонный фактор также оказывает влияние на червей, осенью резистентность их возрастает. Однако достаточными количественными данными мы не располагаем, и поэтому ограничились лишь указанием сезона, в котором проводились основные эксперименты.

Сравнительное изучение токсикологических параметров разных видов пиявок позволяет до некоторой степени прогнозировать последствия влияния токсических веществ на фауну пиявок. Так, из приведенных данных по токсичности хлорофоса можно ожидать, что его поступление в водоемы в сотых долях мг/л повлечет гибель медицинских пиявок и не окажет пагубного действия на их исконных врагов хищных пиявок *H. sanguisuga*.

Из хлорсодержащих пестицидов нами был испытан только один — полихлорпинен (ПХП). Имеются сведения о действии на пиявок других хлорорганических соединений (ХОС): ДДТ, дильдрин, линдана, хлордана, мирекса [24—26, цит. по: 33]. Чувствительность пиявок к ним варьирует как внутри одного вида к разным ядам этого класса, так и от вида к виду для одного токсиканта. У *H. nipponia* LC₅₀ для хлордана 1—2.3 мг/л, линдана — 7—22, дильдрин — 60—67, ДДТ — 100 мг/л [25, 26]; у *Hirudo* sp. с о. Тайвань LC₁₀₀ равны 1, 5, 10 мг/л соответственно для хлордана, линдана и дильдрин [24].

Токсичность всех вышеперечисленных ХОС для пиявок, в том числе и ПХП, значительно ниже таковой для окуня, форели, щуки, карпа, карася, ерша, плотвы, гамбузии [12], т. е. эти яды непригодны для использования в борьбе с пиявками в водоемах.

Защитные механизмы против ХОС у разных видов пиявок неодинаковы. Так, *H. nipponia* 49% поглощенного ДДТ дегидрохлорирует в нетоксичный ДДЕ, но подобное явление не обнаруживается у пиявки *Hirudinaria manillensis*, хотя резистентность ее к ДДЕ такая же, как и у *H. nipponia*; часть этого соединения (16 и 17% соответственно) выделяется ими обратно в среду [26]. Пиявка *H. stagnalis* также способна превращать ДДТ в ДДД и ДДЕ и детоксицировать мирекс в отличие от *Eg-podbella* sp., которая его аккумулирует [33].

Устойчивость пиявок к ядам может определяться не только их физиологическими особенностями, но и поведением, способностью избегать токсиканты. В лабораторных условиях избегание *H. medicinalis* фенола и детергента «Лотос-71» осуществляется эффективно, но наиболее токсичные вещества (пестициды) либо вовсе не избегаются (хлорофос), либо избегаются при концентрациях, которые для медицинской пиявки смертельны (ПХП) [16]. Возможно, и в природе в созданных пестицидами ток-

сических зонах у этой пиявки не может осуществляться реакция бегства и черви, полезные для человека, обречены на гибель.

При остром отравлении фенолом, хлорофосом, карбофосом, рогором, полихлорпирином наблюдаются как общие симптомы отравления для разных видов пиявок, так и специфические, а именно в каждом токсиканте у разных видов и у одного вида при действии разных ядов. Последние проявляются наиболее выражено. Вследствие специфичности симптомов отравления пиявки могут использоваться в качестве тест-объектов при определении типов токсикантов.

Разные виды пиявок обладают неодинаковой устойчивостью по отношению к одному и тому же яду. Чем восприимчивее вид пиявок, тем уже для него зона токсического действия яда, и наоборот, с ростом устойчивости видов зона токсического действия расширяется.

Для *H. medicinalis* токсичность ядов падает в ряду хлорофос—полихлорпирин—карбофос—рогор—фенол. Наиболее опасен из испытанных загрязнителей — хлорофос, не вызывающий у них реакции избегания и приводящий червей к гибели при сотых долях мг/л. Эта концентрация безвредна для их врагов хищных пиявок *H. sanguisuga*.

Эффект ФОС на пиявок, как и на животных других групп, определяется их химической структурой: производные эфиров фосфорной кислоты (хлорофос) более токсичны по сравнению с производными эфиров тио- и дитио-фосфорных кислот (байтекс, диазинон, карбофос, рогор). Среди последних соединения, в которых фосфор связан с 2 метоксигруппами (карбофос, рогор, байтекс), обладают меньшей токсичностью по сравнению с препаратами, в которых при фосфоре находятся 2 этоксигруппы (диазинон).

Пиявки более устойчивы к ХОС (полихлорпирин, ДДТ, дильдрин, линдан, хлордан), чем рыбы. Пиявки *P. geometra* — кровососы рыб, более чувствительны к действию хлорофоса, чем рыбы.

Л и т е р а т у р а

1. Алексеев В. А., Успенская Н. Е. Токсикологическая характеристика острого фенольного отравления некоторых пресноводных червей. — Гидробиол. журн., 1974, № 14, с. 48—55.
2. Баянов М. Г., Кусса Н. А. Пиявки Башкирии как промежуточные хозяева гельминтов птиц. — Тр. Башкир. с.-х. ин-та, 1972, т. 17, с. 33—45.
3. Виноградов Г. А., Лапкина Л. Н. Влияние хлорофоса на осморегуляцию у медицинской пиявки. — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1976, № 32, с. 54—56.
4. Демшин Н. И. Олигохеты и пиявки как промежуточные, дополнительные и резервуарные хозяева гельминтов сельскохозяйственных и диких животных. — В кн.: Паразиты животных и растений Дальнего Востока. Владивосток, 1973, с. 34—69.
5. Запкунев Д. В. Распространение медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis* f. *serpentina* Moquim-Tandon, 1846) в Литовской ССР и опыт ее искусственного разведения. Автореф. канд. дис. Вильнюс, 1972. 22 с.
6. Козловская В. И., Чуйко Г. М. Холинэстеразы сыворотки крови рыб сем. *Cyprinidae*, имеющие различную устойчивость к хлорофосу. — Наст. кн.
7. Коц Я. Л. Пиявки в ЛОР-органах и способы их извлечения. — Вестн. оторинолар., 1951, № 3, с. 19—25.
8. Кравченко М. С., Собина Н. А., Рудь А. И. Использование тонкослойной хроматографии для идентификации и количественной оценки содержания пестицидов в воде. — В кн.: Проблемы охраны и использования вод. Харьков, 1973, вып. 3, с. 92—97.
9. Кузнецов С. В. Краткая характеристика представителей класса *Hirudinea*. — В кн.: Актуальные вопросы современной паразитологии. М., 1975, с. 85—91.
10. Кузнецова О. Н. Пиявки — паразиты водоплавающей птицы. — Птицеводство, 1955, № 11, с. 32—34.
11. Лукин Е. И. Фауна СССР. Пиявки. I. Л., 1976. 484 с.
12. Майер-Бодэ Г. Остатки пестицидов. М., 1966. 351 с.
13. Маковская Е. И. Патологическая анатомия отравления ядохимикатами. М., 1967. 346 с.
14. Михельсон М. Я., Зеймаль Э. В. Ацетилхолин. М., 1964. 279 с.
15. Флеров Б. А., Лапкина Л. Н. Поведение медицинской пиявки в растворе

Опыты по определению антителообразующей функции иммуноцитов ставились нами на карпах и карасях. Иммунизацию рыб проводили инактивированными и вирулентными культурами бактерий *Ae. punctata* и грибов *C. albicans*. Антитела определяли реакцией агглютинации в сыворотке крови и экстрактах почек при одновременном учете кинетики иммунокомпетентных клеток по ранее описанной методике [25]. Установлено, что антителогенезу предшествовало парентеральное переваривание корпускулярного антигена. В случае, когда микроорганизмы не подвергались фагоцитозу, антитела в организме рыб не образовывались (рис. 13).

Инактивированные бактерии при парентеральном переваривании иммуноцитами индуцировали процессы клеточной перестройки в РЛТ почек рыб. Эти процессы связаны с изменением относительного числа антителосинтезирующих клеток и уровня агглютининов в экстрактах почек и в сыворотке крови. Параллельно с увеличением титра антител в экстрактах почек отмечено повышение относительного числа лимфо- и плазмобластов от 5% у интактных карпов до 26% у иммунных. Максимальное число (около 26%) бластических клеток выявлено через 2 суток после введения бактерий. Доля плазматических клеток, снижаясь в начале опыта до 3%, затем постепенно повышалась до 20% к концу периода наблюдения. Изменение относительной доли малых и средних лимфоцитов было аналогично таковому плазматических клеток (табл. 5). Уровень гранулоцитов увеличивался в первый период опыта до 75%, к концу 5-х суток он падал до 27% (табл. 5). Одновременно с нарастанием бластических и плазматических клеток в тканях повышался титр агглютининов в экстрактах почек (рис. 13). Антитела в сыворотке крови появлялись на 24 ч позже, чем в тканях почек. Агглютинины в сыворотке крови карпа обнаружены через 48 ч после инъекции бактерий. Уровень антител в тканях почек во всех случаях выявлен в более высоких титрах, чем в сыворотке крови (рис. 13). Обнаруженное различие в титрах агглютининов обусловлено накоплением антител в антителосинтезирующих клетках РЛТ почек карпов.

После инъекции летальной дозы вирулентных бактерий *Ae. punctata* или грибов *C. albicans*, когда микроорганизмы не разрушались иммуноцитами, антитела не образовывались. Вирулентные микроорганизмы угнетали не только фагоцитарную способность лейкоцитов в брюшной полости, но и нарушали процессы клеточной дифференцировки иммуноцитов в сторону антителосинтезирующих клеток (табл. 5). После инокуляции вирулентных для рыб микроорганизмов относительное число ответственных за синтез антител ретикулярных, бластоидных, плазматических клеток и лимфоцитов снижалось, а количество гранулоцитов, наоборот, повышалось. Уменьшение числа клеток, участвующих в антителогенезе, у рыб, инъецированных живыми бактериями *Ae. punctata*, происходило за счет размножения бактерий в клетках и разрушения последних (рис. 8), а у рыб, которым были введены грибы *C. albicans*, за счет лизиса лимфоцитов (рис. 10). После введения *Ae. punctata* клетки разрушались быстрее, чем после введения *C. albicans* (табл. 5), поэтому в первом случае рыбы погибали через 48—72 ч, во втором — через 3—6 суток. Антитела у рыб, подвергнутых воздействию летальных доз вирулентных микроорганизмов, либо вообще не выявлены, либо обнаружены в очень незначительных титрах, в среднем 1 : 5 (рис. 13).

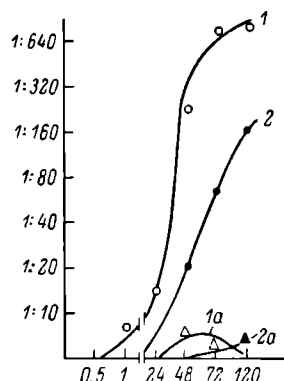


Рис. 13. Динамика образования антител в экстрактах почек (1, 1a) и в сыворотке крови (2, 2a) после инъекции инактивированных бактерий *Ae. punctata* (1, 2) и грибов *C. albicans* (1a, 2a).

По оси ординат — титр агглютининов; по оси абсцисс — время, ч.

- рах токсических веществ. — Матер. II Всесоюз. симп. по поведению водных беспозвоночных. Борок, 1975, с. 92—95.
16. Ф л е р о в Б. А., Л а п к и н а Л. Н. Избегание растворов некоторых токсических веществ медицинской пиявкой. — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1976, № 30, с. 48—49.
 17. Х а й б у л а е в К. Х. О роли кровососущих пиявок в жизненном цикле кровепаразитов рыб. — Паразитология, 1970, т. 4, вып. 1, с. 13—17.
 18. Ш а м ш у р и н А. А., К р и м е р М. З. Физико-химические свойства пестицидов. М., 1976. 328 с.
 19. Ш р а д е р Г. Новые фосфорорганические инсектициды. М., 1965. 486 с.
 20. Э п ш т е й н В. М. Пиявки. — В кн.: Определитель паразитов пресноводных рыб СССР. М.—Л., 1962, с. 617—627.
 21. B a r t o n e k J a m e s C. Leech (*Hirudinea*) infestations among waterfowl near Yellowknife, Northwest Territories. — Canad. Field.-Naturalist, 1975, vol. 89, N 3, p. 234—243.
 22. F i s c h e r E. Oxidation and detoxication of aromatic compounds in the botryoid tissue of the horseleech, *Haemopsis sanguisuga* L. — Acta biol. Acad. scient. hung., 1972, vol. 23, N 3, p. 289—297.
 23. G e r l a c h A., G e r l a c h Z. Blutegel in den Atemwegen. — Laryngol. Rhinol., Otol. und Grenzgeb., 1975, Bd 54, N 2, S. 123—132.
 24. K e e g a n H. L., P o o r e C. M., W e a v e r R. E., S u z u k i H. Studies of Taiwan leeches. I. Insecticide susceptibility-resistance tests. — Bull. Inst. Zool. Acad. Sinica, 1964, vol. 3, p. 39—43.
 25. K i m u r a T., K e e g a n H. L. Toxicity of some insecticides and molluscicides for the Asian blood-sucking leech, *Hirudo nipponia* Whitman. — Amer. J. Trop. Med. and Hyg., 1966, N 15 (1), p. 113—114.
 26. K i m u r a T., K e e g a n H. L., H a b e r c o r n T. Dehydrochlorination of DDT by Asian blood-sucking leeches. — Amer. J. Trop. Med. and Hyg., 1967, N 16 (5), p. 688—690.
 27. K u m e r l o e v e H. Iu wie weit werden Egel (*Hirudinea*) und insbesondere der Medir. Blutegel (*Hirudo medicinalis*) von Enten und anderen Wasser- und Sumpfvögeln verzehrt. — Ornithol. Mitt., 1963, Bd 15, N 6, S. 135.
 28. M a s t e r m a n n E. W. G. Hirudinea as human parasites in Palestin. — Parasitol., 1908, N 1, p. 182—185.
 29. M e y e r F. P. A potential control for leeches. — Prog. Fish. Cultur., 1969, N 31 (3), p. 160—163.
 30. P r o s t M., S t u d n i c k a M. Investigation on the use of organic esters of phosphoric acid in the control of external parasites of farmed fish. I. Control of the invasion of *Piscicola geometra* (L.). — Med. wet., 1966, N 22 (6), p. 321—330.
 31. P r o s t M., S t u d n i c k a M., N i e z g o d a J. Efficacy of some methods controlling leeches in water. — Aquaculture, 1974, N 3, p. 287—294.
 32. S a w y e r R. T. Bloodsucking freshwater leeches: observation on control. — J. Econ. Entomol., 1973, vol. 66, N 2, p. 537.
 33. S a w y e r R. T. Leeches (*Annelida: Hirudinea*). — In: Pollution Ecology of Freshwater Invertebrates. N. Y.—L., 1974, p. 81—142.
-

ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНАЯ НЕЙРОСЕКРЕТОРНАЯ СИСТЕМА И СИМПТОМОКОМПЛЕКСЫ ОТРАВЛЕНИЯ РЫБ ПРИ ДЕЙСТВИИ НЕКОТОРЫХ ТОКСИКАНТОВ

В настоящее время в литературе имеется большое количество работ, посвященных участию гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы (ГГНС) рыб в реализации защитно-приспособительных реакций организма на стрессорные воздействия [8, 11—18, 22—24, 26—29].

Показано, что в основе ответа на повреждающее воздействие лежит активация функционирования гипоталамических центров рыбы и массовое выведение нейрогормонов из нейрогипофиза (НГ) во внутреннюю среду организма. Этим определяется не только уровень функционирования периферических эндокринных желез, но и, по-видимому, высших отделов центральной нервной системы (ЦНС) рыб, ответственных за осуществление сложных поведенческих актов. Разобщение деятельности ЦНС и ГГНС весьма условно. Действительно, определенные отделы ГГНС, в частности гипоталамические ядра, участвуют в замыкании условнорефлекторных реакций у рыб, о чем свидетельствуют данные о наличии прямых афферентных и эфферентных связей их с высшим органом интеграции нервной деятельности у рыб — мозжечком [9]. Известно также, что нейросекреторные клетки (НСК) способны не только синтезировать секрет, но и как типичные нервные клетки проводить нервные импульсы, «совмещая нервную и эндокринную функции, трансформируя воспринимаемые ими нервные сигналы в гормональную активность» [1]. Эти факты позволяют предположить наличие функциональной связи между высшими отделами ЦНС и ГГНС.

В ряде работ отмечается связь между состоянием ГГНС и поведением рыб, служащим одним из наиболее четких показателей функциональной активности ЦНС при естественных процессах нереста и нерестовых миграций [2—6, 16—18], икрометании [25, 29], осуществлении некоторых форм полового поведения [21]. В экспериментах при создании стрессовых ситуаций за счет своеобразной «эмоциональной» нагрузки [7] или действия токсических веществ и гипертонической среды [11, 12] также отмечаются определенные корреляции в деятельности ЦНС и ГГНС. Однако вопрос о согласованности реакций 2 важнейших регуляторных систем организма до сих пор изучен недостаточно и требует дальнейшей разработки.

С этой целью мы провели ряд экспериментов, в которых рыбы подвергались воздействию токсических веществ, вызывающих различные симптомокомплексы отравления. Предполагалось, что параллельное исследование патологии поведения и функциональной активности системы гипоталамус—гипофиз поможет дополнить представления о связи между деятельностью ЦНС и ГГНС у рыб.

В 1-й серии экспериментов использовалось 66 половозрелых самок группы (*L. reticulatus*) в возрасте 8—10 мес. Рыбы были разбиты на 4 группы

и содержались в 5-литровых стеклянных кристаллизаторах при 22°. Рыбы контрольной группы (группа 1) помещались в чистую воду, в экспериментальные аквариумы вносились различные токсиканты: группа 2 — линдан в концентрации 2.5 мг/л; 3 — хлорофос (50 мг/л); группа 4 — «Лотос-71» (100 мг/л). Первые 2 токсических вещества относятся к группе пестицидов, последнее — к поверхностно активным веществам (детергентам); выбор их обусловлен широким использованием в народном хозяйстве.

Гибель 50% рыб в токсических растворах происходила через 5 ч с начала воздействия. Материал для гистологических исследований — мозг и гипофиз группы — брался в соответствии с наступлением определенных фаз в поведении исследуемых рыб: для группы 2 — через 0.4, 1.4 и 5 ч, для 3 — через 2 и 5 ч, для группы 4 — через 1 и 5 ч. Фиксация производилась в жидкости Буэна, серии фронтальных парафиновых срезов толщиной 5 мкм окрашивались паральдегид-фуксином по Гомори—Габу с докраской азан по Гейденгайну.

Во 2-й серии экспериментов исследовалось действие фенола на ГГНС и поведение молоди нерки (*O. nerka*). Токсикант применялся в концентрации 1 мг/л, время гибели 50% рыб — 13 ч. Контроль содержался в чистой воде. Материал для гистологических исследований брался по фазам отравления: через 1, 3, 7 и 13 ч.

Для количественной характеристики состояния ГГНС рыб в норме и экспериментах производились визуальная оценка общего количества нейросекреторного вещества (НСВ) в системе по 5-балльной шкале и морфометрия НСК. Количество измерений — 100. Результаты экспериментов статистически обрабатывались.

Строение и функциональное состояние ГГНС группы в норме подробно описаны нами ранее [13]. Отметим лишь, что общее количество НСВ в НСК преоптического ядра и НГ умеренное и секрет окрашивается интенсивно (табл. 1, рис. 1, а, г; см. вклейку).

Через 15 мин с начала токсического воздействия линдана состояние рыб соответствует 1-й фазе симптомокомплекса отравления данным токсикантом. Двигательная активность их резко возрастает, они совершают стремительные перемещения от дна к поверхности аквариума. Рефлексы равновесия и ориентация в пространстве частично нарушаются, реакция на звуковой раздражитель становится неадекватной.

Общее количество нейросекрета резко снижается как в НСК, так и в НГ (табл. 1). НСК достоверно увеличиваются в размерах (табл. 2), гранулы секрета в них очень мелкие и располагаются неравномерно, скапливаясь в месте отхождения аксона от тела клетки (рис. 1, б). Нейросекреторные волокна содержат большое количество НСВ, что также свидетельствует об интенсивном выведении секрета в НГ.

Секрет в НГ окрашивается гораздо слабее, чем в контроле, и представлен в основном мелкими глыбками, сосредоточенными вокруг капилляров. У некоторых рыб отмечается присутствие опустошенных от НСВ так называемых «остаточных» тел Герринга в области гипофизарной бухты. Гиперемия органа весьма значительна, капилляры, пронизывающие гипофиз, расширены (рис. 1, в). Описываемые изменения в ГГНС группы могут косвенно свидетельствовать об интенсивном выведении нейrogормона во внутреннюю среду организма.

Активация поведенческих реакций рыб, находящихся в растворе линдана, постепенно снижается, и через 1.4 ч на 2-й фазе отравления двигательная активность их нормализуется. Восстанавливается и первоначальная функциональная активность ГГНС. Размеры НСК и степень насыщения их секретом не отличаются от контроля (табл. 1, 2). Не отмечается интенсивного выведения НСВ из ПЯ, характерного для предыдущей фазы. Количество НСВ в НГ равно контрольному (табл. 1), однако

Т а б л и ц а 1

Изменение количества нейросекреторного вещества в ГГНС группы при действии различных токсических веществ

	Контроль	Линдан (2,5 мг/л)			Хлорофос (50 мг/л)		Лотос-71 (100 мг/л)	
Время воздействия, ч	—	0,4	1,4	5	1	5	1	5
Количество секрета в преопитическом ядре, баллы	3.8 ± 0.3	1.8 ± 0.5	3.5 ± 0.5	4.7 ± 0.4	4.0 ± 0.4	0.7 ± 0.1	4.0 ± 0.5	4.3 ± 0.1
Количество секрета в нейрогипофизе, баллы	3.7 ± 0.4	1.8 ± 0.3	4.1 ± 0.3	4.8 ± 0.5	1.8 ± 0.4	0.5 ± 0.1	3.9 ± 0.3	4.2 ± 0.2
Количество рыб	7	7	7	7	10	10	9	7

Т а б л и ц а 2

Изменение объемов нейросекреторных клеток и их ядер при действии различных токсических веществ

	Контроль	Линдан (2,5 мг/л)			Хлорофос (50 мг/л)		Лотос-71 (100 мг/л)	
Время воздействия, ч	—	0,4	1,4	5	1	5	1	5
Объем клетки, усл. ед.	18.8 ± 0.7	25.0 ± 0.8	20.1 ± 1.8	37.3 ± 1.6	29.6 ± 0.9	32.4 ± 1.8	21.9 ± 0.8	30.7 ± 0.6
Объем ядра, усл. ед.	9.3 ± 0.5	10.4 ± 0.3	10.7 ± 0.6	16.5 ± 1.0	12.1 ± 0.7	16.8 ± 1.1	9.6 ± 0.4	13.7 ± 0.6

намечается некоторый сдвиг в сторону преобладания крупных секреторных гранул. Гиперемия мозга и гипофиза сохраняется.

Через 5 ч на 3-й фазе отравления наблюдается глубокое торможение поведенческих реакций подопытных рыб. Двигательная активность их чрезвычайно угнетена, они почти не реагируют на звуковые и тактильные раздражения, не совершают активных перемещений по аквариуму. На фоне глубокой депрессии отмечается развитие судорог, полная потеря рефлекса равновесия, паралич и гибель рыб.

Параллельно отмечается депонирование секрета во всех отделах ГГНС. В НСК процессы синтеза преобладают над выведением, они переполняются крупными гранулами, имеющими темно-фиолетовую окраску, объем клеток и их ядер увеличивается почти вдвое (рис. 1, в; табл. 2). НГ содержит максимальное количество НСВ, имеющего чрезвычайно темную окраску и представленного крупными глыбками и телами Герринга, количество которых достигает максимума. Гиперемия мозга и гипофиза возрастает по сравнению с предыдущей фазой (рис. 1, е).

При помещении рыб в раствор хлорофоса первоначальная реакция выражена слабо. Лишь через 1 ч отмечается значительное усиление двигательной активности подопытных рыб. Они совершают частые стремительные «свечкообразные» перемещения от дна к поверхности, не обнаруживая потери рефлекса равновесия или нарушения ориентации в пространстве.

Состояние НСК на 1-й фазе отравления хлорофосом характеризуется усиленным синтезом и выведением нейросекрета. Объемы клеток и ядер увеличиваются по сравнению с контролем (табл. 2). Мелкозернистое НСВ в большом количестве заполняет перикарионы НСК, нейросекреторные волокна расширены и содержат большое количество нейросекрета (рис. 2, а).

Несмотря на то что не только синтез, но и выведение НСВ из ПЯ осуществляется интенсивно, в НГ обнаруживается чрезвычайно малое количество секрета (табл. 1), представленного мелкими бледноокрашенными гранулами, расположенными в дистальных частях органа и вокруг расширенных, переполненных форменными элементами крови капилляров (рис. 2, б; см. вклейку).

Двигательная активность рыб нарастает и достигает максимума через 5 ч с начала токсического воздействия. Движения рыб приобретают хаотический характер, рефлекс равновесия нарушается. После непродолжительных судорог рыбы падают на дно аквариума, некоторое время еще фиксируются неравномерные движения грудных плавников и жаберных крышек.

ГГНС гуппи находится в состоянии функционального истощения. Количество нейросекрета как в НСК преоптического ядра, так и в НГ минимальное (табл. 1). НСК увеличены почти вдвое по сравнению с контролем, нейросекрет в виде отдельных мелких капель, цитоплазма вакуолизирована. Нейросекреторные волокна не выявляются, что может свидетельствовать об отсутствии или очень незначительном выведении нейросекрета в НГ. В последнем НСВ почти не выявляется (рис. 2, в). Наряду со значительной гиперемией мозга и гипофиза подопытных рыб отмечается также появление небольших очагов обводнения ткани, являющихся, очевидно, следствием токсического воздействия.

Действие на гуппи препарата «Лотос-71» не вызывало в поведении рыб столь отчетливо выраженных изменений, как в рассмотренных выше случаях. Лишь на 2-й фазе отравления (1—5 ч) отмечалось постепенное снижение двигательной активности, приводящее к концу эксперимента к некоторой депрессии. Движения рыб были замедлены, они сосредоточивались в углу аквариума, почти не реагируя на звуковые и тактильные раздражения.

Функциональное состояние ГГНС подопытных рыб на 1-й фазе отравления существенно не отличается от контроля (рис. 2, г). На 2-й фазе отравления количество НСВ в клетках ПЯ несколько увеличивается,

однако выведение нейросекрета в НГ по-прежнему интенсивно (табл. 1). НСК и их ядра укрупняются (табл. 2). НСВ в нейрогипофизе представлено в основном крупными глыбками и весьма интенсивно окрашивающимися телами Герринга. Количество его также несколько увеличивается по сравнению с контролем (табл. 1), он скапливается вокруг капилляров в виде «муфт», крупные гранулы заполняют не только дистальные, но и проксимальные участки органа (рис. 2, д). Ткань мозга и гипофиза гиперемирована.

При действии фенола на молодь нерки изменения в поведении подопытных рыб полностью соответствуют симптомокомплексу отравления данным веществом для карповых рыб [20] и включает в себя 3 фазы.

На 1-й фазе (1—3 ч) отмечается резкое повышение общей двигательной активности, включающее в себя кратковременное нарушение рефлекса равновесия. Параллельно с этим отмечается нарастание функциональной активности ГГНС. Общее количество НСВ в НСК уменьшается, размеры их возрастают (табл. 3, 4). Цитоплазма клеток вакуолизирована, ядрышко несколько смещено к ядерной мембране, окраска мелких гранул секрета ослаблена. НСВ активно выводится в нейрогипофиз (рис. 3, б; см. вклейку). В последнем нейросекрет представлен очень мелкими глыбками, локализованными вокруг расширенных капилляров. Проксимальные участки НГ почти лишены секрета, отмечается гиперемия мозга и гипофиза.

Таблица 3

Изменение количества нейросекреторного вещества в ГГНС молоди нерки при действии фенола в концентрации 1 мг/л

	Контроль	1 ч	3 ч	7 ч	13 ч
Количество секрета в преоптическом ядре, баллы	2.8 ± 0.4	1.9 ± 0.5	1.3 ± 0.2	1.0 ± 0.3	0.6 ± 0.1
Количество секрета в нейрогипофизе, баллы	3.0 ± 0.5	1.7 ± 0.3	1.1 ± 0.4	0.9 ± 0.1	0.7 ± 0.2
Количество рыб	14	9	9	9	9

Таблица 4

Изменение объемов нейросекреторных клеток и их ядер при действии фенола в концентрации 1 мг/л

	Контроль	1 ч	3 ч	13 ч
Объем клетки, усл. ед.	140.6 ± 3.2	148.1 ± 5.2	165.3 ± 6.4	141.5 ± 4.3
Объем ядра, усл. ед.	72.6 ± 4.5	74.3 ± 3.2	90.2 ± 1.8	77.2 ± 3.4

На 2-й фазе отравления (3—7 ч) у рыб нарушается рефлекс равновесия, они принимают боковое положение, перемещаются толчкообразно. В конце фазы у некоторых рыб развиваются судороги, дыхательные движения становятся неравномерными. Реакция на звуковые раздражения повышенная. Одновременно наблюдается прогрессирующее снижение общего количества НСВ во всех отделах ГГНС (табл. 3). Нейросекрет в НСК представлен мелкими распыленными в цитоплазме каплями. Объемы клеток и их ядер возрастают (табл. 4). Количество НСВ в нейросекреторных волокнах велико, что может свидетельствовать о большей по сравнению с процессами синтеза скорости выведения его из ПЯ. Проксимальные отделы НГ полностью свободны от НСВ, мелкие капли его располагаются только в дистальных участках, вокруг расширенных капилляров, забитых эритроцитами.

На 3-й фазе отравления (7—13 ч) у рыб наступает полная потеря двигательной активности, судороги, нарушение дыхания и гибель. НСК содержат минимальное количество секрета (табл. 3, рис. 3, в). Клетки уменьшены в размерах, что, по-видимому, объясняется патологическими изменениями, вызванными действием токсиканта. Ткани мозга чрезвычайно гиперемированы и обводнены. НГ практически лишен нейросекрета. Отдельные мельчайшие капли его располагаются вокруг капилляров, гиперемия органа достигает максимума (рис. 3, д; см. вклейку). Описанные картины полностью соответствуют состоянию полного истощения ГГНС.

Итак, первоначальные фазы симптомокомплексов отравления рыб линданом, хлорофосом, фенолом характеризуются рядом изменений в поведении, и в частности — резким усилением общей двигательной активности. ГГНС этих рыб находится в состоянии функционального напряжения, связанном с усилением синтеза и выведения нейросекрета в НГ и массовым выбросом висцеротропных нейрогормонов в общий кровоток. Можно предположить, что в данный момент во внутренней среде организма создается некоторый переизбыток нейрогормонов, заставляющий более активно функционировать не только железы внутренней секреции, но и высшие отделы ЦНС, ответственные за поведение. Связь между массовым выведением нейрогормонов и повышением уровня функционирования ЦНС уже отмечалась нами ранее [11—13].

Лишь при действии линдана обнаружена довольно длительная (1.4—5 ч) стадия адаптации к стрессирующему воздействию. И поведение рыб, и функциональное состояние их ГГНС практически не отличаются от контроля. По-видимому, насыщенность внутренней среды организма нейрогормонами также эквивалентна контрольной.

При действии на группы линдана на 3-й фазе симптомокомплекса отравления наблюдались депрессия в поведении рыб и параллельно торможение выведения нейрогормонов из НГ, сопровождаемое депонированием секрета во всех отделах ГГНС. В настоящее время считается, что отсутствие в циркуляции нейрогормонов приводит к нарушению защитных механизмов у рыб и в конечном итоге к их гибели [7].

В случае воздействия хлорофоса и фенола мы наблюдаем как повышенная двигательная активность рыб сменяется судорожными движениями, утратой рефлекса равновесия и т. д. Одновременно происходит прогрессирующая потеря нейрогормонов, которая вначале восполняется за счет усиленного синтеза и выведения НСВ в нейрогипофиз, а затем, когда НСК истощаются, нейрогормоны также, по-видимому, поступают во внутреннюю циркуляцию в минимальных количествах. Можно предположить, что отсутствие их в периферической среде организма изменяло общий эндокринный фон, ГГНС как бы выключалась из регуляторных реакций организма, что не могло не сказаться на деятельности высших отделов ЦНС. Синхронность и взаимосвязанность действий регуляторного комплекса нарушались и рыба погибала при полном истощении ЦНС и ГГНС.

Рассматривая результаты воздействия различных токсических веществ (линдан, хлорофос, фенол) на ГГНС рыб, мы показали, что реакция этой системы носит общий неспецифический характер и может рассматриваться в свете «общего адаптационного синдрома» Селье [19]. Такие же данные получены при действии на ГГНС других токсических факторов [8, 10, 15, 22].

Исключение составляет детергент «Лотос-71», существенно не изменяющий уровень функционирования регуляторного комплекса организма. Однако на последней фазе, когда ГГНС несколько перегружалась НСВ, отмечалось незначительное угнетение поведенческих реакций рыб.

Суммируя наши данные, мы можем заключить, что ГГНС и ЦНС функционируют согласованно: массовый выброс нейрогормонов в общую циркуляцию организма соответствует повышению уровня поведенческих реакций исследуемых рыб; скопление секрета в системе приводит к раз-

витию процессов угнетения и в ЦНС. Гибель рыб в результате воздействия токсикантов сопровождается судорогами и нередко параличом. Этому состоянию соответствует либо полная блокировка, либо глубокое истощение ГГНС, т. е. ситуации, когда нейрогомоны не поступают во внутреннюю среду организма.

Наши данные подтверждают наличие тесной корреляции между поведением и функциональной активностью ГГНС рыб, что может рассматриваться как свидетельство комплексного функционирования центральной нервной и нейроэндокринной систем.

Л и т е р а т у р а

1. Алешин Б. В. Гистофизиология гипоталамо-гипофизарной системы. М., 1971. 240 с.
2. Баранникова И. А. Функциональные основы миграционного поведения проходных рыб. Автореф. докт. дис., Л., 1968. 35 с.
3. Баранникова И. А. Функциональные основы миграций осетровых. — В кн.: Осетровые и проблемы осетр. хоз-ва. М., 1972, с. 180—204.
4. Баранникова И. А. Функциональные основы миграций у рыб. М., 1975. 210 с.
5. Гарлов П. Е. Функциональная морфология нейрогемальных отделов ГГНС у осетровых. Автореф. канд. дис., Л., 1971. 21 с.
6. Гарлов П. Е. О двойственном регуляторном значении нейроэндокринной системы в осуществлении приспособительных реакций организма в связи с созревaniem производителей осетровых. — В кн.: Экологическая физиология рыб. М., 1976, ч. 2, с. 157—158.
7. Герасимов В. В., Четвертухин В. К., Поленов А. Л. Состояние пептидэргической гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы атлантической сельди в стае и изоляции. — В кн.: Экологическая физиология рыб. М., 1976, ч. 2, с. 43—45.
8. Иванова Л. Н., Тищенко Н. И., Юрисова М. Н., Назаров Л. А., Блинова Л. В. Изменение функционального состояния ГГНС омуля при содержании в воде, загрязненной промышленными стоками (аквариальные опыты). — В кн.: Проблемы водной токсикологии. Петрозаводск, 1975, т. 1, с. 116—118.
9. Карамян А. И. Функциональная эволюция мозга позвоночных. Л., 1970. 420 с.
10. Касимов Р. Ю., Комачкова З. К., Рустамова Ш. А., Мусаев Э. М., Водорезова М. А. Экспериментальные данные о влиянии нефти на ГГНС молоди осетра. — В кн.: Проблемы водной токсикологии. Петрозаводск, 1975, т. 1, с. 119—120.
11. Матей В. Е. Действие фенола на центральную нервную и нейроэндокринную системы костистых рыб. — В кн.: Антропогенные факторы в жизни водоемов. Л., 1976, с. 97—117.
12. Матей В. Е. Действие гипертонической среды на ГГНС молоди лососевых. — В кн.: Экологическая физиология рыб. М., 1976, ч. 2, с. 23—24.
13. Матей В. Е., Поленов А. Л. О влиянии гипертонической среды и фенольной интоксикации на ГГНС гуппии. — Ж. эволюц. биохимии и физиол., 1972, т. 8, № 4, с. 388—394.
14. Мусаев Э. Ю., Комачкова З. К. Морфофункциональная характеристика ГГНС молоди осетра при экспериментальных воздействиях. — Матер. I Закавказ. конф. морфологов, Тбилиси, 1975, с. 172—174.
15. Назаров Л. А., Юрисова М. Н., Тищенко-Попова Н. И., Драчкова И. П. Морфофизиологические и биохимические исследования реакции рыб на изменение состава воды. Матер. V науч. конф. физиол., биохим. и фармакол. — Зап. Сиб. физиол. о-ва АН СССР, Томск, 1973, с. 130—131.
16. Поленов А. Л., Гарлов П. Е., Павлович М. О значении гипоталамической нейросекреции у осетровых в реализации защитных и приспособительных реакций организма. — В кн.: Актуальные вопросы осетрового хозяйства. Астрахань, 1971, с. 182—184.
17. Поленов А. Л., Гарлов П. Е., Яковлева И. В., Борисова Е. А. Нейрогипофиз и щитовидная железа у осетровых в условиях чрезвычайного напряжения. — Матер. объединенной науч. сессии ЦНИОРХ и АзНИИРХ, Астрахань, 1971, с. 90—92.
18. Поленов А. Л., Яковлева И. В., Гарлов П. Е. Эколого-гистофизиологический и экспериментальный анализ нейрогипофиза и щитовидной железы у осетровых в условиях чрезвычайного напряжения. — В кн.: Осетровые и проблемы осетрового хозяйства. М., 1972, с. 263—282.
19. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. М., 1960. 185 с.

20. Ф л е р о в Б. А. Экспериментальное исследование фенольного отравления рыб. Автореф. канд. дис., М., 1965. 19 с.
 21. Ф о н т е н М. Эндокринные железы и различные формы поведения рыб. — В кн.: Осетровые и проблемы осетрового хозяйства. М., 1972, с. 158—166.
 22. Ю р и с о в а М. Н., Т и щ е н к о Н. И., П о л е н о в А. Л. Морфологические изменения нейросекреторных клеток преоптического ядра омуля и бычка при смене условий обитания. — В кн.: Физиология и биохимия низших позвоночных. Л., 1974, с. 74—78.
 23. Я к о в л е в а И. В., К о м а ч к о в а З. К. Нейрогинофиз и щитовидная железа осетровых при содержании рыб в воде различной солености. — ДАН СССР, 1969, т. 186, № 2, с. 481—483.
 24. F r i d b e r g G., O l s s o n R. The praeoptico-hypophyseal system, Nucleus tuberculi lateralis and the subcommissural organ of *Gasterosteus aculeatus* after changes in osmotic stimuli. — Z. Zellforsch., 1959, vol. 5, p. 531—542.
 25. G a r l o v P. E. Morpho-functional analysis of some mechanisms of neurosecretory regulation of reproduction in some fish. — Evol. aspects neuroendocrinol., 1976, p. 61.
 26. K o r n H. Über die Einwirkung hypotonischer Medien auf das Zwischenhirn-Hypophysensystem von *Mugil* und *Gobius*. — Z. Zellforsch., 1960, Bd 52, N 1, S. 45.
 27. L e a t h e r l a n d I. F., D o d d I. Activity of the hypothalamo-neurohypophyseal complex of the european eel (*Anguilla anguilla* L.) assessed by the use of an insitely stained technique and by autoradiography. — Gen. Compar. Endocrinol., 1969, vol. 13, N 1, p. 45—59.
 28. P i c k f o r d G. E., A t z J. W. The physiology of the pituitary gland of fishes. N. Y., 1957. 325 p.
 29. S c h i e b l e r T. H., H u r t m a n n I. Histologische und histochemische Untersuchungen am neurosekretorischen Zwischenhirn-Hypophysensystem von Teleostern unter normalen und experimentellen Bedingungen. — Z. Zellforsch., 1963, Bd 60, N 1, S. 89—146.
-

ДЕЙСТВИЕ ПЕСТИЦИДОВ НА ЖАБЕРНЫЙ ЭПИТЕЛИЙ КАРАСЯ

У рыб одним из барьерных органов, стоящих на пути проникновения токсиканта, являются жабры, осуществляющие в организме основные функции дыхания и поддержания гомеостаза. Они одними из первых вступают в контакт с токсическим веществом, изменяя при этом свою структуру. Исследования, посвященные патоморфологическим изменениям жабр при действии различных повреждающих факторов, достаточно обширны. Немалое место в них занимают работы, в которых рассматривается влияние на жабры рыб токсических веществ органической природы, в том числе и пестицидов [4, 6, 13, 14, 21, 23, 25, 28].

Все авторы указывают на тяжелые повреждения гистоструктуры изучаемого органа, сопровождаемые чрезвычайно интенсивным слущиванием жаберного эпителия, некрозами, отеками и кровоизлияниями. Однако во всех экспериментах пестициды применялись в абсолютно смертельных концентрациях, а экспозиция, как правило, не превышала 4—6 ч. Исследование состояния жабр производилось обычно непосредственно перед гибелью подопытных рыб, когда изменения носили необратимый характер и были сходны с таковыми при отравлении рыб другими, весьма далекими по своему химическому составу от пестицидов веществами: солями тяжелых металлов [20, 26, 29], фенолом [13, 24, 26, 27, 31], аммиаком [26, 30] и др.

При описании изменений гистоструктуры жабр при действии различных токсических веществ, в том числе и пестицидов, основное внимание обращалось на общее состояние респираторного эпителия; реакция клеток, составляющих его, не учитывалась, немногочисленные данные о реакции мукозных и хлоридных клеток носят фрагментарный характер [20, 29]. Между тем лишь детальное изучение реакции жабр на клеточном уровне на всех этапах эксперимента может обеспечить правильное понимание последствий отравления токсическими веществами.

С этой целью нами была предпринята попытка исследования воздействия пестицидов на общую структуру и клеточную реакцию жабр костистых рыб. Особое внимание обращалось на хлоридные клетки, выполняющие в организме рыб важнейшую функцию ионообмена.

Материалом для исследований служили сеголетки карасей *C. carassius*, которые подвергались воздействию пестицидов — полихлорпинена (ПХП) и гексахлорана (ГХЦГ) в концентрациях LC_{50} . 75 сеголетков карасей длиной 7 см и весом 3.7 г были разделены на 3 группы, содержащиеся в стеклянных 20-литровых аквариумах при температуре 19—20°: 1) контрольная — рыбы помещались в чистую воду; 2) в аквариум вносили ПХП в концентрации 0.1 мг/л; 3) то же ГСХЦ в концентрации 8 мг/л. В обоих токсических растворах гибель 50% исследуемых рыб происходила через 48 ч эксперимента. Некоторое количество карасей из группы 2, обладавших меньшей чувствительностью к ПХП, находились в токсическом растворе в течение 1 мес.

Жабры фиксировались в жидкости Буэна и по Шампи с дополнительным хромированием, заливались в парафин, серии фронтальных срезов толщиной 5—7 мкм окрашивались железным гематоксилином по Гейденгайну. Производился морфометрический анализ хлоридных клеток: учитывались количество и размеры их во вставочном эпителии контрольных и подопытных рыб. Количественный учет хлоридных клеток производился на 4 участках вставочного эпителия, расположенных симметрично выше и ниже жаберной артерии, измерялись большие и малые диаметры клеток и их ядер. О функциональном состоянии хлоридных клеток судили по их морфологии и активности фермента сукцинатдегидрогеназы (СДГ), служащего показателем интенсивности протекания метаболических процессов в клетке [12]. СДГ определялась гистохимически по методу Шелтон—Шнейдера в модификации А. Г. Гинецинского и др. [3]. На тотальных препаратах жабр количественный анализ содержания фермента производился при помощи микрофотометра «МФ-4». Денситометрия осуществлялась на 5 взаимно неперекрывающихся полях в пределах каждой исследуемой жаберной пластинки.

Гистоструктура жаберного эпителия карасей в норме не отличается от таковой у других видов рыб, в частности осетровых и лососевых [7—11, 15]. Функциональная единица жабр — жаберный лепесток, покрыта эпителием, имеющим неоднородную толщину и строение. Между респираторными пластинками он многослоен — до 5—6 клеточных слоев; короткие свободные концы их покрыты, как правило, однослойным плоским покровным эпителием. Многослойный жаберный эпителий карасей образован 3 группами клеток: хлоридными, мукозными и клетками дыхательного эпителия.

Хлоридные клетки, осуществляющие ионообмен в жабрах рыб, наиболее крупные среди эпителиальных клеток (10.7×7.1 мкм), овальной формы, с преимущественно округлым, слегка эксцентричным ядром, содержащим тонкие нити хроматина и центральное сферическое ядрышко (рис. 1, а; см. вклейку). Цитоплазма клеток светлая, немногочисленные митохондрии распределяются рыхло или концентрируются в ее перинуклеарной зоне. В среднем в норме между 2 респираторными пластинками жаберного лепестка карася выявляются 3—4 хлоридные клетки.

Клетки дыхательного эпителия, осуществляющие газообмен, мельче хлоридных (6.5×3.3 мкм), имеют эллипсоидную или веретенovidную форму. Вытянутое ядро, содержащее обычно 2 округлых ядрышка, окружено тонким ободком цитоплазмы.

Мукозные клетки, секретирующие слизь (3.9×3.0 мкм), округлой формы, с центрально локализованным ядром, диспергированным ядрышком и цитоплазмой в виде тонкого ободка.

Ткань, образованная описанными выше 3 группами клеток, весьма компактна, их взаимное расположение неупорядочено. Поверхность вставочных слоев, заключенных между респираторными пластинками, выполнена преимущественно клетками дыхательного эпителия, входящими также и в состав однослойного эпителия, покрывающего их свободные участки. Здесь, однако, могут локализоваться и единичные мукозные и хлоридные клетки. Последние располагаются как между респираторными пластинками в толще вставочного эпителия, контактируя с эндотелием капилляров и другими хлоридными клетками, так и у их основания, не имея контакта с жаберными артериями. Хлоридные клетки в этом случае соприкасаются с непосредственно прилегающими к эндотелию артерий слою малодифференцированных так называемых «камбиальных» или «резервных» клеток. Эти клетки имеют неправильную угловатую форму, ядро обычно вытянуто, ядрышко неправильной формы или диспергировано, цитоплазма в виде тонкого ободка; но могут встречаться клетки и с полностью сформированным ядром и хорошо выраженным ядрышком. При повышении концентрации ионов в тканевых жидкостях наблюдается

Т а б л и ц а 1
Изменение количества и размеров хлоридных клеток жаберного эпителии
при действии ПХП в концентрации 0,1 мг/л

	Время воздействия, ч									
	Контроль									
		0.5	1	3	6	12	48	72	12 суток	
Количество клеток	15.5±0.4	20.1±0.5	30.6±0.6	32.0±1.2	32.3±0.9	36.8±1.3	28.1±1.5	24.7±0.5	27.6±0.6	
Диаметр клетки (Д), мкм	10.7±0.2	11.8±0.3	11.5±0.3 *	12.3±0.3	12.9±0.2	—	12.9±0.4	13.2±0.1	12.6±0.2	
Диаметр ядра (Д), мкм	5.8±0.1	5.8±0.2 *	6.0±0.1 *	6.2±0.1 *	6.6±0.1	—	6.5±0.1	6.6±0.1	6.2±0.1 *	

П р и м е ч а н и е. Здесь и в последующих таблицах различия между опытом и контролем достоверны за исключением значений, отмеченных звездочкой.

Т а б л и ц а 2
Изменение активности сукцинатдегидрогеназы в жабрах карасей при действии ПХП

	Время воздействия, ч							
	Контроль							
		1	3	6	12	24	48	72
Показатели плотности, усл. ед.	23,7±0,2	25,8±0,2	27,7±0,3	29,8±0,2	28,3±0,3	28,1±0,2	27,8±0,3	27,4±0,4

дозревание клеточных элементов, сопровождаемое усиленным размножением камбиальных клеток и их быстрой дифференцировкой в направлении хлоридных клеток [5, 11].

ДЕЙСТВИЕ ПОЛИХЛОРПИНЕНА В КОНЦЕНТРАЦИИ 0.1 мг/л

Через 30 мин в жабрах подопытных рыб наблюдается небольшая гиперемия, а в отдельных участках — незначительный отек и отслоение ткани от эндотелия капилляров. Образующиеся в результате этого пространства заполнены жидкостью (рис. 1, б; см. вклейку).

Мукозные клетки и клетки дыхательного эпителия без видимых изменений.

Увеличиваются количество и размеры хлоридных клеток (табл. 1), проявляющих различную реакцию на действие ПХП. Отдельные клетки по своей морфологии близки к контрольным, однако большая часть их активируется. Наблюдаются различные стадии нарастания функциональной активности клеток. Реже всего встречаются клетки, у которых ядро, имеющее неглубокие инвагинации, смещается в апикальную часть. В таких случаях округлое ядрышко, как правило, занимает центральное положение, в карิโอплазме видны несколько утолщенные хроматиновые нити, цитоплазма светлая, но к апикальной части ядра примыкает темный «колпачок», образованный скоплением митохондрий. Кроме того, отмечены клетки с ядром, смещенным в базальную часть, оболочка которого образует более или менее глубокие инвагинации, содержащие мелкие вакуоли. Ядрышко всегда эксцентрично, полиморфно, распределение хроматина в ядре неравномерно, цитоплазма значительно вакуолизирована. Число митохондрий увеличивается, они располагаются непосредственно над ядром, образуя конус, вытянутый параллельно длинной оси клетки (рис. 1, б).

Через 1 ч токсического воздействия изменения в жабрах нарастают. Отмечаются небольшое скопление слизи на жаберных пластинках, пористость ткани, возникающая в результате усиления отеков, и сдушивание поверхностных слоев жаберного эпителия (рис. 1, в).

Число клеток дыхательного эпителия несколько уменьшается за счет потери их из поверхностных слоев, однако морфологически они не меняются. Мукозные клетки гипертрофированы, что, очевидно, объясняется усиленной секрецией слизи.

На этом этапе эксперимента впервые отмечается существенная активация «камбиального» слоя клеток. Интенсивность этого процесса неодинакова на всем протяжении жаберного лепестка: в отдельных участках слой камбиальных клеток неактивен, в других — происходят дозревание и дифференцировка клеток в направлении хлоридных. При этом в слое малодифференцированных клеток различаются хлоридные клетки (несколько мельче обычных, с округлым центральным ядром и ядрышком, со сравнительно узким ободком цитоплазмы) и более зрелые, не отличающиеся морфологически от контроля.

Число хлоридных клеток значительно увеличивается, размеры их также возрастают по сравнению с контролем (табл. 1). Почти все клетки активированы, но степень активности их различна: преобладают клетки с базально смещенным ядром (рис. 1, в). Возрастание количества хлоридных клеток, вызванное усилением деятельности камбиального слоя, и вовлечение все большего числа их в осуществление активно протекающих процессов в жаберном эпителии, приводят к повышению содержания СДГ (табл. 2).

Через 3 ч с начала воздействия, как и на предыдущем этапе эксперимента, наблюдаются скопление слизи в области жабр, небольшая гиперемия, незначительные местные кровоизлияния, отслоение эпителиальной ткани от эндотелия капилляров и образование в этих местах довольно обширных полостей. Увеличивается число респираторных пластинок

с оголенными дистальными участками, нарастает разрыхление ткани и слущивание поверхностных слоев вставочного эпителия. Ткань утрачивает присущую ей компактность, расстояния между клетками заметно увеличиваются (рис. 1, з). Число клеточных слоев во вставочном эпителии, несмотря на процессы слущивания, увеличивается по сравнению с 1-часовой экспозицией, что объясняется нарастанием активности камбиального слоя, усиленно продуцирующего хлоридные клетки (табл. 1), и в меньшей степени клетки дыхательного эпителия.

Клетки дыхательного эпителия несколько гипертрофированы, количество мукозных клеток увеличено по сравнению с контролем, цитоплазма их значительно вакуолизирована.

Лишь единичные хлоридные клетки аналогичны контрольным, практически все они максимально активны. Доказательством этого служит четкая базальность ядер самой разнообразной формы: удлинённых, многолопастных, полусферических. Ядерная оболочка образует инвагинации, в которых выявляются мелкие вакуоли, в кариоплазме видны грубые глыбки хроматина и утолщенные хроматиновые нити, ядрышко расширено и слегка эксцентрично. Цитоплазма вакуолизирована, количество митохондрий в значительной степени увеличено по сравнению с контролем и предыдущей стадией эксперимента, о чем косвенно свидетельствует и значительное возрастание СДГ, наличие которой в клетках связано с митохондриями (табл. 2). Митохондрии равномерно и компактно заполняют апикальную часть клетки, концентрируясь над ядром в виде конуса, ориентированного параллельно длинной оси клетки (рис. 1, з).

Отмечается четкая полярность в расположении хлоридных клеток: наиболее крупные лежат в поверхностных слоях вставочного эпителия, контактируя непосредственно с токсической средой, самые мелкие примыкают к малодифференцированному слою.

Через 6 ч ослизнение жабр усиливается, возрастает гиперемия органа, отмечаются множественные кровоизлияния. Отеки и сопутствующая им пористость тканей приводят к еще большему разобщению клеток и увеличению межклеточных пространств (рис. 1, д). Число респираторных пластинок с полностью слущенным однослойным эпителием увеличивается.

Высота вставочного эпителия и интенсивность слущивания его поверхности не отличаются от 3-часовой экспозиции, активность малодифференцированного слоя поддерживается на прежнем уровне. Как и ранее, степень активации неодинакова по всей длине слоя: там, где она ниже, встречаются лишь единичные хлоридные клетки, но преобладают участки с высокой активностью, когда большая часть камбиальных клеток дифференцирована в хлоридные.

Клетки дыхательного эпителия и мукозные клетки несколько гипертрофированы. Число первых благодаря деятельности камбиального слоя возрастает, в размерном их распределении отмечается та же закономерность, что и у хлоридных клеток: наиболее крупные располагаются в поверхностных слоях вставочного эпителия, далее в проксимальном направлении размеры их убывают. Хлоридные клетки находятся в состоянии высокой функциональной активности (рис. 1, д, табл. 2), количество и размеры их, значительно превышая контрольные значения, не отличаются от таковых на предыдущем этапе эксперимента (табл. 1).

Через 12 ч токсического воздействия уменьшается продуцирование слизи мукозными клетками и несколько спадает отек ткани, однако разобщенность клеток жаберного эпителия сохраняется. Клетки дыхательного эпителия и мукозные клетки не изменяются относительно предыдущего срока, хлоридные клетки по-прежнему максимально активны (табл. 1, 2). Слой малодифференцированных клеток более активен, чем в контроле, но менее, чем на предыдущем этапе эксперимента. Этим, по-видимому, можно объяснить сокращение числа клеточных слоев во вставочном эпителии. Созревание и дифференцировка камбиальных клеток четко сдвигаются

в сторону хлоридных клеток, что обуславливает максимальное количество их на данном этапе эксперимента (табл. 1).

Патоморфологические изменения, наблюдаемые в жабрах подоштных рыб к 24 и 48 ч воздействия ПХП, носят однонаправленный характер. Происходит прогрессирующее нарастание гиперемии и ослизнения жаберных пластинок, отмечаются массовые очаги некроза и множественные кровоизлияния, отек и последующее увеличение межклетников достигают максимума.

Случивание поверхностных слоев жаберного эпителия и отслоение тканей от капилляров особенно усиливаются к 48 ч. Тогда же впервые отмечаются полное разрушение вставочного эпителия между респираторными пластинками в дистальных участках жаберных лепестков, расширение и переполнение форменными элементами крови дистальных участков капилляров.

Клетки дыхательного эпителия во вставочном слое не обнаруживают существенных изменений по сравнению с 12-часовой экспозицией. Клетки же, входящие в состав эпителия, покрывающего свободные участки респираторных пластинок, видоизменяются: ядра их полиморфны, цитоплазма чрезвычайно вакуолизирована, сами клетки значительно уменьшены в размерах. Это, вероятно, можно считать следствием непосредственного контакта их с окружающей токсической средой. Мукозные клетки несколько гипертрофированы, количество их возрастает, особенно к 24 ч эксперимента.

Число хлоридных клеток резко сокращается по сравнению с периодом максимальной активности (3—12 ч), однако размеры их одновременно возрастают (табл. 1). Они обнаруживают все признаки высокой функциональной активности, связываемой с перемещением ядер и ядрышек, вакуолизацией цитоплазмы, возрастанием количества митохондрий и их специфической локализацией в клетке. Высокое содержание СДГ также может свидетельствовать об активности метаболических процессов в клетке (табл. 2).

Деятельность камбиального слоя клеток к 24 ч несколько снижается по сравнению с предыдущей экспозицией и поддерживается на таком уровне к 48 ч эксперимента.

К 72 ч воздействия структура жаберного эпителия несколько нормализуется: уменьшается скопление слизи, снижаются интенсивность случивания поверхностных слоев вставочного эпителия и гиперемия. Локальные небольшие кровоизлияния сохраняются, отмечаются характерные преобразования отдельных капилляров, в частности расширение их дистальных участков, переполнение их форменными элементами крови в сочетании с полным отторжением покровного эпителия приводят к возникновению так называемых «колбообразных вдутий». Отек ткани спадает, пористость значительно снижается, так что жаберная ткань становится весьма компактной по своей структуре, в особенности в средних и проксимальных частях жаберных лепестков, дистальные участки которых могут быть значительно видоизменены (рис. 1, е).

Активность резервного слоя клеток — на прежнем уровне. Число клеток дыхательного эпителия уменьшается по сравнению с предыдущим сроком, размеры мукозных клеток нормализуются, интенсивная вакуолизация их цитоплазмы исчезает.

Количество хлоридных клеток уменьшается, особенно по сравнению с периодом максимальной активности (3—12 ч), однако размеры их достигают наибольших значений (табл. 1). О высокой функциональной активности клеток свидетельствует и чрезвычайно интенсивное отложение гранул формазана в жабрах рыб, указывающее на высокое содержание в них СДГ (табл. 2). В отличие от предыдущих сроков (25—49 ч) не все хлоридные клетки активны в одинаковой степени. Наряду с клетками, обнаруживающими все признаки максимальной функциональной активности,

встречаются клетки, морфологически близкие к контрольным, но имеющие слегка расширенное ядрышко и большое количество митохондрий.

Через 12 суток воздействия изменения в жабрах касаются в основном лишь хлоридных клеток: число и размеры их не отличаются от 72-часовой экспозиции (табл. 1). Гистоструктура жабр в значительной степени нормализована.

ДЕЙСТВИЕ ГЕКСАХЛОРАНА В КОНЦЕНТРАЦИИ 8 мг/л

Через 30 мин после перемещения рыб в токсический раствор регистрируются значительная гиперемия, кровоизлияния, скопления слизи в жабрах. Отмечены небольшие отеки и отслоение ткани от эндотелия капилляров, слущивание жаберного эпителия с дистальных участков респираторных пластинок, сокращение числа слоев во вставочном эпителии. Эпителиальная ткань остается компактной, лишь в некоторых проксимальных участках жаберных лепестков происходит нарушение целостности ее структуры (рис. 2, а; см. вклейку).

Клетки дыхательного эпителия не претерпевают изменений, мукозные — чрезвычайно гипертрофированы, в то время как на первых этапах действия ПХП состояние их не отличалось от контроля.

Количество и размеры хлоридных клеток несколько увеличиваются по сравнению с контролем, реакция их на токсическое воздействие неоднородна. Отдельные клетки пребывают в неактивном состоянии, однако большая часть функционирует весьма интенсивно (рис. 2, а). Для последних характерно полиморфное ядро с неглубокими инвагинациями, смещенное в базальную часть клетки. Ядрышко расширено, слегка эксцентрично, значительно смещено или лежит практически на ядерной мембране, что свидетельствует о его большей лабильности, чем при действии ПХП. У некоторых хлоридных клеток ядрышки диспергированы, в кариоплазме видны утолщенные хроматиновые нити и глыбки хроматина. Митохондрий несколько больше, чем в контроле; они либо концентрируются в виде колпачка над ядром, либо равномерно распределяются в цитоплазме клеток. Отмечается незначительная вакуолизация цитоплазмы, отдельные вакуоли локализуются в складках ядерной мембраны.

Через 1 ч воздействия морфологические изменения жабр снижаются: несколько ослабевает гиперемия, спадает отек ткани. Вследствие активации резервного слоя клеток увеличивается высота вставочного эпителия, так что число слоев в нем становится близким к контрольному. Состояние всех 3 типов клеток, формирующих жаберный эпителий, не отличается от такового на предыдущем сроке опыта, однако функциональная активность клеток возрастает, о чем свидетельствует увеличение их числа и размеров и усиление активности СДГ (табл. 3, 4).

Через 3 ч отмечаются усиление ослизнения и массовые кровоизлияния. Для данной экспозиции, как и для предыдущей, характерно слущивание клеток с дистальных участков некоторых респираторных пластинок, в отдельных случаях — разрушение ткани между ними. Число клеточных слоев во вставочном эпителии не изменяется относительно 1 ч воздействия, жаберная ткань компактна.

Количество мукозных клеток увеличено по сравнению с предыдущим сроком, большая часть их гипертрофирована. Клетки дыхательного эпителия без изменений. Слой резервных клеток также по-прежнему активен.

Общее количество хлоридных клеток вдвое увеличено по сравнению с контролем (табл. 3), однако примерно половина их находится в неактивном состоянии. Эти клетки обладают центрально расположенным округлым ядром, несколько расширенным ядрышком, цитоплазма их слабо вакуолизована и содержит умеренное количество митохондрий в перинуклеарной зоне. «Активные» хлоридные клетки значительно увеличены в размерах и характеризуются наличием базального ядра с сильно инвагинированной

Т а б л и ц а 3

Изменение количества и размеров хлоридных клеток жаберного эпителия
при действии гексахлорана

	Контроль	Время воздействия, ч					
		1	3	6	12	24	72
Количество клеток	15.5±0.4	30.2±3.1	34.9±3.2	36.7±2.6	37.2±2.6	35.4±3.5	34.1±3.1
Диаметр клетки	10.7±0.2	11.3±0.1 *	12.5±0.1	13.1±0.1	13.6±0.2	13.8±0.1	13.9±0.1
Диаметр ядра	5.8±0.2	6.1±0.1 *	6.6±0.1	6.1±0.2 *	6.3±0.1	6.8±0.1	6.0±0.2 *

Т а б л и ц а 4

Изменение активности сукцинатредгидрогеназы в жабрах карасей при действии гексахлорана

	Контроль	Время воздействия, ч				
		1	3	6	24	72
Показатели плотности, усл. ед.	23.7±0.2	26.9±0.1	26.8±0.2	27.5±0.3	29.7±0.1	28.8±0.2

мембраной, резко смещенным рыхлым или диспергированным ядрышком, обилием митохондрий, компактно заполняющих апикальную часть клетки или простирающихся в виде конуса, параллельно ее большей оси (рис. 2, б). Общий уровень функциональной активности хлоридных клеток, несмотря на сокращение числа интенсивно «работающих», все же достаточно высок, о чем могут свидетельствовать и данные о содержании СДГ в жабрах подошвных рыб (табл. 4).

Через 6 и 12 ч с начала воздействия общее состояние эпителия в основном не отличается от контрольного. Изменения сводятся к гиперемии, небольшому ослизнению жабр и наличию оголенных дистальных участков в отдельных респираторных пластинках. Активность резервного слоя клеток возрастает по сравнению с 3-часовой экспозицией, чем объясняется некоторое возрастание числа клеточных слоев по сравнению с контролем.

Морфологически клетки дыхательного эпителия и мукозные клетки не отличаются от описанных для предыдущего этапа эксперимента.

Количество хлоридных клеток достигает максимума, размеры их также увеличиваются (табл. 3). Подавляющее большинство их находится в состоянии максимальной функциональной активности, о чем, помимо морфологических внутриклеточных преобразований, свидетельствует и высокая активность СДГ (табл. 4).

Через 24 ч по-прежнему отмечаются гиперемия и усиление ослизнения жаберных лепестков. Число слоев во вставочном эпителии сокращается, поскольку активность резервного слоя клеток поддерживается на прежнем уровне, а интенсивность слущивания поверхностных слоев вставочного эпителия возрастает по мере продолжительности действия токсиканта. Ткань жаберного эпителия рыб компактна.

Клетки дыхательного эпителия, как и на предыдущих этапах эксперимента, не изменяются, мукозные клетки гипертрофированы, количество их увеличено по сравнению с контролем.

На данном этапе эксперимента активны практически все хлоридные клетки. Количество их очень велико по сравнению с контролем (табл. 3), а внутриклеточные перестройки характеризуют их состояние как максимально активное. Это подтверждается и данными по содержанию СДГ в жабрах, оно достигает здесь наивысшего значения за все время эксперимента (табл. 4).

С увеличением времени воздействия до 48 ч возрастает кровенаполнение сосудов, в проксимальных участках жаберных лепестков сокращается по сравнению с предыдущим сроком число клеточных слоев во вставочном эпителии. Активность резервного слоя клеток несколько снижается. Ткань респираторного эпителия чрезвычайно компактна.

Хлоридные клетки сохраняют высокую активность, о чем свидетельствуют состояние их хондриома, форма и локализация ядер и ядрышек, увеличение размеров и содержание в них СДГ (табл. 3, 4).

Через 72 ч непосредственно перед гибелью рыб морфологическая картина жабр в основном аналогична таковой при 48-часовой экспозиции. Не отмечается никаких существенных изменений, могущих способствовать гибели рыб. Жаберный эпителий карасей вполне способен осуществлять процессы дыхания и ионообмена на уровне, достаточном для нормального функционирования организма (рис. 2, в; см. вклейку).

Результаты проведенных исследований показали, что пестициды вызывают серьезные изменения в жабрах пресноводных костистых рыб.

Жаберный эпителий карасей обладает высокой реагентной способностью, и первые изменения его гистоструктуры развиваются на ранних этапах воздействия и далее зависят от вида и концентрации токсического вещества.

В ответной реакции жабр карасей на воздействие ПХП в концентрации 0.1 мг/л можно выделить 3 фазы.

1-я — кратковременная (0.5—1 ч) — характеризуется развитием комплекса защитных реакций на токсическое воздействие: легкая гиперемия, незначительные локальные отеки и отслоение эпителия от капилляров. Повреждающее воздействие ПХП на этой фазе эксперимента вызывает слущивание поверхностных слоев жаберного эпителия, приводящее к сокращению числа клеточных слоев во вставочном эпителии и уменьшению количества как хлоридных клеток, так и клеток дыхательного эпителия. Это стимулирует активную деятельность камбиального слоя и приводит к усиленной дифференцировке клеток, в основном в направлении хлоридных. Характерная особенность этой фазы — стимуляция деятельности хлоридных клеток. Не все клетки одновременно переходят в активное состояние, наблюдаются все стадии нарастания этого процесса. Между функциональной активностью клеток, их размерами и количеством наблюдается определенная зависимость. Связь наблюдаемых нами клеточных перестроек (увеличение размеров клеток и ядер, смещение и изменение консистенции ядрышка, трансформация хондриома) с повышением функциональной активности рассматривается как доказательство усиления синтетических процессов в клетке [17—19, 22]. О возрастании функциональной активности хлоридных клеток свидетельствует также увеличение содержания СДГ, играющего важную роль в процессах клеточного метаболизма [12, 16].

2-я фаза эксперимента (3—12 ч) характеризуется нарастанием повреждений общей структуры жабр, носящих ярко выраженный патологический характер. Усугубляются ослизнение и гиперемия жаберных лепестков, массовые кровоизлияния свидетельствуют о нарушении целостности эндотелия капилляров. Значительные отеки приводят к еще большему разобщению клеток и расширению межклеточных пространств. Количество клеточных слоев во вставочном эпителии в средних и проксимальных участках жаберных лепестков, несмотря на слущивание поверхностных слоев эпителия, возрастает, что свидетельствует о нарастании активности камбиального слоя, усиленно продуцирующего клетки. Некоторое увеличение числа клеток дыхательного эпителия наряду с гиперемией, по-видимому, может облегчать процессы дыхания.

К 6 ч воздействия все хлоридные клетки находятся в состоянии максимальной функциональной активности. Это достигается как внутриклеточными перестройками (изменением формы клеток и ядер, увеличением количества и определенной локализацией митохондрий, вакуолизацией цитоплазмы), обеспечивающими наибольшую реактивность клеток, так и возрастанием их числа. Хотя размеры клеток существенно не изменяются по сравнению с предыдущей фазой, численное преимущество способствует созданию высокого уровня функционирования, о чем свидетельствует также максимальное за все время эксперимента содержание СДГ в жабрах. Эффект достижения высокой активности хлоридных клеток путем увеличения их числа при постоянстве размеров был также описан для осетровых при солевых адаптациях [8].

На 3-й фазе эксперимента (24—48 ч), когда гибнет половина подопытных рыб, патоморфологические изменения жабр наиболее серьезны. Отмечаются чрезвычайно сильная гиперемия, множественные кровоизлияния, очаги некроза в эпителии. Увеличение межклеточных пространств достигает максимума, полости, образующиеся при отслоении эпителия от капилляров, очень обширны. Число хлоридных клеток резко сокращается, но одновременно с этим возрастают их размеры. Клетки обнаруживают все признаки высокой функциональной активности, о чем свидетельствует наряду с изменением их морфологии и высокое содержание в жабрах СДГ. Таким образом, высокая функциональная активность хлоридных клеток может поддерживаться не только за счет возрастания их числа, но и благодаря морфологическим перестройкам, сопровождающимся увеличением их размеров.

После 48 ч пребывания рыб в токсическом растворе в респираторном эпителии развиваются процессы, направленные на нормализацию его гистоструктуры. К 72 ч жаберная ткань весьма компактна по своей структуре, количество клеточных слоев близко к контрольному. Сохраняется лишь гиперемия и возникают характерные преобразования капилляров: колбообразные вздутия, описанные у разных видов рыб при действии на них фенола, аммиака и при дефиците кислорода [1, 26, 30].

Число хлоридных клеток во вставочном эпителии уменьшается, не все они одинаково функционально активны, однако размеры их достигают максимальных значений. Высокую активность хлоридных клеток подтверждает большое количество СДГ в жабрах рыб, свидетельствующее об интенсивности протекания процессов клеточного метаболизма.

Через 12 суток изменения в строении жабр по сравнению с контролем минимальны и проявляются лишь в легкой гиперемии.

Таким образом, анализ динамики повреждений жабр при действии ПХП в концентрации 0.1 мг/л показал, что нарушении структуры жаберного аппарата предшествует развитие защитных реакций на токсическое воздействие. Нарастание патоморфологических изменений этого органа идет постепенно и завершается либо максимальным повреждением, сопровождающим гибель рыб, либо определенной нормализацией его строения. Изучение состояния хлоридных клеток и их морфометрия позволили установить, что первоначально (0.5—3 ч) необходимый уровень метаболизма поддерживается за счет увеличения количества и размеров этих клеток. Затем, когда активируются все клетки, возрастание их числа идет менее интенсивно (6—12 ч). Усиленное сдувание поверхности эпителия при 25—49 ч воздействия резко сокращает число хлоридных клеток, но повышенное содержание СДГ показывает, что определенный уровень метаболических процессов достигается усилением функциональной активности клеток и одновременным увеличением их размеров. Аналогичная связь между размерами, количеством и активностью хлоридных клеток прослеживается и при солевой нагрузке [5].

Изучение действия ГХЦГ на жабры карасей показало, что первоначальный ответ этого органа сходен с описанным выше при отравлении ПХП, но изменения гистоструктуры проявляются в значительно меньшей степени и носят локальный характер. Последующее нахождение в токсиканте характеризуется развитием адаптивных реакций, отмечаемых вплоть до гибели рыб. Характерная особенность — отсутствие отеков и компактность респираторного эпителия, наблюдаемая на всех этапах опыта.

Анализ изменений хлоридных клеток при действии гексахлорана показал, что и ПХП и ГХЦГ вызывают однонаправленные изменения их внутренней структуры. Увеличение размеров клеток, перестройка хондриома, наличие вакуолей в складках ядерной мембраны, свидетельствующие об интенсивности процессов обмена между кардио- и цитоплазмой, лабильность ядрышек служат доказательством высокой функциональной активности клеток.

Изменения внутренней структуры хлоридных клеток в жабрах карасей под действием пестицидов аналогичны таковым у осетровых при солевых нагрузках [3—11]. Считалось, что такие морфологические картины соответствуют состоянию экскреции солей из жабр. Однако наши опыты ставились на пресноводных рыбах, хлоридные клетки которых ограниченно способны экскретировать, а сорбируют ионы из окружающей среды. Параллельно проводимые в нашей лаборатории исследования транспорта Na из жабр карасей под действием пестицидов не обнаружили активной потери этого иона в процессе опытов; происходила пассивная его утечка [2]. Следовательно, изменения внутренней структуры клетки не связаны только с ионообменом, не имеют специфического характера, а могут рассматриваться как свидетельство повышения общей метаболической и

сиятетической деятельности клетки, направленной на обеспечение адаптивных реакций, препятствующих развитию интоксикации.

Наши данные также подтверждают четкую зависимость между функциональным состоянием клетки и содержанием СДГ.

Таким образом, в действии ПХП и ГХЦГ на жаберный эпителий карасей наблюдаются определенные сходство и различие. Общие неспецифические изменения наблюдаются при действии обоих токсикантов и выражаются в гиперемии, кровоизлияниях, слушивании поверхностных слоев жаберного эпителия. Неспецифичность реакции хлоридных клеток на токсическое воздействие выражается в стимуляции их функциональной активности. Специфическая особенность действия ПХП состоит в развитии отеков, приводящих к значительному увеличению межклеточных пространств и разобщению клеток жаберного эпителия.

Л и т е р а т у р а

1. Андрес А. Г., Куражковская Т. Н. Патогистологические изменения у лепа при дефиците кислорода. — Тр. Ин-та биол. водохр. АН СССР, 1963, вып. 5 (8), с. 87—109.
2. Виноградов Г. А., Жариков Г. П., Флеров Б. А. Действие полихлорпинена и гексахлорана на дыхание и осморегуляцию карасей. Наст. кн.
3. Гинецинский А. Г., Васильева В. Ф., Закс М. Г., Наточин Ю. В., Соколова М. М. Методы исследования осморегулирующей системы рыб. — В кн.: Руководство по методике исследования физиологии рыб. М., 1962, с. 204—205.
4. Дзасохова Н. Г. Изучение сравнительной эффективности терапевтического действия NH_3 , NaCl , хлорофоса и других препаратов при эктопаразитах рыб. Автореф. канд. дис., М., 1968. 22 с.
5. Заварзин А. А. Основы частной цитологии и сравнительной гистологии многоклеточных животных. Л., 1976. 411 с.
6. Кокуричева М. П. О патоморфологических изменениях во внутренних органах форели при действии хлорофоса, энтобактерина и вируса ядерного полиэдроа. — Изв. НИИ озern. и речн. рыб. хоз-ва, 1974, т. 98, с. 24—31.
7. Краюшкина Л. С. Функциональное состояние хондриома хлоридсекретирующих клеток в жабрах осетра на ранних этапах онтогенеза. — Арх. анатомии, гистол. и эмбриол., 1965, т. 48, № 4, с. 45—48.
8. Краюшкина Л. С. Развитие эвригалинности на ранних этапах онтогенеза у осетра различных видов и экологических форм. — Тр. ЦНИИ осетр. хоз-ва, 1967, № 1, с. 181—195.
9. Краюшкина Л. С. Функциональная морфология хлоридсекретирующих клеток у рыб в связи с их эколого-физиологическим значением. — В кн.: Обмен веществ и биохимия рыб. М., 1967, с. 65—73.
10. Краюшкина Л. С. Реакция хлоридных клеток при дифференциации жаберного эпителия у осетровых. — Тез. V Всесоюз. совещ. эмбриол., М., 1974, с. 45.
11. Краюшкина Л. С. Хлоридсекретирующие клетки рыб. — Арх. анатомии, гистол. и эмбриол., 1974, т. 67, № 11, с. 92—99.
12. Ленинджер А. Биохимия. М., 1976. 957 с.
13. Межнин Ф. И. Патогистологические изменения органов и тканей гуппи при остром экспериментальном отравлении полихлорпиненом, фенолом и при повышенной солевой нагрузке. — В кн.: Влияние фенола на гидробионтов. Л., 1973, с. 53—66.
14. Метелев В. В., Канаев А. И., Дзасохова Н. Г. Водная токсикология. М., 1971. 247 с.
15. Наточин Ю. В., Бочаров Г. Д. Активность экскретирующих натрий клеток в жабрах горбуши и кеты, адаптирующихся к жизни в морской воде. — Вопр. ихтиол., 1962, т. 2, вып. 4/25, с. 684—692.
16. Наточин Ю. В., Крестинская Т. В. Сукцинатдегидрогеназа и активный транспорт натрия в осморегулирующих органах позвоночных животных. — Физиол. журн. СССР, 1961, т. 47, № 10, с. 1306—1313.
17. Поликар А. Элементы физиологии клетки. Л., 1976. 390 с.
18. Поликар А., Бо Ш. Субмикроскопические структуры в норме и патологии. Л., 1962. 275 с.
19. Хесин Я. Е. Размеры ядер и функциональное состояние клеток. М., 1967. 423 с.
20. Baker J. Histological and electron microscopical observations on copper poisoning in the winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). — J. Fish. Res. Board Canada, 1969, vol. 26, p. 2785—2793.
21. Vimbber D. L., Boenig R. W., Sharma M. L. Respiratory stress in yellow perch induced by subtoxic concentrations of Diguat. — Ohio J. Sci., 1976, vol. 76, N 2, p. 87—90.

22. Caspersson T. O. Cell growth and cell function. L., 1950. 215 p.
 23. Eller L. L. Histopathologic lesions in cutthroat trout (*Salmo clarki*) exposed chronically to the insecticide endrin. — Amer. J. Pathol., 1971, vol. 64, N 2, p. 321—336.
 24. Havelka J., Effenberger M. Symptoms in phenol poisoning of fish. — Ann. Acad. Chechoslov. Agric., 1957, vol. 30, p. 421—424.
 25. Konar S. K. Histopathological effects of the insecticides heptachlor and nicotine on the gill of the catfish *Heteropneustes fossilis japon.* — J. Ichthyol., 1969, vol. 15, N 4, p. 156—159.
 26. Kuhn O., Koecke N. U. Histologische und cytologische Veränderungen der Fischkiesche nach Einwirkung in Wasser Enthaltener, schädigender Substanzen. — Z. Zellforsch., 1956, Bd 43, S. 611—643.
 27. Reichenbach-Klinke H. Der Phenolgehalt des Wassers in Seiner Auswirkung auf den Fischerei. — Arch. Fish., 1965, Bd 16, N 1, S. 1—16.
 28. Schulz D. Studien über Nebenvirkungen des Herbicids (Na-Trichloracetat) auf Karpfen. — M. F. Zbl. Veter., 1970, Bd 17, N 3, S. 375—378.
 29. Skidmore J. F., Tovell P. W. Toxic effects of zinc sulphate on the gills of rainbow trout. — Water Res., 1972, vol. 6, p. 217—230.
 30. Smart G. The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). — J. Fish. Biol., 1976, vol. 8, p. 471—475.
 31. Waluga D. Zmiany anatomohistologiczne u leszcza wplywen fenolu. Phehol effects on the anatomic histopathological changes in bream (*Abramis brama*). — Acta Hydrobiol., 1966, vol. 8, N 1, p. 55—78.
-

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ РЕАКЦИЙ ИЗБЕГАНИЯ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ У НЕКОТОРЫХ ВОДНЫХ ЖИВОТНЫХ

Обеднение водных биоценозов под влиянием токсических веществ может происходить не только в результате непосредственной гибели организмов, но и благодаря активному уходу животных в незагрязненные зоны водоемов. Поэтому изучение поведения, обеспечивающего выживание животных, представляет большое теоретическое и практическое значение. Анализ имеющейся литературы по этому вопросу был сделан ранее [2]. Данные о способности избегать токсические вещества получены главным образом на разных видах рыб. Реакция избегания широко варьирует в зависимости от химической природы токсиканта и видовой принадлежности животных. Большинство исследованных видов рыб проявляет реакцию избегания, начиная с сублетальных концентраций. Однако избегаются не любые токсические вещества. Обнаружены области концентраций некоторых соединений, обладающие привлекающими свойствами. У беспозвоночных реакция избегания исследована крайне недостаточно.

Настоящая работа посвящена сравнительному изучению способности избегания различных по химическому строению токсических веществ у некоторых пресноводных животных.

Подопытными объектами служили 4 вида беспозвоночных: жаброног (*Streptocephalus torvicornis*), водяной ослик (*Asellus aquaticus*), медицинская пиявка (*Hirudo medicinalis*), гуппи (*Lebistes reticulatus*). Жаброноги для опытов были взяты из культуры, поддерживаемой в лабораторных условиях на протяжении года. Культура получена из яиц, завезенных с темрюкского рыбзавода в 1976 г. Водяные ослики отлавливались в окрестностях пос. Борок Ярославской обл. и перед опытом акклиматизировались к лабораторным условиям в течение недели. Медицинских пиявок получали из аптеки и также акклиматизировали к лабораторным условиям. Гуппи брались из лабораторного аквариума, где разводились в течение многих лет.

Испытывалось действие 4 различных по химической природе токсических веществ: фенола (чистого), синтетического поверхностно-активного вещества «Лотос-71», основу которого (22%) составляют алкилбензосульфوناتы и алкилсульфонаты, полихлорпинена (ПХП) химически чистого, хлорированного на 67%, и технического хлорофоса (80% д. в.).

Реакции избегания у жаброногов и водяных осликов исследовались в модифицированной нами для этих животных дихотомической камере [3] (рис. 1, а), в один из рукавов которой подавался раствор испытуемых токсических веществ, приготовленных на водопроводной воде, в другой — водопроводная вода. В контрольных экспериментах вместо растворов токсикантов в камеру подавалась также водопроводная вода. Скорость потоков составляла примерно 0.5 л/ч. Для предотвращения выработки условного рефлекса на сторону подача растворов и воды в рукава камеры

чередовалась. Реакция избегания оценивалась по количеству (%) животных, находящихся в растворе и воде. Их регистрация осуществлялась через 2 мин на протяжении получаса. Опыт с каждым раствором проводился с 5 животными в 5 повторностях.

У пиявок и рыб избегание токсикантов изучалось в камере размером $600 \times 50 \times 50$ мм с 2 встречными потоками — воды и раствора (рис. 1, б). Одинаковая их скорость (тоже примерно 0.5 л/ч), а также общий сток в центре камеры создавали четкую границу 2 сред — вода—токсикант. Направление потоков чередовалось. Реакции оценивались по времени

пребывания отдельного животного в той или иной зоне камеры в течение 10 мин. Для испытания каждого раствора бралось не менее 14 животных. Все полученные результаты подвергались статистической обработке.

Перед проведением работы по изучению избегания у всех подопытных животных были выявлены основные токсикологические параметры исследуемых веществ. Определялись максимально переносимая концентрация (МПК), концентрация, вызывающая 50%-ю гибель (LC_{50}), и абсолютно смертельная (LC_{100}). Они сравнивались с пороговой концентрацией, вызывающей реакцию избегания (табл. 1).

Наиболее эффективно (за исключением жаброногов) из всех испытуемых токсикантов избегался «Лотос-71». Реакции начинали проявляться при концентрациях, соответствующих сублетальной зоне. Достоверное отличие от контроля наблю-

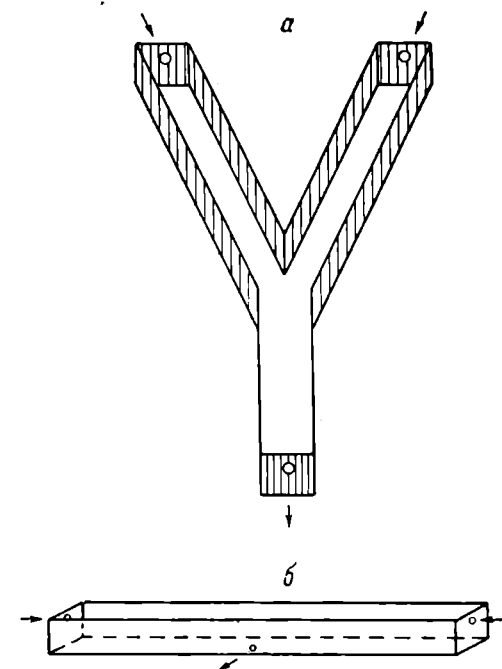


Рис. 1. Камеры для изучения реакций избегания токсических растворов у водных животных.

а — для жаброногов и водяного ослика, б — для медицинской пиявки и гуппи.

далось у водяного ослика и медицинской пиявки уже при концентрации 1 мг/л, которая для 1-го животного на порядок, а для 2-го более чем на 2 порядка ниже МПК. Для гуппи порог реакции избегания был равен 1 мг/л, что в 20 раз ниже МПК.

Фенол также хорошо избегался водными животными. Пороговая концентрация для водяного ослика была на порядок, а для пиявки примерно в 5 раз ниже МПК, а для жаброногов и гуппи она ей соответствовала.

Пестициды (ПХП, хлорофос) либо совсем не избегались, либо избегались только при летальных концентрациях. Так, у медицинской пиявки не было обнаружено избегания хлорофоса, а у жабронога — ПХП даже в растворах с остро токсичными концентрациями. Эти животные погибали в опытах, но не покидали зоны камер с токсическими веществами. Порог избегания ПХП у водяного ослика и гуппи был на 2 порядка, а у пиявки в 2 раза выше МПК. Избегание хлорофоса происходило при концентрациях, всегда превышающих абсолютно смертельных. Для беспозвоночных (водяной ослик и жаброног) различие между пороговой величиной реакции избегания и МПК составляло 3—4 порядка.

Диапазон концентраций токсикантов, в котором осуществляются реакции избегания, а также зависимость поведенческих реакций от concentra-

Т а б л и ц а 1

Токсичность некоторых веществ для водных животных (экспозиция 48 ч, температура 20°) и их пороговые концентрации, вызывающие реакцию избегания, мг/л

Токсикант	МПК	LC ₅₀	LC ₁₀₀	Порог реакции избегания
<i>Asellus aquaticus</i>				
«Лотос-71»	10	220	4000	1
Фенол	12	75	140	1
ПХП	0.01	0.2	0.6	1
Хлорофос	0.05	0.13	0.28	100
<i>Hirudo medicinalis</i>				
«Лотос-71»	150	190	300	1
Фенол	275	290	400	50
ПХП	2.5	5	10	5
Хлорофос	0.05	0.3	0.6	Нет избегания
<i>Streptocephalus torvicornis</i>				
«Лотос-71»	5	12	20	Нет избегания
Фенол	10	30	50	10
ПХП	0.1	0.17	0.25	Нет избегания
Хлорофос	0.02	0.04	0.06	10
<i>Lebistes reticulatus</i>				
«Лотос-71»	20	28	40	1
Фенол	35	48	70	30
ПХП	0.05	0.15	0.3	5
Хлорофос	5	14	19	20

ции приведены в табл. 2 и на рис. 2. Величина реакции избегания возрастает пропорционально логарифму концентрации, т. е. она подчиняется закону Вебера—Фехнера. Такая зависимость реакций избегания токсикантов от концентрации была получена на рыбах японскими исследователями [4]. Наши данные, подтверждающая вывод авторов, свидетельствуют, что его можно распространить и на водных беспозвоночных.

Обнаружено, что в определенном диапазоне концентраций всех исследованных токсических веществ у водяного ослика проявляется реакция привлечения или предпочтения. Для «Лотос-71» и фенола этот диапазон соответствует сублетальным концентрациям, не опасным для жизни животных. В противоположность этому ПХП и особенно хлорофос оказались предпочитаемыми только в смертельно опасных концентрациях. Если для ПХП она близка к LC₅₀, то для хлорофоса привлекающая концентрация на 2 порядка выше. Водяные ослики, находящиеся в ней 15—30 мин, через несколько дней погибали. Токсическая концентрация хлорофоса 0.1 мг/л для медицинской пиявки также оказалась предпочитаемой.

Явление привлечения ранее отмечалось у рыб [5], однако у водных беспозвоночных оно не выявлялось столь демонстративно. Эти реакции таят известную опасность, так как водные животные направляются в токсические зоны, задерживаются в них и погибают.

До сих пор не проводятся исследования, раскрывающие физиологические механизмы избегания и привлечения. Необычный отрицательный результат с «Лотос-71», полученный на жаброногах, послужил причиной проведения специальных экспериментов по анализу реакций избегания. Уже ранее выявленная зависимость реакции от концентрации свидетельствует, что в ее проявлении большую роль играют сенсорные системы, поскольку эта зависимость соответствует закону Вебера—Фехнера (ответ

пропорционален логарифму интенсивности раздражения), установленному для деятельности органов чувств [1]. Можно предполагать участие 2 систем: хемочувствительности (включая обоняние, вкус и общее химическое чувство) и болевой чувствительности. Следовало получить ответ на вопрос, какая чувствительность лежит в основе реакций избегания. Для этого

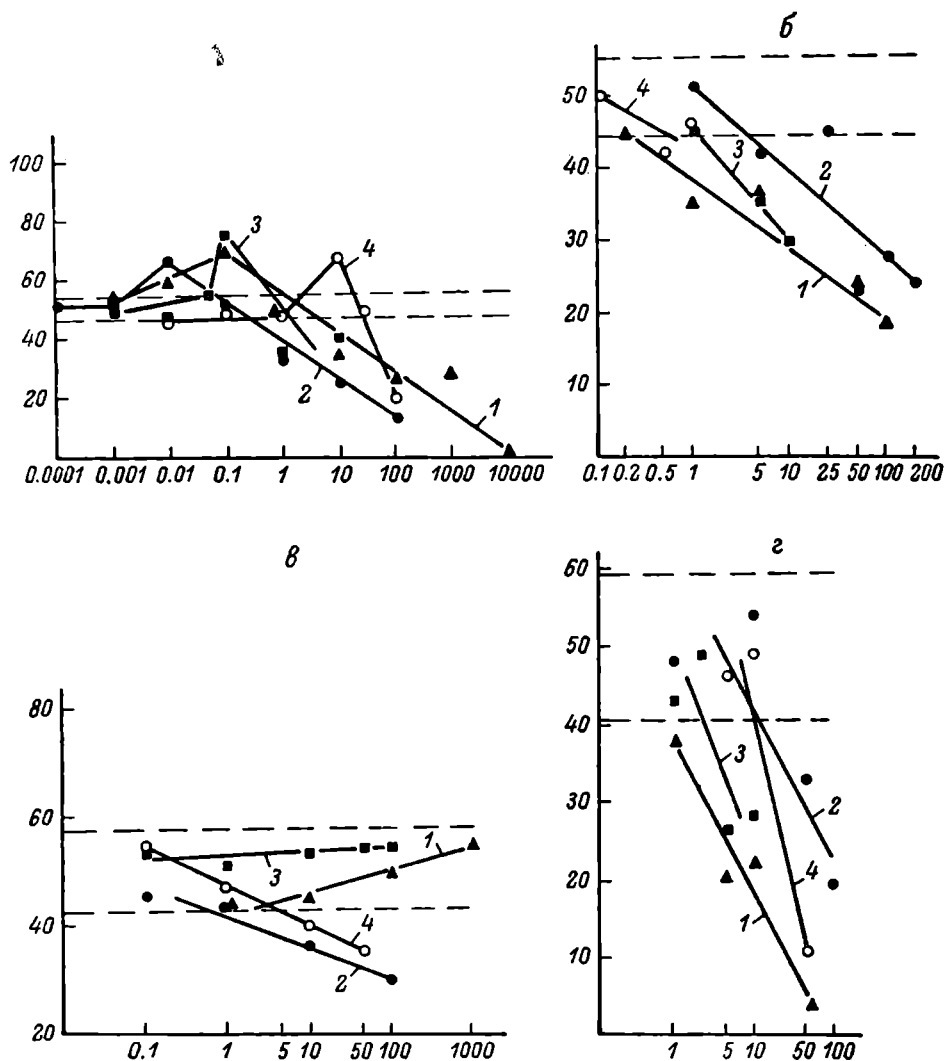


Рис. 2. Реакции избегания токсических веществ у водных животных.

а — водяной ослик, б — медицинская пиявка, в — жаброног, г — гуппи. 1 — «Лотос-71», 2 — фенол, 3 — ПХП, 4 — хлорофос. Пунктирная линия ограничивает двойную ошибку средней величины реакции в контроле. По оси ординат — реакция избегания, % (среднее количество животных и время их пребывания в токсических растворах, %); по оси абсцисс — концентрация токсических веществ, мг/л (логарифмическая шкала).

у жаброногов была произведена экстирпация антеннул с расположенными на них хеморецепторными образованиями. Спустя несколько дней после операции были поставлены опыты по определению реакции избегания на те растворы, которые интактными животными эффективно избегались.

Лишенные антеннул жаброноги переставали избегать токсические вещества (табл. 3). Это свидетельствует, что иницирующим звеном реакции избегания является хеморецепция. Предположение об участии болевой чувствительности в осуществлении этих реакций вряд ли имеет основание. Если бы реакции избегания определялись болевой чувствитель-

Т а б л и ц а 2

Реакции избегания токсических веществ у некоторых водных животных

Концентрация, мг/л	Среднее время пребывания животных или их количество в токсическом растворе, %			
	«Лотос-71»	фенол	ПХП	хлорофос
<i>Asellus aquaticus</i>				
0.001	53±3.3	51±4.0	51±3.6	—
0.01	60±4.0 ²	66±2.4 ³	47±1.7	46±2.7
0.05	—	—	55±3.0	—
0.1	70±3.5 ³	51±4.7	76±3.0 ³	48±3.7
0.5	58±4.6	—	—	—
0.7	47±3.5	—	—	—
1	35±2.4 ³	32±2.0 ³	35±3.4 ²	47±3.2
10	34±2.1 ³	24±2.0 ³	40±3.2 ²	67±3.2 ³
30	—	—	—	49±3.5
100	26±2.8 ³	12±3.1 ³	—	19±2.0 ³
1000	28±3.0 ³	—	—	—
Контроль	50±2.0			
<i>Hirudo medicinalis</i>				
0.01	—	—	—	51±3.2
0.1	45±5.7	—	42±5.3	60±3.5 ³
0.5	—	—	—	42±4.2
1	35±3.7 ¹	52±4.3	45±5.2	46±2.8
5	37±4.8 ¹	42±5.0	36±6.0 ¹	—
10	—	—	30±4.2 ³	—
25	—	45±4.2	—	—
50	24±3.3 ³	23±5.3 ³	—	—
100	19±3.7 ³	28±5.2 ³	—	—
Контроль	50±2.6			
<i>Streptocephalus torvicornis</i>				
0.1	49±6.3	45±5.8	53±5.1	54±4.2
1	44±3.9	43±3.6	50±5.9	47±2.9
5	—	—	—	52±5.0
10	44±3.2	36±5.9 ¹	52±4.8	40±2.0 ¹
50	—	36±3.4 ¹	53±7.7	35±2.7 ¹
100	48±2.8	29±4.4 ¹	53±5.2	—
1000	55±6.4	—	—	—
Контроль	50±3.2			
<i>Lebistes reticulatus</i>				
1	38±5.8 ¹	48±8.5	43±9.3	—
2.5	—	—	47±11.5	—
5	21±4.3 ²	—	27±8.8 ¹	47±10.8
10	23±4.5 ²	54±7.3	29±9.2 ¹	49±8.7
50	—	33±9.2 ¹	—	11±3.3 ¹
60	4.8±1.7 ³	—	—	—
100	—	20±5.7 ²	—	—
Контроль	50±4.8			

П р и м е ч а н и е. ¹ — достоверность различий (P) между опытом и контролем составляет > 0.95, ² — P > 0.99, ³ — P > 0.999.

ностью, то они должны были бы проявиться и у животных, лишенных рецепторов.

Почему же не происходит избегания некоторых токсических веществ? Трудно допустить, что водные животные, являющиеся макросматиками, не ощущают их присутствия, особенно в высоких концентрациях. Можно предположить, что отсутствие реакции избегания объясняется повреждением хеморецепторов токсическими веществами. Для проверки жаберноги помещались на 30 мин в те растворы токсикантов, которые ими

Таблица 3
Реакции избегания токсических веществ
после экстирпации хеморецепторных образований
у *St. torvicornis*

Токсикант	Концентрация, мг/л	Количество животных в растворе токсиканта, %	
		интактные	экстирпирован- ные
Фенол	100	29±4.7	43±2.8
	50	36±3.4	48±3.7
Хлорофос	50	35±2.7	44±6.6
	10	40±2.0	44±4.5
Контроль	—	50±3.2	

Примечание. Различие между опытом и контролем во всех случаях достоверно ($P > 0.95$).

не избегались, и после этого у них испытывались реакции на заведомо избегаемый раствор (100 мг/л фенола). Опыты показали, что после 30-минутного воздействия «Лотос-71» (25, 50 мг/л) и ПХП (1, 10 мг/л) избегание фенола прекращалось. Количество животных (%) в растворе фенола составляло:

Контроль	Норма	«Лотос-71», мг/л			ПХП, мг/л		
		5	25	50	0.1	1	10
50±3.2	29±4.4	36±5.6	48±4.2	51±7.7	31±4.0	47±2.4	52±3.4

«Лотос-71» в концентрации 5 мг/л и ПХП — 0.1 мг/л не оказывали влияния на проявление этой реакции. Полученные результаты свидетельствуют о правильности предположения, что токсические вещества в некотором диапазоне концентраций нарушают хемочувствительность и тем самым не дают возможность животным распознавать растворы и уходить от них. Такое нарушение носит временный характер. Если жаброногов после 30 мин воздействия 50 мг/л «Лотос-71» и 10 мг/л ПХП поместить на сутки в чистую воду, то у них реакция на фенол восстанавливается.

Таким образом, в результате проведенного исследования получены количественные характеристики реакции избегания широко распространенных токсикантов у 3 видов водных беспозвоночных и 1 вида рыб, выявлены общие закономерности ее проявления.

Реакция избегания токсических растворов у водных животных (*A. aquaticus*, *H. medicinalis*, *S. torvicornis*, *L. reticulatus*) варьирует в зависимости от вида и природы токсиканта.

Определены пороговые величины токсикантов («Лотос-71», фенол, ПХП, хлорофос), вызывающие реакцию избегания, зависимость реакции от концентрации (ее величина прямо пропорциональна логарифму концентрации токсических веществ).

Наиболее эффективно (за исключением опытов с жаброногами) избегаются «Лотос-71» и фенол, наименее эффективно или совсем не избегаются пестициды.

У водяного ослика обнаружен диапазон концентраций, лежащих примерно на порядок ниже порогового значения реакции избегания, в котором проявляется реакция предпочтения.

Реакция избегания у жабронога определяется хеморецепцией; отсутствие избегания происходит в результате нарушения токсикантами («Лотос-71», ПХП) хеморецепторов.

Л и т е р а т у р а

1. Г р а н и т Р. Электрофизиологическое исследование рецепции. М., 1958. 339 с.
 2. Ф л е р о в Б. А. Об использовании в водной токсикологии исследований поведения животных. — Гидробиол. журн., 1974, № 5, с. 114—120.
 3. H a n s e n D. J., M a t t h e w s E., N a l l S. L., D u m a s D. P. Avoidance of pesticides by untrained mosquitofish, *Gambusia affinis*. — Bull. Envir. Contam. Toxicol., 1972, vol. 3, N 1, p. 46—51.
 4. I s h i o S. Behaviour of fish exposed to toxic substances. — Adv. Water Pollut. Res., 1965, vol. 1, p. 19—33.
 5. S p r a g u e J. B., D r u r y D. E. Avoidance reactions of salmonid fish to representative pollutants. — Adv. Water Pollut. Res., 1969, vol. 1, p. 169—171.
-

СУДЬБА ПАРЕНТЕРАЛЬНО ВВЕДЕННЫХ БАКТЕРИЙ
В ОРГАНИЗМЕ РЫБ

Многие вопросы иммунитета у рыб достаточно полно освещены в монографии В. И. Лукьяненко [12], обзоре Корбела [25] и в других работах, однако один из его аспектов — судьба бактерий в организме рыб — исследован весьма слабо. Между тем распределение микроорганизмов в тканях и органах животного как первый этап иммунологической перестройки организма в значительной степени определяет характер и интенсивность иммунитета животного. Распределение микроорганизмов и выделение продуктов их распада отражают некоторые стороны иммуногенеза, затрагивающего все органы и системы животного и направленного на сохранение постоянства его внутренней среды.

Работы такого рода проведены в основном на млекопитающих. У них антиген содержится в значительных количествах и длительное время в органах с высокой концентрацией клеток ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС): печени, селезенке, лимфатических узлах, костном мозге [2, 16, 24, 27, 29, 30, 33]. Продукты распада бактерий быстро выделяются из организма животных с мочой [27, 28, 35]. Часть антигена катаболизируется до конечных продуктов метаболизма и выводится в виде углекислоты при дыхании [19].

Данные о судьбе парентерально введенных бактерий у рыб получены рядом сотрудников Института биологии внутренних вод АН СССР. Показано [6, 8, 13, 15], что меченые ^{14}C непатогенные бактерии концентрируются у рыб (плотвы, карпов и карасей) главным образом в селезенке, почках и печени. Отмечена низкая радиоактивность мозга, мышц и сердца. Установлено, что около 25% введенной бактериальной биомассы выводится из организма карасей в течение месяца в виде CO_2 и неидентифицированных органических веществ [21]. Данная работа — продолжение этих исследований, поскольку оставались неизученными распределение патогенных бактерий в организме рыб и выделение продуктов их распада, особенности этих процессов у разных видов рыб и влияние на них ряда факторов.

Опыты ставились на рыбах 3 семейств: щуковых [щука *Esox lucius* (L.)], карповых [плотва *Rutilus rutilus* (L.), лещ *Abramis brama* (L.), карась *Carassius carassius* (L.), карп *Cyprinus carpio* (L.) и окуневых (окунь *Perca fluviatilis* (L.)]. Большая часть работы проведена на карпах и карасях, поскольку они неприхотливы и могут длительное время жить в аквариумах. Кроме того, карпы — один из ценных видов рыб, часто подвергающихся эпизоотиям, приводящим к массовой гибели. Рыбы содержались в аквариумах на 250—500 л с проточной водой определенной температуры и хорошей аэрацией. В большинстве опытов по распределению бактерий взято по 10 рыб в каждом варианте, по выделению продуктов распада бактерий — по 5 рыб. В опытах применялись водородокисляющие автотрофные бактерии *Hydrodenomonas facilis*, гетеротрофные бактерии *Bacterium prodigiosum*, патогенные бактерии *Aeromonas punctata* и грибы *Candida albicans*.

Все микроорганизмы метились ^{14}C при выращивании на питательной среде, один из компонентов которой содержал ^{14}C . *H. facilis* выращивались на среде Руланда [11] в присутствии $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$, содержащего 50—70 мкКи радиоактивности на 1 л. Радиоактивность во всех случаях подсчитывалась под счетчиком Гейгера—Мюллера. Методика получения меченых *H. facilis* подробно описана ранее [17]. *Vac. prodigiosum*, *Ae. punctata* и *C. albicans* выращивались на рыбо-пептонном бульоне с добавлением меченой ^{14}C глюкозы. Полученные микроорганизмы многократно промывались физиологическим раствором и инактивировались нагреванием при температуре 70° в течение 20 мин.

Микроорганизмы вводились рыбам внутрибрюшинно. Количество вводимого антигена дозировалось, исходя из веса рыбы. При изучении распределения метки ткани рыб (печень, селезенка, мышцы, почка, головной мозг) тщательно промывались, гомогенизировались и подсчитывались радиоактивность гомогенатов, крови, сыворотки и сгустка крови, желчи и стенки кишечника. При этом учитывался коэффициент самопоглощения тканей.

Выделение ^{14}C из организма рыб определялось по ранее разработанной методике [17] с некоторой модификацией. Рыба помещалась в 2,5-литровую камеру, наполненную слегка подкисленным для удаления CO_2 (рН 6.6—6.7) 0.3%-м раствором NaCl . Камера соединялась с системой поглотителей CO_2 , состоящей из сосудов, наполненных щелочью, концентрированной для поглощения CO_2 из воздуха и 0.5 н. для поглощения CO_2 , выделяемого рыбами при дыхании. Воздух подавался с помощью водоструйного насоса. К полученному в поглотителе углекислому натрию добавлялся хлористый барий. По радиоактивности выпавшего в осадок углекислого бария подсчитывалось количество выделившегося при дыхании С-бактерий (% от введенного), а по весу осадка — количество выделившегося при дыхании углекислого газа. Для определения количества меченых продуктов распада бактерий, выделяемых рыбами в составе неидентифицированных органических веществ, из камеры бралось по 50 мл жидкости и фильтровалось через мембранный фильтр.

При определении выделения $^{14}\text{CO}_2$ тканями *in vitro* навеска ткани от рыб, которым за сутки до взятия пробы были введены меченые бактерии, помещалась в пробирку с физиологическим раствором, соединенную с системой поглотителей углекислоты и водоструйным насосом. Расчет выделенной тканями меченой углекислоты производился так же, как и для целой рыбы.

При определении разрушения меченых бактерий тканями до углекислоты к гомогенату ткани добавлялись бактерии (0.1 мл суспензии активностью около 200 000 имп./мин). Использование инактивированных нагреванием бактерий исключало выделение ими меченой углекислоты при дыхании. Опыты и расчеты проводились так же, как при определении выделения $^{14}\text{CO}_2$ тканями.

Для осаждения белков к 1 мл сыворотки крови или к 1 г гомогената тканей добавлялся 1 мл 10%-го раствора трихлоруксусной кислоты. Осадок промывался смесью спирта с эфиром (3 : 1) и отделялся центрифугированием. Определялась радиоактивность осадка и надосадочной жидкости.

Метод макроавтографии использовался при определении содержания С-бактерий во фракциях сыворотки крови, получаемых при ее электрофореze в агаровом геле и на ацетатной пленке [9, 34]. Полученные электрофореграммы разрезались по фракциям, наклеивались на бумажные полосы, которые плотно сворачивались с рентгеновской пленкой чувствительностью 1000 s, заворачивались в черную бумагу и экспонировались в течение 6 месяцев. Затем пленка проявлялась, и по плотности ее почернения, определяемой на денситометре, судили о величине радиоактивности фракций сыворотки крови.

Л. В. Балабанова

СУДЬБА ПАРЕНТЕРАЛЬНО ВВЕДЕННЫХ БАКТЕРИЙ В ОРГАНИЗМЕ РЫБ

Многие вопросы иммунитета у рыб достаточно полно освещены в монографии В. И. Лукьяненко [12], обзоре Корбела [25] и в других работах, однако один из его аспектов — судьба бактерий в организме рыб — исследован весьма слабо. Между тем распределение микроорганизмов в тканях и органах животного как первый этап иммунологической перестройки организма в значительной степени определяет характер и интенсивность иммунитета животного. Распределение микроорганизмов и выделение продуктов их распада отражают некоторые стороны иммуногенеза, затрагивающего все органы и системы животного и направленного на сохранение постоянства его внутренней среды.

Работы такого рода проведены в основном на млекопитающих. У них антиген содержится в значительных количествах и длительное время в органах с высокой концентрацией клеток ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС): печени, селезенке, лимфатических узлах, костном мозге [2, 16, 24, 27, 29, 30, 33]. Продукты распада бактерий быстро выделяются из организма животных с мочой [27, 28, 35]. Часть антигена катаболизируется до конечных продуктов метаболизма и выводится в виде углекислоты при дыхании [19].

Данные о судьбе парентерально введенных бактерий у рыб получены рядом сотрудников Института биологии внутренних вод АН СССР. Показано [6, 8, 13, 15], что меченые ^{14}C непатогенные бактерии концентрируются у рыб (плотвы, карпов и карасей) главным образом в селезенке, почках и печени. Отмечена низкая радиоактивность мозга, мышц и сердца. Установлено, что около 25% введенной бактериальной биомассы выводится из организма карасей в течение месяца в виде CO_2 и неидентифицированных органических веществ [21]. Данная работа — продолжение этих исследований, поскольку оставались неизученными распределение патогенных бактерий в организме рыб и выделение продуктов их распада, особенности этих процессов у разных видов рыб и влияние на них ряда факторов.

Опыты ставились на рыбах 3 семейств: щуковых [щука *Esox lucius* (L.)], карповых [плотва *Rutilus rutilus* (L.), лещ *Abramis brama* (L.), карась *Carassius carassius* (L.), карп *Cyprinus carpio* (L.) и окуневых (окунь *Perca fluviatilis* (L.)]. Большая часть работы проведена на карпах и карасях, поскольку они неприхотливы и могут длительное время жить в аквариумах. Кроме того, карпы — один из ценных видов рыб, часто подвергающихся эпизоотиям, приводящим к массовой гибели. Рыбы содержались в аквариумах на 250—500 л с проточной водой определенной температуры и хорошей аэрацией. В большинстве опытов по распределению бактерий взято по 10 рыб в каждом варианте, по выделению продуктов распада бактерий — по 5 рыб. В опытах применялись водородокисляющие автотрофные бактерии *Hydrodenomonas facilis*, гетеротрофные бактерии *Bacterium prodigiosum*, патогенные бактерии *Aeromonas punctata* и грибы *Candida albicans*.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА БАКТЕРИЙ В ТКАНЯХ И ОРГАНАХ РЫБ

Ранее при изучении распределения антигена в тканях и органах опыты проводили лишь на ограниченном видовом составе рыб. Между тем количество клеток РЭС в тканях и их функциональная активность значительно различаются у рыб разных видов. Нами это было показано для 6 видов рыб: карпа, карася, плотвы, леща, окуня, щуки. При содержании рыб в одинаковых условиях наблюдались видовые различия в поглощении С-бактерий *H. facilis* тканями рыб. Это позволило в какой-то степени сделать вывод о способности тканей и органов рыб разных видов нейтрализовать введенные в организм чужеродные вещества, в частности бактерии. В целом можно выделить окуней и карасей, у которых почти все ткани поглощали метку сильнее, чем ткани рыб других видов (табл. 1).

Т а б л и ц а 1
Содержание С-бактерий в тканях и органах рыб разных видов,
% от введенного на 1 г ткани

Ткань	Карп	Плотва	Карась	Лещ	Окунь	Щука
Кровь	0.9±0.1	1.1±0.1	0.7±0.1	0.9±0.1	1.2±0.1	0.9±0.1
Селезенка	2.6±0.3	1.9±0.3	11.1±1.3	2.0±0.3	17.5±3.3	3.5±0.6
Почки	5.1±1.4	3.6±0.5	5.8±1.1	1.3±0.2	6.7±0.7	2.3±0.1
Печень	1.0±0.1	1.5±0.2	4.8±1.2	1.9±0.04	6.7±1.1	1.5±0.2
Желчь	1.7±0.3	3.1±0.6	2.1±0.4	1.8±0.5	6.3±1.3	1.9±0.3
Стенка кишечника	0.7±0.1	1.3±0.3	5.2±1.3	0.6±0.1	2.3±0.6	2.8±0.9
Мышцы	0.1±0.02	0.1±0.05	0.1±0.05	0.03±0.01	0.1±0.04	0.04±0.01
Мозг	0.4±0.06	0.3±0.06	0.3±0.1	0.2±0.03	0.5±0.06	0.1±0.02

У окуня радиоактивность печени примерно в 4 раза, а у карася в 3 раза выше, чем у других исследованных нами рыб (табл. 1). Эти различия зависят, по-видимому, от концентрации в ткани клеток РЭС и их функциональной активности. Значительное содержание С-бактерий в печени всех видов рыб связано, возможно, с выделением продуктов распада бактерий, поскольку наблюдалась высокая радиоактивность желчи.

Кроме относительной способности тканей поглощать чужеродное вещество, имеет значение, очевидно, и абсолютное количество этого вещества, во многом определяемое весом ткани. Общее количество С-бактерий, поглощенное печенью, наибольшее у карася. Это определяется не только высокой концентрацией С-бактерий, но и большим относительным весом его печени — 5.6% веса тела. У других исследованных видов рыб она в 2—3 раза меньше.

Концентрация С-бактерий в желчи у всех 6 исследованных видов рыб близка к таковой в печени (табл. 1). Такие значительные количества метки в желчи можно объяснить переходом в нее из печени меченых продуктов распада бактерий. Общее количество радиоактивности в желчи составило 2—2.9%, у леща — 4.6% всей учтенной радиоактивности рыбы.

Клетки ретикуло-эндотелия составляют строу всех отделов почки, эндотелий капилляров почек относится к ретикуло-эндотелиальной системе [18]. Около 70% почек карпа состоит из ретикуло-лимфоидной ткани [36]. Эти клетки обладают хорошо выраженной фагоцитарной способностью [7], поэтому в почках всех рыб выявлена довольно высокая концентрация С-бактерий, а у карпа и плотвы — самая высокая из всех исследованных органов (табл. 1). Кроме того, часть С-бактерий связана, по-видимому, с продуктами распада бактерий, которые экскретируются через почки из организма. Из-за незначительного веса почек (0.2—0.7%

веса рыбы) общее количество поглощенных ими С-бактерий невелико (5.5—12% учетного количества радиоактивности во всех органах).

В селезенке рыб ретикулярные клетки стромы, эндотелий синусов, лимфоидные клетки способны поглощать чужеродные вещества [18, 37], и концентрация С-бактерий, найденная нами в этом органе, значительна (табл. 1). Общее количество С-бактерий в селезенке невелико (1.4—7.3% учетной радиоактивности), так как ее вес составляет 0.1—0.3% веса тела.

В подслизистом слое кишечника рыб много клеток рыхлой соединительной ткани и гистиоцитов, способных фагоцитировать [22], поэтому в тканях кишечника концентрация С-бактерий достаточно велика, особенно у карася и щуки (табл. 1). Кроме того, она обусловлена также процессами выделения, поскольку радиоактивность обнаружена в содержимом кишечника [8]. В стенке кишечника локализовано от 6.4% всей учетной радиоактивности у карпа до 38% у щуки.

Межклеточная соединительная ткань в мышцах у костистых рыб развита крайне незначительно, гистиоцитов очень мало [10]. Радиоактивность единицы веса мышцы очень мала (табл. 1), но, поскольку мышцы составляют около 40% веса тела, в поглощении введенных бактерий они играют существенную роль.

Содержание С-бактерий в мозгу невелико, что объясняется, по-видимому, как малым числом клеток РЭС, так и наличием гемато-энцефалического барьера.

Концентрация С-бактерий в крови всех исследованных видов рыб почти одинакова и составляет около 1% введенной радиоактивности на 1 г ткани. Через сутки после введения меченых бактерий у всех видов рыб, за исключением карася, в крови находилось 9—15% всей учетной радиоактивности.

Таким образом, через сутки после введения меченых ^{14}C -бактерий они или их фрагменты находятся во всех органах рыб. Большая погложительная активность отмечена для селезенки, почек, печени и стенки кишечника, меньшая — для тканей мозга и мышц. Абсолютное количество С-бактерий, поглощенное тканью, во многом определяется ее весом.

Проведенные ранее исследования касались распределения в тканях рыб одного вида бактерий — *H. facilis*, являющихся автотрофными. Между тем известно, что у теплокровных животных существует избирательное отношение различных бактерий к определенным тканям и органам [3, 4]. Поэтому мы, кроме *H. facilis*, изучали распределение *Bac. prodigiosum* (гетеротрофных бактерий), *Ae. punctata* (патогенных бактерий, вызывающих аэромоноз рыб) и *C. albicans* (грибов, вызывающих кандидоз рыб).

При изучении распределения меченых ^{14}C *Bac. prodigiosum* можно отметить замедленное по сравнению с *H. facilis* поступление ^{14}C в кровь: максимальная концентрация *Bac. prodigiosum* отмечена на 3-и сутки, *H. facilis* — через сутки. В других тканях, кроме селезенки, *Bac. prodigiosum* также найден в более низких концентрациях, чем *H. facilis* (табл. 2). Почти все исследованные ткани карпа обладали большей удельной активностью в поглощении *Ae. punctata* по сравнению с *H. facilis*, но эти различия для большинства тканей, кроме селезенки, где на 1 г ткани локализация *Ae. punctata* примерно в 7 раз выше локализации *H. facilis*, незначительны (табл. 3). Поэтому в селезенке, несмотря на ее малый вес, у карпов после введения им меченых *Ae. punctata* содержалась значительная часть (около 23%) учетной радиоактивности.

Количество С-бактерий *Ae. punctata* и *H. facilis* в сыворотке крови в 4 раза выше, чем в сгустке. Это обусловлено поступлением С-бактерий в кровь после парентерального переваривания бактерий фагоцитирующими клетками.

Т а б л и ц а 2

Содержание С-бактерий *Vac. prodigiosum* и *H. facilis* в тканях карпа,
% от введенного на 1 г ткани

Время взятия пробы, сутки	Кровь	Печень	Желчь	Почки	Селезенка	Стенка кишечника	Мышцы	Мозг
<i>Bacterium prodigiosum</i>								
1	0.32 ± 0.06	1.92 ± 0.18	1.36 ± 0.17	3.71 ± 0.21	3.10 ± 0.23	0.75 ± 0.07	0.08 ± 0.01	0.31 ± 0.02
3	0.67 ± 0.07	1.88 ± 0.29	1.55 ± 0.12	3.04 ± 0.31	2.84 ± 0.21	0.90 ± 0.10	0.15 ± 0.01	0.40 ± 0.04
5	0.24 ± 0.03	1.47 ± 0.05	1.27 ± 0.12	2.80 ± 0.08	3.04 ± 0.32	1.06 ± 0.14	0.12 ± 0.01	0.38 ± 0.02
10	0	1.46 ± 0.10	0.57 ± 0.04	1.54 ± 0.14	2.46 ± 0.14	0.44 ± 0.05	0	0
<i>Hydrogenomonas facilis</i>								
1	0.85 ± 0.10	3.87 ± 0.56	1.49 ± 0.19	4.06 ± 0.31	3.02 ± 0.22	1.00 ± 0.13	0.20 ± 0.03	0.40 ± 0.02
3	0.50 ± 0.03	3.75 ± 0.46	1.82 ± 0.09	4.42 ± 0.40	3.00 ± 0.20	1.81 ± 0.26	0.29 ± 0.01	0.55 ± 0.05
5	0.28 ± 0.03	3.41 ± 0.54	1.24 ± 0.10	2.67 ± 0.12	3.84 ± 0.26	1.95 ± 0.06	0.20 ± 0.03	0.51 ± 0.03
10	Следы	1.89 ± 0.24	0.70 ± 0.08	1.54 ± 0.14	1.50 ± 0.18	0.97 ± 0.14	Следы	0.24 ± 0.01

Таблица 3

Содержание С-бактерий разных видов в тканях и органах карпа
через сутки после введения, % от введенного на 1 г ткани

Ткань	<i>Aeromonas punctata</i>	<i>Hydrogenomonas facilis</i>	Ткань	<i>Aeromonas punctata</i>	<i>Hydrogenomonas facilis</i>
Кровь	1.16 ± 0.15	0.90 ± 0.08	Почки	3.40 ± 0.37	5.07 ± 1.40
Сыворотка	2.32 ± 0.11	1.89 ± 0.18	Селезенка	18.22 ± 1.80	2.58 ± 0.30
Сгусток	0.63 ± 0.10	0.41 ± 0.10	Стенка кишечника	0.55 ± 0.12	0.72 ± 0.14
Печень	0.99 ± 0.14	1.00 ± 0.10	Мышцы	0.24 ± 0.05	0.16 ± 0.02
Желчь	0.77 ± 0.27	1.73 ± 0.28	Мозг	0.36 ± 0.03	0.44 ± 0.06

При добавлении к сыворотке крови 10%-го раствора трихлоруксусной кислоты основная часть метки выпадала в осадок, что свидетельствовало о ее связи с белком. Радиоактивность осадка составляла около 87% радиоактивности сыворотки. С-бактерий сыворотки, не связанный с белком, входил, очевидно, в состав бикарбонатов — переносчиков углекислоты. При добавлении 10%-го раствора трихлоруксусной кислоты к гомогенатам печени, почек, селезенки, мышц основная радиоактивность также найдена в осадке. В надосадочной жидкости обнаружены лишь следы радиоактивности.

Гликоген и липиды сыворотки крови и гомогенатов тканей содержали незначительные величины радиоактивности, близкие к фону.

Определялось распределение С-бактерий по фракциям сыворотки крови рыб. Радиоактивность обнаружена во всех фракциях. Удельная радиоактивность γ -глобулинов примерно 1.7, альбуминов — около 0.7.

Меченые ^{14}C грибы *C. albicans* задерживались в месте инъекции, через сутки после их введения уровень радиоактивности в тканях рыб близок к фону.

ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ РЭС И ТЕМПЕРАТУРЫ НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ С-БАКТЕРИЙ У РЫБ

Можно предположить, что клетки РЭС в организме животных обладают какой-то определенной «емкостью» по отношению к чужеродному веществу и могут поглотить за 1 раз лишь определенное его количество. Для проверки этой гипотезы за 2 суток до инъекции меченых бактерий карасям было введено значительное количество туши — 34 мг в сухом весе на каждую рыбу, после чего внутренние органы становились черными.

Тушь, блокирующая РЭС, вызывала замедленное поступление С-бактерий из места введения в ткани рыб. В результате этого радиоактивность брюшного экссудата выше у рыб, которым предварительно вводилась тушь. Заметные различия в количестве С-бактерий наблюдались в тканях опытных и контрольных рыб. Через сутки после введения меченых бактерий в тканях контрольных рыб концентрация С-бактерий была в 2—3.8 раза выше, чем в тканях опытных (табл. 4). Через 2 суток эта разница для большинства тканей (кроме селезенки, где она почти не изменилась) уменьшилась, поскольку у опытных рыб происходило накопление метки в тканях, а у контрольных она или уменьшалась (в печени и почках), или увеличивалась незначительно (в стенке кишечника, мышцах, желчи и мозгу). Только в селезенке контрольных рыб концентрация С-бактерий заметно увеличилась.

Через 5 суток количество С-бактерий значительно уменьшилось во всех тканях контрольных рыб, в тканях опытных оно или продолжало увеличиваться (в селезенке и стенке кишечника), или незначительно уменьшалось, оставаясь почти на том же уровне, что и через 2 суток после введения меченых бактерий.

Таблица 4

Влияние туши на содержание С-бактерий в тканях карасей, % от введенного на 1 г сухого веса ткани

Ткань	1		2		5		15	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Кровь	3.33 ± 0.35	4.22 ± 0.57	2.84 ± 0.10	4.28 ± 0.34	1.55 ± 0.09	3.18 ± 0.23	—	3.43 ± 0.48
Печень	12.12 ± 1.55	3.28 ± 0.24	9.72 ± 0.91	3.50 ± 0.67	3.81 ± 0.21	3.47 ± 0.25	2.46 ± 0.18	8.59 ± 1.44
Желчь	14.03 ± 1.03	14.14 ± 2.21	17.72 ± 1.98	25.60 ± 2.18	8.56 ± 1.01	18.60 ± 2.37	5.74 ± 0.23	15.26 ± 1.19
Почки	21.07 ± 2.03	10.17 ± 0.89	18.64 ± 0.35	18.27 ± 1.26	13.18 ± 0.46	17.31 ± 0.75	9.40 ± 0.24	13.98 ± 1.89
Селезенка	39.72 ± 6.71	10.48 ± 1.07	56.68 ± 4.97	18.30 ± 1.77	24.08 ± 1.13	29.42 ± 4.41	12.64 ± 1.07	14.70 ± 1.75
Стенка кишечника	12.37 ± 1.67	5.21 ± 0.55	14.92 ± 1.42	7.94 ± 1.05	10.17 ± 0.62	12.10 ± 1.35	8.36 ± 0.42	0.31 ± 0.04
Мышцы	0.97 ± 0.20	0.33 ± 0.08	1.07 ± 0.26	0.77 ± 0.12	0.51 ± 0.16	0.66 ± 0.19	0.18 ± 0.01	0.63 ± 0.06
Мозг	1.08 ± 0.05	0.49 ± 0.02	1.43 ± 0.14	1.06 ± 0.21	0.88 ± 0.07	0.81 ± 0.11	0.51 ± 0.05	—
Экссудат	118.7 ± 19.2	153.8 ± 26.7	45.7 ± 5.0	108.0 ± 16.0	11.3 ± 1.25	29.0 ± 3.1	—	—

Примечание. 1, 2, 5, 15 — время взятия проб, сутки.

Таблица 5

Содержание С-бактерий в тканях карасей при различной температуре, % от введенного на 1 г ткани

Время взятия проб, ч	Темпера- тура, °С	Кровь	Печень	Желчь	Почки	Селезенка	Стенка кишечника	Мышцы	Мозг
1	18—20	0.12 ± 0.004	1.25 ± 0.08	—	0.39 ± 0.05	0.54 ± 0.14	—	0.04 ± 0.006	0.07 ± 0.01
	8—10	0.10 ± 0.004	0.79 ± 0.19	—	0.29 ± 0.05	0.91 ± 0.08	—	0.04 ± 0.004	0.06 ± 0.01
24	18—20	1.11 ± 0.13	3.45 ± 0.30	1.82 ± 0.28	2.09 ± 0.20	2.80 ± 0.32	1.91 ± 0.16	0.41 ± 0.01	0.31 ± 0.05
	8—10	0.56 ± 0.07	1.26 ± 0.03	0.56 ± 0.12	1.45 ± 0.12	1.68 ± 0.28	1.58 ± 0.07	0.06 ± 0.007	0.15 ± 0.02
48	18—20	0.84 ± 0.06	5.82 ± 0.55	3.03 ± 0.37	3.26 ± 0.19	4.46 ± 0.77	2.59 ± 0.37	0.23 ± 0.03	0.56 ± 0.07
	8—10	1.36 ± 0.17	3.69 ± 0.42	1.59 ± 0.26	1.93 ± 0.19	2.19 ± 0.32	2.17 ± 0.40	0.08 ± 0.01	0.26 ± 0.05
120	18—20	0.63 ± 0.08	2.83 ± 0.26	2.82 ± 0.27	2.66 ± 0.18	2.79 ± 0.37	3.87 ± 0.25	0.18 ± 0.01	0.74 ± 0.04
	8—10	0.92 ± 0.05	4.82 ± 0.31	2.76 ± 0.29	2.50 ± 0.36	1.71 ± 0.21	2.23 ± 0.38	0.10 ± 0.01	0.41 ± 0.05

Через 15 суток почти во всех тканях опытных рыб, кроме стенки кишечника и печени, концентрация С-бактерий заметно уменьшилась. В крови опытных рыб радиоактивность во все время эксперимента была выше, чем в крови контрольных рыб. Это, очевидно, вызвано тем, что через сутки после введения содержание С-бактерий в крови контрольных рыб начинало уже уменьшаться. Относительно высокая концентрация метки в желчи опытных рыб, возможно, вызвана переносом меченых продуктов распада бактерий на частицах туши в желчный пузырь для последующей экскреции из организма.

Тушь, таким образом, оказывает временное блокирующее действие на функцию клеток РЭС. Через несколько суток после ее введения ткани способны поглощать бактерии в количествах, близких к контролю.

Нами изучалось распределение бактерий у рыб при различной температуре (8—10 и 18—20°). При температуре 8—10° (опыт) способность тканей поглощать введенные бактерии уменьшена и замедлена по сравнению с таковой при 18—20° (контроль). Через 1 ч после введения карасям меченых бактерий метка была обнаружена во всех исследованных тканях, но в малых количествах (табл. 5). Через сутки после введения меченых бактерий количество С-бактерий в тканях контрольных рыб было в 2—3 раза большим, чем в тканях опытных. Через 2 суток это различие несколько уменьшилось. Только в мышцах опытных рыб содержание С-бактерий на протяжении всего опыта (5 суток) оставалось значительно меньшим, чем в мышцах контрольных.

Через 5 суток при температуре 18—20° концентрация метки почти во всех тканях рыб уменьшалась, при 8—10° она продолжала расти, не достигая (за исключением крови) максимального уровня в контроле. Различия в содержании С-бактерий в тканях 2 групп рыб для большинства случаев (кроме 1-го часа) статистически достоверны.

Понижение температуры угнетало не только поглощение бактерий тканями, но и выведение продуктов распада, а также перенос бактерий в другие ткани. Поэтому концентрация С-бактерий у опытных рыб со временем становилась значительной.

ВЫВЕДЕНИЕ ПРОДУКТОВ РАСПАДА БАКТЕРИЙ ИЗ ОРГАНИЗМА РЫБ

Одно из проявлений защитных реакций организма на бактериальное инфицирование — разрушение и выведение чужеродного вещества из организма. Определение элиминации продуктов распада бактерий позволяет определить скорость их разрушения и величину задержавшегося в тканях бактериального вещества. Изучение этого неспецифического фактора иммунитета нами проводилось на 3 видах рыб (карпах, карасях, окунях) и с 3 видами бактерий. Исследовалась зависимость выделения продуктов распада бактерий от состояния РЭС и метаболической активности организма.

Отмечены видовые различия в выведении продуктов распада бактерий при дыхании у 3 видов рыб, хотя его характер идентичен; максимальное количество ^{14}C выделялось на 2-е сутки после введения меченых бактерий. Наиболее интенсивно метка в составе углекислого газа выделялась у окуней, наименее усиленно у карпов (рис. 1). За 10 суток опыта у окуней при дыхании выводилось около 23% введенного количества ^{14}C , у карасей — 13.5%, у карпов — 11%. При этом количество выделяемого углекислого газа у окуней не отличалось от такового у карпов, а у карасей оно было даже несколько меньше.

В виде неидентифицированных органических веществ у окуней С-бактерий выделялся также интенсивнее (за 10 дней 14.5%), чем у карпов (5.3%). Всего за 10 дней опыта окунями было выделено 37.5% введенного количества радиоактивности, карпами — 16.3%.

Отмечены некоторые количественные различия в выделении продуктов распада бактерий разных видов (*H. facilis*, *Bac. prodigiosum*, *Ae. punctata*) из организма рыб. Максимальное количество С-бактерий всех 3 видов экскретировалось при дыхании на 2-е сутки, на 3-и оно довольно резко уменьшилось до величины, которая в дальнейшем уменьшалась постепенно (рис. 2, 3).

Из 3 видов бактерий продукты распада *H. facilis* выделялись несколько активнее, чем таковые *Bac. prodigiosum* у карасей и *Ae. punctata* у карпов

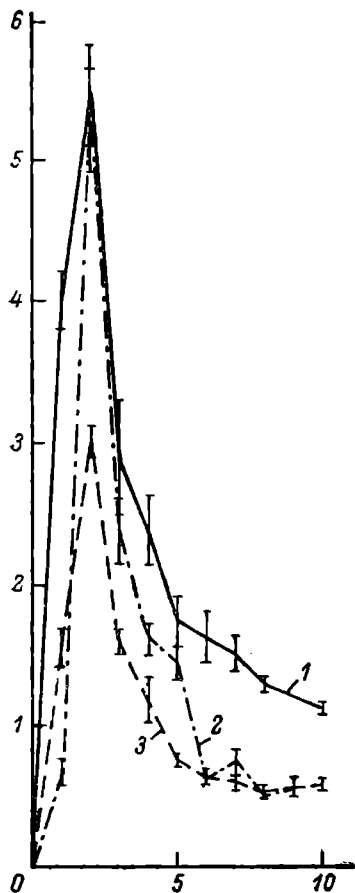


Рис. 1. Выделение продуктов распада бактерий в составе углекислоты у рыб разных видов.

1 — окунь, 2 — карась, 3 — карп. По оси ординат — количество выделившегося ¹⁴С, % от введенного; по оси абсцисс — время анализа, сутки.

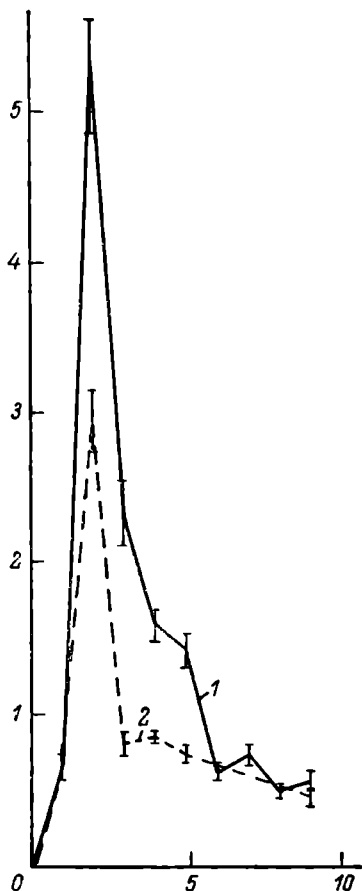


Рис. 2. Выделение продуктов распада бактерий *H. facilis* (1) и *Bac. prodigiosum* (2) при дыхании у карасей.

Обозначения те же, что на рис. 1.

(рис. 3). За 10 суток при дыхании карасями было выделено 13.5% введенного ¹⁴С *H. facilis* и 8.3% — *Bac. prodigiosum*, карпами — 10.8% введенного ¹⁴С *H. facilis* и 8.6% — *Ae. punctata*. Различий в выделении CO₂ между 2 группами карасей и 2 группами карпов не обнаружено.

Часть ¹⁴С выводилась в составе неидентифицированных органических веществ, но меньшая, чем в составе углекислоты. Органическое вещество бактерий *H. facilis* экскретировалось активнее, чем *Ae. punctata*: за 10 дней карпами выделилось 5.3% введенного ¹⁴С *H. facilis* и 2.6% — *Ae. punctata*.

Введение туши, оказывающей блокирующее действие на клетки РЭС, вызвало кратковременное замедление выделения продуктов распада бактерий. На вторые сутки после введения меченых бактерий количество

выделившегося при дыхании ^{14}C у рыб, которым предварительно была введена тушь, почти в 2 раза меньше, чем у контрольных. Через 4 суток выведение ^{14}C опытными и контрольными карасями становилось одинаковым, а в последующие дни количество ^{14}C в составе углекислоты у опытных рыб было несколько большим, чем у контрольных (рис. 4). Благодаря этому опытными и контрольными рыбами за 15 суток было выделено почти одинаковое количество продуктов распада бактерий при дыхании (соответственно 16.6 и 15.5% введенных бактерий).

Введение больших доз *Ae. punctata* (около 10 млрд. бактериальных клеток) не оказывало блокирующего действия на систему, воспринимающую

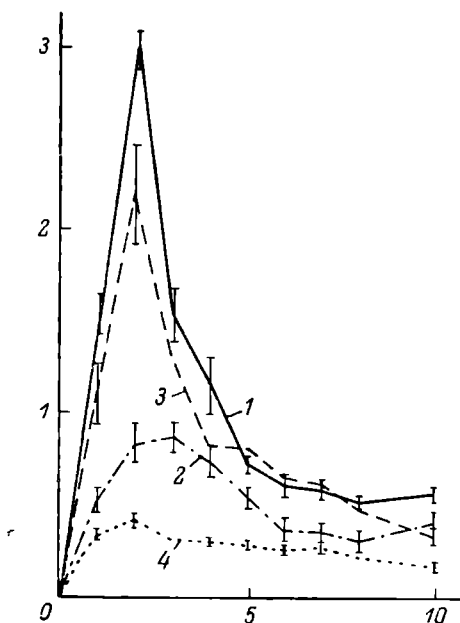


Рис. 3. Выделение продуктов распада *H. facilis* и *Ae. punctata* у карпов.

1 — выделение продуктов распада *H. facilis* в составе углекислоты, 2 — то же в составе органических веществ, 3 — выделение продуктов распада *Ae. punctata* в составе углекислоты, 4 — то же в составе органических веществ. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

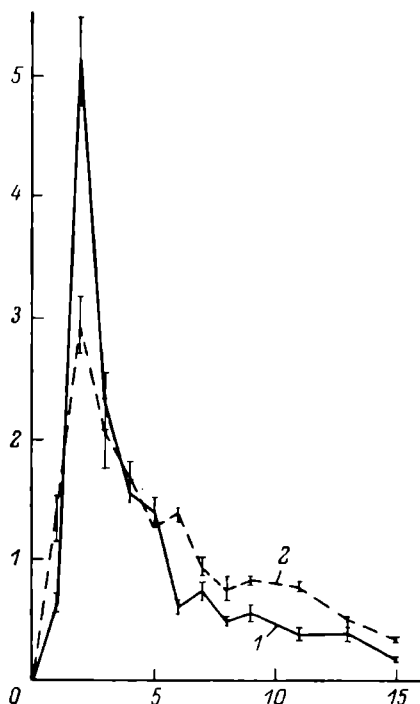


Рис. 4. Влияние туши на выделение продуктов распада бактерий у карасей при дыхании.

1 — контроль, 2 — опыт. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

щую и перерабатывающую чужеродные вещества, а, наоборот, делало ее более подготовленной и активно функционирующей сразу же после инъекции бактерий другого вида. Максимальное выделение С-бактерий *H. facilis* (4% введенного количества) при дыхании у рыб, которым предварительно были введены бактерии *Ae. punctata*, наблюдалось в первые же сутки после введения. Выделение продуктов распада бактерий в составе неидентифицированных органических веществ становится выше у опытных рыб по сравнению с контрольными начиная с 4-х суток (рис. 5). Всего за 20 суток опытными карпами было выделено 27% введенного количества ^{14}C , контрольными 22%.

Двукратное введение *Ae. punctata* по 1 млрд. бактериальных клеток перед инъекцией меченых бактерий *H. facilis* оказывало некоторое стимулирующее влияние на экскрецию продуктов распада бактерий из организма. Усиление этого процесса у опытных рыб наблюдалось не сразу

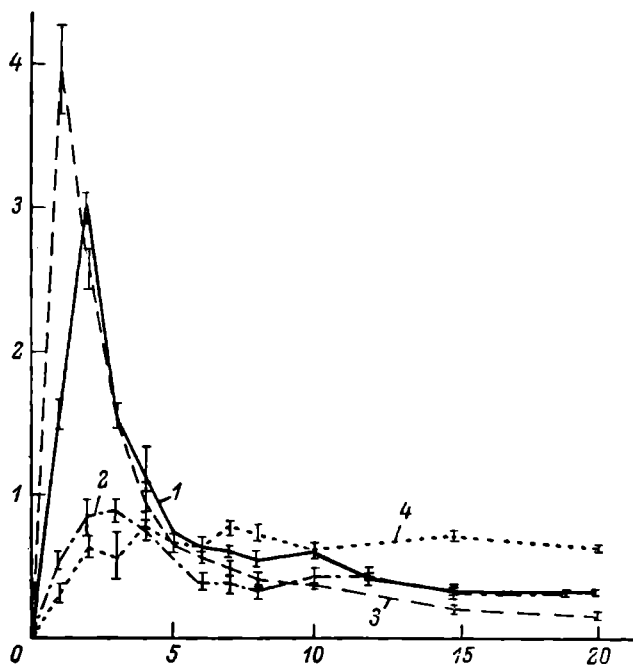


Рис. 5. Влияние предварительного введения больших доз *Ae. punctata* на выделение продуктов распада меченых ^{14}C *H. facilis* у карпов.

1 — выделение ^{14}C в составе углекислоты у контрольных рыб, 2 — то же в составе органических веществ у контрольных рыб, 3 — выделение ^{14}C в составе углекислоты у опытных рыб, 4 — то же в составе органических веществ у опытных рыб. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

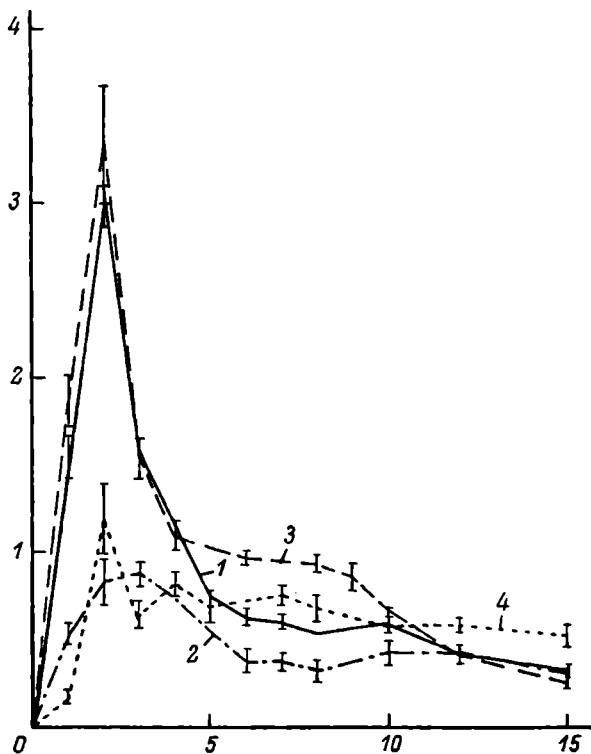


Рис. 6. Влияние двукратного предварительного введения небольших доз *Ae. punctata* на выделение продуктов распада меченых *H. facilis* у карпов.

Обозначения те же, что на рис. 5.

после введения меченых бактерий, а через 5 суток (рис. 6). За 15 суток контрольными рыбами было выделено 18.6% введенного количества ^{14}C , опытными — 24%.

Предварительное введение рыбам 10 млрд. клеток дрожжей *Saccharomices vini* за 2 суток до введения меченых бактерий вызывало заметное уменьшение выделения С-бактерий в первые 5 суток опыта (рис. 7). Дрожжи подавляли также выделение углекислоты при дыхании у рыб примерно в 2 раза.

У опытных рыб, которым предварительно вводилась смесь бактерий *Ae. punctata* и дрожжей *S. vini*, выделение С-бактерий было близко к таковому у контрольных (рис. 8).

Зависимость выведения продуктов распада бактерий от метаболической активности организма определялась при содержании карасей после введения им меченых *H. facilis* при температуре 8—10 и 18—20°. Низкая температура угнетает функциональную активность иммунологической системы рыб, вследствие чего процессы поглощения тканями и органами бактерий, последующее их разрушение и выделение продуктов распада из организма замедляются. Наибольшее различие (в 3.3 раза) в экскреции меченой углекислоты между 2 группами рыб было отмечено на 2-е сутки после введения меченых бактерий, когда оно происходило наиболее интенсивно (рис. 9). За 15 суток карасями, содержащимися при температуре 8—10°, было выделено с углекислым газом около 7% введенного количества ^{14}C , при 18—20° — около 15.5%.

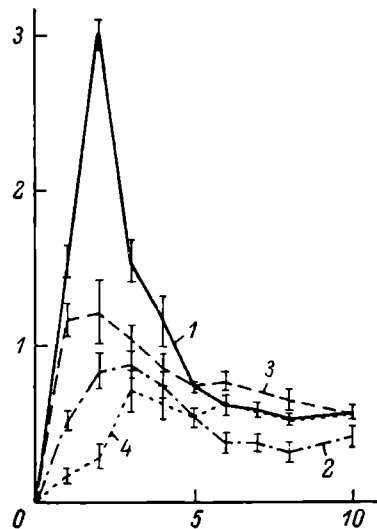


Рис. 7. Влияние предварительного введения дрожжей на выделение продуктов распада меченых *H. facilis* у карпов.

Обозначения те же, что на рис. 5.

РОЛЬ ОТДЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ В РАЗРУШЕНИИ БАКТЕРИЙ

После введения рыбам меченых бактерий ткани печени, почек и селезенки выделяли при прочих равных условиях примерно одинаковое количество ^{14}C в составе углекислоты из расчета на 1 г ткани; у тканей мышц эта способность значительно меньше (% от введенного за сутки).

Печень	Почки	Селезенка	Мышцы
0.10 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.003 ± 0.0003

Ткани брались через сутки после введения меченых бактерий, когда количество выделявшегося при дыхании С-бактерий было наиболее высоким. Экскретируемый тканями в составе углекислого газа ^{14}C составлял довольно значительный процент от активности органа (6—14%).

Инактивированные меченые бактерии, добавленные к гомогенатам тканей, к крови и сыворотке крови рыб, при постоянном пропускании через эту смесь воздуха частично разрушались. Метка выделялась в составе углекислоты. Количество выделяемого тканями С-бактерий зависит, по-видимому, от скорости фагоцитоза, концентрации фагоцитирующих клеток в тканях и активности внутриклеточных ферментов, подвергающих бактерии перевариванию.

Выделение С-бактерий в составе углекислоты при переваривании меченых бактерий тканями рыб в опытах *in vitro* незначительно (% от введенного на 1 г ткани).

Кровь	Сыворотка	Почки	Селезенка	Печень	Мышцы
0.118	0.03	0.133	0.125	0.09	0.025

У млекопитающих основная роль в поглощении антигена принадлежит фагоцитам печени, костного мозга, селезенки, почек и лимфатических узлов — органов, богатых клетками РЭС.

У рыб введенный антиген также концентрировался в органах и тканях с большим содержанием клеток РЭС — почке и селезенке, в меньшей сте-

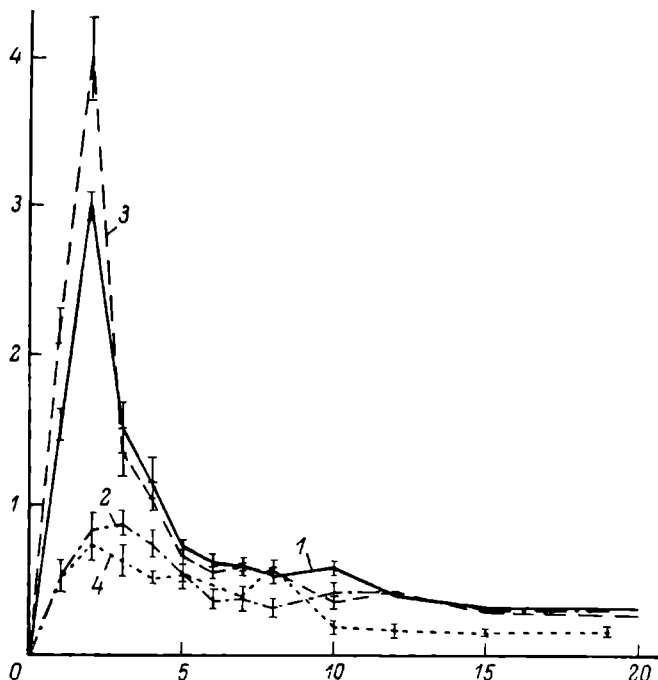


Рис. 8. Влияние предварительного введения смеси *Ae. punctata* и *S. vini* на выделение продуктов распада меченых *H. facilis* у карпов.

Обозначения те же, что на рис. 5.

пени в стенке кишечника. В этих органах наблюдалась значительная концентрация С-бактерий.

В печени рыб клеток РЭС мало, но концентрация С-бактерий довольно высокая. Поскольку наблюдалась значительная концентрация метки в желчи, ^{14}C в печени связан, по-видимому, в основном с продуктами распада бактерий. В почках и стенке кишечника радиоактивная метка также частично связана с продуктами распада бактерий. Кроме того, на содержание в тканях С-бактерий оказывало влияние функциональное состояние ткани, выражающееся в способности поглощать антиген.

Полученные ранее данные [6, 8, 13] говорят о значительной концентрации бактерий или их фрагментов в селезенке, почках и печени у карпов и плотвы.

Распределение С-бактерий связано, по-видимому, с образованием антител. Они образуются в органах, где концентрация антигена значительна, хотя наличие его еще не определяет способности ткани продуцировать антитела. Основное место синтеза антител у рыб, в частности

у карпов, — почки. Об этом говорят данные по увеличению после иммунизации карпов фракции экстрактов почек, близкой по электрофоретической подвижности к γ -глобулинам сыворотки крови, в состав которых входят антитела. Кроме того, в экстрактах почек высокий титр антител. В экстрактах печени не обнаружено различия в содержании белковых фракций у иммунизированных и интактных карпов; не было там и антител [1, 14].

Из патогенных бактерий, которые у млекопитающих [4, 20] имеют определенную склонность к локализации в тех или иных тканях, нами использовались *Ae. punctata*. Отмечена высокая концентрация этих бактерий в селезенке карпов, что, возможно, определяет ее роль в защите организма при заболевании аэромонозом.

Таким образом, содержание бактерий в тканях обусловлено не только концентрацией клеток РЭС, которая одинакова в обеих группах рыб, но и определенной избирательностью тканей, поскольку бактерии были инаktivированы нагреванием.

В литературе не найдено данных по распределению введенного антигена в составных частях крови (сыворотке и форменных элементах) и во фракциях сыворотки. Наши данные говорят о том, что основная часть С-бактерий, находящегося в крови, связана с белками сыворотки крови. Можно предположить, что либо продукты переваривания бактерий, включающие в себя метку, представляют собой белки, либо метка в результате метаболизма бактерий фагоцитирующими клетками становится связанной с вновь образующимися белками.

Блокирующие РЭС вещества, такие как тушь, вызывали у рыб, как и у млекопитающих [31], замедленное поступление антигена в ткани и органы. В результате этого концентрация С-бактерий в тканях и органах рыб, блокированных тушью, в первое время после введения меченых бактерий меньше, чем в тканях контрольных рыб. Замедлено у опытных рыб и выделение продуктов распада бактерий в первые 3 суток после введения им меченых бактерий. Однако блокирующее действие туши только частичное и кратковременное. Будучи загруженными одним чужеродным веществом клетки РЭС не утрачивали способности поглощать и переваривать введенные рыбам бактерии. Наблюдалось только некоторое запаздывание в сроках поглощения и переваривания бактерий у опытных рыб. Вызвано это, по-видимому, тем, что со временем клетки частично освобождаются от туши, а после введения блокирующих веществ активируются резервные клетки РЭС. Даже после введения большого количества туши организм справлялся с поглощением и перевариванием вновь введенных чужеродных тел, что говорит о большой емкости защитного механизма. О значительных возможностях защитного механизма говорит и то, что уменьшение выделения продуктов распада бактерий из орга-

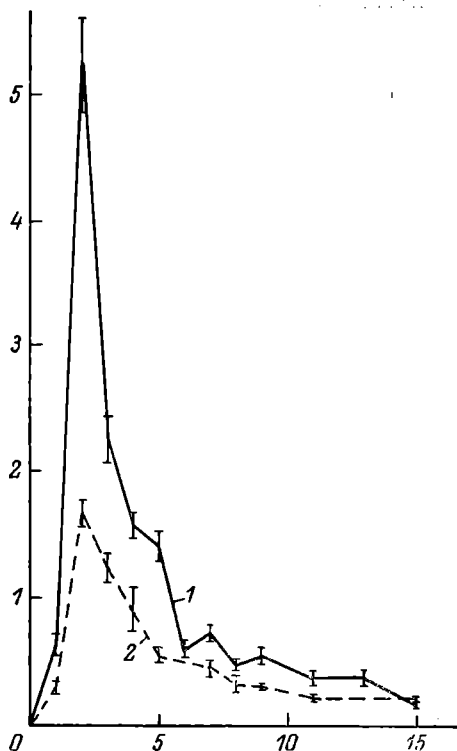


Рис. 9. Выделение продуктов распада бактерий *H. facilis* у карасей при температуре 18–20° (1) и 8–10° (2).

Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

низма рыб вследствие подавления у них основного обмена введенным дрожжей компенсировалось в последующем усиленным выведением С-бактерий.

Предварительное введение бактерий одного вида (*Ae. punctata*) оказывало специфическое стимулирующее влияние на выделение продуктов распада меченых бактерий другого вида (*H. facilis*), возможно повышая активность внутриклеточных ферментов, переваривающих бактерии. Стимулирующее действие предварительно введенных бактерий *Ae. punctata* довольно значительно, так как введение этих бактерий рыбам в смеси с дрожжами устраняло подавляющее действие последних на выделение продуктов распада бактерий.

При низких температурах замедляется или вовсе не происходит синтез антител у рыб [5, 6, 23, 26, 32]. Как видно из наших опытов, это может быть вызвано подавлением поглощения антигена в месте его введения фагоцитами и переноса его к органам и тканям у рыб, содержащихся при температуре 8—10°, по сравнению с таковыми у рыб, содержащихся при 18—20°, и главное замедленным и меньшим его перевариванием (антитела начинают вырабатываться только после переработки антигена фагоцитирующими клетками).

Существует, по-видимому, зависимость между реактивностью тканей и выделением продуктов распада бактерий из организма рыб. Так, наиболее высокая интенсивность выделения продуктов распада бактерий из 3 исследованных видов рыб отмечена нами у окуня, поглотительная активность тканей которого также самая высокая. На втором месте как по концентрации С-бактерий в тканях, так и по выделению продуктов распада бактерий из организма стоит карась, на 3-м — карп.

Сравнение наших данных по выделению С-бактерий у 3 видов рыб с данными Б. А. Флерова и В. И. Романенко [21] по выделению продуктов распада бактерий у карасей показывает, что характер их выделения у всех исследованных видов рыб сходен, имеются только количественные различия. По нашим данным, максимальное выделение продуктов распада бактерий происходило на 2-е сутки после введения бактерий, по данным указанных авторов — на 3-и. Эти различия объясняются неодинаковыми условиями опыта, поскольку нами бактерии вводились внутрибрюшинно, Б. А. Флеровым и В. И. Романенко — внутримышечно. При внутримышечном введении по сравнению с внутрибрюшинным бактерии медленнее поступают из места их введения в ткани и органы. В последующие дни во всех случаях выделение С-бактерий уменьшалось.

Различия в выделении продуктов распада 3 видов бактерий из организма связаны, по-видимому, с неодинаковым строением клеточных оболочек, играющих важную роль в чувствительности микроорганизмов к воздействию внутриклеточных ферментов, и со скоростью фагоцитоза и переноса бактерий к тканям и органам рыб.

Таким образом, распределение бактериального антигена в организме рыб зависит от морфофункциональных особенностей органов. Высокий уровень углерода бактерий установлен в почках, селезенке, печени, стенке кишечника. Наблюдаются некоторые видовые различия в распределении углерода бактерий у рыб. Наибольшая его концентрация у окуней, щук и карасей в тканях селезенки, у карпов и плотвы — в тканях почек, у леща — в тканях селезенки и печени. У окуней и карасей концентрация углерода бактерий почти во всех тканях выше, чем в тканях других видов рыб. Общее содержание углерода бактерий во многом определяется весом ткани или органа. Существует определенная специфичность поглотительной активности органов в отношении различных видов бактерий. Самая высокая концентрация С-бактерий *Ae. punctata* в селезенке карпов, *H. facilis* — в почках.

Парентерально введенные бактерии независимо от их вида и патогенных свойств в организме рыб подвергаются гидролитическому распаду, продукты распада бактерий выводятся из организма. Характер выведе-

ния продуктов распада бактерий у разных видов рыб сходен, имеются количественные различия, связанные с реактивностью тканей. Наиболее интенсивно продукты распада бактерий выделяются у окуней. Характер выделения продуктов распада бактерий 3 видов (*H. facilis*, *Bac. prodigiosum*, *Ae. punctata*) идентичен, несколько интенсивнее выделяются продукты распада *H. facilis*.

Скорость поступления бактерий и их фрагментов в органы и ткани, интенсивность выведения продуктов распада бактерий из организма зависят от функционального состояния РЭС и метаболической активности организма. Защитные механизмы рыб обладают большими возможностями, они справляются с нейтрализацией бактерий на уровне контроля как при блокировании РЭС, так и при снижении метаболической активности организма после введения дрожжей. У рыб, содержащихся при низкой температуре (8—10°), подавляются процессы поглощения бактерий в месте их введения, переноса к тканям и органам и выведения продуктов распада бактерий из организма.

Предварительное введение бактерий одного вида неспецифически стимулирует переваривание и выведение продуктов переваривания бактерий другого вида.

Ткани рыб (печень, почки, селезенка, мышцы) способны разлагать бактерии до конечных продуктов метаболизма.

Л и т е р а т у р а

1. Балабанова Л. В. Влияние иммунизации на белковый состав сыворотки крови и экстрактов печени и почек карпа (*Cyprinus carpio* L.). — В кн.: Биология и физиология пресноводных организмов. Л., 1971, с. 203—206.
2. Воробьев А. А., Цыбуляк Г. Н., Рождественская В. О. О судьбе меченых столбчатых анатоксинов в организме экспериментальных животных. — Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1968, № 4, с. 94—100.
3. Выходцев В. К. О судьбе микроорганизмов, введенных в кровь теплокровных. — Избр. тр., М., 1954, с. 100—144.
4. Гинзбург-Калинина С. И. Некоторые вопросы механизма искусственно приобретенного иммунитета. — Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1961, № 9, с. 52—58.
5. Гончаров Г. Д. Иммунологическая реактивность у рыб. — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1962, № 12, с. 53—56.
6. Гончаров Г. Д. Изучение механизма иммунитета рыб к инфекции. — В кн.: Обмен веществ и биохимия рыб. М., 1967, с. 301—308.
7. Гончаров Г. Д. Иммунологическая реакция клеток почек карпа. Сообщение I. Фагоцитоз бактерий клетками почек карпа *in vitro*. — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1970, № 8, с. 54—56.
8. Гончаров Г. Д., Романенко В. И., Микряков В. Р. Изучение механизма иммунитета рыб при помощи ¹⁴C. — ДАН СССР, 1966, т. 171, № 5, с. 1237—1240.
9. Грабар П. Метод иммуноэлектрофоретического анализа. — В кн.: Иммуноэлектрофоретический анализ. М., 1963, с. 9—41.
10. Заварин А. А. Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани. М., 1945, вып. 1. 300 с.
11. Кузнецов С. И., Романенко В. И. Микробиологическое изучение внутренних водоемов. М.—Л., 1963. 129 с.
12. Лукьяненко В. И. Иммунобиология рыб. М., 1971. 364 с.
13. Лукьяненко В. И., Сорокин Ю. И. Скорость поступления и распределения антигена в тканях рыб (*Rutilus rutilus* L.). — ДАН СССР, 1965, т. 161, № 5, с. 1246—1248.
14. Микряков В. Р., Романенко В. И., Трофимова Л. В., Гончаров Г. Д. К изучению механизма иммунитета у рыб. — В кн.: Флора, фауна и микроорганизмы Волги. Рыбинск, 1974, с. 264—285.
15. Микряков В. Р., Флеров Б. А. Распределение корпускулярного антигена в организме рыб. — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1970, № 7, с. 62—64.
16. Пак З. П., Булатова Т. И. Распределение меченого препарата ботулинического токсина в организме белых мышей. — Фармакол. и токсикол., 1962, № 4, с. 478—482.
17. Романенко В. И., Флёров Б. А. Методика определения элиминации антигена у рыб. — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1969, № 3, с. 53—57.
18. Румянцев Н. Н. О ретикуло-эндотелии и строении кроветворных органов

- некоторых видов костистых рыб. — Арх. анатомии, гистол. и эмбриол., 1939, т. 21, № 2, с. 162—180.
19. Соколова И. П., Аркадьева Г. Е. Метаболизм и распределение ^{14}C — полисахарида из *Candida tropicalis* в органах и тканях мышц. — Вопр. мед. химии, 1972, т. 17, № 2, с. 176—182.
 20. Ундрицов М. И. Распределение дизентерийного антигена в организме собак. — В кн.: Вопросы патологической физиологии инфекционного процесса. М., 1962, с. 261—270.
 21. Флеров Б. А., Романенко В. И. Исследование элиминации корпускулярного антигена у рыб. — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1969, № 3, с. 40—44.
 22. Халилов Ф. Х. Материалы по морфологии и гистохимии пищеварительной системы костистых рыб. Алма-Ата, 1969, 170 с.
 23. Avtalion R. R. Temperature effect on antibody production and immunological memory in carp (*Cyprinus carpio*) immunized against bovine serum albumin (BSA). — Immunology, 1969, vol. 17, p. 927—931.
 24. Coons A., Leduc E., Kaplan M. Localisation of antigen in tissue cells. The fate of injected foreign proteins in the mouse. — J. Exper. Med., 1951, vol. 93, N 2, p. 173—188.
 25. Corbel M. J. The immune response in fish: a review. — J. Fish Biol., 1975, vol. 7, N 4, p. 539—563.
 26. Cushing J. E. An effect of temperature on antibody production in fish. — J. Immunol., 1942, vol. 45, N 2, p. 123—126.
 27. Haurowitz F., Breinl F. Quantitative Untersuchung der Verteilung eines arsenhaltigen Antigens an Organismus. — Z. physiol. Chem., 1932, Bd 205, p. 259—270.
 28. Haurowitz F., Crampton C. F. The fate in rabbits of intravenously injected J^{131} iodoalbumin. — J. Immunol., 1952, vol. 68, N 1, p. 73—85.
 29. Hill A. G. S., Deane H. W., Coons A. H. Localization of antigen in tissue cells. V. Capsular polysaccharide of Friedländer bacillus, type B, in the mouse. — J. Exper. Med., 1950, vol. 92, N 1, p. 35—44.
 30. Libby R., Madison C. Immunochemical studies with tagged proteins. I. The distribution of tobacco mosaic virus in the mouse. — J. Immunol., 1947, vol. 55, N 1, p. 15—26.
 31. Michael J., Murrau C. The effects of a blocking agent on the primary immune response. — J. Immunol., 1970, vol. 105, N 2, p. 411—415.
 32. Nybelin O. Über Agglutininbildung bei Fishen. — Z. Immunit. Forsch., 1934, Bd 84, p. 74—79.
 33. Sabin F. Cellular reactions to a dye protein with concept of the mechanism of antibody formation. — J. Exper. Med., 1939, vol. 70, N 1, p. 67—82.
 34. Sartorius Membranfilter. — Göttingen, 1973, 32 p.
 35. Sulitzeanu D. Distribution of radiiodinated, acetonekilled *Brucella abortus* in the tissues of normal and immune mice. — Nature, 1958, vol. 181, N 1407, p. 495.
 36. Topf W. Die Blutbildung und die Blutbildungsstätten beim Karpfen (*Cyprinus carpio* L.). — Z. Fischerei, 1955, Bd 4, H. 3/4, p. 257—288.
 37. Untu C. Sistemul reticulo — histiocitar din splina de *Cyprinus carpio* L. — Stud. și cerc. biol., 1974, vol. 26, N 2, p. 93—95.
-

КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ ИММУНИТЕТА У РЫБ

Принято считать, что основная роль в нейтрализации микроорганизмов, синтезе антител, отторжении трансплантата, осуществлении реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ), приобретении иммунологической памяти и т. д. у позвоночных животных принадлежит клеткам мезодермального происхождения, образующим ретикуло-эндотелиальную систему — РЭС (ретикуло-лимфоидная ткань — РЛТ, лимфоидно-макрофагальная система — ЛМС, ретикуло-гистиоцитарная система — РГС) [1, 2, 4, 5, 8, 29, 39—41, 44, 54, 55, 62, 67].

Структура, функция и роль этих клеток в иммунологических реакциях наиболее полно изучены у теплокровных животных, тогда как для низших позвоночных эти вопросы разработаны слабо. В литературе нет сведений о том, какие клетки у рыб являются родоначальными клетками иммуногенеза, нет ясного представления о степени участия отдельных типов клеток в фагоцитозе, синтезе антител, приобретении иммунологической памяти, осуществлении реакции ГЗТ и т. д.

Настоящее сообщение посвящено анализу литературных данных и результатов собственных исследований по клеточным основам иммунитета рыб. Оно связано с изложением особенностей распределения и концентрации клеток ЛМС в организме рыб, морфологической характеристики иммунокомпетентных клеток, физиологических реакций иммуноцитов на примере фагоцитоза, синтеза антител и реакции ГЗТ.

Поставленные вопросы изучались на 140 карасях в возрасте 2+, 110 двухлетках и 100 сеголетках карпов. Мазки-отпечатки печени, почек, селезенки и стенки кишечника использовались для изучения морфологических особенностей иммунокомпетентных клеток. Классификацию и описание иммунокомпетентных клеток рыб проводили по методике, разработанной для теплокровных животных [32, 33]. О частоте встречаемости иммуноцитов в тканях рыб судили по данным учета относительного числа клеток в 25 полях зрения микроскопа с равномерным распределением иммуноцитов.

Физиологические реакции иммуноцитов изучали по степени участия клеток в фагоцитозе, синтезе антител и реакции ГЗТ. Фагоцитарную реакцию иммуноцитов исследовали *in vivo* [41], при этом основное внимание было уделено определению клеток, ответственных за распознавание и переработку бактерий в организме рыб, потенциальным возможностям иммуноцитов фагоцитировать различные по вирулентным и морфологическим свойствам микроорганизмы. В связи с этим нами учитывались качественный состав лейкоцитов, мигрирующих в брюшную полость, фагоцитарная активность и динамика изменений клеточного состава иммуноцитов в процессе фагоцитоза.

Для выяснения потенциальных возможностей лейкоцитов в фагоцитозе и определения клеток, ответственных за распознавание и переваривание чужеродных тел, опыты ставились с инактивированными (1-я серия) и вирулентными (2-я серия) бактериями *Aeromonas punctata* и грибами *Candida albicans* (3-я серия) на интактных и иммунизированных

рыбах. В каждом исследуемом случае было взято по 5 рыб. Иммунизацию рыб проводили однократно путем внутрибрюшинной инъекции инактивированных бактерий в дозе 500 млн. бактериальных тел. Бактерии инактивировали нагреванием при 56° в течение 30 мин. Опыты ставились на 20 карасях в возрасте 1+. Для определения особенностей фагоцитарной реакции у иммунных рыб использовали вирулентные бактерии *Ae. punctata* в дозе 500 млн. микробных тел.

В опытах применяли меченые ^{14}C и немеченые микроорганизмы. Последние выращивались на рыбо-пептонном бульоне, для получения меченых микроорганизмов в среду добавлялась радиоактивная глюкоза. Авторадиографы получали экспонированием мазков-отпечатков тканей и мазков-отпечатков брюшного экссудата на ядерной эмульсии [14].

Степень участия иммуноцитов в синтезе антител устанавливали по изменению состава клеток РЛТ и изменению титра антител в экстрактах почек после иммунизации карпов различными по вирулентным свойствам микроорганизмами.

Реакцию ГЗТ исследовали на иммунизированных бактериями *Ae. punctata* карпах. Иммунизацию рыб проводили за 1 месяц до подкожной инъекции аллергена в дозе 500 млн. инактивированных нагреванием бактериальных тел. Бактериальный антиген в качестве аллергена использовали в составе адъюванта Фрейнда в дозе 10 тыс. микробных тел. Методика получения аллергена для сенсibilизации рыб описана нами ранее [19, 27].

В целях определения клеток-эффекторов реакции ГЗТ рыбам перед сенсibilизацией вводили внутрибрюшинно гидрокортизон по 25 мг на особь. Кроме того, часть рыб заражали грибами *C. albicans*, вводя внутрибрюшинно по 500 тыс. грибковых тел.

Чтобы выяснить, какие клетки мигрируют к месту инъекции аллергена, у рыб через определенные промежутки времени туберкулиновым шприцем отсасывали подкожный инфильтрат и готовили мазки. Окрашивание мазков проводили по Романовскому—Гимза. В мазках определяли состав клеток.

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ И КОНЦЕНТРАЦИИ КЛЕТОК РЕТИКУЛО-ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ У РЫБ

В общих чертах отдельные структурные элементы РЛТ рыб освещены рядом отечественных и зарубежных авторов [9, 15, 16, 20, 28, 36, 38, 45, 47—55, 57—61, 63—70]. Из анализа имеющихся данных известно, что клетки РЛТ рыб аналогичны таковым высших позвоночных животных. Они представлены фиксированными и подвижными клетками. Неподвижные клетки в основном состоят из ретикулярных клеток кроветворных органов (почка, селезенка, тимус, лейдигов орган, стенка кишечника) и панкреатической железы. К этой категории клеток относятся эндотелий кровеносных сосудов почек, капилляров печени, синусов селезенки, купферовские клетки печени, гистиоциты и адвентициальные клетки различных органов. Подвижные клетки составляют лейкоциты, клетки плазматического и лимфоидного рядов. Более подробные сведения о генезисе и составе лейкоцитов изложены в работе З. М. Калашниковой [17].

Следует отметить, что у большинства видов рыб белая кровь в отличие от таковой высших позвоночных имеет лимфоидный характер, т. е. среди лейкоцитов преобладают лимфоциты. На долю малых лимфоцитов в норме у рыб приходится около 90% всех лейкоцитов, тогда как у сельскохозяйственных животных около 70% лейкоцитов составляют гранулоциты и только 30% лимфоциты [18].

Клетки РЛТ у рыб по особенностям распределения и концентрации в организме отличаются от таковых у теплокровных животных. У рыб они не образуют лимфатических узлов, основная масса клеток располо-

Таблица 1

Частота встречаемости иммунокомпетентных клеток в тканях различных органов карпа (на 0.1 мм² мазка-отпечатка)

Орган	Сумма всех клеток	Клетки лимфоидного ряда	Бласты	Зрелые и незрелые плазматические клетки	Ретикулярные клетки	Гранулоциты
Почки	67±1.8	27±1.2	3±0.1	11±0.7	4±0.2	21±1.0
Селезенка	40±1.9	29±1.2	3±0.1	2±0.1	2±0.1	4±0.3
Стенка кишечника	31±1.1	23±1.4	—	3±0.3	2±0.2	3±0.1
Печень	15±0.6	10±0.6	—	—	2±0.3	3±0.1

жена вдоль туловищных позвонков в области про-, мезо- и мета-нефроса [16, 36, 38, 68—70]. В мазках-отпечатках почек карпа встречаются все типы иммунокомпетентных клеток, которые отличаются от таковых в других органах как по числу отдельных типов клеток, так и по составу (табл. 1). Значительное количество плазматических клеток в почках, ответственных за синтез антител, свидетельствует о том, что почки у рыб являются одним из основных органов, где происходит синтез антител. Об этом говорят и результаты наших работ по определению места синтеза антител после иммунизации карпов бактериальным антигеном [25, 28]. В почках карпов антител было обнаружено в 30 раз больше, чем в селезенке, и в 100 раз больше, чем в печени (рис. 1). На основании гистохимических и иммунологических исследований передней доли почек ушастого окуня был сделан вывод, что этот орган у рыб по типу строения и наличию иммуноцитов может рассматриваться как аналог лимфатического узла млекопитающих [68]. В переднем отделе почек отсутствуют мочеточники, почечные канальцы, мочевыводящие пути [38]. Около 70% туловищного и хвостового отделов почек карпа состоит из клеток РЛТ [69]. Эта ткань в почках рыб и круглоротых независимо от их систематического положения считается основным местом, где происходит эритро- и лейкопоэз [17, 31, 38, 69].

Клетки РЛТ почек рыб участвуют не только в синтезе антител, но и в нейтрализации микроорганизмов путем фагоцитоза, в поглощении частичек туши, витальных красителей и т. д. [25, 26, 36, 68]. В тканях почек карпа задерживалось в несколько раз больше бактерий, чем в тканях других органов (% от введенного на 1 г ткани).

Кровь	Селезенка	Почки	Печень	Стенка кишечника	Мышцы	Мозг
0.9±0.1	2.6±0.3	5.1±1.4	1.0±0.1	0.7±0.1	0.1±0.02	0.4±0.06

Аналогичные данные получены нами ранее на плотве. У карася, леща, окуня и щуки основное место скопления меченых бактерий — селезенка.

Анализ полученных результатов и сопоставление их с литературными данными говорят о том, что в почках рыб функционально активных иммунокомпетентных клеток концентрируется значительно больше, чем в других органах, и они выполняют важную роль при бактериальном инфицировании организма.

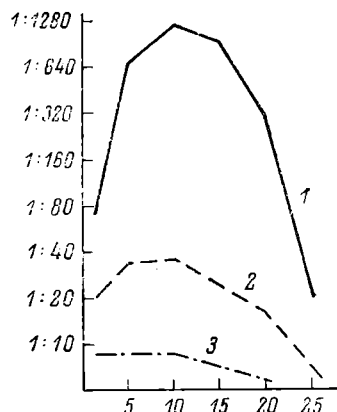


Рис. 1. Динамика образования антител в почках (1), селезенке (2) и печени (3) иммунизированных карпов.

По оси ординат — титр агглютининов в разведениях экстрактов тканей; по оси абсцисс — время, дни.

Селезенка у рыб по функциональному значению существенно не отличается от таковой у теплокровных животных [17, 31, 38, 47]. В составе иммунокомпетентных клеток селезенки карпа гранулоцитов и клеток плазматического ряда примерно в 5 раз меньше, чем в почках (табл. 1). Около 90% клеток лимфоидного ряда в селезенке представлено малыми лимфоцитами. По величине поглощенного антигена, определенной с помощью радиоактивного углерода, селезенка у карпов занимает второе место. Число свободных клеток в тканях селезенки карпа также меньше, чем в почках [6].

В печени рыб имеются клетки РЛТ, но в меньшем количестве, чем в почках и селезенке (табл. 1). Здесь большая часть таких клеток представлена купферовскими, или звездчатыми клетками. Эти клетки обладают у рыб меньшей поглотительной активностью, чем у млекопитающих [36]. Число иммунокомпетентных клеток и уровень радиоактивного углерода в печени меньше, чем в тканях почек, селезенки и стенки кишечника. Клетки плазматического ряда и типа бласт в данном органе не выявлены. Все клетки лимфоидного ряда состоят из малых лимфоцитов.

При обработке мазков-отпечатков печени карасей и карпов нанесением на них ядерной эмульсии на эритроцитах и гранулоцитах обнаружена интенсивная радиоактивная метка (рис. 2; см. вклейку). Большинство эритроцитов и гранулоцитов с интенсивной меткой находилось на стадии разрушения или на конечной стадии дифференцировки. ^{14}C -бактерий, по-видимому, доставлялся в печень в основном эритроцитами и гранулоцитами, которые, разрушаясь, способствовали выведению радиоактивной метки через желчные пути. Радиоактивный углерод выводился из печени медленно, он обнаружен там через 20 и более дней. Возможно, после разрушения и переваривания бактерий ^{14}C включается в конструктивный обмен, вследствие чего задерживается в тканях рыб длительное время. Как и у высших позвоночных животных, печень у рыб, с одной стороны, выполняет роль нейтрализации продуктов распада бактерий, с другой — разрушает и перерабатывает старые клетки крови и играет важную роль в их реутилизации.

Стенка кишечника у рыб, по данным многих исследователей [9, 16, 38, 47], выполняет не только функцию пищеварения, но и кроветворения. У костистых рыб в РЛТ стенки кишечника встречаются лимфоциты, пролимфоциты, лимфобласты, ретикулярные клетки, лейкоциты с оксифильной зернистостью и плазматические клетки. Как показали результаты анализа мазков-отпечатков переднего отдела кишечника карпа, количество иммунокомпетентных клеток здесь на 0.1 мм^2 было меньше, чем в почках и селезенке. В лимфоидной ткани стенки кишечника антитела, вероятно, не образуются или синтезируются в незначительном количестве, поскольку число клеток плазматического ряда там в 3 раза меньше, чем в почках. Клетки типа бласт не выявлены. Число гранулоцитов и ретикулярных клеток равнялось 2—3. По-видимому, низкое содержание гранулоцитов свидетельствует о том, что в РЛТ кишечника процессы разрушения чужеродных тел протекают слабо. Об этом говорит и незначительное количество ^{14}C -бактерий, обнаруженное в стенке кишечника.

Одним из органов, участвующих в иммунологических реакциях, у рыб, как и у млекопитающих, является тимус. Структура его у рыб сходна с таковой у млекопитающих. В тимусе круглоротых и рыб большую часть составляют клетки лимфоидного ряда, и только у хрящевых ганоидов в нем выявлены первичные формы ретикулярных и плазматических клеток [45].

У хрящевых ганоидов местом скопления клеток РЛТ помимо перечисленных органов служит околосоудная полость, а в области головного мозга располагается миелоидная ткань, сходная по своей структуре с костномозговой тканью высших позвоночных животных [38].

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК

Согласно литературным данным и результатам собственных исследований, клетки РЛТ, участвующие в иммунологических реакциях, различаются размером, формой, функциями [9, 20—22, 24, 45, 49, 50, 54, 57]. Иммунокомпетентные клетки у рыб по своему функциональному значению делятся на клетки, воспринимающие и разрушающие антиген, на антителосинтезирующие и клетки иммунологической памяти. К первой категории клеток, от функционирования которых зависит распознавание антигена и его нейтрализация, мы относим малые лимфоциты, дающие начало макрофагам, ретикулярным клеткам и, по-видимому, нейтрофилам и эозинофилам. К антителосинтезирующим клеткам относятся клетки плазматического ряда, а также лимфобласты и пролимфоциты, к клеткам иммунологической памяти — малые лимфоциты.

Иммунокомпетентные клетки рыб подразделяются на клетки лимфоидного, плазмодитарного и ретикулярного рядов [21, 22]. Аналогичной классификации придерживаемся и мы.

У карпов к клеткам лимфоидного ряда относятся малые лимфоциты, пролимфоциты и лимфобласты [25]. Малые лимфоциты — наиболее мелкие клетки (5—7 мкм), ядерно-цитоплазменное отношение 2.5 : 1, хроматин представлен в виде глыбок. В центре ядра изредка обнаруживается ядрышко. Цитоплазма вокруг ядра располагается неравномерно и в большинстве случаев слабо заметна (рис. 3; см. вклейку). Малые лимфоциты рыб не отличаются от таковых высших позвоночных животных и встречаются у всех видов круглоротых и рыб [16, 63, 64]. Значение этих клеток в иммунологических реакциях рыб окончательно не выяснено. Некоторые авторы относят их к конечным клеткам лимфоидного ряда [20, 45]. Другие [11, 28, 58] считают, что они участвуют в фагоцитозе. Как будет показано ниже, малые лимфоциты являются родоначальниками иммунокомпетентных клеток, обуславливающих нейтрализацию бактерий, РГЗТ и иммунологическую память.

Диаметр пролимфоцитов у карпа 8—10 мкм. Ядро в большинстве случаев занимает центральное положение, хроматиновые нити образуют сеточку. Ядрышко не всегда заметно. Ядерно-цитоплазменное отношение 1.25 : 1. Цитоплазма слабобазофильна (рис. 3).

Диаметр лимфобластов 12.6—15.6 мкм. Они не отличаются от гемобластов или бластических форм клеток, имеют резко базофильную цитоплазму (рис. 3). Ядерно-цитоплазменное отношение 1 : 1. Ядро светлое, хроматин имеет вид мелких зернышек. В центре ядра 1—2 ядрышка. У иммунизированных мечеными бактериями рыб в малых лимфоцитах, пролимфоцитах и лимфобластах найдено большое количество радиоактивной метки (рис. 4; см. вклейку). Последняя обнаружена нами как в области ядерной субстанции, так и в цитоплазматической части клетки. Наличие метки свидетельствует об участии этих клеток в иммунологических реакциях организма. Эти данные, полученные методом микроавторадиографии на карпах, подтверждают результаты исследований на радужной форели методом Норди и Йенсена [49, 50] и согласуются с таковыми по синтезу антител клетками РЛТ почек карпа [25, 28].

Клетки ретикулярного ряда состоят из так называемых покоящихся и переходных ретикулярных клеток (рис. 3), друг от друга они существенно не отличаются. По нашему мнению, ретикулярные клетки, видимо, представляют собой макрофагальную форму малых лимфоцитов, основной функцией которых является парентеральное переваривание бактерий и других инородных тел. Клетки данного ряда имеют довольно крупные размеры, ядро правильной формы, ядрышек нет, хроматин в виде нежной сеточки, цитоплазма серовато-голубого цвета без четко заметной границы.

Переходная ретикулярная клетка от покоящейся отличается более базофильной цитоплазмой. Контуры клетки и ядра хорошо заметны. Ядро округлое, с одним ядрышком, хроматин в виде крупноячеистой сети. Основная роль ретикулярных клеток в иммунитете — переработка антигена.

Плазматические клетки у рыб, как и у высших позвоночных, состоят из плазмобластов, незрелых и зрелых плазматических клеток (рис. 3, 4). Плазмобласты — крупные клетки с диаметром 12.6—16.7 мкм. Ядерно-цитоплазменное отношение 1 : 1.2 или 1 : 1. Ядро эксцентрическое, овальное, с 1 или 2 ядрышками, хроматин в виде мелкоячеистой сети. Цитоплазма базофильна. Плазмобласты — молодые формы плазматических клеток, которые по мере созревания постепенно трансформируются в незрелые плазматические клетки (рис. 3). Наличие большого количества радиоактивной метки в цитоплазме и ядре этих клеток указывает на их участие в иммунологических реакциях организма.

Незрелая плазматическая клетка имеет овальную форму, ее диаметр 13.5—14.6 мкм. Ядро округлое, эксцентрическое, ядерно-цитоплазменное отношение 1 : 1.5, 1 : 2. Хроматин представлен в виде глыбок, в перинуклеарной области выявляется зона просветления. На поверхности ядра и цитоплазмы этих клеток после введения рыбам меченых ^{14}C бактерий на 2-е и 5-е сутки обнаруживается радиоактивная метка. Основная функция незрелых плазматических клеток — участие в синтезе антител.

Зрелые плазматические клетки отличаются от незрелых меньшим размером (11.5—13 мкм). Ядро сферическое, хроматин в виде плотных крупных глыбок. Объем ядра в 2—3 раза меньше объема цитоплазмы. Цитоплазма базофильна, эндоплазматическая сеть сильно развита (рис. 3). По своей форме и наличию зернистости в цитоплазме эти клетки более всего похожи на гранулоциты.

В мазках-отпечатках почек карпов у интактных и иммунных особей около 30—70% клеток составляют гранулоциты с эозинофильной и базофильной зернистостью. Диаметр их 10—15 мкм. Поскольку ядро у этих клеток, как правило, очень плотное, хроматин просматривается очень плохо. Оно может иметь серповидную форму или расщеплено на отдельные сегменты. Большой объем цитоплазмы, неравномерная ее окраска и наличие зернистости косвенно свидетельствуют о том, что гранулоциты являются конечными формами либо клеток плазматического ряда, либо макрофагов и, видимо, участвуют в транспортировке и переработке продуктов распада бактерий и клеток крови.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ИММУНОЦИТОВ

К реакциям иммуноцитов, способствующих сохранению постоянства внутренней среды организма, следует отнести фагоцитоз, синтез антител, отторжение трансплантата и различного рода паразитов, РГЗТ и т. д. [1, 4, 5, 10—13, 34, 37, 42—44, 56, 67]. От реализации этих реакций зависит исход взаимодействия между микро- и макроорганизмами.

Фагоцитоз микроорганизмов у рыб. Захват и переваривание чужеродных тел в организме рыб осуществляют клетки РЛТ [11, 15, 16, 20, 28, 34, 52]. Фагоцитарная активность этих клеток зависит от температуры окружающей среды, иммунизации, воздействия на рыб инкорпорированных ионизирующих излучений и других факторов [11, 20, 23, 28, 30, 35, 39, 46].

Следует отметить, что вопрос о том, какие клетки РЛТ распознают антиген и какие переваривают бактерии в организме рыб, до сих пор никак не рассматривался. Имеющиеся литературные данные по определению фагоцитарной реакции у рыб посвящены количественному и качественному составу фагоцитирующих клеток. Многие исследователи при разработке данного вопроса сбор материала проводили лишь через 1—2 ч после инъек-

ции бактерий, не обращая при этом внимания на изменение состава и взаимодействие различных типов клеток в процессе фагоцитоза бактерий. Не были определены потенциальные возможности лейкоцитов поглощать различные по морфологическим и патогенным свойствам микроорганизмы.

Используя различные методические приемы (авторадиографический, цитологический, статистический и т. д.), нами впервые проведено подробное исследование механизма и процесса фагоцитоза у рыб *in vivo*, а также изучены роль отдельных клеток в фагоцитозе, особенности взаимодействия между ними в процессе парентерального переваривания различных видов микроорганизмов. Установлено, что процесс фагоцитоза — сложный процесс, связанный с миграцией малых лимфоцитов, захватом бактерий, трансформацией лимфоцитов в макрофаги (ретикулоциты), с появлением лимфо- и плаз-

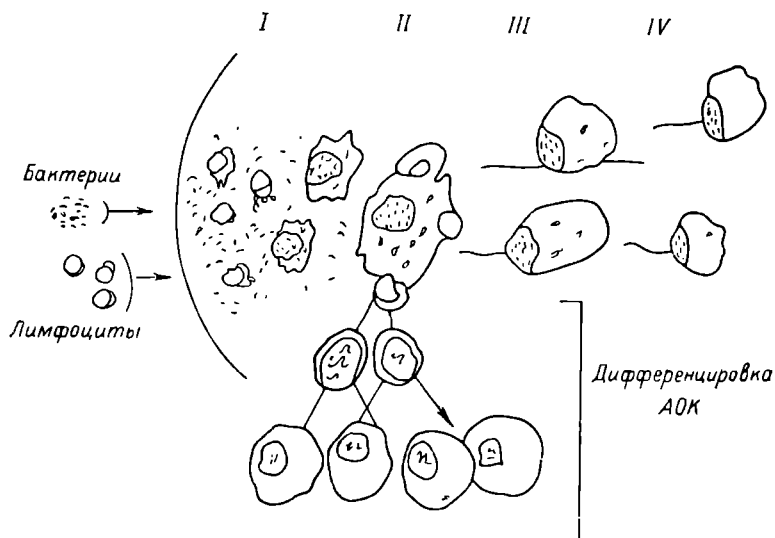


Рис. 6. Схема трансформации лимфоцитов в процессе фагоцитоза.

I—VI — стадии фагоцитоза.

мобластов, плазматических клеток и гранулоцитов (рис. 5; см. вклейку; рис. 6; табл. 2). Трансформация лимфоцитов в другие типы клеток зависит от биологических свойств микроорганизмов и предварительной иммунизации рыб. Независимо от особенностей бактериального раздражителя, основную массу лейкоцитов, определенную в 25 полях зрения микроскопа, через 5 мин во всех 3 сериях опытов составляли малые лимфоциты (табл. 2, 3). Количество лимфоцитов после инъекции вирулентных микроорганизмов было больше, чем у рыб 1-й серии опытов, на 160 клеток. Общее число клеток в 25 полях зрения микроскопа у одной особи в процессе фагоцитоза резко снижалось от 1532 до 381 у рыб 1-й серии, от 1690 до 731 у карасей 2-й серии и от 1710 до 210 у рыб, получивших инъекции грибов *C. albicans*.

По мере включения малых лимфоцитов в фагоцитоз начинался процесс трансформации их в функционально активные клетки, что в конечном итоге отражалось на составе клеток и способствовало появлению макрофагов, ретикулоцитов, лимфо- и плазмобластов, плазматических клеток и гранулоцитов. Трансформация иммуноцитов, частота встречаемости различных типов клеток в брюшном экссудате карасей и завершенность фагоцитоза зависели от вирулентных свойств микроорганизмов (табл. 2, 3; рис. 5—10).

Инактивированные бактерии стимулировали фагоцитарную реакцию лимфоцитов, превращение их в функционально активные клетки-макрофаги способствовали образованию лимфо- и плазмобластов, плазматических клеток и гранулоцитов. Трансформация малых лимфоцитов в макрофаги и ретикулоциты начиналась с момента прилипания бактерий к этим

Т а б л и ц а 2

Динамика лимфоидно-макрофагальных клеток в брюшной полости карасей после инъекции инaktivированных бактерий *Ae. piscicida*, %

Время взятия пробы, ч	Относительное число клеток в 25 полях зрения микроскопа	Малые лимфоциты		Ретикулярные макрофаги	Гранулоциты	Лимфо-и плазмобласты	Плазматические клетки	Число фагоцитирующих лейкоцитов
		активные на стадии трансформации	неактивные на стадии «покоя»					
0.12	1532 ± 25.0	27.1 ± 1.2	73 ± 5.1	—	0.5 ± 0.01	—	—	27 ± 1.4
0.5	890 ± 12.1	80.4 ± 6.3	8.0 ± 0.7	11 ± 0.8	6 ± 1.3	—	—	76 ± 3.3
1	612 ± 10.0	61.1 ± 5.2	3.4 ± 0.1	13 ± 1.4	5 ± 1.2	17.1 ± 2.1	—	74 ± 4.5
24	346 ± 9.0	42.4 ± 4.1	1.1 ± 0.1	27 ± 3.2	41 ± 2.0	20.2 ± 3.2	5.2 ± 1.4	48 ± 5.1
48	381 ± 10.0	14.1 ± 1.9	2.0 ± 0.1	50 ± 6.7	—	3.4 ± 1.1	20.1 ± 3.2	49 ± 4.2

Т а б л и ц а 3

Динамика лимфоидно-макрофагальных клеток в брюшной полости карасей, %

Время взятия пробы, ч	Относительное число клеток в 25 полях зрения микроскопа	Число фагоцитирующих лейкоцитов	Лимфоциты		Гранулоциты	
			на стадии дегенерации	неактивные на стадии «покоя»	нейтрофилы	эозинофилы
0.12	1690 ± 30.1	20 ± 2.4	—	100	—	—
0.5	1513 ± 20	29 ± 2.7	10.2 ± 0.9	84 ± 9.7	2 ± 0.4	4 ± 1.3
1	1440 ± 18	6 ± 1.8	26 ± 2.4	47 ± 6.1	13 ± 1.9	14 ± 2.2
24	731 ± 15	—	30 ± 2.7	20 ± 1.7	15 ± 2.3	35 ± 5.1

После инъекции вирулентных бактерий *Ae. piscicida*

0.12	1690 ± 30.1	20 ± 2.4	—	100	—	—	—
0.5	1513 ± 20	29 ± 2.7	10.2 ± 0.9	84 ± 9.7	2 ± 0.4	4 ± 1.3	—
1	1440 ± 18	6 ± 1.8	26 ± 2.4	47 ± 6.1	13 ± 1.9	14 ± 2.2	—
24	731 ± 15	—	30 ± 2.7	20 ± 1.7	15 ± 2.3	35 ± 5.1	—
48	—	—	—	—	—	—	—

Все рыбы погибли от сепсиса

После инъекции грибов *C. albicans*

0.12	1740 ± 31	—	—	100	—	—	—
0.5	1250 ± 46	6 ± 1.4	10 ± 1.0	88 ± 10.1	1 ± 0.01	1 ± 0.01	1 ± 0.01
1	775 ± 13	5 ± 1.6	9.9 ± 1.1	87 ± 8.3	1 ± 0.01	12 ± 1.4	2 ± 0.1
24	300 ± 10	—	21 ± 1.7	59 ± 7.2	—	—	8 ± 0.9
48	210 ± 8	—	82 ± 7.4	8 ± 1.6	—	—	5 ± 1.0
120	—	—	—	—	—	—	—

клеткам и сопровождалась увеличением объема клетки в 40 раз и более. Нарастание объема лимфоцита в основном происходило за счет цитоплазмы. Объем ядра увеличивался всего лишь в 2—3 раза. Параллельно с изменением объема малого лимфоцита бактерии погружались в клетку и переваривались. Фагоцитоз бактерий, видимо, происходил на стадиях

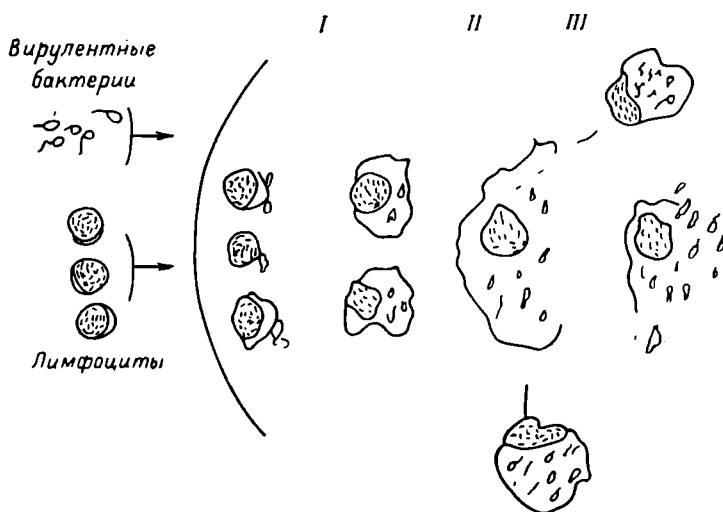


Рис. 8. Схема трансформации и разрушения иммуноцитов после воздействия вирулентных бактерий *Ae. punctata*.
I—III — стадии разрушения

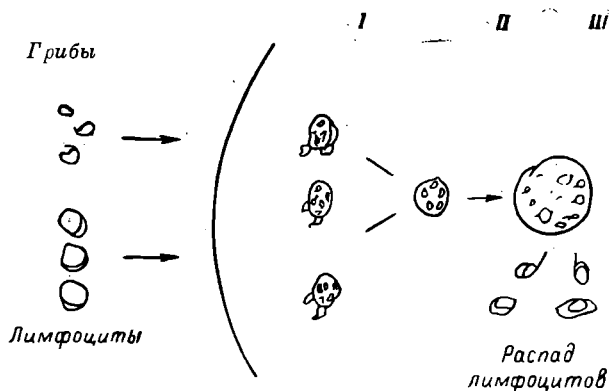


Рис. 10. Схема трансформации и разрушения лимфоцитов после воздействия грибов *C. albicans*.

I—III — стадии разрушения.

ретикулярных клеток. В случае, когда бактерии в организме рыб не разрушались после введения летальных доз вирулентных микроорганизмов, функционально активные макрофаги из малых лимфоцитов не образовывались, а лимфо-, плазмобласты и плазматические клетки в популяциях клеток брюшного экссудата не появлялись (рис. 7; см. вклейку; рис. 8; табл. 3).

Состав лейкоцитов, время появления отдельных типов клеток и частота их встречаемости в брюшном экссудате отличались у особей, получающих различные по патогенным свойствам микроорганизмы. Малые лимфоциты во всех сериях опытов появлялись тотчас после инъекции микроорганизмов, однако изменение доли этих клеток в популяциях иммуноцитов брюшного экссудата в различных сериях опытов происходило по-разному (табл. 2, 3; рис. 5, 7, 9; см. вклейку). Относительное число малых лимфоцитов у рыб

1-й серии опытов от 100% через 5 мин от начала опытов к концу 2 суток снижалось до 16%. На долю функционально активных лимфоцитов во всех случаях, за исключением 1-го взятия пробы через 5 мин от начала опыта, приходилось 88—98% клеток из общего числа малых лимфоцитов. Во второй и третьей сериях опытов содержание малых лимфоцитов постепенно снижалось, однако процесс превращения этих клеток в активные формы макрофагов задерживался. Под воздействием вирулентных микроорганизмов малые лимфоциты либо распадались (рис. 7, 8), либо лизировались (рис. 9, 10). Когда общее число разрушающихся лимфоцитов превышало таковое интактных клеток, рыбы, как правило, погибали.

Ретикулярные клетки-макрофаги обнаружены только у рыб после воздействия на них инактивированными бактериями (табл. 2; рис. 5). Относительный уровень этих клеток в процессе фагоцитоза постепенно

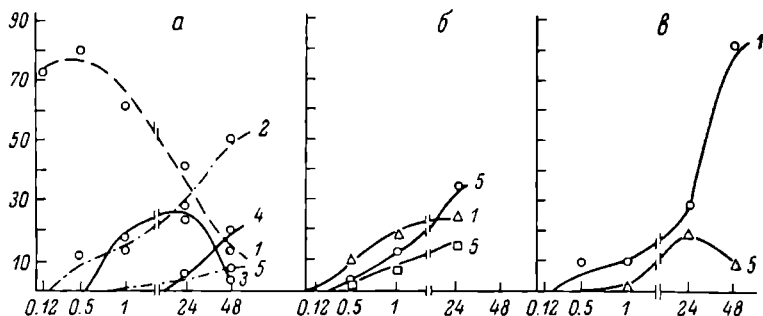


Рис. 11. Динамика трансформированных форм лимфоцитов (1), ретикулоцитов (2), лимфо- и плазмобластов (3), плазматических клеток (4) и гранулоцитов (5) в брюшной полости карасей после инъекции инактивированных бактерий (а), летальных доз вирулентных микробов (б) и *C. albicans* (г).

По оси ординат — относительное число клеток, %; по оси абсцисс — время, ч.

нарастал от 11 (через 30 мин) до 50% (через 48 ч). Содержание гранулоцитов в брюшном экссудате у рыб 1-й серии опытов было незначительным и колебалось от 0.5 до 11%. Следует отметить, что основную массу гранулоцитов у этих карасей составляли нейтрофилы. Удельный вес гранулоцитов в популяциях лейкоцитов у рыб 2-й серии опытов был выше, чем у особей 1-й и 3-й серий опытов (табл. 2, 3). Содержание гранулоцитов у особей, получающих вирулентную культуру *Ae. punctata*, колебалось от 6 до 50%, а у рыб 3-й серии — от 2 до 20%. У карасей 2-й серии опытов эозинофилы за период наблюдения составляли большую часть гранулоцитов, а в 3-й — отношение эозинофилов и нейтрофилов было равным (табл. 3).

Через 1 ч от начала эксперимента у карасей 1-й серии обнаружены лимфо- и плазмобласты, а через 24 ч — плазматические клетки. Уровень лимфо- и плазмобластов в начале опыта колебался в пределах 17—20%, а к концу опыта резко снижался (до 3.5%). Количество плазматических клеток, наоборот, к концу периода наблюдения повышалось от 5 до 20%. Эти группы клеток, относящиеся к секреторным антителосинтезирующим клеткам, как и ретикулярные макрофаги, обнаружены только у особей 1-й серии опытов. Полученные результаты свидетельствуют, что малые лимфоциты являются ответственными за распознавание и нейтрализацию микробов. Это хорошо видно из кривых динамики отдельных форм клеток (рис. 11) и схем взаимодействия между иммунными клетками и микроорганизмами (рис. 6, 8, 10).

При сопоставлении показателей клеточных форм 1-й серии опытов установлена обратная связь между изменением числа лимфоцитов, находящихся на стадии трансформации, и появлением ретикулярных макрофагов и гранулоцитов, между лимфо-, плазмобластами и плазматическими клетками (рис. 11). Нарастание общего числа плазматических клеток

с момента их обнаружения происходило параллельно с увеличением числа ретикулярных макрофагов. Уровень лимфо- и плазмобластов, увеличиваясь параллельно с уровнем ретикулоцитов в течение 24 ч, к концу 2 суток резко снижался. Изменение количества этих клеток, видимо, обусловлено превращением их в плазматические клетки.

Если у рыб 1-й серии опытов процесс фагоцитоза инaktivированных бактерий, как это изображено схематически (рис. 6), сопровождался миграцией малых лимфоцитов, превращением их в ретикулярные макрофаги, увеличением числа фагоцитирующих иммунцитов, образованием клеток, ответственных за синтез антител, то у рыб 2-й и 3-й серий процессы фагоцитоза и трансформации малых лимфоцитов в функционально активные клетки нарушались (рис. 7—11). После инъекции вирулентных летальных доз микроорганизмов малые лимфоциты по сравнению с таковыми у особей 1-й серии опытов в первый период уменьшались в размере до 4—5 мкм. Первая стадия фагоцитоза выражена слабо. Трансформация малых лимфоцитов грибами *C. albicans* угнеталась сильнее, чем бактериями *Ae. punctata*. В обеих сериях опытов лимфоциты либо распадались на отдельные фрагменты в результате размножения бактерий в клетках (рис. 8), либо лизировались вследствие развития патогенных грибов (рис. 10). Малые лимфоциты, как правило, к концу опыта исчезали. Несмотря на большое число бактериальных тел, обнаруженных в нейтрофилах и эозинофилах, бактерии в этих клетках не разрушались, а, наоборот, усиленно размножались. Рыбы после инъекции летальных доз вирулентных микроорганизмов погибали либо от сепсиса, либо от некроза жабр. Малые лимфоциты в мазках крови и брюшного экссудата у заболевших рыб отсутствовали.

Ранее было установлено, что фагоцитарная активность лейкоцитов у иммунных особей резко повышается за счет лимфоцитов [11, 28]. Поскольку некоторые авторы [20, 45] на основании анализа результатов своих опытов высказали сомнение в отношении участия малых лимфоцитов в фагоцитозе, нами были поставлены новые опыты по определению фагоцитарной реакции у иммунизированных *Ae. punctata* карасей.

Полученные нами данные показали, что иммунизация стимулирует функциональную активность лимфоцитов, вследствие чего процессы трансформации лимфоцитов и фагоцитоза ими бактерий происходят интенсивнее у иммунных рыб по сравнению с интактными (табл. 2, 4; рис. 12; см. вклейку). У обеих групп рыб (иммунных и интактных) фагоцитоз бактерий связан с миграцией лимфоцитов в брюшную полость, трансформацией их в макрофаги, ретикулоциты, плазмобласты, лимфобласты и плазматические клетки. Если ретикулярные макрофаги у интактных особей появлялись через 30 мин, лимфо- и плазмобласты через 60 мин, а плазматические клетки через 24—48 ч (табл. 2), то у иммунных рыб они появлялись в первые минуты после инъекции бактерий (табл. 4). Нейтрофилы и эозинофилы, объединенные в гранулоциты, у иммунных и интактных особей в основном

Т а б л и ц а 4

Динамика лимфоидно-макрофагальных клеток в брюшной полости иммунизированных карасей, %

Время взятия пробы, ч	Относи- тельное число клеток в 25 полях зрения микро- скопа	Лимфоциты		Ретику- лярные макро- фаги	Грану- лоциты	Лимфо- и плазмо- бласты	Плазма- тические клетки	Число фагоцити- рующих лейко- цитов
		на стадии трансфор- мации (плаз- мобласты)	неактив- ные, на стадии «покоя»					
0.12	1240±27.0	55±4.2	—	36.8±4.4	—	9±1.2	0.5±0.01	100
0.5	931±18.0	61±4.7	20±3.7	10±0.1	—	6±0.5	4±0.4	100
1	760±14.0	86±9.4	4±0.2	5±0.2	2±0.01	1±0.01	2±0.3	100
24	546±10.1	35±1.9	16±0.9	39±5.8	6±0.8	2±0.01	2±0.1	57±8.3
48	311±8.0	20±1.8	17±1.6	50±6.9	8±0.7	2±0.02	3±0.2	25±4.5

появлялись одновременно, через 1 ч. Доля этих клеток у рыб обеих групп не превышала 8—11 %.

Отличительным признаком, характеризующим завершенность фагоцитоза у иммунных рыб, является то, что бактерии в брюшной полости принимают аберрантные формы, напоминающие кокки (рис. 12). В случае, когда фагоцитоз в организме рыб не завершался, как это имело место после инъекции тех же бактерий intactным карасям, бактерии усиленно размножались и приобретали вид крупных палочек («гигантские формы» по: [11]), а лейкоциты под воздействием микробов разрушались (рис. 7). Кроме того, все виды клеток у иммунных рыб в первые 60 мин от начала опыта участвовали в фагоцитозе бактерий, тогда как после инъекции этих же бактерий intactным карасям фагоцитарная активность лейкоцитов была значительно ниже (табл. 2—4). У иммунных рыб по сравнению с intactными на 24 и 48 ч раньше появлялись крупные скопления трансформированных лимфоцитов, напоминающие зародышевые центры у высших позвоночных. Клетки типа синцитиальных, гистиоцитов и фибробластов, свидетельствующие о завершении процесса фагоцитоза, у иммунных рыб появлялись на 2-е сутки, у intactных — на 5-е—7-е.

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что фагоцитоз связан с процессами миграции лимфоцитов, превращением их в макрофаги, ретикулоциты, лимфо- и плазмобласты. Фагоцитоз бактерий лейкоцитами происходит в несколько стадий. Условно эти стадии состоят из миграции лимфоцитов, прилипания бактерий к лимфоцитам, погружения бактерий по мере трансформации лимфоцита в макрофаг, переваривания их макрофагами и ретикулоцитами. В случае, когда процесс переваривания бактерий задерживается вследствие их усиленного размножения, процесс превращения лимфоцитов в ретикулоциты угнетается, образование лимфо- и плазмобластов прекращается. Число малых лимфоцитов у рыб, инъецированных патогенными микроорганизмами, резко снижается, затем они исчезают. У иммунных рыб процесс фагоцитоза бактерий лейкоцитами усиливается за счет увеличения функциональной активности иммуноцитов. Низкий уровень гранулоцитов у рыб 1-й серии опытов и их высокий процент у особей, инъецированных вирулентными бактериями, свидетельствуют о том, что эти клетки не играют существенной роли в нейтрализации микробов. Роль этих клеток скорее всего заключается в очищении брюшной полости от остатков распавшихся клеток (эритроцитов, лейкоцитов) и доставке их в органы, богатые клетками РЛТ. Об этом говорят данные по микроавтографии, полученные в мазках-отпечатках почек, печени и селезенки в течение первых суток опыта. Видимо, вопрос о роли этих клеток в фагоцитозе должен быть пересмотрен. Они, относясь к наиболее дифференцированным формам клеток крови, обладают слабо выраженной фагоцитарной активностью. Эти клетки, очевидно, служат благоприятной средой для размножения и развития вирулентных бактерий.

А н т и т е л о с и н т е з и р у ю щ а я ф у н к ц и я и м м у н о ц и т о в. Антитела образуются в результате иммунологической перестройки организма рыб после парентеральной инъекции генетически чужеродных тел и являются продуктами жизнедеятельности иммуноцитов [20, 25, 28, 48—50, 61, 65, 68]. Ранее на карпах [25, 28], на осетровых и сазанах [20] установлено, что процесс синтеза антител сопровождается трансформацией иммуноцитов. Определен качественный состав антителосинтезирующих клеток у радужной форели после иммунизации бараньими и мышинными эритроцитами [49, 50]. Антителосинтезирующей способностью у радужной форели обладали лимфоциты, клетки типа бласт, макрофаги, плазматические и эозинофилоподобные клетки. Исследованиями на форелях [49, 59], ушастых окунях [68], карпах [25], окунях [65] показано изменение антителообразующих клеток в процессе иммуногенеза и определены органы, участвующие в синтезе антител. По данным этих авторов, основное место синтеза антител — РЛТ почек и селезенки рыб.

Опыты по определению антителообразующей функции иммуноцитов ставились нами на карпах и карасях. Иммунизацию рыб проводили инактивированными и вирулентными культурами бактерий *Ae. punctata* и грибов *C. albicans*. Антитела определяли реакцией агглютинации в сыворотке крови и экстрактах почек при одновременном учете кинетики иммунокомпетентных клеток по ранее описанной методике [25]. Установлено, что антителогенезу предшествовало парентеральное переваривание корпускулярного антигена. В случае, когда микроорганизмы не подвергались фагоцитозу, антитела в организме рыб не образовывались (рис. 13).

Инактивированные бактерии при парентеральном переваривании иммуноцитами индуцировали процессы клеточной перестройки в РЛТ почек рыб. Эти процессы связаны с изменением относительного числа антителосинтезирующих клеток и уровня агглютининов в экстрактах почек и в сыворотке крови. Параллельно с увеличением титра антител в экстрактах почек отмечено повышение относительного числа лимфо- и плазмобластов от 5% у интактных карпов до 26% у иммунных. Максимальное число (около 26%) бластических клеток выявлено через 2 суток после введения бактерий. Доля плазматических клеток, снижаясь в начале опыта до 3%, затем постепенно повышалась до 20% к концу периода наблюдения. Изменение относительной доли малых и средних лимфоцитов было аналогично таковому плазматических клеток (табл. 5). Уровень гранулоцитов увеличивался в первый период опыта до 75%, к концу 5-х суток он падал до 27% (табл. 5). Одновременно с нарастанием бластических и плазматических клеток в тканях повышался титр агглютининов в экстрактах почек (рис. 13). Антитела в сыворотке крови появлялись на 24 ч позже, чем в тканях почек. Агглютинины в сыворотке крови карпа обнаружены через 48 ч после инъекции бактерий. Уровень антител в тканях почек во всех случаях выявлен в более высоких титрах, чем в сыворотке крови (рис. 13). Обнаруженное различие в титрах агглютининов обусловлено накоплением антител в антителосинтезирующих клетках РЛТ почек карпов.

После инъекции летальной дозы вирулентных бактерий *Ae. punctata* или грибов *C. albicans*, когда микроорганизмы не разрушались иммуноцитами, антитела не образовывались. Вирулентные микроорганизмы угнетали не только фагоцитарную способность лейкоцитов в брюшной полости, но и нарушали процессы клеточной дифференцировки иммуноцитов в сторону антителосинтезирующих клеток (табл. 5). После инокуляции вирулентных для рыб микроорганизмов относительное число ответственных за синтез антител ретикулярных, бластоидных, плазматических клеток и лимфоцитов снижалось, а количество гранулоцитов, наоборот, повышалось. Уменьшение числа клеток, участвующих в антителогенезе, у рыб, инъецированных живыми бактериями *Ae. punctata*, происходило за счет размножения бактерий в клетках и разрушения последних (рис. 8), а у рыб, которым были введены грибы *C. albicans*, за счет лизиса лимфоцитов (рис. 10). После введения *Ae. punctata* клетки разрушались быстрее, чем после введения *C. albicans* (табл. 5), поэтому в первом случае рыбы погибали через 48—72 ч, во втором — через 3—6 суток. Антитела у рыб, подвергнутых воздействию летальных доз вирулентных микроорганизмов, либо вообще не выявлены, либо обнаружены в очень незначительных титрах, в среднем 1:5 (рис. 13).

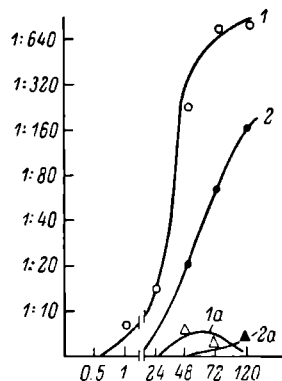


Рис. 13. Динамика образования антител в экстрактах почек (1, 1a) и в сыворотке крови (2, 2a) после инъекции инактивированных бактерий *Ae. punctata* (1, 2) и грибов *C. albicans* (1a, 2a).

По оси ординат — титр агглютининов; по оси абсцисс — время, ч.

Таблица 5

Динамика иммунокомпетентных клеток в ретикуло-лимфоидной ткани почек карпа, ‰

Время взятия пробы, ч	Число рыб	Ретикулярные клетки	Лимфо- и плазмобласты	Плазматические клетки	Гранулоциты	Лимфоциты
После инъекции инактивированных бактерий						
До иммунизации	5	10±0.2	5±0.4	6±0.3	57±1.1	22±1.2
0.5	5	13±0.3	5±0.5	3±0.4	75±2.0	4±0.2
1	5	13±0.8	8±0.6	3±0.3	69±3.1	7±0.6
24	5	10±0.8	20±0.9	8±0.7	52±4.1	10±0.8
48	5	8±1.0	26±2.1	15±0.1	32±3.4	19±0.9
72	5	7±1.3	18±2.0	20±0.4	27±2.9	28±2.4
120	3	10±1.4	15±1.8	18±2.0	27±3.0	30±2.7
После инъекции вирулентных бактерий <i>Ae. punctata</i>						
0.5	5	12±0.7	6±0.5	8±0.2	70±3.7	4±1.3
1	5	7±0.6	3±0.3	5±0.4	75±5.1	10±1.0
24	3	1±0.1	1±0.4	2±0.2	83±5.4	13±1.2
48	2	—	—	—	95±9.3	5±0.6
72		Все рыбы погибли от сепсиса				
После инъекции <i>C. albicans</i>						
0.5	5	9±1.0	7±0.8	5±0.3	60±4.6	19±2.0
1	5	12±0.8	6±0.9	6±0.4	70±7.2	6±0.3
24	5	9±0.8	5±0.4	4±0.2	75±6.3	7±0.4
48	3	5±0.4	6±0.3	3±0.3	78±8.1	6±0.4
72	2	3±0.1	5±0.2	3±0.1	84±8.4	5±0.3
120	2	4±0.2	3±0.2	2±0.2	87±9.2	4±0.3

Данные этих опытов показали, что антитела образуются после парентерального переваривания микроорганизмов, дифференцировки иммуноцитов в антителосинтезирующие клетки. С нарушением фагоцитарной способности лейкоцитов процессы дифференцировки иммуноцитов и синтеза ими антител подавляются.

Реакция гиперчувствительности замедленного типа. Рядом исследователей экспериментально воспроизведена РГЗТ на карпах [3, 7, 19, 27], карликовых сомиках и ильной рыбе [63]. Показано, что внутрикожное или подкожное введение гомологичного антигена предварительно иммунизированным рыбам сопровождается изменением реактивности кожи, появлением на месте инъекции гиперемии, экссудата и пролиферации. Степень проявления РГЗТ зависит от времени сенсibilизации опытных рыб и происхождения антигена. Паразитарный антиген, полученный из ленточных червей *Triaenophorus nodulosus*, вызывал после введения в составе адьюванта Фрейнда более сильную реакцию, чем микобактерии туберкулеза [27].

Если закономерности появления внешних морфологических изменений на коже рыб при РГЗТ экспериментально разработаны достаточно хорошо, то роль клеток, участвующих в этих реакциях, до сих пор никем не рассматривалась.

Наши данные свидетельствуют, что подкожное введение аллергена вызывает клеточную инфильтрацию и образование плотной соединительной ткани. Интенсивность этих процессов зависит от наличия малых лимфоцитов. Аллерген в подкожной клетчатке рыб индуцирует трансформацию лимфоцитов в макрофаги и способствует появлению ретикулоцитов, лимфо- и плазмобластов, гистиоцитов и фибробластов. На месте инъекции аллергена появляются видимые невооруженным глазом морфологические изменения: припухлость, покраснение (гиперемия), образование плотного соедини-

тельнотканного рубца, имеющего в первые 2—7 дней красный, а затем белый цвет (табл. 6).

Т а б л и ц а 6
Реакция рыб на подкожное введение аллергена

Категория рыб	Число рыб	Клеточная инфильтрация	Гиперемия	Образование соединительно-тканного рубца
Контрольные	10	++	++	—
Опытные:				
иммунизированные	10	++++	++++	++++
иммунизация + гидрокортизон	5	±	—	—
иммунизация + <i>C. albicans</i>	10	—	—	—

П р и м е ч а н и е. (—) — рыбы не реагируют на введение аллергена, (±) — у части рыб обнаружены единичные клетки в инфильтрате, (++) — РГЗТ сопровождалась слабо выраженной инфильтрацией и гиперемией, (++++) — все признаки РГЗТ проявлялись интенсивно.

Иммунизированные рыбы на подкожное введение аллергена отвечают РГЗТ. У иммунных рыб выявлены все 3 признака, характеризующие аллергическую реакцию (табл. 6). Гидрокортизон и грибы *C. albicans* подавляют развитие РГЗТ у иммунизированных рыб. После их воздействия прежде всего угнетается клеточная инфильтрация. В дальнейшем появляются другие признаки РГЗТ. Так, если после инъекции бактериального аллергена карпам через 5 мин на месте инъекции выявлено большое число (около 70 клеток в одном поле зрения микроскопа) малых лимфоцитов, то у рыб, подвергнутых обработке гидрокортизоном и *C. albicans*, никакие виды клеток не выявлены (табл. 7).

Т а б л и ц а 7
Состав клеток подкожного инфильтрата после инъекции бактериального аллергена

Клетки	Время взятия пробы, ч		
	0.12	24	48

Иммунизированные карпы

Лимфоциты	++++	+	±
Лимфо- и плазмобласты	+	++	±
Ретикулоциты	++	++++	++
Плазматические клетки	+	++	±
Фибробласты и гистиоциты	—	+++	++++

Иммунизированные карпы, подвергнутые воздействию гидрокортизона

Лимфоциты	++	—	—
Лимфо- и плазмобласты	—	—	—
Ретикулоциты	—	—	—
Фибробласты и гистиоциты	—	—	—

Иммунизированные карпы, зараженные грибами *C. albicans*

Лимфоциты	—	—	—
Лимфо- и плазмобласты	—	—	—
Ретикулоциты	—	—	—
Фибробласты и гистиоциты	—	—	—

П р и м е ч а н и е. Число клеток в одном поле зрения микроскопа: (—) — клетки не выявлены, (±) — клетки выявлены не у всех рыб, (+) — до 5, (++) — свыше 5, (+++) — свыше 10, (+++++) — свыше 15.

Состав клеток и характер изменения их после сенсibilизации рыб бактериальным антигеном напоминают фагоцитарную реакцию лейкоцитов в брюшной полости: миграция малых лимфоцитов, трансформация этих

клеток в макрофаги, появление лимфо- и плазмобластов, плазматических клеток. Различие заключается лишь в том, что на месте инъекции антигена в данном случае образуются плотные соединительнотканые рубцы, основу которых составляют фибробласты.

Клеточная инфильтрация, гиперемия и образование соединительнотканного рубца в области инъекции аллергена у опытных (предварительно иммунизированных) рыб происходили интенсивнее, чем у контрольных. У опытных рыб размеры реагирующего участка кожи на введение аллергена колебались в пределах 10—15 мм, у контрольных — 3—5 мм. Относительное число клеток в одном поле зрения микроскопа через 5 мин у контрольных рыб почти в 2 раза меньше, чем у опытных: у контрольных 30—40, у опытных около 70. Состав клеток у опытных рыб оказался более разнообразным, у контрольных обнаружены одни малые лимфоциты. Все малые лимфоциты у особей контрольной группы оказались в состоянии покоя, у опытной — на стадии трансформации.

В целом результаты свидетельствуют, что появление РГЗТ зависит от присутствия в организме рыб малых лимфоцитов, которые определяют клеточную инфильтрацию, обрастание области введения аллергена соединительной тканью.

Таким образом, исследованиями физиологических реакций иммуноцитов рыб показано, что от реализации их функций зависит восприятие и разрушение микроорганизмов, синтез антител, степень проявления РГЗТ и приобретение иммунологической памяти. Родоначальными клетками иммуноцитов, способствующими появлению функционально активных макрофагов, антителосинтезирующих клеток и РГЗТ, являются малые лимфоциты.

Многообразные экологические условия выработали ряд приспособительных реакций у рыб, в том числе иммунологических. Сущность последних заключается в нейтрализации чужеродных раздражителей, способствующей сохранению постоянства внутренней среды организма и выживаемости особи, популяции и вида.

Нейтрализацию патогенных микроорганизмов путем их парентерального переваривания и синтеза антител у рыб осуществляют клетки РЛТ, которые по расположению в организме отличаются от таковых у теплокровных животных. У них нет лимфатических узлов, лимфоидная ткань расположена более диффузно, чем у теплокровных, ее скопления имеются вдоль спинных позвонков, а также вдоль пищевода, кишечного тракта, в околосердечной полости и «хрящевом» мозгу. Клетки, составляющие основу РЛТ рыб, по своим морфологическим и функциональным характеристикам не отличаются от таковых теплокровных животных. Лимфоидно-макрофагальные клетки, входящие в состав тех или иных органов и тканей, отличаются по составу и количеству. Наибольшее разнообразие их у исследуемых видов рыб наблюдается в РЛТ почек и селезенки. В почках и селезенке карпов обнаружены все типы подвижных иммунокомпетентных клеток, в печени — клетки лимфоидного и ретикулярного рядов и гранулоциты. В РЛТ стенки кишечника отсутствовали бласт-клетки.

Обнаруженное различие в концентрации клеток РЛТ в разных органах свидетельствует о неодинаковой степени их участия в иммуногенезе, в частности в синтезе антител и поглощении антигена. В РЛТ почек карпа обнаружено значительно большее количество меченых бактерий, чем в других органах, и высокий уровень агглютининов после иммунизации рыб. Показано, что распознавание инородного тела и сохранение иммунологической памяти осуществляют малые лимфоциты. От взаимодействия малых лимфоцитов с микроорганизмами зависят парентеральное переваривание бактерий, синтез антител и аллергическая реакция. Малые лимфоциты — исходные клетки функционально активных макрофагов и ретикулоцитов. В случае разрушения малых лимфоцитов, вызванного введением грибов *C. albicans* или летальных доз вирулентных бактерий *Ae. punctata*, парен-

терального переваривания микроорганизмов в брюшной полости рыб не происходит. Под воздействием патогенных микроорганизмов малые лимфоциты либо распадаются, либо лизируются на стадии трансформации их в макрофаги или ретикулоциты. Вследствие этого функционально активные макрофаги и ретикулярные клетки не обнаруживаются, как это имело место после инъекции инактивированных бактерий *Ae. punctata*.

Процессы трансформации малых лимфоцитов в функционально активные фагоцитирующие клетки и разрушения микробов у иммунных рыб происходят интенсивнее, чем у интактных. Об этом говорят количество фагоцитирующих лейкоцитов, наличие ретикулоцитов, лимфо- и плазмобластов и плазматических клеток уже через 5 мин после инъекции бактерий.

При исследовании РГЭТ отмечено, что она не проявляется у рыб, подвергнутых воздействию гидрокортизона и грибов *C. albicans*, когда происходит лизис малых лимфоцитов.

Лизис лимфоцитов, происходящий в организме рыб под воздействием патогенных микробов, отражается не только на завершенности фагоцитоза, но и на появлении в популяции иммуноцитов бластических и плазматических клеток и, наконец, на синтезе антител.

Образование антител в организме рыб связано с появлением лимфобластов, плазмобластов и плазматических клеток и с увеличением относительного числа малых лимфоцитов и пролимфоцитов в тканях рыб. Антитела в тканях и сыворотке крови рыб обнаруживаются только после парентерального переваривания бактерий макрофагами.

В результате фагоцитоза бактерий иммуноцитами микроорганизмы разрушаются. Часть их выводится из организма, часть продолжает оставаться в тканях рыб неопределенно долгое время. Оставшаяся часть переработанного антигена обладает иммуногенными свойствами и индуцирует образование антителосинтезирующих клеток. Переработанный макрофагами антиген превращается в иммуноген, который в дальнейшем в результате взаимодействия с предшественниками антителосинтезирующих клеток включается в обменные процессы и участвует в синтезе антител. О включении продуктов распада бактерий в обменные процессы антителообразующих клеток свидетельствуют результаты обнаружения радиоактивных меток на поверхности лимфо- и плазмобластов, пролимфоцитов, плазматических клеток, а также малых лимфоцитов.

Таким образом, исход взаимодействия между микроорганизмами и организмом рыб зависит как от функциональной активности иммуноцитов, так и от вирулентных свойств бактерий. Родоначальными клетками иммуногенеза у рыб, как и у высших позвоночных животных, следует считать малые лимфоциты. Последние являются наиболее мобильными клетками и обладают уникальной способностью трансформации в другие функционально активные структуры. Они ответственны за разрушение бактерий, синтез антител, РГЭТ и сохранение иммунологической памяти.

Л и т е р а т у р а

1. Адо А. Д. Патопфизиология фагоцитов. М., 1961. 293 с.
2. Ашмарин И. П. Загадки откровения биохимии памяти. Л., 1975. 85 с.
3. Балахни И. А., Козиненко И. И. О реакции гиперчувствительности замедленного типа у сеголетков карпа при ботриоцефалезе. — Тез. докл. Всесоюз. совещ. по инвазионным болезням рыб, М., 1977, с. 13—14.
4. Бернет Ф. Клеточная иммунология. М., 1972. 550 с.
5. Брондз Б. Д. Иммунологическое распознавание и механизмы тканевой несовместимости. — В кн.: Клеточные основы иммунитета. М., 1972, с. 45—58.
6. Вихман А. А., Генералова Л. П. Количество свободных клеток в органах систем иммунитета у карпа. — Тез. докл. VI Всесоюз. совещ. по болезням и паразитам рыб, М., 1974, с. 47—50.
7. Владимиров В. Л. Иммунитет рыб при дактилогирозе. — Паразитология, 1971, т. 5, с. 51—58.

8. Галактионов В. Г. Клеточные рецепторы иммунной системы. Успехи соврем. биол., 1975, т. 80 (вып. 24), с. 84—101.
9. Гаряева Е. И. Лимфатическая ткань костистых рыб. — Тр. Перм. мед. ин-та, 1964, вып. 55 (2), с. 66—74.
10. Головастиков И. Н., Петров Р. В., Хаитов Р. М. Роль лимфоцитов в передифференцировке стволовых кроветворных клеток. — ДАН СССР, 1970, т. 194, № 5, с. 1208—1210.
11. Гончаров Г. Д. Фагоцитоз карпа при бактериальном инфицировании. — В кн.: Биология рыб волжских водохранилищ. М.—Л., 1966, с. 331—338.
12. Гурвич А. Е., Шумакова Г. В. Плазмодитарная реакция и иммунологические закономерности. Сообщение 1. — Бюл. эксперим. биол. и мед., 1957, т. 44, № 10, с. 95—98.
13. Гурвич А. Е., Шумакова Г. В. Плазмодитарная реакция и иммунологические закономерности. Сообщение 2. — Бюл. эксперим. биол. и мед., 1958, т. 46, № 11, с. 66—69.
14. Жинкин Л. Н. Радиоактивные индикаторы в гистологии. — В кн.: Экспериментальная и клиническая иммунология. Л., 1959, с. 68—102.
15. Заварзин А. А. К сравнительной гистологии крови и соединительной ткани. О воспалительном новообразовании соединительной ткани у рыб (*Cottus cottus*). — Арх. анатомии, гистол., эмбриол., 1937, т. 16, вып. 3, с. 375—410.
16. Заварзин А. А. Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани. М., 1945, вып. 1. 187 с.
17. Калашникова З. М. О классификациях морфологических элементов крови рыб. — Вопр. ихтиол., 1976, т. 16, вып. 3 (98), с. 510—525.
18. Костин А. П., Мещеряков Ф. А., Сысоев А. А. Физиология сельскохозяйственных животных. М., 1974. 478 с.
19. Куперман Б. И., Микряков В. Р. О реакции гиперчувствительности замедленного типа у карпа к паразитарному антигену *Triaenophorus nodulosus*. — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1972, № 13, с. 47—50.
20. Лукьяненко В. И. Иммунобиология рыб. М., 1971. 364 с.
21. Лукьяненко В. И., Свиридов Е. И. Имунокомпетентные клетки рыб. — ДАН СССР, 1967, т. 177, № 5, с. 1213—1215.
22. Лукьяненко В. И., Свиридов Е. И. Имуноморфологический анализ реакции рыб на антигенное раздражение. — Изв. АН СССР, сер. биол., 1968, № 1, с. 155—157.
23. Лукьяненко В. И., Сукачева Г. И. Фагоцитоз — важнейший фактор врожденного и приобретенного иммунитета рыб. — Тез. докл. 2-го Всесоюз. совещ. по инфекц. болезням рыб, М., 1975, с. 66—68.
24. Лурья Е. А., Фриденштейн А. Я. Роль зубной железы в иммунитете. — Усп. совр. биол., 1964, т. 57, вып. 2, с. 269—284.
25. Микряков В. Р. О синтезе иммуноглобулинов клетками лимфоидной ткани рыб при иммунизации. — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1970, № 6, с. 46—50.
26. Микряков В. Р. Роль почек карпов в гомеостазе при бактериальном инфицировании. — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1970, № 8, с. 57—60.
27. Микряков В. Р. Экспериментальное исследование аллергических реакций замедленного типа у рыб к *Mycobacterium tuberculosis bovis* и *Triaenophorus nodulosus*. — В кн.: Флора, фауна и микроорганизмы Волги. Рыбинск, 1974, с. 290—294.
28. Микряков В. Р., Романенко В. И., Трофимова Л. В., Гончаров Г. Д. К изучению механизма иммунитета у рыб. — В кн.: Флора, фауна и микроорганизмы Волги. Рыбинск, 1974, с. 264—285.
29. Незлин Р. С. Строение и биосинтез антител. М., 1972. 305 с.
30. Нечипоренко Ю. Д., Кулажко В. А. Повышение фагоцитарной способности лейкоцитов у карпов под влиянием левомицетина. — Антибиотики, 1962, № 1, с. 56—60.
31. Пестова И. М. Кроветворение у озерного лосося, развивающегося при различной температуре. — Тр. Перм. мед. ин-та, 1962, вып. 1 (36), с. 169—175.
32. Покровская М. П., Краскина Н. А., Левенсон В. И., Гуторова Н. М., Брауде Н. И. Морфология и номенклатура иммунологически компетентных клеток лимфоидной ткани. — Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1965, № 3, с. 8—13.
33. Покровская М. П., Левенсон В. И., Краскина Н. А. Клеточные основы иммунологического процесса. — В кн.: Руководство по микробиологии, клинике и эпидемиологии инфекционных болезней. М., 1964, т. 3, с. 190—212.
34. Праздников Е. Б. Некоторые защитные явления у сеголетков и годовиков семги. — Тр. Ленингр. о-ва естествоиспыт., 1972, т. 81—82, № 1, с. 50—66.
35. Пучков Н. В. О механизме фагоцитоза и влиянии некоторых факторов среды на фагоцитарную активность лейкоцитов в организме. — Усп. соврем. биол., 1957, т. 43, вып. 2, с. 165—180.
36. Румянцев Н. Н. О ретикуло-эндотелии и строении кроветворных органов некоторых видов костистых рыб. — Арх. анатомии, гистол. и эмбриол., 1939, т. 21, вып. 2, с. 162—180.

37. Сидорова Е. В. Механизмы синтеза и секреции иммуноглобулинов. Успехи соврем. биол., 1974, т. 78, вып. 2 (5), с. 234—254.
38. Суворов Е. К. Основы ихтиологии. Л., 1948. 580 с.
39. Сукачева Г. И. Особенности реакции рыб (*Cyprinus carpio* L.) на антигенное раздражение. — Автореф. канд. дис., Баку, 1975. 23 с.
40. Тунгусова В. И. Аллергические реакции на туберкулин у рыб. — Тез. докл. I Всесоюз. совещ. по инфекц. болезням рыб, М., 1972, с. 86—87.
41. Фонталин Л. Н. Иммунологическая реактивность лимфоидных органов и клеток. Л., 1967. 184 с.
42. Фрейдлин И. С. Макрофаги в иммуногенезе. — Ж. микробиол., 1971, № 4, с. 54—60.
43. Фриденштейн А. Я., Чертков И. Л. Стволовая лимфоидная клетка и ее дифференцировка. — Успехи совр. биол., 1968, т. 66, вып. 1 (4), с. 87—101.
44. Фриденштейн А. Я., Чертков И. Л. Клеточные основы иммунитета. М., 1973. 305 с.
45. Хохлова Т. В. Морфологические основы реакции рыб на антигенное раздражение. — Автореф. канд. дис., Петрозаводск, 1974. 19 с.
46. Шлейфер Г. С. Фагоцитарная активность лейкоцитов крови карпов, обитающих в растворах стронция-90. — Тез. докл. Всесоюз. совещ. по новым методам лечения инфекц. заболеваний рыб, М., 1975, с. 120—122.
47. Bolton L. L. Note on the structure of the lymphoid organ (organ of Liedig) and spleen of *Hexanchus corinus*. — J. Anat., 1927, vol. 61, N 1, p. 60—63.
48. Chiller J. M., Hodgins H. O., Chambers V. C., Weiser R. S. Antibody response in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). I. Immunocompetent cells in the spleen and anterior kidney. — J. Immunol., 1969, vol. 102, N 5, p. 1193—1201.
49. Chiller J. M., Hodgins H. O., Weiser R. S. Characteristics and application of the Jerne test in studies of the immune response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). — Fed. Proc. Amer. Soc. exp. Biol., 1968, vol. 27, p. 1551—1556.
50. Chiller J. M., Hodgins H. O., Weiser R. S. Antibody response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). 2. Studies on the kinetic development of antibody-producing cells and on complement and natural hemolysin. — J. Immunol., 1969, vol. 102, N 5, p. 1202—1207.
51. Fange R. Comparative aspects of excretory and lymphoid tissue. — In: Phylogeny of immunity. Florida, 1966, p. 141—143.
52. Fijan N. Hemopoetska funkcija rubrega nekin orsta sladkovodnih riba. — Biol. glas. Hrvatsko prirodnost. drust., 1964, vol. 14, N 1—2, p. 164—216.
53. Francesco L. Architecture reticoloistricitarie perivasali (pericapillari) nella milza dei pesci teleostei. — Hematologica, 1965, vol. 50, N 2, p. 85—118.
54. Good R. A., Finstag J., Pollara B., Gabrielsen E. Morphological studies on the evolution of the lymphoid tissues among the lower vertebrates. — In: Phylogeny of immunity. Florida, 1966, p. 149—170.
55. Good R. A., Gabrielsen E. The thymus and lymphoid organs in the development of the immune system. — Human Transplantation, 1968, N 2, p. 526—536.
56. Hildemann W. H., Cooper E. L. Immunogenesis of homograft reactions in fishes and amphibians. — Fed. Proc., 1963, vol. 22, p. 1145—1155.
57. Hoskins E. R., Hoskins M. M. The reaction of selachi to injections of various non-toxic solutions and suspensions (including vital dyes) and excretory toxins. — J. Exptl Zool., 1918, vol. 27, N 1, p. 101—156.
58. Klontz G. W. Haematological techniques and the immune response in Rainbow trout. — Dis. fish. Proc. Symp., London, 1971. L. 1972, p. 89—99.
59. Klontz G. W., Yasutake W. T., Pariost T. J. Virus diseases of the salmonide in Western Unated states. III. Immunopathological aspects. — Ann. N. Y. Acad. Sci., 1965, vol. 126, p. 531—542.
60. Maximov A. Untersuchungen über Blut und Bindewege. X. Über die Blutbildung bei den selachiern in erwachsenen und embrionalen Zuständen. — Arch. Mikr. Anat., 1923, Bd 97, S. 623—713.
61. Neale N. G., Chavin W. Lymphocitis tissue alternations during the primary immune response of goldfish (*Carassius auratus* L.). — Michigan Acad., 1971, vol. 3, N 4, p. 23—30.
62. Nossal G. J., Ada G. L., Austin C. M. Behaviour of active bacterial antigens during the induction of the immune response. — Nature, 1963, vol. 199, N 4900, p. 1257—1264.
63. Papermaster B. W., Condie R. M., Finstag J., Good R. A. Phylogenetic development of adaptive immunity. — Federat. Proc., 1963, vol. 22, p. 1152—1155.
64. Papermaster B. W., Condie R. M., Finstag J., Good R. A. Evolution of immune response. I. The phylogenetic development of adaptive immunologie responseveness in vertebrates. — J. Exptl Med., 1964, vol. 119, N 1, p. 105—129.
65. Pontius H., Ambrosius H. Beitrage zur immunologie poikilothermer Wirbeltiere. IX. Untersuchungen zur zellulären Grundlage humoraler immuno-

- reaktionen der Knochenfische am Beispiel der Flussharshes (*Perca fluviatilis* L.). — Acta biol. med. germ., 1972, Bd 29, S. 319—339.
66. R i d g w a y G. J., H o d g i n s H. O., K l o n t z G. W. The immune response in teleosts. In: Phylogeny of immunity. Florida, 1966, p. 199—207.
67. R o b b i n s H. S. Tissue culture studies of the human lymphocyte; experiments under controlled conditions, provide new information on this cells function and potentiality. — Science, 1964, vol. 146, N 3652, p. 1648—1654.
68. S m i t h A. M., P o t t e r M., M e r c h a n t E. P. Antibody-forming cells in the pronephros of the teleost *Lepomis macrochirus*. — J. Immunol., 1967, vol. 99, N 5, p. 876—882.
69. T o p f W. Die Blutbildung und die Blutbildungsstätten beim Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) — Z. Fischerei, 1955, Bd 4, H. 3/4, S. 257—289.
70. W e a t h e r l e y A. H. A note on the head kidney of the blood vascular system. — Proc. Zool. Soc. London, 1963, vol. 140, N 2, p. 161—167.
-

АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА СЫВОРОТКИ КРОВИ РЫБ

Сыворотка крови рыб, как и высших позвоночных животных, кроме транспортировки питательных веществ, продуктов метаболизма, поддержания коллоидно-осмотического давления и т. д., оказывает угнетающее действие на возбудителей заразных болезней и принимает участие в нейтрализации ядов и токсинов [2, 3, 9, 15, 21, 24].

Действие защитных свойств сыворотки крови рыб зависит от индивидуальных особенностей, возраста, физиологического состояния организма и сезона года [9, 11, 14, 16]. Для того чтобы понять причины, вызывающие изменения защитных функций сыворотки крови, исследования должны проводиться с учетом физиолого-биохимического состояния организма, определяемого составом сыворотки и отношением между ее отдельными фракциями.

Настоящее исследование посвящено изучению антимикробных свойств сыворотки крови рыб и факторов, влияющих на степень проявления ее защитных свойств. В работе рассматриваются действие сыворотки крови рыб на развитие различных видов бактерий, влияние сроков хранения, изменения белковых фракций, общих липидов, белок-липидного отношения и роли отдельных компонентов белка (альбумина, α -, β - и γ -глобулинов) сыворотки на ее антимикробные свойства.

Материалом для исследования послужила сыворотка крови более 1000 лещей Рыбинского водохранилища. Сбор материала и экспериментальные исследования проводились в разные периоды года. Бактериостатические свойства сыворотки определялись с помощью разработанного нами радиоуглеродного метода [12] и фотонейфелометрического колориметрирования [19]. Постановка опытов изложена ранее [12, 13]. Взаимосвязь белковых фракций и защитных свойств сыворотки крови определяли путем сопоставления и статистической обработки данных электрофореза с показателями подавляющего действия [1]. Содержание липидов в сыворотке измеряли по методу Фолча [10]. Антимикробные свойства общих белков и липидов устанавливали после фракционирования их на отдельные компоненты методом Фолча и гексан-флороформной смесью. Альбумины, общие глобулины, α -, β - и γ -глобулины из сыворотки получали по Конну [17] с помощью сернокислого аммония. Обессоливание проводили путем гель-фильтрации через молекулярное сито-сефадекс G-25 по Кульбергу [5]. Влияние общих липидов на развитие бактерий определяли в 5%-м хлороформном растворе. Сывороточный протеин испытывали после 15-кратного разведения 25%-го раствора поваренной соли. Конечное разведение сыворотки альбумина и глобулинов по белку равнялось 5%. Белково-липидное соотношение оценивалось по отношению показателей веса сывороточных белков и липидов, определяемых после их разделения. Электрофорез белков проводился в агаровом геле [4].

ВЛИЯНИЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ НА РАЗВИТИЕ РАЗНЫХ ВИДОВ БАКТЕРИЙ

Сыворотка крови леща оказывает антибиотическое действие на развитие микробов (табл. 1). Степень влияния ее на развитие бактерий зависит от вида микроорганизмов и разведения сыворотки. В каждом случае проведено по 10 опытов.

Т а б л и ц а 1

Угнетающее действие сыворотки рыб на развитие бактерий

Вид бактерий	Разведение сыворотки					
	1 : 1	1 : 5	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80
<i>Aeromonas punctata</i>	+	+	+	±	±	---
<i>Escherichia coli communis</i>	+	+	+	---	---	---
<i>Pseudomonas fluoresceus</i>	+	±	---	---	---	---
<i>Bacterium vulgare</i>	+	+	±	---	---	---
<i>Micrococcus lysodeiticus</i>	+	+	±	±	±	±
<i>Bacterium megaterium</i>	+	+	---	---	---	---

П р и м е ч а н и е. (+) — развитие бактерий подавляется; (±) — развитие бактерий обнаружено в 50% случаев опыта, (—) — отсутствие угнетающего действия сыворотки.

Полученные данные свидетельствуют об избирательном действии сыворотки крови леща на развитие микробов. Угнетающее действие сыворотки зависит от видовых особенностей микроорганизмов. Различная чувствительность микробов к воздействию сыворотки крови леща, видимо, обусловлена морфологическими и физиологическими характеристиками бактерий.

Поскольку *Ae. punctata* по сравнению с другими бактериями оказалась более чувствительной к ингибирующему действию сыворотки крови рыб, все последующие определения, связанные с изучением антимикробных свойств в различные периоды года в зависимости от возрастных, видовых, экологических особенностей рыб и факторов, влияющих на эти показатели, проводили с данным видом бактерий. Кроме того, *Ae. punctata* является возбудителем бактериальной формы краснухи пресноводных рыб [8, 22, 23].

ВЛИЯНИЕ СРОКОВ ХРАНЕНИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ НА ЕЕ ЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА

До сих пор неизвестны сроки хранения сыворотки крови рыб, не нарушающие ее иммунной активности. Поэтому антимикробные свойства сыворотки крови изучались через 2, 5, 10, 15, 20, 30 и 40 дней от момента взятия крови у рыб. Опыты ставились весной, летом и осенью. В каждый сезон года было взято 75 половозрелых лещей. Одновременно определяли электрофоретические свойства сывороточных белков и число белковых компонентов при различных сроках хранения сыворотки (табл. 2). Сыворотку крови хранили при температуре 4°. Показано, что при хранении уровень ее антимикробных свойств падает (табл. 2; рис. 1), а электрофоретическая подвижность сывороточных белков увеличивается (от 38.5 до 74.6 мм). Скорость разгонки белков и защитные свойства сыворотки в течение первых 8—10 дней хранения существенно не меняются. Параллельно с нарастанием электрофоретической подвижности белков увеличивается на 1 или 2 компонента число фракций, а величины защитных свойств сыворотки падают от 100%-го уровня до нуля. Если сыворотка крови через 2 дня в осенний период в разведении 1 : 6 полностью подавляла развитие микробов, то через 40 дней, наоборот, стимулировала. Степень снижения показателей антимикробных свойств сыворотки крови зависит от длительности хране-

ния и времени сбора материала. Защитные свойства сыворотки рыб весной теряются через 15—20 дней, летом через 25—30, осенью через 40 дней (рис. 1).

Т а б л и ц а 2

Влияние срока хранения на электрофоретическую подвижность и число белковых фракций сыворотки крови леща

Номер опыта	2 дня		8 дней		15 дней		40 дней	
	э/п	п	э/п	п	э/п	п	э/п	п
1	37	5	44	5	59	6	76	6
2	37	4	38	5	56	6	78	6
3	44	5	45	6	57	6	80	7
4	36	4	45	5	65	6	75	6
5	40	4	42	4	66	6	69	6
6	33	5	33	5	65	5	69	6
7	37	4	40	6	62	6	75	7
8	44	5	46	5	62	5	—	—
9	35	5	40	5	68	6	—	—
10	42	5	44	6	64	7	—	—
Среднее:	38.5	4.6	41.7	5.2	62.4	5.9	74.6	6.3

Примечание. э/п — электрофоретическая подвижность, мм за 7 ч разгонки в агаровом геле; п — число фракций.

Обнаруженное различие в снижении активности антимикробных свойств сыворотки рыб в процессе хранения, как показали результаты электрофоретических исследований, связано с изменением их физико-химических свойств. Весной и летом биологические и физико-химические свойства сыворотки нарушаются быстрее, чем осенью. Колебания этих свойств, по-видимому, обусловлены биохимическими сдвигами, происходящими в сыворотке рыб, и связаны с периодами годовых циклов рыб: нерестом, нагулом, зимовкой [18]. Изменения в составе сыворотки в основном происходят за счет колебания относительного содержания у самок альбумина и β -глобулинов, а у самцов — альбумина. У самок уровень общего белка и альбумина в период нереста снижается, а β -глобулинов повышается. В течение года изменяются не только содержание отдельных компонентов белка, но и качественный и количественный состав липидов [6, 7, 20]. Это хорошо подтверждается, как показано ниже, данными одновременного исследования защитных свойств сыворотки, электрофоретической подвижности сывороточных белков и белково-липидного соотношения.

ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ НА АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИОСТАТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СЫВОРОТКИ КРОВИ

Изменение белковых фракций отражается на показателях активности защитных свойств сыворотки крови. Статистическая обработка данных электрофоретического анализа белков и антимикробных свойств сыворотки крови методом нахождения главных компонент [1] показала, что особи, имеющие различные величины антимикробных свойств, по соотношению белковых фракций сыворотки распределяются на 13 основных групп (табл. 3). Главная роль в распределении особей по группам принадлежит низкомолекулярным белкам — альбумину и α -глобулинам (70% случаев), а только 30% — β - и γ -глобулинам.

Из анализа белковых спектров 300 особей, собранных в течение года и имеющих разные показатели иммунитета, следует, что на долю рыб с уров-

Т а б л и ц а 3

Взаимосвязь активности антимикробных свойств с относительным содержанием белковых фракций сыворотки крови леща в различные периоды года

Номер варианта	n	А, %	Глобулины, %			Частота встречаемости, %				А/эф, %
			α	β	γ	зима	весна	лето	осень	
С низким уровнем А/эф										
1	11	15	26	50	9	—	—	100	—	2
2	5	17	41	24	18	—	80	20	—	9
3	10	20	15	44	21	10	90	—	—	10
4	54	25	37	22	16	14	24	36	24	30
Со средним уровнем А/эф										
5	40	30	38	20	12	12.5	50	5	32.5	50
6	15	36	16	35	13	33	67	—	—	65
С высоким уровнем А/эф										
7	71	35	29	22	14	15	50	20	15	88
8	10	16	38	37	10	20	80	—	—	84
9	43	25	32	32	11	24	16	3	57	91
10	10	24	31	25	20	20	70	10	—	76
11	12	21	50	18	12	—	—	—	100	89
12	11	19	26	43	12	—	100	—	—	77
13	8	43	44	7	6	25	25	—	50	91

Примечание. n — число рыб, А — альбумин, %, А/эф — уровень активности антимикробного эффекта сыворотки крови, %.

нем активности антимикробного эффекта до 30% приходится 4 варианта сочетаний белковых компонентов, от 31 до 65% — 2 варианта, свыше 70% — 7 вариантов, выявленных соответственно у 26, 18 и 56% исследуемых рыб (табл. 3). Варианты этих сочетаний отличаются по количеству отдельных фракций и по частоте встречаемости их в разные периоды года. Особи, обнаруженные летом, имеют 1-й вариант сочетаний белковых фракций, осенью — 11-й, весной — 12-й, зимой и весной — 3-й, 6-й и 8-й, весной и летом — 2-й, зимой, весной и летом — 10-й, во все времена года — 4-й, 5-й, 7-й и 9-й, осенью, зимой и весной — 13-й. У особей, имеющих низкие показатели иммунитета, альбумина было меньше, чем α- и β-глобулинов (1-й и 2-й варианты), а в ряде случаев альбуминов оказалось больше (1-й и 4-й варианты), чем γ-глобулинов, или равно количеству этих белков (2-й и 3-й варианты).

У лещей с уровнем активности бактериостатических свойств сыворотки крови от 31 до 70% относительное количество альбумина меньше, чем α-глобулинов, и больше, чем β- и γ-глобулинов (5-й вариант), или отношение альбумина к β-глобулинам равно единице (6-й вариант). Отношения белковых фракций у особей с высокими величинами актив-

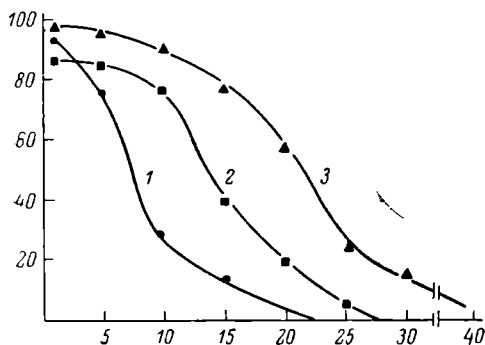


Рис. 1. Влияние срока хранения на уровень антимикробных свойств сыворотки крови.

1 — весна, 2 — лето, 3 — осень. По оси ординат — уровень подавляющего действия, %; по оси абсцисс — время, дни.

ностей антимикробного эффекта сыворотки крови отличались от таковых 1-й и 2-й групп. У лещей с 10-м и 11-м вариантами белковых сочетаний отмечено равное отношение альбумина и β -глобулинов, у особей 8-го и 9-го вариантов — α -глобулинов с β -глобулинами, 13-го — альбумина с α -глобулинами, а у рыб 7-го варианта альбумина было больше, чем α , β - и γ -глобулинов.

Таким образом, исследованиями связей между относительным содержанием белков и активностью антимикробного эффекта установлено, что показатели защитных свойств сыворотки крови в течение года зависят от соотношения белковых фракций. Показатели белковых фракций и варианты их сочетаний, как и активность защитных свойств сыворотки крови в течение года, сильно колеблются. Варианты сочетаний белковых фракций сыворотки крови можно использовать при оценке иммунологической разноразнокачественности рыб.

ВЛИЯНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЛЕЩА НА РАЗВИТИЕ БАКТЕРИЙ

До сих пор никем не рассматривалась зависимость бактериостатического действия сыворотки от ее отдельных компонентов. Наши исследования показали, что отдельные компоненты сыворотки крови рыб на развитие бактерий оказывают различное действие (табл. 4). Интенсивность подавляющего действия α -глобулинов была выше, чем остальных фракций. Альбумины и β -глобулины задерживали развитие бактерий с одинаковой интенсивностью, γ -глобулины обладали более слабым ингибирующим действием, чем α -глобулины.

Т а б л и ц а 4
Антимикробный эффект отдельных компонентов сыворотки
крови леща, %

Номер опыта	Интактная сыворотка	Альбумины	Глобулины		
			α	β	γ
1	98	9	43	25	23
2	81	—	54	46	—
3	40	25	28	25	22
4	78	25	15	40	15
5	75	31	28	21	20
6	80	10	44	25	21
7	69	29	35	16	15
8	85	24	36	18	22
9	92	33	41	11	15
10	86	27	23	17	23
Среднее:	78.4	21.3	34.7	24.1	17.9

Результаты свидетельствуют, что антимикробное свойство компонентов сыворотки в среднем снижается на 60—80% по сравнению с интактной сывороткой. Каждая фракция сыворотки угнетала развитие бактерий с различной интенсивностью. По степени угнетающего действия отдельных фракций на развитие микробов на 1-м месте стоят α -глобулины (34.7%), затем β -глобулины (24.1%), альбумины (21.3%) и γ -глобулины (17.9%).

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЛЕЩА

Подобные исследования показали, что уровни активности бактериостатического действия снижаются весной и в начале лета, особенно в первый период после нереста [11]. К концу нагульного периода они повышаются

и в течение зимы существенно не меняются. Аналогичные изменения в разные периоды года в сыворотке крови леща установлены по содержанию общих липидов (рис. 2) и белковых фракций [18]. Варианты 4-й, 5-й, 7-й и 9-й белковых сочетаний у особей, имеющих различную величину защитных свойств сыворотки крови, обнаружены во все времена года (табл. 3). Активность антимикробных свойств сыворотки лещей с 4-м и 5-м вариантами белковых сочетаний в течение года колебалась у особей, сыворотка которых не угнетала развитие бактерий, и у особей, чья сыворотка полностью подавляла развитие микробов. Сыворотка, оказывающая стимулирующее действие на развитие бактерий, чаще выявлялась у рыб в весенне-летний период. Существенная роль в определении антимикробного эффекта принадлежит другим, небелковым компонентам сыворотки. Это подтверждается также данными исследований антимикробного эффекта сыворотки крови лещей, имеющих различный уровень содержания

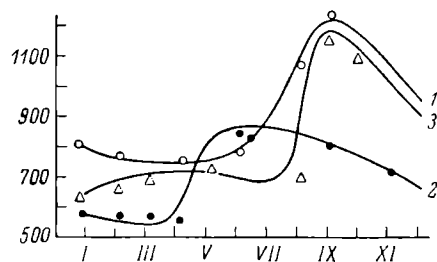


Рис. 2. Сезонная динамика липидов сыворотки крови леща.

1 — 1974 г., 2 — 1975 г., 3 — 1976 г. По оси ординат — количество общих липидов, мг%; по оси абсцисс — месяцы.

общего жира [11]. Сыворотка крови, полученная от особей с полостным жиром 0 и I балл, угнетала развитие бактерий слабее, чем таковая, полученная от особей с показателями внутреннего жира II—IV балла. Поскольку содержание общих липидов в сыворотке крови рыб в течение года сильно колеблется, нами впервые проведено исследование белково-липидного соотношения у особей, имеющих различные показатели иммунитета.

Сыворотка крови леща по уровню антимикробного эффекта и по белково-липидным сочетаниям подразделена на 3 группы. К 1-й группе относили сыворотку лещей, которая либо не угнетала, либо подавляла развитие бактерий на 33%, ко 2-й группе — с вариацией антимикробного эффекта от 34 до 66%, к 3-й — от 67 до 100%. Анализу подвергнуто 120 экз. леща. Оказалось, что по уровню антимикробного эффекта сыворотка 22 экз. относится к 1-й группе, 43 — ко 2-й, 55 — к 3-й.

Исследованиями установлено, что между белково-липидными соотношениями и уровнем антимикробных свойств существует линейная зависимость. Белково-липидное соотношение в сыворотке 1-й группы с уровнем антимикробного эффекта $10 \pm 0.7\%$ (в среднем) равнялось 5.21 : 1, 2-й группы с бактерицидной активностью $55.3 \pm 0.4\%$ — 3.4 : 1, 3-й группы с величинами антимикробных свойств $83.5 \pm 0.4\%$ — 2.7 : 1 (табл. 5).

Таблица 5
Статистическая характеристика белково-липидного соотношения и уровней антимикробных свойств сыворотки крови лещей

Статистические параметры	Белково-липидные соотношения по группам			Активность антимикробных свойств по группам, %		
	I	II	III	I	II	III
Число рыб	22	43	55	22	43	55
Средняя арифметическая	5.2 : 1	3.4 : 1	2.7 : 1	9.95	55.3	83.5
Ошибка среднего	0.49	0.28	0.22	0.67	0.36	0.35
Коэффициент вариации	0.43	0.53	0.60	0.31	0.03	0.03
Коэффициент корреляции	+0.99	+0.98	+0.9	+0.99	+0.98	+0.9

Приведенные данные свидетельствуют о том, что чем больше белка приходится на долю органического вещества сыворотки крови по сравне-

нию с липидами, тем слабее угнетается развитие бактерий и, наоборот, чем больше доля липидов на единицу веса органического вещества сыворотки крови, тем сильнее угнетается развитие микробов.

Имеющиеся литературные данные свидетельствуют, что сыворотка крови рыб обладает важными для сохранения постоянства внутренней среды иммунологическими свойствами: гемолитическими, литическими, бактериостатическими и т. д. [9, 12, 24]. Степень проявления ее защитных свойств зависит от видовых, экологических, возрастных особенностей рыб, периода года и зараженности их паразитами [9, 11, 13, 16]. Иммунизация стимулирует бактериостатическую активность сыворотки рыб [12]. Угнетающее действие сыворотки по отношению к различным бактериям проявляется с разной интенсивностью и зависит от вида микроорганизмов и длительности ее хранения. При хранении активность антимикробных свойств сыворотки крови падает. Иммунологические свойства сыворотки крови, полученной от рыб весной, в первый период после нереста и летом в середине нагульного периода терялись быстрее, чем таковые сыворотки, собранной осенью перед зимовкой. Снижение уровня антимикробных свойств мы объясняем изменением физико-химических свойств и разрушением связей между отдельными компонентами сыворотки крови. Это подтверждается данными анализа электрофоретической подвижности сывороточных белков и изменением числа фракций при хранении сывороток. Электрофоретическая подвижность белковых фракций через 40 дней достоверно увеличивается почти в 2 раза, а число фракций на 1—2 компонента.

Сыворотка крови леща, полученная осенью, отличается от таковой, собранной весной и летом, по вариантам сочетаний белков и содержанию липидов. Весной резко снижается доля низкомолекулярных белков (альбуминов и α -глобулинов), а высокомолекулярных (β - и γ -глобулинов) повышается, осенью — наоборот [18]. Как известно [2], альбумины в организме животных выполняют питательную и транспортную функции, определяют коллоидно-осмотическое давление, регулируют электролитическое равновесие и содержание катионов магния, кальция и др. Вполне вероятно, что снижение доли этих белков весной влияет на защитные свойства сыворотки крови рыб. В опытах по определению роли отдельных фракций сыворотки установлено, что бактериостатическая активность этих компонентов по сравнению с интактной сывороткой снижается. Активность антимикробного эффекта сыворотки крови леща, как показали данные определения белково-липидных соотношений, зависит от доли белков и липидов. В случае, когда белково-липидное соотношение уменьшается, антимикробный эффект сыворотки крови увеличивается. Для установления степени участия липидов в проявлении антимикробного эффекта необходимы дальнейшие исследования.

Таким образом, степень подавляющего действия сыворотки крови рыб на развитие бактерий зависит от вида последних. Активность ее антимикробных свойств в процессе хранения снижается. Бактериостатический эффект исчезает весной на 15—20 дней раньше, чем летом и осенью. Антимикробный эффект сыворотки крови рыб в разные периоды года сильно колеблется и зависит от соотношения белковых фракций и белково-липидного отношения. В 70% случаев изменение исследуемых показателей зависит от содержания альбумина и α -глобулина и только в 30% — от содержания β - и γ -глобулинов. Между белково-липидным соотношением и уровнем антимикробных свойств сыворотки крови существует линейная зависимость. Чем большее количество белка приходится на долю органического вещества сыворотки по сравнению с липидами, тем слабее угнетается развитие бактерий, и наоборот. Антимикробный эффект сыворотки крови зависит от сбалансированности входящих в состав сыворотки компонентов и является индикатором физиолого-биохимического состояния организма.

1. А н д е р с о н Т. Введение в многомерный статистический анализ. М., 1963. 500 с.
2. А н д р и а н о в а И. Г. Плазма крови. — В кн.: Физиологические системы крови. Л., 1968, с. 14—41.
3. В л а д и м и р о в В. Л. Антителообразовательная функция у рыб и ее связь с гуморальными факторами естественного иммунитета — комплементом и лизоцимом. — Тез. докл. симп. по паразитам и болезням рыб и водных беспозвоночных, Л., 1966, с. 10—12.
4. Г р а б а р П., Б у р т э н П. Иммуно-электрофоретический анализ. М., 1963. 206 с.
5. К у л ь б е р г А. Я. Ионообменная хроматография и гель-фильтрация в иммунологии. — В кн.: Иммунохимический анализ. М., 1968, с. 21—39.
6. Л а п и н В. И. Специфика сезонной динамики липидного состава у различных подвидов и форм речной камбалы *Platichthus flesus* (L.). — Вопр. ихтиол., 1977, т. 17, вып. 1 (102), с. 96—110.
7. Л а п и н В. И., Ш а т у н о в с к и й М. И. О связи некоторых сторон липидного обмена с экологией рыб. — В кн.: Экологическая физиология рыб. Киев, 1976, ч. 2, с. 40—41.
8. Л о б у н ц о в К. А. Краснуха и «краснухоподобные болезни» рыб (этиология и дифференциальная диагностика). — Тез. докл. науч. конф. по новым методам и опыту оздоровления рыбохозяйственных водоемов от заразных болезней рыб, М., 1974, с. 70—74.
9. Л у к ь я н е н к о В. И. Иммунобиология рыб. М., 1971. 364 с.
10. М а р к о в а М. Н. Методы изучения состояния липидного обмена. — В кн.: Биохимические методы исследования в клинике. М., 1969, с. 283—335.
11. М и к р я к о в В. Р. Актуальные вопросы иммунологии. — В кн.: Теоретические аспекты рыбохозяйственных исследований водохранилищ. Л., 1977, с. 83—97.
12. М и к р я к о в В. Р., Г о н ч а р о в Г. Д., Р о м а н е н к о В. И. Использование гетеротрофной ассимиляции углекислоты для изучения бактериостатических свойств сыворотки крови рыб. — ДАН СССР, 1967, т. 177, № 5, с. 1216—1218.
13. М и к р я к о в В. Р., З у б к о в а Л. А., С т е п а н о в а Г. А. О некоторых особенностях зараженности леща паразитами в период нереста. — Бюл. Всесоюз. ин-та эксперим. ветеринарии, 1975, вып. 20, с. 40—45.
14. М и к р я к о в В. Р., М е ж н и н Ф. И., В о л о д и н В. М. Иммуно-физиологическое состояние самок леща [*Abramis brama* (L.)] в период резорбции икры. — Гидробиол. журн., 1976, т. 12, вып. 3, с. 79—82.
15. М и к р я к о в В. Р., Р о м а н е н к о В. И., Т р о ф и м о в а Л. В., Г о н ч а р о в Г. Д. К изучению механизма иммунитета у рыб. — В кн.: Флора, фауна и микроорганизмы Волги. Рыбинск, 1974, с. 264—285.
16. М и к р я к о в В. Р., С и л к и н Н. Ф. О функционировании иммунной системы у рыб в различные периоды годового цикла. — В кн.: Экологическая физиология рыб. Киев, 1976, ч. 2, с. 18.
17. С е й ф у л и н М. Г. О препаративном разделении белковых фракций сыворотки крови. — Матер. I конф. биохимиков, физиол. и фармакол. Средней Азии и Казахстана, Ташкент, 1958, с. 35—37.
18. С и л к и н Н. Ф. Сезонные изменения белков сыворотки крови леща Рыбинского водохранилища. — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1977, № 34, с. 60—64.
19. С м и р н о в а О. В., К у з ь м и н а Т. А. Определение бактерицидной активности сыворотки методом фотонейфелометрии. — Ж. микробиол., эпидемиол., иммунобиол., 1966, № 4, с. 8—11.
20. Ш у л ь м а н Г. Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб. М., 1972. 368 с.
21. K u l o v H. Die Serumproteine der Fische. — Dtsch. Fisch. Ztg., 1966, Bd 13, N 12, S. 379—384.
22. S c h a p e r k l a u s W. Fisch-krankheiten. Berlin, 1954. 708 S.
23. S c h r e k e n b a c h K. Aktive immunisierung von fischen gegen *Vibrio anguillarum*. — Zt. Binnenfisch. DDR, 1974, Bd 21, N 6, S. 167—172.
24. S i g e l M., R u s s e l W. J., J e n s e n J., B e a s l e y R. Natural immunity in marine fish. — Bull. Office internat epizooties, 1968, vol. 69, N 9—10, p. 1340—1350.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЦЕСТОД РЫБ ВОДОЕМОВ ВОЛГО-БАЛТИЙСКОЙ СИСТЕМЫ

(Рыбинское, Шекснинское водохранилища,
Белое, Онежское, Ладожское озера)

В результате сооружения каскада гидроэлектростанций и зарегулирования стока Волги возник ряд водохранилищ, что привело к существенным изменениям экологических условий в этих водоемах. Создание глубоководного Волго-Балтийского водного пути резко увеличило интенсивность судоходства, что также заметно усилило воздействие антропогенного фактора. Крупные преобразования, касающиеся перестройки гидрологического режима, водной флоры, фауны беспозвоночных и рыб, не могли не отразиться на паразитологической ситуации в этих районах.

Оценка современной паразитологической картины в водоемах Волго-Балтийской системы (Ладожское, Онежское, Белое озера, Шекснинское и Рыбинское водохранилища) приобрела особую значимость в связи с грандиозными планами по переброске вод северных водоемов в бассейн Волги. Чтобы прогнозировать возможные изменения, необходимо произвести глубокий экологический анализ паразитов рыб и в особенности тех групп, которые представляют серьезную опасность для человека и животных в связи с существующей угрозой заноса их в бассейн Волги. Из них весьма важное практическое значение имеют представители класса ленточных червей (*Cestodea*), среди которых встречаются наиболее вредоносные гельминты для человека (лентец широкий) и возбудители ряда паразитарных заболеваний (лигулез, триенофороз, ботриоцефалез) промысловых рыб, приносящих большой экономический ущерб рыбному хозяйству.

Паразитофауна рыб водоемов Волго-Балтийской системы исследована с разной степенью полноты. Изучение паразитов рыб Рыбинского водохранилища велось систематически, начиная со 2-го года его существования, и с небольшими перерывами продолжается до настоящего времени: с 1942 по 1954 г. В. П. Столяровым [35—37], в 1956—1957 гг. Н. А. Изюмовой [11—13]. Полученные нами данные охватывают период с 1966 по 1976 г. Рыбы Шекснинского водохранилища, созданного сравнительно недавно, паразитологическому исследованию до сих пор не подвергались. Паразиты рыб Белого озера, представляющего в настоящее время часть Шекснинского водохранилища, изучены весьма фрагментарно в 1950 г. [30]. Наши исследования на этих водоемах проводились с 1970 по 1976 г.

Основные исследования паразитов рыб Онежского озера относятся к началу 30-х годов [28—29]. Заражение рыб этого озера плероцеркидями лентеца широкого изучалось М. Е. Морозовой [26]. Наиболее полное исследование паразитофауны Ладожского озера проведено в 1948 г. А. Ф. Барышевой и О. Н. Бауером [3]. Кроме того, имеется специальная работа, посвященная зараженности рыб этого озера лентецом широким [1].

Таким образом, в результате исследований рыб водоемов Волго-Балтийской системы, проведенных 20—40 лет назад, стали известны видовой состав паразитов рыб, некоторые особенности распределения их в раз-

ных участках водоемов и закономерности формирования паразитофауны в водохранилищах. Первый необходимый этап изучения паразитологической ситуации — фаунистический, близок к завершению. Для выяснения роли тех или иных паразитов необходимо более углубленное, всестороннее изучение отдельных систематических групп.

Задачей наших исследований было выяснить распределение и численность этих гельминтов рыб по водоемам, круг их промежуточных хозяев в природе и эксперименте, выявить возрастную, сезонную и многолетнюю динамику заражения рыб, расшифровать или уточнить жизненные циклы некоторых цестод, наконец, установить зависимости зараженности рыб от многих экологических факторов и влияние их на личиночные и взрослые стадии в онтогенезе цестод.

Сравнение наших материалов за последние годы с данными других авторов, полученными 20—40 лет назад, дают возможность проследить изменение в инвазированности рыб цестодами за длительный промежуток времени и оценить современное состояние цестодной ситуации в водоемах Волго-Балтийской системы.

Исходным материалом для работы послужили первичные данные по цестодам, полученные в результате полных или частичных паразитологических вскрытий 4028 экз. рыб 21 вида из Рыбинского и Шекснинского водохранилищ, Белого, Онежского и Ладожского озер (табл. 1).

Т а б л и ц а 1
Видовой состав и количество рыб, обследованных в водоемах
Волго-Балтийской системы

Вид рыб	Водохранилища		Озера	
	Рыбинское	Шекснинское	Онежское	Ладожское
Сиг — <i>Coregonus lavaretus</i>	—	—	13	50
Ряпушка — <i>C. albula</i>	—	—	58	44
Рипус — <i>C. albula</i> isp. <i>ladogensis</i>	—	—	—	180
Белозерская ряпушка — <i>C. sardinella vessicus</i>	59	95	—	—
Корюшка — <i>Osmerus eperlanus</i> n. <i>ladogensis</i>	—	—	24	164
Енеток — <i>O. eperlanus eperlanus</i> m. <i>spirinchus</i>	57	40	—	—
Щука — <i>Esox lucius</i>	526	41	25	32
Лещ — <i>Abramis brama</i>	92	60	—	70
Синец — <i>A. ballerus</i>	50	30	—	30
Белоглазка — <i>A. sapa</i>	—	15	—	—
Уклейка — <i>Alburnus alburnus</i>	—	18	—	—
Густера — <i>Blicca bjoerkna</i>	45	42	—	30
Язь — <i>Leuciscus idus</i>	50	30	—	—
Елец — <i>L. leuciscus</i>	54	—	—	—
Чехонь — <i>Pelectus cultratus</i>	30	18	—	—
Плотва — <i>Rutilus rutilus</i>	70	30	—	50
Сом — <i>Silurus glanis</i>	5	—	—	—
Налим — <i>Lota lota</i>	261	30	33	54
Ерш — <i>Acerina cernua</i>	569	83	95	174
Судак — <i>Lucioperca lucioperca</i>	60	40	25	31
Окунь — <i>Perca fluviatilis</i>	252	47	25	51

За указанный период нами было исследовано 14 наиболее массовых и часто встречающихся видов цестод: *Caryophyllaeus laticeps*, *Cyathocephalus truncatus*, *Diphyllbothrium latum*, *Ligula intestinalis*, *Triaenophorus nodulosus*, *T. crassus*, *Eubothrium rugosum*, *E. crassum*, *Proteocephalus exiguus*, *P. torulosus*, *P. percae*, *P. cernuae*, *P. longicollis*, *P. osculatus*. Некоторые виды цестод (например, *D. dendriticum* и др.), сравнительно редко встречающиеся в этих водоемах, мы не рассматривали.

Наиболее полный и обстоятельный материал получен из рыб Рыбинского водохранилища.¹ Этот искусственный водоем относится к числу крупнейших водохранилищ мира, созданных затоплением речных долин. Оно было создано в 1941 г. в результате перекрытия плотинами рек Волги и Шексны выше Рыбинска, заполнение его закончилось в 1947 г. По водохранилищу проходит один из важнейших участков Волго-Балтийского водного пути. Длина его превышает 140 км, ширина свыше 60 км. В процессе формирования водохранилища его фауна претерпела существенные изменения: речная фауна сменилась фауной озерного типа.

Формирование зоопланктона водохранилища в основном завершилось в течение первых лет существования водоема. В его составе богато представлены ветвистоусые и веслоногие рачки, наиболее многочисленные в южной части водохранилища [33].

Произошли изменения и в видовом составе ихтиофауны: выпали проходные рыбы, появились, проникнув из Белого озера, снеток и ряпушка, отмечено падение численности многих видов рыб (щука, лещ, густера, язь) [4, 33]. Достаточный кислородный режим, наличие песчаных грунтов в прибрежной зоне, обилие копепоид — промежуточных хозяев, способствуют осуществлению жизненных циклов цестод и поддержанию инвазии рыб на высоком уровне.

В Рыбинском водохранилище исследование локальных различий зараженности рыб цестодами проводилось в Волжском, Моложском, Центральном и Шекснинском плесах. Сезонная динамика заражения щук *T. nodulosus* и *T. crassus*, налима — *E. rugosum* прослежена по месяцам в разные сезоны в течение нескольких лет.

Влияние абиотических факторов на ранние стадии развития цестод изучалось экспериментально по методике, описанной нами ранее [17, 18], как и выявление первых промежуточных хозяев путем экспериментального заражения копепоид из Рыбинского водохранилища [22].

Шекснинское водохранилище, состоящее из 2 русловых (зарегулированные рр. Шексна и Ковжа) и 2 озерных (Сизьменское расширение Шексны и зарегулированное Белое озеро) участков, заполнено до проектной отметки в 1964 г. Исследование паразитов рыб проводилось на всем протяжении Шекснинского водохранилища и в разных зонах Белого озера с 1970 по 1976 г. Большой интерес представляет сравнительное изучение паразитов рыб Шекснинского водохранилища и Белого озера как водоемов разного типа, соединенных между собой, но все же сохранивших определенную обособленность.

Ладожское и Онежское озера — самые крупные в Европе. Северо-западная часть Ладожского озера резко отличается от южной гидрологическим и гидробиологическим режимами. Исследования проводились с целью установить различие в зараженности рыб цестодами в разных участках Ладожского озера в период с 1970 по 1976 г.: в юго-восточной части озера (Волховская и Свирская губы, район рр. Олонки и Видлицы), в северо-восточной части (район о-ва Мантсинсари, шхеры) и в западной части озера (район Никулясы, о-ва Коновец и г. Приозерска). В Онежском озере работы проводились в Свирской губе, районе Бесова носа, Петрозаводской губе и в Заонежье в 1970—1974 гг.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕСТОД У РЫБ В ВОДОЕМАХ ВОЛГО-БАЛТИЙСКОЙ СИСТЕМЫ

Diphyllobothrium latum. Наиболее крупные и древние очаги дифиллоботриоза связаны с Ладожским и Онежским озерами, Финским заливом, озерами Карелии и Финляндии, где зараженность людей и

¹ Выражаю глубокую благодарность студенту ЛГУ И. С. Плотникову за помощь в обработке материала.

рыб очень высока. Все более серьезное санитарно-эпидемиологическое значение приобретает проблема дифиллоботриоза в бассейне Волги в связи с развитием транспортных связей после сооружения Волго-Балтийского канала и созданием каскада водохранилищ. В поддержании этих очагов основная роль принадлежит лентецу широкому — *D. latum*, который вызывает опасное заболевание человека и некоторых плотоядных животных, паразитируя в них на стадии плероцеркоида. В изучаемых водоемах исследовано 15 видов рыб, из которых 5 (налим, щука, окунь, ерш, судак) оказались носителями плероцеркоидов лентеца широкого (табл. 2). У сига, ряпушки, корюшки и трехиглой корюшки Ладожского и Онежского озер встречаются другие виды *Diphyllbothrium*, карповые свободны от личинок этих цестод.

Т а б л и ц а 2
Зараженность рыб водоемов Волго-Балтийской системы
D. latum (1968—1976 гг.)

Водоем	Исследовано рыб	Из них заражено	Заражен- ность, %	Средняя интен- сивность зара- жения, экз.
Щ у к а				
Рыбинское водохранилище	526	288	54.7	3.3
Шекснинское водохранилище	20	11	55.0	6.0
Белое озеро	21	11	52.3	2.0
Онежское озеро	25	22	88.0	8.7
Ладожское озеро	32	32	100	13.3
Н а л и м				
Рыбинское водохранилище	261	174	66.6	3.8
Шекснинское водохранилище	18	6	33.3	2.0
Белое озеро				
Онежское озеро	33	30	90.9	23.6
Ладожское озеро	54	35	64.8	18.3
Е р ш				
Рыбинское водохранилище	233	5	2.5	1.0
Шекснинское водохранилище	80	0	—	—
Белое озеро				
Онежское озеро	44	11	25.0	2.7
Ладожское озеро	84	49	58.3	2.9
О к у н ь				
Рыбинское водохранилище	144	7	4.8	1.8
Шекснинское водохранилище	46	2	4.2	1.0
Белое озеро				
Онежское озеро	25	10	40.0	3.6
Ладожское озеро	51	9	17.7	1.4

Наиболее высокой экстенсивностью и интенсивностью заражения плероцеркоидами лентеца широкого во всех исследованных водоемах характеризуются резервуарные хозяева-хищники — щука и налим. Инвазированность их в Ладожском и Онежском озерах значительно выше, чем у тех же видов рыб в Белом озере, Шекснинском и Рыбинском водохранилищах. Окунь и ерш в Ладожском и Онежском озерах заражены во много раз сильнее, чем в других водоемах Волго-Балта, где степень инвазии их не достигает 5%. Следует отметить, что зараженность ерша в Ладожском озере значительно выше, чем в Онежском, тогда как окунь сильнее поражен *D. latum* в Онежском озере, чем в Ладожском. Зараженность ерша

в Ладожском озере в несколько раз выше, чем у окуня, в Онежском же окунь инвазирован сильнее, чем ерш. Самая низкая инвазия личинками лентеца широкого во всех водоемах отмечена у судака.

В цикле развития *D. latum* окунь может служить 2-м промежуточным и резервуарным хозяином. Ерш рассматривается главным образом как второй промежуточный хозяин этого вида цестод. Будучи активными хищниками, основу питания которых составляют окуни и ерши [9, 10], щука и налим — резервуарные хозяева лентеца широкого, аккумулируют плероцеркоидов из этих рыб в результате реинвазии, достигая высокой степени зараженности. Лишь сеголетки щуки и налима, потребляющие копепода, могут заражаться процеркоидами. Однако уже на 1-м году жизни эти виды рыб переходят к хищному питанию и источником инвазии их становятся поедаемые ими рыбы, зараженные плероцеркоидами *D. latum*. По сравнению со щукой и налимом окунь значительно позже переходит к хищному питанию, становясь резервуарным хозяином лентеца. В отличие от окуня ерш, питаясь в основном беспозвоночными, включая и веслоногих рачков, служит только 1-м промежуточным хозяином этого паразита.

Как уже отмечалось, инвазированность судака во всех водоемах весьма незначительна. Это обусловлено, как указывает С. С. Шульман [41], особенностями биологии судака — обитателя пелагиали озер или водохранилищ, где зараженность планктонных копепод и 2-х промежуточных хозяев (окунь, ерш) значительно ниже по сравнению с прибрежной зоной.

Таким образом, степень и особенно интенсивность заражения плероцеркоидами лентеца широкого как промежуточных, так и окончательных хозяев в Ладожском и Онежском озерах — самых крупных эндемичных очагах дифиллоботриоза, значительно выше, чем в Белом озере, Шекснинском и Рыбинском водохранилищах, что следует учитывать при прогнозировании паразитологической ситуации в связи с планируемой переброской вод северных рек в бассейн Волги.

Triephorus nodulosus и *T. crassus*. В водоемах Волго-Балтийской системы встречаются 2 представителя этого рода, окончательным хозяином которых служит щука. Промежуточные хозяева *T. nodulosus* — окунь, ерш, корюшка, бычок, молодь щуки и налим, резервуарные — налим, хищный окунь, озерный лосось и др. Промежуточные хозяева *T. crassus* — ряпушка, рипус, реке сибг (табл. 3).

Зараженность окуня плероцеркоидами *T. nodulosus* в Рыбинском, Шекснинском водохранилищах и Онежском озере значительно выше, чем в Ладожском. У окуней Невской губы и Финского залива плероцеркоиды этого вида вообще не были отмечены [6, 39]. В Рыбинском водохранилище различаются 2 расы окуней — прибрежная (мирные окуни) и глубинная (хищные) [15]. Соответственно характеру питания заражение их идет 2 путями. Источником инвазии мирных окуней служат зараженные плероцеркоидами веслоногие рачки и, следовательно, они 2-е промежуточные хозяева *T. nodulosus*. Хищные окуни заражаются в результате поедания молоди окуней и ершей, инвазированных плероцеркоидами этого паразита. Таким образом, окуни могут быть не только 2-ми промежуточными, но и резервуарными хозяевами *T. nodulosus*. В Рыбинском водохранилище окунь служит основным источником заражения этим паразитом окончательного хозяина — щуки, составляя 32% ее рациона [9].

Ерш инвазирован плероцеркоидами *T. nodulosus* наиболее сильно в Шекснинском водохранилище, в Онежском и Ладожском озерах экстенсивность заражения его вдвое меньше и очень низка (4.7%) у ерша Рыбинского водохранилища (табл. 3).

В Онежском и Ладожском озерах корюшка заражена *T. nodulosus* весьма значительно и рассматривается нами как важнейший промежуточный хозяин этого паразита, тогда как в сетке Белого озера и Рыбинского водохранилища плероцеркоиды не были обнаружены (табл. 3). Предпола-

Т а б л и ц а 3
Зараженность рыб водоемов Волго-Балтийской системы *T. nodulosus*

Водоем	Исследовано рыб	Из них заражено	Заражен- ность, %	Средняя интен- сивность зара- жения, экз.
К о р ю ш к а				
Рыбинское водохранилище	57	0	—	—
Белое озеро	40	0	—	—
Онежское озеро	24	14	58.0	1.0
Ладожское озеро	164	56	34.1	1.3
Н а л и м				
Рыбинское водохранилище	155	30	19.3	3.0
Шекснинское водохранилище	18	9	50.0	1.6
Белое озеро				
Онежское озеро	10	9	90.0	8.2
Ладожское озеро	82	22	26.8	4.8
Е р ш				
Рыбинское водохранилище	734	35	4.7	1.7
Шекснинское водохранилище	80	31	38.7	2.7
Белое озеро				
Онежское озеро	86	16	18.6	1.0
Ладожское озеро	175	21	12.0	1.5
О к у н ь				
Рыбинское водохранилище	252	117	46.6	2.0
Шекснинское водохранилище	47	16	34.4	2.0
Белое озеро				
Онежское озеро	25	8	28.0	2.0
Ладожское озеро	39	6	15.3	2.3

гаемые причины этого явления обусловлены конкретными экологическими факторами.

Высокой зараженностью плероцеркоидами *T. nodulosus* во всех водоемах, кроме Рыбинского водохранилища, характеризуется налим (табл. 3). Его заражение может происходить в результате реинвазии, так как во взрослом состоянии он хищничает, питаясь преимущественно ершом, окунем и корюшкой и становится резервуарным хозяином этого паразита. В Рыбинском водохранилище зараженность налима *T. nodulosus* вдвое ниже (15%), чем окуня. Это явление можно объяснить тем, что способной к реинвазии налима оказывается лишь небольшая часть личинок *T. nodulosus*. Инвазия 2-х промежуточных хозяев (окунь, ерш, корюшка) происходит обычно летом, к осени плероцеркоиды в основном инкапсулируются [18]. Способностью к реинвазии, хотя и ограниченной, обладают, по-видимому, главным образом некапсулированные плероцеркоиды *T. nodulosus*, у которых железистый аппарат в сколексе развит весьма слабо. Налим как холодолюбивый вид в Рыбинском водохранилище питается интенсивно лишь в холодное время года [8, 34], когда возможность его реинвазии резко ограничена. В отличие от *T. nodulosus* у плероцеркоидов *D. latum*, как показали наши последние исследования, развит мощный железистый секреторный аппарат, обеспечивающий постоянное проникновение и миграцию личинок после реинвазии в теле нового хозяина в любое время года.

Поскольку щука — окончательный хозяин *T. nodulosus*, практически не питается налимом [9], то его следует рассматривать как тупик в жизненном цикле этого паразита. Подобную роль в цикле *T. nodulosus* играют

проходной и реликтовый лососи и хариус в Онежском и Ладожском
рах, зараженные его плероцеркоидами довольно сильно [3, 29]. К
указанных видов рыб, личинки этих цестод обнаружены нами в печенки
бычка-рогатки Ладожского озера.

Принимая во внимание степень зараженности рыб водоемов Волго-Бал-
тийской системы плероцеркоидами *T. nodulosus* и значение каждого вида
в питании окончательного хозяина — щуки, можно определить их роль
как 2-х промежуточных хозяев. Основным 2-м промежуточным хозяином
T. nodulosus в Рыбинском водохранилище следует считать окуни, в Бе-
лом озере — ерша, в Ладожском и Онежском озерах — корюшку, ерша
и окуня.

Плероцеркоиды *T. crassus* в Рыбинском водохранилище и Белом озере
паразитируют в мускулатуре белозерской ряпушки (*Coregonus sardinella*
vessicus), в Ладожском и Онежском озерах — европейской ряпушки
(*C. albula*) и рипуса (*C. albula* *isp. ladogensis*), которые представляют собой
важнейших 2-х промежуточных хозяев этих ленточных червей (табл. 4).

Т а б л и ц а 4
Зараженность рыб водоемов Волго-Балтийской системы цестодами
(1970—1976 гг.)

Водоем	Исследовано рыб	Из них заражено рыб	Заражен- ность, %	Средняя интен- сивность зара- жения, экз.
<i>T. crassus</i> (ряпушка, рипус)				
Рыбинское водохранилище	59	33	55.9	2.3
Белое озеро	95	44	46.3	1.6
Онежское озеро	58	22	37.9	1.3
Ладожское озеро	224	70	31.2	1.5
<i>E. crassum</i> (ряпушка)				
Ладожское озеро	260	43	16.5	1.7
Онежское озеро	45	7	15.5	1.0
<i>C. truncatus</i> (сиг)				
Ладожское озеро:				
юго-восточная часть	25	5	20.0	4.6
западная часть	26	18	69.2	5.6

Степень инвазии ряпушки *T. crassus* в Рыбинском водохранилище и
в Белом озере близка и несколько выше, чем в Онежском и Ладожском
озерах, что может быть обусловлено некоторым различием в питании рыб
в этих водоемах.

Наряду с ряпушкой плероцеркоиды *T. crassus* в Ладожском и Онеж-
ском озерах встречаются у корюшки и сига, однако зараженность их очень
низка, и большого значения как источник заражения окончательного хо-
зяина — щуки, они не имеют. Интересно отметить, что в Онежском озере
наблюдалась значительная инвазия плероцеркоидами *T. crassus* реликто-
вого лососа [29], которого следует рассматривать как тупик в жизненном
цикле паразита.

Круг потенциальных 1-х промежуточных хозяев *T. nodulosus* и *T. cras-*
sus выявлен нами путем экспериментального заражения 20 видов *Cal-*
noida и *Cyclopoida* Рыбинского водохранилища с последующей оценкой их
роли как хозяев этих цестод в природных условиях [22].

Eubothrium rugosum и *E. crassus*. Жизненные циклы
видов этого рода изучены нами в последние годы [19, 20]. Окончательным
хозяином *E. rugosum* служит налим, 2-м промежуточным и практически

единственным хозяином во всех изученных водоемах — ерш. Известны лишь единичные случаи обнаружения плероцеркоидов *E. rugosum* у других видов рыб — чехонь, окунь [12, 19]. В Рыбинском водохранилище ерш — основной объект питания налима, составляющий до 72% его рациона [10]. Развитие *E. rugosum* в фазе плероцеркоида в отличие от *D. latum* и *T. nodulosus* протекает в кишечнике рыб. 1-е промежуточные хозяева выявлены нами в результате экспериментального заражения копе-под Рыбинского водохранилища.

Сравнение данных по заражению ерша *E. rugosum* из водоемов Волго-Балтийской системы показывает, что наиболее сильно он инвазирован в Онежском озере, слабее в Ладожском озере и Рыбинском водохранилище, самая низкая зараженность в Белом озере (табл. 5). Во всех исследованных водоемах имеют место локальные различия в зараженности ерша из разных участков, сходные с таковыми у *T. nodulosus*.

Т а б л и ц а 5
Зараженность ерша водоемов Волго-Балтийской системы *E. rugosum*

Водоем	Исследовано рыб	Из них заражено	Заражен- ность, %	Средняя интен- сивность зара- жения, экз.
Рыбинское водохранилище	569	77	13.5	1.6
Шекснинское водохранилище	83	2	2.4	1.0
Белое озеро				
Онежское озеро	95	37	38.9	2.9
Ладожское озеро	174	25	14.4	2.4

Следует подчеркнуть, что заражение ерша Рыбинского водохранилища плероцеркоидами *E. rugosum* значительно выше, чем другими псевдофиллидными цестодами, — *D. latum* и *T. nodulosus*.

Второй вид — *E. crassum*, паразитирует в лососевых (ряпушка, рипус, лосось) Ладожского и Онежского озер. Жизненный цикл его может осуществляться 2 путями — с участием 2-го промежуточного хозяина и без него, что обусловлено прежде всего характером питания окончательного хозяина. Ряпушка — типичный планктофаг, заражается *E. crassum* при поедании инвазированных циклопов (табл. 4). В кишечнике ее происходит развитие как плероцеркоидной, так и взрослой стадии.

Второй путь заражения через 2-х промежуточных хозяев — окуня, колюшку и корюшку, характерен для проходного лосося Ладожского и Онежского озер, обладающего хищным типом питания. Аналогичные способы заражения окончательных хозяев *E. crassum* описаны для лососевых Норвегии [51] и водоемов Камчатки [21].

Инвазированность карповых рыб — 2-х промежуточных хозяев *Ligula intestinalis*, очень низка: в Рыбинском водохранилище не превышает 3—4% [14], в Шекснинском 5—6%, в Ладожском и Онежском озерах находки ремнецов единичны. Окончательными хозяевами этих цестод служат чайки и крачки. Характерная черта распределения лигулезной инвазии в Рыбинском и Шекснинском водохранилищах — четкая очаговость, приуроченность к мелководью и близость к гнездовьям птиц. В таких очагах степень инвазии густеры, плотвы, язя, уклей и ельца достигает 20—30%. В Рыбинском водохранилище очаги лигулеза зарегистрированы главным образом в Шекснинском и Волжском плесах.

Syathoscephalus truncatus паразитирует в пилорических придатках кишечника сигов Ладожского озера в значительном количестве, единичные находки — в корюшке, окуне, налиме. Цикл развития связан с бокоплавами. Распространение этих цестод локальное, что отражает распределение промежуточных и окончательных хозяев в водоеме.

Высокая зараженность сигов *C. truncatus* отмечена в глубоководной западной части Ладожского озера, где богато представлены бокоплавы, тогда как в юго-восточной инвазированность их почти в 3 раза ниже (табл. 4). При высокой интенсивности инвазии наблюдаются существенные патоморфологические изменения в слизистой пилорических придатков сига.

Saurophyaellus laticeps — широко распространенный паразит карповых рыб, встречающийся чаще у лещей всех исследованных водоемов и белоглазки Шекснинского водохранилища (табл. 6).

Таблица 6
Зараженность карповых рыб водоемов Волго-Балтийской системы *C. laticeps*

Водоем	Вид	Исследовано рыб	Из них заражено	Зараженность, %	Средняя интенсивность заражения, экз.
Рыбинское водохранилище	Лещ	92	32	34.7	17.4
Шекснинское водохранилище	Лещ	60	42	70.0	13.6
Белое озеро	Белоглазка	15	15	100	18.5
	Синец	30	4	13.3	17.5
	Плотва	30	2	6.6	1.0
	Густера	15	1	6.6	11.0
	Чехонь	18	1	5.5	1.0
Ладожское озеро	Лещ	20	20	100	6.5

Анализ данных по зараженности рыб этими гельминтами весьма важен, поскольку цикл развития их связан с бентосными организмами и отражает характер и способ питания рыб. Наиболее сильно заражены лещ и белоглазка — типичные бентофаги, слабо инвазированы синец, плотва и густера — планктофаги и фитофаги, лишь редко использующие в пищу олигохет, что находит отражение в степени их заражения.

Виды рода *Proteocephalus* — кишечные паразиты, обнаруженные во многих видах рыб водоемов Волго-Балтийской системы (табл. 7).

Таблица 7
Зараженность рыб Волго-Балтийской системы цестодами рода *Proteocephalus*

Водоем	Вид паразита	Вид рыбы	Исследовано рыб	Из них заражено	Зараженность, %	Средняя интенсивность заражения, экз.
Рыбинское водохранилище	<i>P. longicollis</i>	Снеток	29	7	24.1	4.0
	<i>P. cernuae</i>	Ерш	577	320	55.4	3.1
	<i>P. percae</i>	Окунь	96	24	25.0	2.7
	<i>P. osculatus</i>	Сом	5	5	100	4.0
Шекснинское водохранилище	<i>P. exiguus</i>	Ряпушка	75	42	56.0	16.4
	<i>P. longicollis</i>	Снеток	20	2	10.0	1.5
	<i>P. cernuae</i>	Ерш	97	41	42.2	2.7
	<i>P. percae</i>	Окунь	47	5	10.6	3.4
	» »	Судак	26	1	3.8	1.0
	<i>P. torulosus</i>	Синец	30	18	60.0	8.7
	» »	Уклея	18	8	44.4	3.6
Онежское озеро	<i>P. exiguus</i>	Сиг	13	4	30.7	2.0
	» »	Ряпушка	58	27	46.5	3.0
	<i>P. longicollis</i>	Корюшка	14	10	71.4	3.0
	<i>P. percae</i>	Окунь	19	12	63.1	5.3
Ладожское озеро	<i>P. exiguus</i>	Сиг	50	11	22.0	3.8
	» »	Рипус	75	17	22.6	3.1
	<i>P. longicollis</i>	Корюшка	131	81	61.7	7.4
	<i>P. percae</i>	Окунь	47	20	42.5	2.7

Наиболее высокой степенью инвазии характеризуются планктофаги — ряпушка, корюшка, окунь, синец, активно потребляющие веслоногих рачков — первых промежуточных хозяев *Protocephalus*. Данные по зараженности рыб видами этого рода можно использовать как объективную оценку доли копепод в питании рыб — окончательных хозяев этих цестод.

ЗАВИСИМОСТЬ ЗАРАЖЕННОСТИ РЫБ ЦЕСТОДАМИ ОТ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

Эколого-паразитологические исследования, основа которых была заложена в 30-х годах В. А. Догелем, получили широкое развитие в Советском Союзе в работах его учеников и последователей. Подробно изучена зависимость паразитофауны рыб от разнообразных экологических факторов. В дальнейшем эти исследования были успешно продолжены паразитологами других школ и направлены на углубление и уточнение многих проблем экологической паразитологии.

Материал по цестодам рыб водоемов Волго-Балтийской системы рассматривается нами именно с этих позиций. Показаны зависимость зараженности рыб цестодами от гидрологического и гидробиологического режимов в разных участках водоема, возраста и размера хозяина, биологии и пищевых связей хозяев, сезонная, годовая динамика и многолетние изменения инвазированности рыб в этих водоемах.

Анализ влияния различных экологических факторов на развитие цестод на ранних свободных непаразитических стадиях онтогенеза — яйца и корацидия, протекающих непосредственно в водной среде, чрезвычайно важен, так как дает представление об условиях, способствующих осуществлению их цикла или прерывающих его. Степенью устойчивости яиц и корацидиев цестод к абиотическим факторам (температура, кислородный режим, соленость, рН воды и др.) определяются возможность их существования в условиях каждого водоема и распространения в различных географических зонах. Воздействие этих факторов на развитие и выживаемость яиц и корацидиев изучалось многими авторами преимущественно в эксперименте на разных видах цестод: *D. latum* [26, 27, 40, 44, 45], виды рода *Triaenophorus* [17, 18, 48—50], представители сем. *Ligulidae* [7], *P. exiguus* [2].

Весьма существенное влияние на зараженность рыб паразитами оказывает гидрологический режим и связанные с ним состав и биоценологические отношения гидробионтов в отдельных участках водоема [33]. Ограничимся сравнением 3 видов рыб (сиг, рипус, окунь), зараженных *C. truncatus*, *T. crassus*, *D. latum* из 2 участков Ладожского озера: юго-восточного и западного (рис. 1, а). Инвазированность сига *C. truncatus* у западного побережья втрое выше, чем у юго-восточного; с другой стороны, рипус вдвое сильнее заражен плероцеркоидами *T. crassus* у юго-восточного побережья, чем у западного. Заметно выше инвазия ерша *D. latum* в юго-восточной части Ладожского озера, чем в западной. Эти различия в зараженности рыб свидетельствуют о наличии локальных стад, приуроченных к разным участкам акватории. Из гидрологических и гидробиологических данных следует, что в юго-восточной части озера имеются наиболее благоприятные условия для осуществления жизненного цикла тех видов цестод, развитие которых на фазе процеркоида связано с копеподами. Небольшая глубина, песчаные грунты, хорошее прогревание с повышением температуры, высокая продуктивность зоопланктона, места нагула и нереста многих рыб в летнее время способствуют поддержанию высокой инвазии в этом районе. В западной глубоководной части озера, где богато представлены бокоплавы, которыми активно питаются сиги, — промежуточный и окончательный хозяева *C. truncatus*, заражение этих рыб достигает высокого уровня.

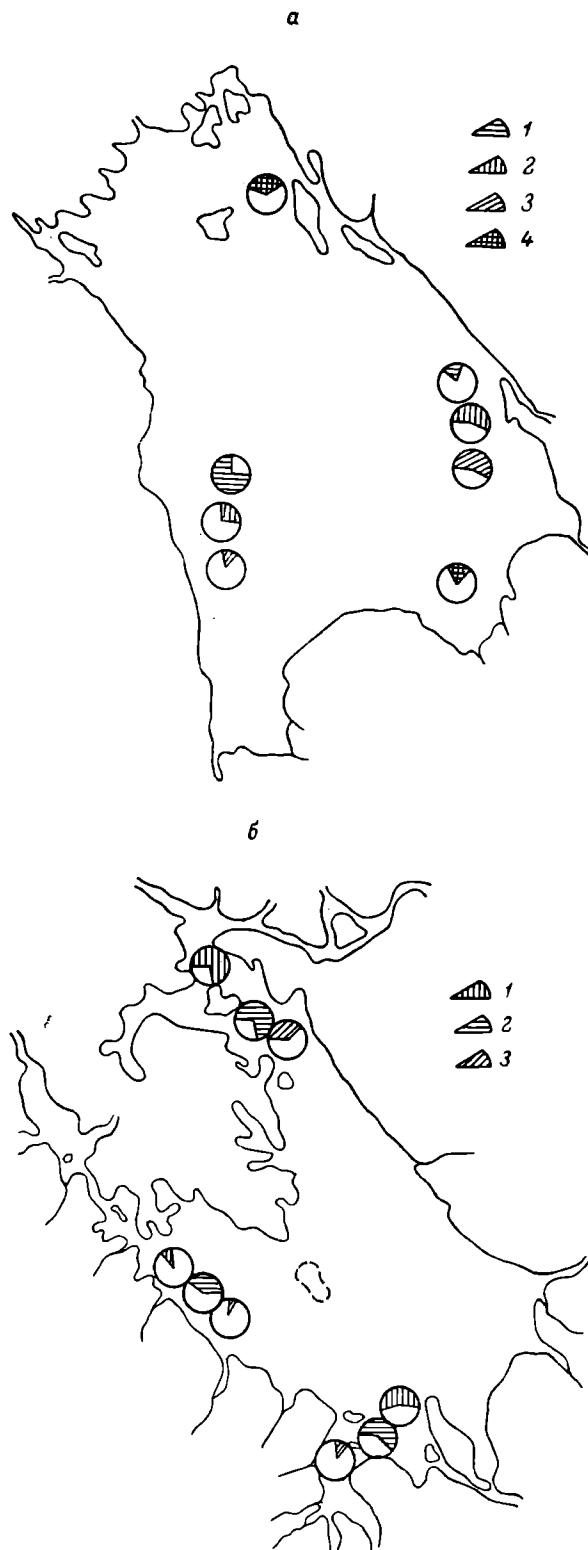


Рис. 1. Различия в зараженности рыб цестодами в разных участках водоемов. ■
 а — Ладожское озеро. 1 — зараженность сига *C. truncatus*, 2 — рипуса *T. crassus*, 3 — ерша *D. latum*, 4 — окуня *T. nodulosus*.
 б — Рыбинское водохранилище. 1 — зараженность щуки *D. latum*, 2 — налима *D. latum*, 3 — налима *T. nodulosus*.

Значительные различия в заражении окуня плероцеркоидами *T. nodulosus* наблюдаются в южной и северной частях озера.

Различия в распределении цестод по акватории могут определяться и другими факторами, что хорошо прослеживается на *D. latum* из рыб Рыбинского водохранилища. Наблюдаемая в настоящее время высокая зараженность лентецом широким в Шекснинском и Волжском плесах по сравнению с Моложским (рис. 1, б) обусловлена прежде всего антропогенным фактором. Большая плотность населения на побережье этих 2 плесов, где расположены крупные промышленные центры — Череповец и Рыбинск, приводит к интенсивному поступлению *D. latum* в этих частях водохранилища. Другим немаловажным источником загрязнения лентецом Шекснинского и Волжского плесов, где проходит основная трасса Волго-Балтийского водного пути, служат многочисленные суда и пристани, с которых необезвреженные нечистоты попадают в воду. Анализ данных за последние 10 лет показывает, что в Рыбинском водохранилище сложился постоянный и стабильный очаг дифиллоботриоза озерного типа.

Одним из наиболее важных экологических факторов, определяющих заражение рыб цестодами, следует считать характер питания и состав пищи. Без тесных и устойчивых пищевых связей между окончательными и промежуточными хозяевами невозможно осуществление сложных жизненных циклов некоторых групп паразитов. Рассмотрим конкретные примеры, иллюстрирующие зависимость зараженности от пищевых связей, состава пищи и биологии хозяина в каждом водоеме. В Ладожском и Онежском озерах корюшка будучи планктофагом значительно инвазирована плероцеркоидами *T. nodulosus* и рассматривается нами как его основной промежуточный хозяин (табл. 3), тогда как в Рыбинском и Шекснинском водохранилищах в близком к ней счетке этот паразит не обнаружен. Снеток держится обычно на русле, в состав его пищи входят в основном босмины, но имеются и копеподы [32], которые в этой части водоема, как правило, не заражены этим видом цестод. Заражение веслоногих рачков *T. nodulosus* имеет место главным образом в июне—июле в прибрежной зоне водохранилища. Нерест снетка происходит ранней весной (в апреле—мае) в прибрежье, когда циклопы еще не заражены, после чего он мигрирует на русло. Разобщение во времени и пространстве снетка и зараженных циклопов и отсутствие между ними пищевых связей служат причиной незараженности его *T. nodulosus*. Важно отметить, что ряпушка более теплолюбивый вид, чем корюшка, может заражаться в прибрежье до середины июня, что и определяет ее высокую степень инвазии *T. crassus* в Рыбинском водохранилище и Белом озере.

Заражение корюшки плероцеркоидами *T. nodulosus* в Ладожском озере происходит в прибрежной зоне в период нагула при летних температурах, когда она переходит от донного питания к пелагическому и массовыми объектами пищи становятся циклопы [31].

Результаты 4-летнего планомерного исследования зараженности сеголетков окуня плероцеркоидами *T. nodulosus* из 48 точек позволили установить четкую закономерность их распределения по акватории Рыбинского водохранилища (рис. 2). Наиболее сильно (до 48%) сеголетки окуней инвазированы в Волжском и Моложском плесах, в вершинной части Шекснинского плеса и у западного берега Центрального плеса. Весьма существенно, что высокая зараженность молоди окуней приурочена к определенным участкам прибрежной мелководной зоны, которые характеризуются обилием планктона и местами основных нерестилищ щуки [33], где она держится весной, когда происходит отхождение зрелых червей с яйцами. Здесь имеет место массовое вылупление корацидиев *T. nodulosus* и заражение ими копепод. Наличие тесных пищевых связей между промежуточными и окончательными хозяевами в определенный период и в определенном участке водоема так, чтобы они занимали одну и ту же

экологическую нишу, — основное условие успешного прохождения жизненного цикла цестод.

Важное правило, характеризующее роль пищевых связей между хозяевами и паразитами, установлено С. С. Шульманом [42]. В эутрофированных озерах Карелии с богатым планктоном многие рыбы слабо заражены паразитами, промежуточными хозяевами которых являются именно веслоногие рачки, так как большинство рыб планктофагов предпочитает питаться ветвистоусыми, которые часто достигают крупных размеров и собираются обычно большими стаями. В условиях дистрофи-

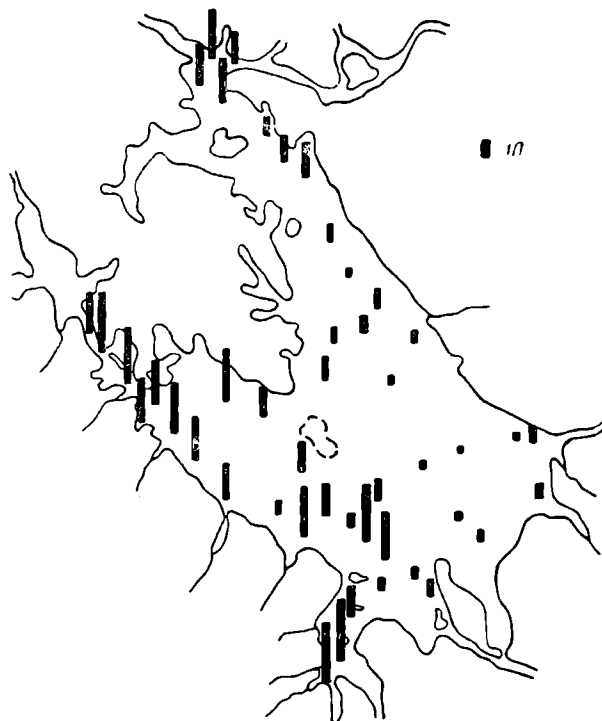


Рис. 2. Зараженность сеголетков окуней плероцеркоидами *T. nodulosus* в разных плесах Рыбинского водохранилища, %.

рованного водоема, где планктон сильно обеднен, особенно в отношении ветвистоусых рачков, рыбы потребляют в пищу в большом количестве веслоногих и зараженность их в связи с этим значительно увеличивается. Таким образом, возникает необычная ситуация: в водоеме, где планктон заметно обеднен, рыбы значительно сильнее заражены паразитами, особенно цестодами, чем те же виды рыб из озер с богато развитым планктоном [44].

Тесные пищевые связи между хозяевами паразитов дают основание использовать их в качестве индикаторов питания рыб. Качественная характеристика состава пищи рыб с помощью паразитов со сложным циклом развития находит широкое отражение в паразитологической литературе. Использование паразитов для количественной оценки состава пищи гораздо сложнее [20, 47]. Мы сделали попытку с помощью цестоды *E. rugosum* вычислить количество ершей, съеденных налимом в нагульный период [20]. Порядок полученных цифр весьма близок к данным ихтиологов о питании налима ершами за тот же период [10].

С увеличением размера и возраста меняются состав и количество пищи, что приводит к изменению степени и интенсивности заражения рыб. Это явление широко известно в паразитологии [5] и обусловлено

Т а б л и ц а 8
Зависимость зараженности щуки и налима *D. latum*
от размера хозяина, %

Водоем	Размер рыб, см			
	17—30	31—40	40—60	60 и выше
Щ у к а				
Рыбинское водохранилище	21.7	41.5	62.8	66.6
Онежское озеро	—	—	62.0	80.0
Н а л и м				
Рыбинское водохранилище	50.0	60.0	66.3	75.0
Онежское озеро	—	—	50.0	70.0
Ладожское озеро	34.0	84.0	90.0	—

увеличением с возрастом количества съедаемой пищи, размеров добычи и аккумуляцией плероцеркоидов, срок жизни которых в организме рыбы составляет несколько лет.

Первое появление плероцеркоида *T. nodulosus* мы наблюдали у окуня в возрасте 7—10 дней. Уже на 1-м году жизни щука и налим активно

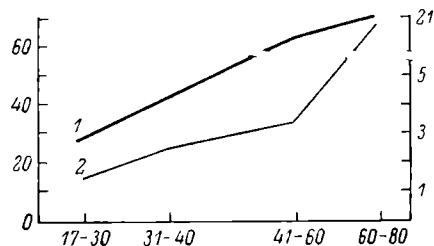


Рис. 3. Зараженность щуки Рыбинского водохранилища плероцеркоидами *D. latum* в зависимости от размера хозяина.

1 — средняя интенсивность заражения, 2 — зараженность. По оси ординат: слева — зараженность, %, справа — средняя интенсивность заражения, экз.; по оси абсцисс — размер рыб, см.

хищничают, поэтому плероцеркоиды цестод, подвергаясь двойной аккумуляции, встречаются у этих видов рыб в значительном количестве. Щука и налим одинаковых размерных групп характеризуются близкой степенью зараженности личинками лентеца широкого (табл. 8).

Различие зараженности каждой из 3 размерных групп щук составляет 20%, значительно повышается и интенсивность инвазии за счет постепенного накопления в них паразитов: у щук размером 41—60 см обнаружено до 47 плероцеркоидов *D. latum* в одной рыбе, в группе рыб размером 17—30 см количество личинок не превышало 10 экз. (рис. 3). Привлекает вни-

мание резкое нарастание степени зараженности налимов (на 50%) Ладожского озера длиной более 30 см, что связано, по-видимому, с изменением количества и состава потребляемой ими пищи.

Анализ возрастной изменчивости заражения ряпушки из Ладожского, Онежского и Белого озер плероцеркоидами *T. crassus* также показывает четкое возрастание инвазии с увеличением размера и возраста рыб (табл. 9). При исследовании белозерской ряпушки в возрасте 3—4 лет степень заражения составляла 69%, тогда как в возрасте 1 года — 11%. Четкую корреляцию между экстенсивностью инвазии и размером рыб можно объяснить, как и в первом случае, более интенсивным питанием и аккумуляцией личинок с увеличением возраста хозяина.

Важное санитарно-эпидемиологическое значение имеет вопрос о локализации плероцеркоидов лентеца широкого в органах и тканях рыб, так как роль их в заражении человека и животных — окончательных хозяев паразита, различна.

Характер распределения личинок у разных видов рыб существенно отличается (табл. 10). У налима большая часть их расположена во внутренних органах, особенно в стенке желудка и брыжейке. В процессе реин-

Таблица 11

Сезонная динамика зараженности щук Рыбинского водохранилища
T. nodulosus и *T. crassus* (1970—1973 гг.)

	Исследо- вано рыб	<i>T. nodulosus</i>		<i>T. crassus</i>	
		зараженность, %	средняя интен- сивность зара- жения, экз.	зараженность, %	средняя интен- сивность зара- жения, экз.
Январь	74	98.7±1.3	19.5	47.5±6.5	2.5
Февраль	86	100	19.6	36.8±5.5	2.4
Март	78	98.7±1.3	25.4	33.4±5.9	2.5
Апрель	56	92.9±3.4	21.4	30.3±8.1	2.1
Май	130	94.6±2.0	13.2	19.8±4.6	3.1
Июнь	136	89.0±2.5	8.0	10.9±3.1	3.6
Июль	62	68.5±5.9	3.5	5.1±3.5	3.5
Август	88	67.0±5.0	5.8	1.9±1.9	1.0
Сентябрь	89	78.7±4.8	7.0	0	0
Октябрь	77	72.8±5.1	10.0	0	0
Ноябрь	58	89.7±4.0	11.8	2.0±2.0	1.0
Декабрь	20	100	16.9	35.1±11.6	1.8

жизненного цикла, что отражает адаптированность паразита к данной климатической зоне.

Для целого ряда паразитов показана зависимость зараженности хозяина от сезона года [24, 25, 43, 46]. Виды *T. nodulosus* и *T. crassus* обла-

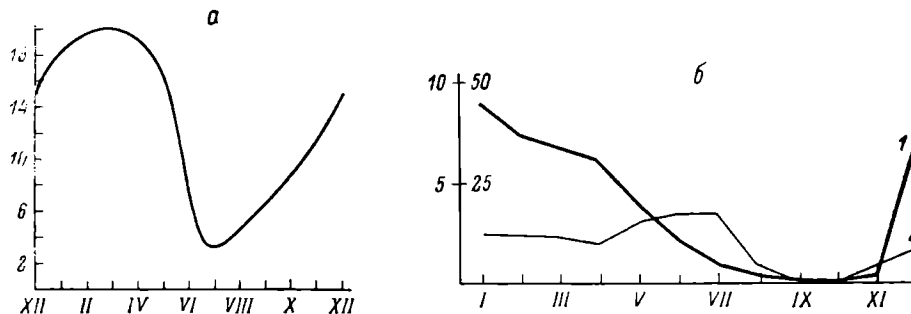


Рис. 4. Сезонные изменения зараженности щук Рыбинского водохранилища видами рода *Triclaenophorus*.

а — *T. nodulosus*. По оси ординат — средняя интенсивность заражения, экз.; по оси абсцисс — месяцы.

б — *T. crassus*. 1 — зараженность, %, 2 — интенсивность заражения, экз. По оси ординат: слева — интенсивность заражения, экз., справа — зараженность, %; по оси абсцисс — месяцы.

дают в целом сходными одногодичными циклами [18]: первый из них встречается в кишечнике щуки на протяжении всего года, при этом инвазированность ее в условиях Рыбинского водохранилища закономерно изменяется в зависимости от сезона (табл. 11; рис. 4, а).

Вопрос о том, обладают ли *T. nodulosus* и *T. crassus* 1- или 2-годовичным циклом, остается дискуссионным [13, 18, 24, 25, 42]. Попробуем ответить на него, основываясь на наших данных по срокам развития каждой фазы жизненного цикла этих цестод. Пребывание взрослых червей *T. nodulosus* и *T. crassus* в кишечнике щуки продолжается 9—10 месяцев. После попадания яиц в воду срок эмбрионального развития их в водоеме при майской температуре должен составить 10—13 дней, продолжительность полного развития из онкосферы процеркоида в полости тела циклопа длится 7—9 дней, формирование плероцеркоида в печени окуня до инвазионного состояния заканчивается через 40—45 дней. Следовательно, длительность полного жизненного цикла *T. nodulosus* и *T. crassus* в усло-

виях северо-западных водоемов составляет 13—13.5 месяцев. В августе и сентябре сеголетки окуней содержат инвазионных плероцеркоидов *Triacanthophorus* новой генерации, способных заражать окончательных хозяев — щук (рис. 5).

Таким образом, цикл развития *T. nodulosus* и *T. crassus* следует считать 1-годовым, если не учитывать время пребывания плероцеркоида во 2-м промежуточном хозяине, где он может жить от 1 года до 3 лет. Если же принимать во внимание срок жизни в промежуточном хозяине, цикл *Triacanthoprus* можно было бы расценивать как 2- или даже 3-годовичный.

Сезонная динамика *T. crassus* весьма сходна с таковой *T. nodulosus*, хотя имеются некоторые различия (табл. 11; рис. 4, б). В отличие от *T. nodulosus* этот вид не обнаружен в кишечнике щук в сентябре и ок-

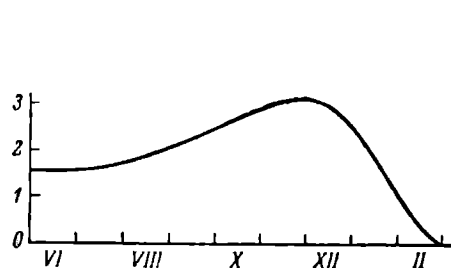


Рис. 5. Степень нарастания зараженности щук *T. nodulosus* в течение года.

По оси ординат — количество червей, экз.; по оси абсцисс — месяцы.

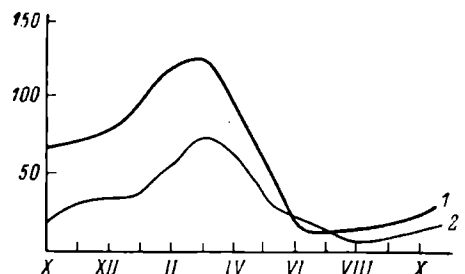


Рис. 6. Сезонные изменения зараженности налимов Рыбинского водохранилища *E. guisguisum*.

По оси ординат — средняя интенсивность заражения, экз.; по оси абсцисс — месяцы.

тябре, хотя в ноябре степень зараженности значительна. Исходя из этого, можно считать, что примерно с июня до ноября в спектре питания щуки ряпушка отсутствует, так как она держится в это время преимущественно в глубоких участках центральной части водохранилища [33], куда щука не попадает. В целом роль ряпушки в питании щуки очень мала — 0.2% [9], что находит отражение в низкой интенсивности заражения щук *T. crassus* по сравнению с *T. nodulosus*. Однако в 1970—1971 гг. интенсивность заражения щук необычайно повысилась в период с января по май (табл. 12), что явилось следствием интенсивного питания щуки ряпушкой, когда доля ее в рационе щуки увеличилась с 0.2 до 1.1% (М. И. Иванова, устное сообщение).

Т а б л и ц а 12

Зараженность щуки Рыбинского водохранилища *T. nodulosus* и *T. crassus*

Год	Исследовано рыб	<i>T. nodulosus</i>		<i>T. crassus</i>	
		зараженность, %	средняя интенсивность заражения, экз.	зараженность, %	средняя интенсивность заражения, экз.
1965	101	96.0±1.9	14.2	13.9±3.4	1.8
1966	124	96.0±1.8	25.4	29.8±4.1	2.2
1967	89	96.7±1.9	15.8	22.5±4.4	1.9
1968	73	96.0±2.3	12.3	45.2±5.8	3.3
1969	47	100	19.1	27.7±6.5	2.8
1970	46	84.8±4.7	10.5	69.5±6.8	15.6
1971	38	85.4±4.3	10.8	54.5±15.0	33.0

В Ладожском и Онежском озерах зрелые черви *Triaenophorus* покидают кишечник щуки позже, чем в Рыбинском и Шекснинском водохранилищах, что связано с более медленным прогревом воды весной в озерах. Как уже отмечалось, единый температурный оптимум для развития *Triaenophorus* в водоемах северо-запада, Сибири и Чукотки достигается сдвигом развития в двух последних районах на более поздние сроки.

Сезонная динамика заражения и полового созревания *E. rugosum*, прослеженная на большом материале из налимов Рыбинского водохранилища, характеризуется годичным циклом, выраженным не столь четко, как у червей рода *Triaenophorus*. В течение года изменяется преимущественно интенсивность заражения, тогда как экстенсивность сохраняется почти на постоянном уровне (рис. 6).

В Рыбинском водохранилище заражение налимов молодыми *E. rugosum* начинается в сентябре—октябре и достигает максимума в феврале—марте. Нами показана прямая корреляция между активностью питания налимов ершами [8] и ростом зараженности *E. rugosum* в осенне-зимний период. Инвазия налимов молодыми червями новой генерации в Рыбинском водохранилище в летний период почти не наблюдается, в то же время в Ладожском и Онежском озерах, где налим обитает летом на большой глубине при низкой температуре и продолжает питаться, в нем встречается некоторое количество молодых *E. rugosum*.

Рост стробилы и развитие полового аппарата начинаются у них, как и у *Triaenophorus*, осенью (октябрь—ноябрь) при температуре воды 10—13°. Уже в декабре в матке крупных червей обнаруживаются мелкие незрелые яйца, в течение зимнего и весеннего периода (январь—апрель) идет процесс дробления яиц и формирования в них эмбрионов. С апреля по июнь наблюдаются дестробиляция и отхождение половозрелых червей, содержащих массу яиц с развитыми эмбрионами, способными заражать циклопов. В период с октября по июнь популяция *E. rugosum* представлена червями на разных стадиях развития [19].

Важно отметить, что процесс полного формирования яиц *E. rugosum* в матке червей длится около 6 месяцев и завершается в апреле, тогда как у видов рода *Triaenophorus* зрелые яйца появляются уже в январе. Однако формирование гонад у *Eubothrium* и *Triaenophorus* происходит почти в одно и то же время — в октябре—ноябре.

Наши наблюдения в природе и опыты на *E. rugosum* в налимах, содержащихся изолированно в течение 2 лет, показали, что значительная часть червей не покидает кишечник хозяина после частичной дестробиляции весной и способна полностью восстанавливать стробилу и достигать половой зрелости в осенне-зимний период. Следовательно, *E. rugosum* не обладает четко выраженным годичным циклом, некоторая часть популяции его имеет 2-годичный и возможно более длительный цикл. Нам представляется, что это явление имеет место и у других видов цестод, но, к сожалению, недостаточно изучено.

Несколько иной характер носят сезонные изменения зараженности карповых рыб *Caryophyllaeus laticeps* в условиях водоемов северо-запада. Наиболее низкая зараженность лещей Рыбинского водохранилища наблюдается летом, в июле—августе, зимой инвазированность незначительная, что связано с их слабой пищевой активностью. Начиная с марта, заражение резко возрастает в связи с интенсивным питанием лещей в весенний период и достигает максимума в июне. Сходная динамика заражения лещей имеет место в Шекснинском водохранилище. В Ладожском озере сроки развития этих цестод сдвинуты на более поздний период.

Высокая зараженность рыб *Proteocephalus* наблюдается во все сезоны года. Вероятно, эти цестоды в значительной степени адаптировались к существованию в кишечнике хозяина и в летний период, хотя приживаемость цестод в этот период весьма низка [2, 46].

Таким образом, сезонные изменения зараженности рыб, наблюдаемые у разных групп цестод, носят различный характер. Однако во всех случаях они обусловлены прежде всего температурным фактором, который действует как непосредственно на ранние свободные стадии развития паразита, так и опосредованно через организм хозяина, изменяя биологию и физиологическое состояние последнего, что приводит к усилению или ослаблению защитных реакций у рыб. Уровень метаболизма цестод также зависит от температуры окружающей среды [40]. Сезонные изменения зараженности рыб цестодами во многом определяются характером питания и пищевыми связями рыб в разные сезоны года. От температурного фактора, как было показано, зависит процесс созревания и отхождения червей родов *Trienophorus* и *Eubothrium* из кишечника хозяина. При этом созревание их связано с понижением температуры, а отхождение — с повышением ее [23]. В связи с этим следует отметить, что у представителей других групп цестод — *P. filicollis* и *C. laticeps*, падение температуры, напротив, задерживает рост и развитие гонад [46].

Процесс отторжения цестод из кишечника рыб связан не только с повышением температуры, но и с голоданием хозяина и паразита, что приводит к резкому снижению запасов гликогена в организме гельминта и его дестробилизации [38].

МНОГОЛЕТНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЗАРАЖЕННОСТИ ЦЕСТОДАМИ РЫБ ВОДОЕМОВ ВОЛГО-БАЛТИЙСКОЙ СИСТЕМЫ

Работ, посвященных изменению фауны паразитов за длительный промежуток времени, чрезвычайно мало [39, 42]. Между тем такого рода данные очень важны для понимания процессов формирования фауны в водоемах разного типа.

Паразитофауна рыб Верхней Волги до создания водохранилища в 1941 г. была изучена В. П. Столяровым, в дальнейшем им на протяжении 13 лет (1942—1954 гг.) изучалось становление фауны паразитов водохранилища [35—37]. В 1956—1957 гг. паразиты рыб водохранилища изучались Н. А. Изюмовой [11—13]. Наши исследования охватывают 10-летний период (1966—1976 гг.). Таким образом, имеющиеся данные позволяют проследить изменения зараженности рыб некоторыми цестодами в Рыбинском водохранилище в течение 35 лет.

Изменение зараженности рыб плероцеркоидами *D. latum* за значительный промежуток времени мы рассматриваем по соответствующим периодам (табл. 13). Инвазированность рыб плероцеркоидами *D. latum* заметно изменилась за период существования водохранилища. При этом характер изменений был различен в каждом из плесов. Усиление зараженности рыб Волжского плеса в 1942 г. и ее резкое снижение в 1945—1948 гг. было следствием перестройки фауны водохранилища, увеличения источника заражения сначала за счет притока большого числа людей, работавших на водохранилище, а затем ослабление его по окончании строительства и перенесению населенных пунктов после затопления от береговой зоны [37].

В период 1945—1954 гг. степень заражения рыб в Волжском плесе стала весьма высокой, хотя и не достигала уровня 1942 г. (табл. 13), однако интенсивность инвазии резко снизилась. В последующие годы инвазированность рыб в этом плесе держалась примерно на одном уровне.

В Моложском плесе зараженность щук плероцеркоидами лентеца широкого к 1956—1957 гг. снизилась с 40 до 10% и сохраняется на этом уровне до настоящего времени. Степень инвазии налима в течение 1948—1974 гг. практически не изменилась (различия недостоверны) (табл. 13).

Иная картина наблюдается в Шекснинском плесе, где зараженность щуки и налима лентецом широким значительно возросла: с 10—15%

Т а б л и ц а 13

Многолетние изменения зараженности щуки и налима Рыбинского водохранилища *D. latum*

Годы	Волжский плес			Моложский плес			Шекснинский плес		
	исследовано рыб	зараженность, %	средняя интен- сивность зара- жения, экз.	исследовано рыб	зараженность, %	средняя интен- сивность зара- жения, экз.	исследовано рыб	зараженность, %	средняя интен- сивность зара- жения, экз.
Щ у к а									
1942	30	73.3 ± 6.4	43.0	—	—	—	—	—	—
1949—1954	30	50.0 ± 9.2	29.1	10	40.0 ± 15.5	28.0	20	15.0 ± 8.0	13.0
1956—1957	15	33.3 ± 11.8	1—4	10	10.0 ± 9.5	1.0	10	50.0 ± 15.8	1—1
1966—1974	427	54.0 ± 5.0	2.6	30	10.0 ± 5.5	1.7	64	78.1 ± 5.2	7.8
Н а л и м									
1942	15	80.0 ± 10.3	32.5	—	—	—	—	—	—
1949—1954	30	36.7 ± 8.8	22.1	20	20.0 ± 9.0	23.0	10	10.0 ± 9.5	23.5
1956—1957	18	38.7 ± 11.5	1.0	10	10.0 ± 9.5	1.0	10	30.0 ± 14.5	2.5
1966—1974	268	63.0 ± 3.3	3.5	48	37.5 ± 7.2	1.3	62	74.0 ± 8.2	5.0

в 1949—1954 гг. до 71—78% в 1966—1976 гг. Инвазированность окуня и ерша в водохранилище за последние десятилетия заметно снизилась.

Таким образом, к настоящему времени в Волжском плесе экстенсивность инвазии *D. latum* существенно не изменилась, но заметно упала интенсивность заражения. В Моложском плесе интенсивность заражения несколько снизилась, а в Шекснинском, наоборот, сильно возросла. В последнем в данный период наиболее высокая зараженность рыб, тогда как в 1949—1954 гг. самое сильное заражение имело место в Волжском плесе. Перемещение центра зараженности рыб лентецом широким с Волжского в Шекснинский плес следует рассматривать как результат воздействия антропогенного фактора. Как уже упоминалось, рост такого крупного промышленного центра как Череповец с большой плотностью населения на берегах этого плеса привел к интенсивному поступлению яиц *D. latum* в водоем и способствует поддержанию крупного очага дифиллоботриоза в этой части водохранилища. С другой стороны, мероприятия по борьбе с дифиллоботриозом, проводимые в пунктах, прилегающих к Волжскому плесу, оказались здесь наиболее эффективными, так как зараженность рыб лентецом широким за большой промежуток времени в этом плесе не возросла, несмотря на большую заселенность в данном районе (табл. 14).

Т а б л и ц а 14

Зараженность щуки и налима Рыбинского водохранилища *D. latum*

Годы	Исследовано рыб	Из них зара- жено	Зараженность, %	Средняя интенсив- ность заражения, экз.
Щ у к а				
1966	141	82	58.1±4.1	2.6
1967	108	58	53.6±4.6	2.2
1968	32	13	40.6±8.8	2.0
1969	57	25	43.9±6.6	2.7
1970	28	17	60.7±9.2	2.0
1971	46	29	63.0±7.3	5.0
1972	31	19	61.2±8.8	3.7
1973	34	16	47.0±8.4	2.4
1974	49	29	59.2±7.1	7.8
Н а л и м				
1969	42	30	71.0±6.0	2.2
1970	32	30	93.7±4.2	4.8
1971	67	49	73.1±5.5	4.0
1972	55	31	56.3±6.8	3.5
1973	65	34	52.3±5.6	4.2
1974	63	15	23.9±8.5	2.6

В отличие от Волжского и Шекснинского плесов зараженность рыб Моложского плеса весьма низкая и оказалась примерно на уровне 1949—1954 гг., чему способствовало расположение его в стороне от основных водных путей и сравнительно малая населенность берегов.

После создания водохранилищ Волжского каскада — Рыбинского, Горьковского, Куйбышевского, Волгоградского, возникли благоприятные условия для осуществления жизненного цикла *D. latum*, что обусловило устойчивое высокое заражение рыб и привело к возникновению очагов дифиллоботриоза на всех волжских водохранилищах, тогда как зараженность рыб в этих участках Волги до их заполнения была невысокой.

Изменение картины зараженности рыб Белого озера плероцеркоидами лентеца широкого за длительный промежуток времени установить нельзя, так как Г. К. Петрушевский [30], исследовавший щук, налимов, окуней и ершей в 1950 г., не приводит количественных данных по их инвазированности. В настоящее время щука и налим Шекснинского водохрани-

лица, включая и Белое озеро, заражены *D. latum* довольно сильно, что дает нам основание говорить о поддержании стабильного очага дифиллоботриоза в этом водоеме, ставшим одним из важных участков Волго-Балтийского водного пути.

Анализ изменений инвазированности рыб лентецом широким за 40 лет в Петрозаводской губе Онежского озера [28] по сравнению с нашими данными из того же района показывает, что за многолетний промежуток времени произошло сравнительно небольшое снижение экстенсивности заражения исследованных рыб, но значительно снизилась интенсивность заражения щуки и налима (табл. 15). Это свидетельствует о стабильности очага дифиллоботриоза в этом районе озера.

Т а б л и ц а 15

Многолетние изменения зараженности рыб Онежского и Ладожского озер
D. latum

Вид рыбы	Онежское озеро				Ладожское озеро			
	по: Петрушевский [29]		наши данные		по: Барышева, Бауер [3]		наши данные	
	заражен- ность, %	средняя интенсив- ность за- ражения, экз.	заражен- ность, %	средняя интенсив- ность за- ражения, экз.	заражен- ность, %	средняя интенсив- ность за- ражения, %	заражен- ность, %	средняя интенсив- ность за- ражения, %
Щука	100	31.0	88.0	8.7	100	134.0	100	13.3
Налим	100	66.0	94.0	23.6	100	184.0	64.8	18.3
Окунь	60.0	2.3	40.0	3.6	53.0	5.0	17.7	1.4
Ерш	30.0	2.1	20.0	3.8	73.0	13.0	58.3	2.9

Наиболее значительные изменения зараженности рыб лентецом широким произошли в Ладожском озере и особенно в Невской губе Финского залива. За прошедшие с 1948 г. [3] 25 лет интенсивность заражения щуки и налима в Волховской губе Ладожского озера снизилась в 10 раз, у ерша и окуня в несколько меньшей степени. Экстенсивность инвазии уменьшилась не столь сильно. Этот факт можно объяснить большой лечебной и профилактической работой в прибрежных селениях, где зараженность людей достигала 56%. Еще более значительное снижение инвазии наблюдается у рыб Невской губы Финского залива за прошедшие 30 лет [6, 39], что явилось следствием профилактической работы и заметно меньшим употреблением рыбы из этих водоемов жителями Ленинграда.

Рассмотрены многолетние изменения зараженности налимов *E. rigosum* в Рыбинском водохранилище. До 1943 г. его не находили, в дальнейшем он широко распространился по всему водохранилищу, и уже в 1956—1957 гг. зараженность налимов была лишь несколько ниже современного уровня. Это показывает, что создавшиеся к концу 50-х годов условия оказались благоприятными для успешного прохождения всех этапов жизненного цикла *E. rigosum*. В целом в Рыбинском водохранилище в настоящее время экстенсивность заражения налима *E. rigosum* гораздо выше, чем в других водоемах Волго-Балтийской системы. Решающую роль здесь играют, по-видимому, тесные пищевые связи, установившиеся между налимом и ершом и обеспечивающие прохождение жизненного цикла этого паразита.

Зараженность рыб видами рода *Triaenophorus* за время существования Рыбинского водохранилища заметно колебалась (табл. 16). В 1948 г. в Волжском плесе *T. nodulosus* не был обнаружен ни у окуня, ни у ерша, хотя инвазированность им налима была очень высока (93%). В последу-

Т а б л и ц а 16
Многолетние изменения зараженности налима и ерша Рыбинского водохранилища *T. nodulosus*

Годы	Волжский плес			Моложский плес			Шекнинский плес		
	исследовано рыб	зараженность, %	средняя интен- сивность зара- жения, экз.	исследовано рыб	зараженность, %	средняя интен- сивность зара- жения, экз.	исследовано рыб	зараженность, %	средняя интен- сивность зара- жения, экз.
Н а л и м									
1942	15	93.3 ± 6.5	9.0	—	—	—	—	—	—
1945—1948	30	43.4 ± 9.1	5.0	10	50.0 ± 15.8	9.8	10	50.0 ± 15.8	8.2
1949—1954	30	50.0 ± 9.1	8.3	30	10.0 ± 5.5	3.0	10	10.0 ± 9.5	12.0
1956—1957	18	27.7 ± 10.5	2—6	10	30.0 ± 14.5	3—40	10	40.0 ± 15.5	3—40
1966—1974	83	12.4 ± 5.8	1.0	63	3.2 ± 2.2	1.0	43	40.8 ± 8.8	1.5
Е р ш									
1945—1948	30	50.0 ± 9.1	2.7	10	20.0 ± 12.6	3.5	10	0	—
1949—1954	30	60.0 ± 8.9	3.5	30	6.7 ± 4.6	6.5	20	0	—
1956—1957	15	20.0 ± 10.3	1.0	15	20.0 ± 10.3	1—6	10	0	—
1966—1974	363	1.6 ± 0.7	1.3	111	5.5 ± 3.0	2.0	136	14.7 ± 3.0	1.3

ющие годы зараженность налима плероцеркоидами *T. nodulosus* заметно снизилась и была близка к таковой ерша и окуня.

Инвазия окуня *T. nodulosus* к 1945 г. в Волжском плесе значительно возросла и до настоящего времени так же, как и в Моложском, держится на постоянном уровне (33—48%). Зараженность ерша в этом плесе тоже возросла к 1945 г., однако в дальнейшем произошло ее снижение, теперь она значительно меньше, чем в прошлом (табл. 16). В основе лежит уменьшение доли планктона (именно копепод) в составе пищи ершей, что следует из данных ихтиологов. Этим же объясняется снижение зараженности ершей Рыбинского водохранилища плероцеркоидами широкого лентеца после первых лет существования водохранилища.

Многолетние изменения зараженности налима — резервуарного хозяина *T. nodulosus*, в Волжском и Моложском плесах в общем сходны с таковыми ерша и отчасти окуня — основного источника его заражения этим видом цестод (табл. 16). Именно уменьшение инвазированности ерша этим паразитом служит причиной слабой инвазии налима в этих плесах. В Шекснинском плесе зараженность налима не изменилась за длительный период и остается более высокой, чем в Волжском и Моложском плесах, где она снизилась. Соответственно наибольшая зараженность ерша регистрируется в Шекснинском плесе. Инвазированность окуня в разных плесах водохранилища в настоящее время выравнилась.

Сравнение современного заражения окуня плероцеркоидами *T. nodulosus* в Ладожском и Онежском озерах с таковым 25—40 лет назад показывает, что за это время оно существенно не изменилось.

Из анализа изменений инвазированности щуки — окончательного хозяина цестод рода *Triaenophorus*, следует, что зараженность ее *T. nodulosus* в Рыбинском водохранилище заметно возросла, особенно в Шекснинском плесе, и к 1956—1957 гг. она практически сравнялась во всех плесах водохранилища. Обращает на себя внимание сходный характер изменения зараженности щуки с таковым 2-х промежуточных хозяев — окуня и ерша.

Что касается *T. crassus*, то в 1942 г. он не был обнаружен в водохранилище и впервые найден лишь в 1947 г. [37]. Зараженность щуки этим паразитом была особенно высока в 1949—1954 гг., что связано, по-видимому, с проникновением *T. crassus* в Рыбинское водохранилище из Белого озера вместе с ряпушкой, численность которой в 50-х годах сильно возросла. В 1956—1957 гг. Н. А. Изюмова [12] не обнаружила *T. crassus* в щуках и предположила, что В. П. Столяров [37] ошибочно указывает его в числе паразитов Рыбинского водохранилища. В последующие годы инвазированность щуки *T. crassus* постоянно отмечалась нами в водохранилище, хотя и в меньшем количестве, чем *T. nodulosus* (табл. 14). В Белом озере наблюдается такое же соотношение зараженности щуки этими видами цестод, как и в Рыбинском водохранилище. Однако в Ладожском озере при совместной инвазии в кишечнике щуки всегда отмечалось преобладание *T. crassus* над *T. nodulosus* [18]. В Онежском озере соотношение зараженности щуки этими паразитами весьма близко [29]. Зараженность ряпушки плероцеркоидами *T. crassus* за длительный промежуток времени в Белом и Онежском озерах существенно не изменилась [29, 30], у ряпушки Ладожского озера она сильно возросла.

Рыбинское водохранилище лежит на южной границе ареала *T. crassus*, так как ниже его в бассейне Волги этот вид цестод не встречается. Однако в дельте Волги в щуке паразитирует вид, ранее считавшийся *T. crassus*, ареал которого разорван. Как показали наши исследования, эта форма представляет самостоятельный вид — *T. meridionalis*, 2-ми промежуточными хозяевами которого служат не лососевые, как у *T. crassus*, а бычки (сем. *Gobiidae*) и щука [16].

Таким образом, можно заключить, что картина зараженности рыб цестодами родов *Triaenophorus* и *Eubothrium* в водоемах Волго-Балтий-

ской системы, исключая Рыбинское водохранилище, за последние 20 лет существенно не изменилась. Такая стабильность обусловлена тем, что антропогенный фактор при постоянстве экологических условий в водоемах не оказывает значительного воздействия на зараженность рыб этими паразитами.

Изучение цестодной ситуации за ряд лет в Рыбинском и Шекснинском водохранилищах, Белом, Онежском и Ладожском озерах позволило представить распределение этих гельминтов в водоемах, зараженность ими разных видов рыб, возрастную и сезонную динамику и зависимость инвазированности рыб от многих экологических факторов. Фауна цестод Рыбинского водохранилища, сформированная в основном к середине 50-х годов, к настоящему времени в целом стабилизировалась. По сравнению с Рыбинским водохранилищем, история которого насчитывает лишь три с половиной десятилетия, паразитологическая ситуация в остальных водоемах Волго-Балтийской системы в связи со стабильностью фауны и экологических условий существенно не изменилась, за исключением зараженности *D. latum*, зависящей от антропогенного фактора. Что касается лентеца широкого, то зараженность им рыб Ладожского и Онежского озер заметно снизилась, что является следствием мероприятий по борьбе с этим паразитом. И все же интенсивность заражения рыб в этих водоемах во много раз выше, чем в Рыбинском водохранилище.

Оценивая паразитологическую ситуацию в связи с планируемой переброской вод северных рек в бассейн Волги, следует подчеркнуть, что любые изменения режима водоема неизбежно приводят к ее изменению. Поскольку переброска вод из северных водоемов повлечет за собой и увеличение веса северных холодолюбивых элементов, мы вправе ожидать возрастания численности цестод *D. latum*, *T. nodulosus*, *T. crassus* и *E. rugosum* за счет попадания сильно зараженных промежуточных хозяев этих паразитов. Их доля в питании хищных рыб может возрасти, что в свою очередь должно сказаться на зараженности всех хозяев этих гельминтов. Окончательные прогнозы цестодной ситуации в бассейне Волги в будущем возможны только после анализа гидрологических и гидробиологических изменений в водоеме, с которыми теснейшим образом связана паразитологическая картина.

Л и т е р а т у р а

1. А г р а н о в с к и й З. М. Вопросы эпидемиологии и профилактики дифиллоботриоза в рыболовецких районах. — Тр. Ленингр. мед. сан.-гигиенич. ин-та, 1955, т. 25, с. 127—168.
2. А н и к и е в а Л. В. Биология и экология паразита сиговых *Proteocephalus exiguus* La Rue, 1911. Автореф. канд. дис., Петрозаводск, 1976. 26 с.
3. Б а р ы ш е в а А. Ф., Б а у е р О. Н. Паразиты рыб Ладожского озера. — Изв. НИИ озерн. и реч. рыбн. хоз-ва, 1957, т. 42, с. 175—226.
4. Г о р д е е в Н. А. Этапы формирования ихтиофауны Рыбинского водохранилища. — Матер. 1-й конф. по изуч. водоемов бас. Волги. «Волга-1». Куйбышев, 1971, с. 244—253.
5. Д о г е л ь В. А. Паразитофауна и окружающая среда. Некоторые вопросы экологии паразитов пресноводных рыб. — В кн.: Основные проблемы паразитологии рыб. Л., 1958, с. 9—54.
6. Д о г е л ь В. А., П е т р у ш е в с к и й Г. К. Паразитофауна рыб Невской губы. — Тр. Ленингр. о-ва естествоиспыт., 1933, т. 62, вып. 3, с. 366—434.
7. Д у б и н и н а М. Н. Ремнецы *Cestoda*, *Ligulidae* фауны СССР. М.—Л., 1966. 261 с.
8. И в а н о в а М. Н. Сезонные изменения в питании хищных рыб Рыбинского водохранилища. — Вопр. ихтиол., 1965, т. 5, вып. 1 (34), с. 127—134.
9. И в а н о в а М. Н. Питание и пищевые взаимоотношения хищных рыб в Рыбинском, Горьковском и Куйбышевском водохранилищах. — Автореф. канд. дис., М., 1966. 17 с.
10. И в а н о в а М. Н. Пищевые рационы и кормовые коэффициенты хищных рыб в Рыбинском водохранилище. — В кн.: Биология и трофические связи пресноводных беспозвоночных и рыб. Л., 1968, с. 180—198.
11. И з ю м о в а Н. А. Сезонная динамика паразитофауны рыб Рыбинского водохранилища (лещ, чехонь, судак, окунь). — Тр. биол. ст. «Борок», 1958, т. 3, с. 384—398.

12. И з ю м о в а Н. А. Сезонная динамика паразитофауны рыб Рыбинского водохранилища (плотва, ерш). — Тр. Ин-та биол. водохр. АН СССР, 1959, вып. 1 (4), с. 332—343.
13. И з ю м о в а Н. А. Сезонная динамика паразитофауны рыб Рыбинского водохранилища (щука, синец, густера). — Тр. Ин-та биол. водохр. АН СССР, 1960, вып. 3 (6), с. 284—299.
14. И з ю м о в а Н. А. О лигулезе рыб Рыбинского и Горьковского водохранилищ. — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1974, № 21, с. 55—60.
15. И л ь и н а Л. К. О разнокачественности молоди и неравномерности роста чешуи у сеголетков окуня. — Вопр. ихтиол., 1970, т. 10, вып. 1 (60), с. 170—175.
16. К у п е р м а н Б. И. Новые виды рода *Triaenophorus* Rud. (*Cestoda*, *Pseudophyllidea*). — Паразитология, 1968, т. 2, вып. 6, с. 495—501.
17. К у п е р м а н Б. И. Влияние температуры на эмбриональное развитие ленточных червей рода *Triaenophorus* (*Pseudophyllidea*). — Информ. бюл. «Биол. внутр. вод», 1971, № 11, с. 32—37.
18. К у п е р м а н Б. И. Ленточные черви рода *Triaenophorus* — паразиты рыб. Л., 1973. 208 с.
19. К у п е р м а н Б. И. Жизненный цикл *Eubothrium rugosum* (*Cestoda*, *Pseudophyllidea*). — Тез. докл. VI Всесоюз. совещ. по болезням и паразитам рыб, М., 1974, с. 138—142.
20. К у п е р м а н Б. И. Опыт использования паразитов для количественной оценки питания рыб. — Вопр. ихтиол., 1975, т. 15, вып. 5, с. 931—934.
21. К у п е р м а н Б. И. Особенности жизненного цикла и биологии цестод *Eubothrium salvelini* и *Eubothrium crassum* из лососевых рыб водоемов Камчатки. — Биол. моря, 1978, т. 3, с. 135—145.
22. К у п е р м а н Б. И., М о н а к о в А. В. Первые промежуточные хозяева ленточных червей рода *Triaenophorus* (*Pseudophyllidea*). — Паразитология, 1972, т. 6, вып. 3, с. 274—278.
23. К у п е р м а н Б. И., Ш у л ь м а н Р. Е. Опыт экспериментального исследования влияния температуры на некоторых паразитов щуки. — Вестн. Ленингр. ун-та, сер. биол., 1972, т. 3, вып. 1, с. 5—15.
24. М а л а х о в а Р. П. Сезонные изменения паразитофауны некоторых пресноводных рыб озера Кончезеро. — Автореф. канд. дис., Л., 1974. 16 с.
25. М а р к о в а Т. Г. Сезонные изменения паразитофауны щуки реки Оки. — Зоол. журн., 1958, т. 37, вып. 12, с. 1801—1807.
26. М о р о з о в а М. Е. Биология ранних фаз развития лентеца широкого в условиях Карело-Финской ССР. — Автореф. канд. дис., Л., 1955. 16 с.
27. Н е у й м и н И. В. Влияние факторов внешней среды на развитие и выживаемость корацидиев лентеца широкого. — В кн.: Чтения памяти Н. А. Холодковского, 1952 г. М.—Л., 1953, с. 22—31.
28. П е т р у ш е в с к и й Г. К. О заражении рыб Онежского озера плероцеркоидами широкого лентеца. — Тр. Бородинской биол. ст. в Карелии, 1933, т. 6, вып. 2, с. 71—75.
29. П е т р у ш е в с к и й Г. К. Материалы по паразитологии рыб Карелии. II. Паразиты рыб Онежского озера. — Учен. зап. Ленингр. гос. пед. ин-та, 1940, т. 30, с. 133—186.
30. П е т р у ш е в с к и й Г. К. О заболевании рыб Белого озера. — Изв. НИИ озern. и реч. рыбн. хоз-ва, 1957, т. 42, с. 278—282.
31. П о к р о в с к и й В. В. О ряпушке и рипусе Ладожского озера. — Изв. НИИ озern. и реч. рыбн. хоз-ва, 1956, т. 38, с. 110—124.
32. П о л о в к о в а С. Н. Питание и пищевые взаимоотношения корюшек в водоемах разного типа. — Автореф. канд. дис., М., 1976. 16 с.
33. Р ы б и н с к о е в о д о х р а н и л и щ е и е г о ж и з н ь. Л., 1972. 364 с.
34. С е р г е е в Р. С. Материалы по биологии налима Рыбинского водохранилища. — Тр. Ин-та биол. водохр. АН СССР, 1959, вып. 1 (4), с. 235—258.
35. С т о л я р о в В. П. К паразитофауне рыб Рыбинского водохранилища. — Тр. Ленингр. о-ва естествоиспыт., 1952, т. 71, вып. 4, с. 261—285.
36. С т о л я р о в В. П. Динамика паразитофауны промысловых рыб Рыбинского водохранилища. — Тр. Ленингр. о-ва естествоиспыт., 1954, т. 72, вып. 4, с. 160—189.
37. С т о л я р о в В. П. Паразитическая фауна рыб Рыбинского водохранилища и закономерности ее формирования. — Автореф. докт. дис., Л., 1959. 27 с.
38. С т р а ж н и к Л. В., Д а в ы д о в О. Н. К вопросу о роли повышенных температур в жизнедеятельности некоторых цестод рыб. — Паразитология, 1975, т. 9, вып. 1, с. 37—46.
39. У б а о - Х у а. Об изменении паразитофауны Невской губы за четверть века. — Вестн. Ленингр. ун-та, сер. биол., 1961, т. 21, вып. 4, с. 62—72.
40. У т к и н а М. А. Экспериментальное изучение цикла развития лентеца широкого (*Diphyllobothrium latum*) на животных Южного Урала. — Автореф. канд. дис., Челябинск, 1964. 17 с.
41. Ш у л ь м а н С. С. Паразитофауна рыб Сямозерской группы озер. — Тр. Сямозерск. компл. экспед. Карельск. филиала АН СССР, 1961, т. 2, с. 173—244.

42. Шульман С. С., Малахова Р. П., Рыбак В. Ф. Сравнительно-экологический анализ паразитов рыб озер Карелии. Л., 1974, 108 с.
 43. Chubb J. C. Seasonal occurrence and maturation of *Triaenophorus nodulosus* (Pallas, 1781) (*Cestoda* : *Pseudophyllidea*) in the pike *Esox lucius* L. of Llyn Tegid. — *Parasitology*, 1963, vol. 53, p. 3—4, p. 419—433.
 44. Grabiec S., Guttowa A., Michajlow W. Effect of light stimulus on hatching of coracidia of *Diphyllbothrium latum* (L.). — *Acta parasitol. polon.*, 1963, vol. 11, N 14—18, p. 229—238.
 45. Guttowa A. Experimental investigations on the systems «proceroids of *Diphyllbothrium latum* (L.) — *Copepoda*». — *Acta parasitol. polon.*, 1961, vol. 9, N 25, p. 371—408.
 46. Kennedy C. R. Seasonal incidence and development of the cestode *Caryophyllaeus laticeps* (Pallas) in the river Avon. — *Parasitology*, 1969, vol. 59, p. 4, p. 783—794.
 47. Kennedy C. R. Tubificid oligochaetes as food coarse fish. — *Proc. 4 British course fish conf., Liverpool Univ.*, 1969, p. 5—7.
 48. Michajlow W. Über die Entwicklung der Eier von *Triaenophorus lucii* (Müll.) in Süß- und Meerwasser. — *Zool. Pol.*, 1939, vol. 3, N 3, S. 151—159.
 49. Michajlow W. Stadiálnosc rozwoju niektórych tasiemcow (*Cestoda*) (Uderzająca analogia biologiczna). — *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska. Sectio C*, 1951, vol. 6, N 3, p. 77—147.
 50. Miller R. A review of the *Triaenophorus* problem in Canadian lakes. — *Bull. Fish. Res. Canada*, 1952, vol. 95, p. 1—42.
 51. Vik R. Studies of the Helminth fauna of Norway. IV. Occurrence and distribution of *Eubothrium crassum* (Bloch, 1779) and *E. salvelini* (Schränk, 1790) (*Cestoda*) in Norway, with notes on their life cycles. — *Nytt. mag. zool.*, 1963, vol. 11, p. 47—73.
-

СЕЗОННАЯ ВСТРЕЧАЕМОСТЬ ДАКТИЛОГИРУСОВ У ЛЕЩА, ПЛОТВЫ И СИНЦА РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Дактилогириды в условиях прудовых хозяйств вызывают часто массовую гибель молоди рыб. Изучение биологии дактилогирид прудовых рыб позволило найти средства профилактики и борьбы с паразитами. Иначе обстоит дело с дактилогиридами карповых рыб естественных водоемов. По предварительным данным до 62% молоди уклей оз. Врево погибает от простейших и моногеней [11]. Других данных о потерях рыб от дактилогирид мы не имеем. Весьма вероятно, что они значительны в водохранилищах—водоемах зарегулированного стока и особенно в нерестово-выростных хозяйствах. Однако материалов по биологии дактилогирид естественных водоемов очень мало и часто они противоречивы.

Изучение дактилогирид карповых рыб в сезонном аспекте проводилось и проводится многими исследователями в разных водоемах и различных географических зонах СССР. Считалось, что основным фактором, определяющим численность дактилогирид на рыбах, является температура. Однако данные паразитологов за последние 8 лет [3, 13, 16, 20, 22] показали, что различия в зараженности рыб дактилогирисами карповых рыб естественных водоемов нельзя объяснить только температурой и погодными условиями. Имеются какие-то другие факторы, определяющие численность паразитов. Гробен [23] писал о том, что темп кладки яиц *Dactylogyrus vastator* не зависит от температуры, а лежит в природе червей. В экспериментах с *D. vastator* [5] было показано, что в начале лета черви откладывают массу яиц, тогда как осенью число отложенных яиц невелико. Это повторяется даже в тех случаях, если рыба предварительно выдерживалась при температуре 16—18°. Влияния суперинвазионного иммунитета на ход этого процесса здесь не могло быть, так как заражались стерильные сеголетки. В роднике Чилу-чор-Чашма в Таджикистане в течение всего года поддерживается температура 18—20°. Заражение рыб моногенейми, паразитирующими в ноздрах у храмули, летом составляет 43%, а осенью рыбы свободны от паразитов. М. Р. Данияров [4] приходит к выводу о том, что зараженность рыб паразитами определяется прежде всего жизненным ритмом самих паразитов, а не экологическими факторами.

С целью выявления факторов, влияющих на численность дактилогирисов леща, плотвы и синца, с января 1976 г. проводятся круглогодичные исследования в Волжском плесе Рыбинского водохранилища. Ежемесячно вскрывается по 15 экз. леща, плотвы и синца. Исследуются половозрелые рыбы приблизительно одного размера и возраста. Место добычи рыбы постоянное. В силу приуроченности дактилогирисов к определенным видам рыб мы рассматриваем полученные материалы отдельно для каждой рыбы (см. таблицу). Наши данные касаются зараженности рыб наиболее часто встречающимися дактилогирисами. Редкие формы во внимание не принимаются.

Сезонная динамика численности дактилогирусов леца, плотвы и синца в Волжском плесе
Рыбинского водохранилища

Вид паразита	1976 г.												1977 г.							
	I	II	IV	V	VI	VII	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
	0.5°	0.5°	5°	6.2°	18.6°	13°	8°	0.5°	0.5°	0.5°	0.5°	0.5°	0.5°	0.5°	9.4°	16°	19—20°	15°	9.8°	
Лещ	20.0 1.0	60.0 7.1	80.0 16.0	100 12.4	20.0 4.0	20.0 2.6	—	6.6 1	40.0 4.1	40.0 4.5	26.6 4.5	33.3 4.0	100 26.6	60.0 13.3	86.6 4.7	50.0 2.1	—	41.6 3.0	—	
	—	33.3 2.2	53.3 5.0	93.3 9.1	20.0 2.0	60.0 5.1	13.3 2.0	—	40.0 2.3	20.0 2.0	26.6 3.5	20.0 5.0	26.6 3.4	20.0 1.7	53.3 4.1	70.0 12.0	26.6 1.5	50.0 2.6	—	
Лещ	—	20.0 1.6	6.6 1	60.0 3.7	10.0 1	53.3 2.5	13.3 1.0	6.6 1	6.6 1	20.0 1.8	20.0 1.0	6.6 1	20.0 5.0	13.3 8.0	46.6 2.8	75.0 8.4	53.3 5.0	83.3 4.1	—	
Лещ	—	6.6 1	—	—	—	—	—	—	13.3 2.0	—	6.1 1	—	—	—	6.6 4	—	33.3 1.2	25.0 2.0	—	
Лещ	—	—	13.3 6.0	—	40.0 12.5	6.6 5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Лещ	6.6 1	—	20.0 7.3	6.6 1	—	—	—	—	—	—	—	—	6.6 1	6.6 4	20.0 2.7	—	—	—	—	
Плотва	13.3 3.0	80.0 13.9	73.3 4.4	80.0 10.0	40.0 5.1	—	—	—	—	—	—	33.3 2.0	46.6 2.0	73.3 5.5	93.3 11.7	—	—	—	—	
Плотва	40.0 3.1	80.0 8.0	93.0 9.6	96.6 17.5	93.3 15.5	80.0 10.0	20.0 1.6	—	44.4 2.0	20.0 2.0	70.0 4.0	40.0 2.5	66.0 12.0	66.0 6.3	100 18.5	70.0 3.5	53.3 9.0	20.0 3.3	—	
Плотва	—	—	46.6 2.4	26.6 5.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	26.6 18.2	—	—	—	—	
Плотва	—	—	20.0 9.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Синец	100 3.4	100 7.5	100 58.2	100 30.0	100 64.0	93.3 27.8	66.6 4.0	6.6 2	100 9.6	73.3 7.0	100 8.2	80.0 6.5	66.6 53.0	86.6 19.0	100 171.3	100 96	100 51	100 34.1	80.0 3.4	

Примечание. В числителе — экстенсивность заражения, в знаменателе — средняя интенсивность заражений. Прочерк — отсутствие заражений.

Л е щ. Вскрыто 280 экз. рыб, встречено 6 видов паразитов: *Dactylogyrus auriculatus*, *D. falcatus*, *D. wunderi*, *D. zandti*, *D. sphyrna*, *D. fallax*. Наиболее часто встречаются у рыб первые 2 вида — *D. auriculatus* и *D. falcatus*, несколько реже — *D. wunderi*, совсем редко — *D. zandti*, *D. sphyrna*, *D. fallax*.

D. auriculatus обнаружены на рыбах почти в течение всего года (рис. 1). Наибольшая зараженность рыб (экстенсивность и интенсивность заражения) приходится на март—май (80—100%). Температура воды в этот период 0.5—6°. Летом (июнь—июль), когда температура воды в среднем была 18.6°, а в некоторые дни достигала 22—24°, экстенсивность заражения рыб не превышала 20%, интенсивность 2.6—4.0 экз. Наименьшая зараженность рыб приходится на сентябрь—октябрь, когда температура

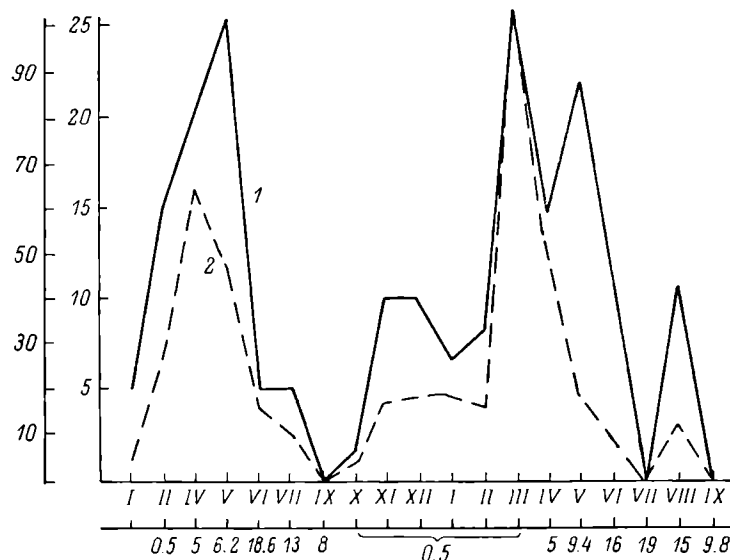


Рис. 1. Сезонная динамика численности *D. auriculatus*.

1 — экстенсивность заражения, %, 2 — средняя интенсивность заражения, экз. По оси ординат: слева — экстенсивность, %, справа — численность, экз.; по оси абсцисс: сверху — месяцы, снизу — температура воды, °C.

воды достигала 8°. Весьма характерно, что нарастание экстенсивности заражения рыб (от 6.6 до 100%) часто не сопровождается столь резким нарастанием интенсивности заражения. Количество червей в марте—апреле не превышает 28 экз., а в летние месяцы 23. Это, видимо, связано с тем, что число яиц и темп их кладки невелики. Однако в результате определенной стойкости заражение охватывает всех или почти всех рыб (80—100%).

Наивысшая зараженность леща *D. auriculatus* отмечалась в Волге севернее Волгограда [1] и в Рыбинском водохранилище [6] весной, наименьшая — осенью. В оз. Селигер [20] зараженность леща *D. auriculatus* изменялась в зависимости от температурных условий весны. В теплую весну максимум заражения приходился на апрель—май, в холодную — на июль. В Днепре максимум заражения леща наблюдался в феврале [9]. К сожалению, никаких экспериментальных данных по биологии этого массового вида в литературе нет.

Наибольшая численность паразитов *D. falcatus* приходится на апрель—июнь (рис. 2). При высокой экстенсивности (в мае 93.3%) интенсивность заражения рыб в течение всего года остается низкой. В Волге отмечалось 100%-е заражение рыб в мае [1]. Этот вид считается теплолюбивым [20]. По нашим данным, некоторый подъем зараженности (60%) наблюдается

в июле, но интенсивность в это время по сравнению с весенними месяцами значительно ниже.

Зараженность рыб *D. wunderi* приблизительно такая же, как и *D. falcatus*, наибольшая — в мае. *D. zandti* и *D. sphyrna* поражают незначительное количество рыб при слабой интенсивности заражения.

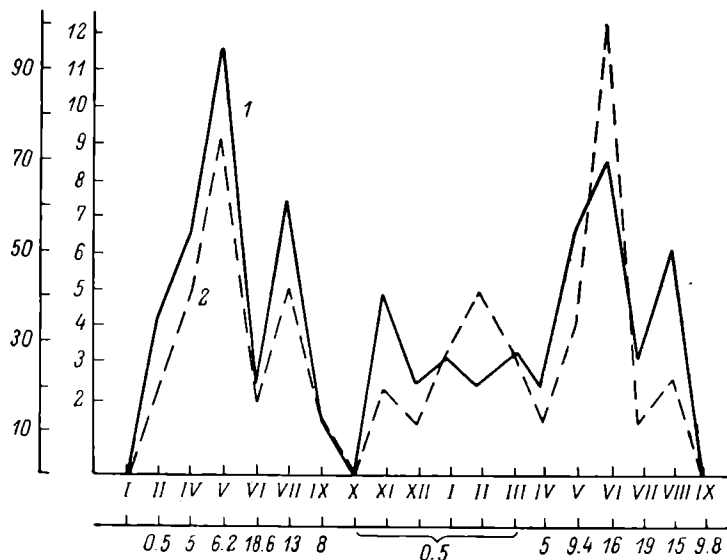


Рис. 2. Сезонная динамика численности *D. falcatus*.

Обозначения те же, что на рис. 1.

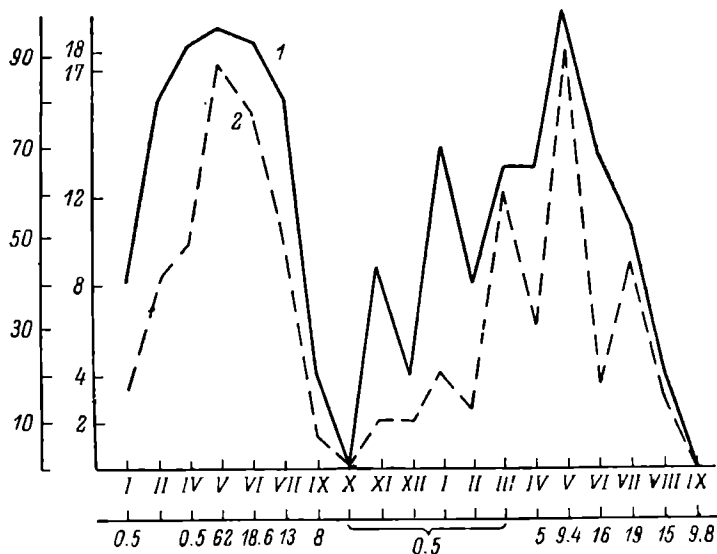


Рис. 3. Сезонная динамика численности *D. crucifer*.

Обозначения те же, что на рис. 1.

П л о т в а. Обследован 251 экз. рыб, обнаружено 4 вида паразитов: *D. crucifer*, *D. fallax*, *D. similis*, *D. micracanthus*. Наиболее массовые — первые 2 вида.

D. crucifer встречается в течение всего года, кроме октября (рис. 3). Наибольшая зараженность рыб в мае (96.6—100%) при средней интенсивности заражения до 18.5 экз. Наименьший процент (20) заражения рыб

приходится на сентябрь—декабрь. В дельте Днепра наибольшая численность паразитов в апреле [9]. В оз. Кончезеро пик численности *D. crucifer* наблюдается в июне [12]. В озерах Карелии максимум заражения рыб зарегистрирован в июле. В этих исследованиях отмечается, что в разные годы, отличающиеся температурным режимом, максимальный пик численности одного и того же вида паразита может сдвигаться. Однако авторы [9, 16] не обратили внимание на то, что резкий подъем в зараженности рыб *D. crucifer* произошел в апреле (до 70%), когда температура воды в Карельских озерах была очень низкой. По нашим данным, уже в январе—феврале начинается увеличение экстенсивности заражения рыб.

У плотвы пик численности *D. fallax* приходится на апрель—май, процент заражения колеблется от 73.3 до 93.3. Весьма характерно, что

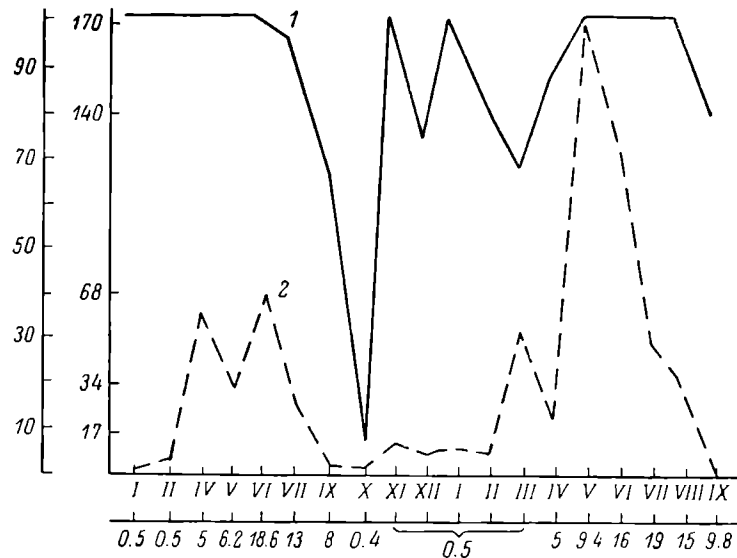


Рис. 4. Сезонная динамика численности *D. chranilowi*.
Обозначения те же, что на рис. 1.

паразиты держатся на рыбах только зимой и весной, когда рыба, видимо, готовится к нересту, и в нерестовый период. Позднее, начиная с июля по декабрь, они отсутствуют или встречаются в таких малых количествах, что мы не улавливаем их. Даже высокие летние температуры не приводят к размножению червей.

Весьма характерно, что *D. fallax*, паразитирующие на жабрах леща, встречаются также только в зимне-весенний период. Кроме того, численность этих паразитов на лещах значительно ниже, чем на плотве: наивысший процент заражения не превышает 20 в апреле—мае, а число червей на рыбах единично. Возникает вопрос, что это действительно холодолюбивая форма и черви не способны размножаться при высоких температурах или есть какие-то другие факторы, влияющие на их численность.

D. similis и *D. micracanthus* встречаются на плотве только в апреле—мае. В остальные месяцы года они практически отсутствуют.

С и н е ц. Вскрыто 248 экз., паразитирует 1 вид (рис. 4).

D. chranilowi в течение всего года сохраняются на рыбах. Экстенсивность заражения рыб составляет 70—100%, интенсивность испытывает значительные колебания. Наименьшее число паразитов на рыбах (2—5 экз.) встречается в январе—феврале и сентябре—декабре. В марте—мае происходит резкое увеличение числа паразитов на рыбах. В мае—июне наблюдается некоторый спад в зараженности. Чем же объяснить

такую неравномерную зараженность рыб паразитами: погодными условиями или имеются какие-то другие факторы, влияющие на жизнедеятельность паразитов? Температура воды в водохранилище в марте не превышала 0.5° , а в апреле—мае $5.0—9.4^{\circ}$. Оптимальная температура для откладки и развития яиц *D. chranilowi*, как было показано в эксперименте, $14—16^{\circ}$ [8]. Однако откладка яиц и их развитие происходят и при более низких температурах. Кроме того, было установлено, что продолжительность жизни червей на жабрах не менее 3 месяцев.

Таким образом, высокий процент (до 100) заражения рыб в течение всего года поддерживается за счет способности *D. chranilowi* к откладке яиц при разных температурах, различной скорости развития яиц в разных условиях и большой продолжительности жизни червей. Значительно труднее объяснить колебания численности паразитов на жабрах отдельных рыб — увеличение интенсивности заражения. При температуре воды не выше $5—9.4^{\circ}$ средняя численность паразитов в апреле—мае возрастает до 58—171 экз. Следует предположить, что в данный период главным фактором, стимулирующим размножение червей, является не температурный, а гормональный. Действительно в этот период (начало мая) происходил нерест синца. Затем даже при повышении температуры воды в водоеме в июне—июле количество паразитов на рыбе падает в 2—3 раза. Видимо, это связано с уходом рыб с нерестилищ и разобщенностью особей в посленерестовый период. Вместе с тем в конце июня—августе обилие планктона, скопление рыб в определенных участках водоема, относительно высокие температуры ($18—20^{\circ}$) приводят иногда к увеличению зараженности рыб.

Изложенное выше представляет собой лишь предварительные материалы по сезонной динамике дактилогирид леща, плотвы и синца. К сожалению, мы не имеем данных по биологии основных видов дактилогирисов, которые встречаются на жабрах леща и плотвы. Материалы по биологии *D. chranilowi* следовало бы дополнить в процессе дальнейших исследований. Проведившееся исследование со всей очевидностью показало, что выявление сезонной динамики паразитов рыб возможно лишь при систематических многолетних наблюдениях в определенном участке водоема. Такие наблюдения позволяют выявить истинные закономерности появления и исчезновения паразитов на рыбах и факторы, их определяющие. Наряду с этим необходимы экспериментальные исследования по биологии массовых видов.

Даже предварительные данные показывают, что для подавляющего большинства видов дактилогирисов леща, плотвы и синца характерно весеннее нарастание численности — конец апреля—май. При сравнительно низких температурах ($5.2—9.4^{\circ}$) в чрезвычайно короткий срок (15—20 дней) происходит резкое повышение экстенсивности и интенсивности заражения. В летние месяцы, казалось бы при благоприятных условиях, интенсивность заражения рыб резко падает, хотя экстенсивность заражения часто остается прежней. Сопряженная эволюция паразитов с их хозяевами привела, видимо, к совпадению их жизненных циклов. Действительно, весенний пик численности паразитов совпадает с преднерестовым и нерестовым периодами рыб. В Рыбинском водохранилище (Волжский плес) нерест синца проходит в начале мая, леща и плотвы в середине мая. Мы совершенно согласны с мнением Г. Е. Шульмана [19] и В. Р. Микрякова [15] о том, что физиолого-биохимические изменения, происходящие в организме хозяина в преднерестовый и нерестовый периоды, оказывают влияние на паразитов. Исследования физиологов показали, что созревание овоцитов, переход от превителлогенеза к вителлогенезу сопровождаются сложной перестройкой белкового и жирового обмена рыб. В этот период изменяются соотношение белков, уровень гемоглобина и состав липидов в крови. Изменяются также количество и содержание белка и жира в печени рыб [21]. У леща Рыбинского водо-

хранилища в феврале—марте овоциты достигают III стадии, а в апреле переходят к IV стадии. С конца апреля до середины мая происходит созревание и нерест [10]. У леща оз. Ленина переход яйцеклеток в IV стадию зрелости начинается уже с конца октября и продолжается до апреля [17]. У леща Волгоградского водохранилища IV стадия зрелости наступает в середине сентября и продолжается до конца апреля [18]. Четвертая стадия у воблы Северного Каспия наступает в конце сентября и продолжается до апреля—мая [14]. Материалы по жизненному циклу рыб дают нам четкое представление о том, что в течение зимне-весеннего периода происходит сложная физиолого-биохимическая перестройка в организме рыб, которая затрагивает и паразитов.

Увеличение численности паразитов массовых видов начинается уже в марте, а в ряде случаев и в феврале. Это направлено на сохранение и процветание вида. Вот здесь-то мы и сталкиваемся с той «природой червей», о которой писал Гробен [23], и «жизненным ритмом паразитов» по М. П. Даниярову [4]. Мы предполагаем, что под влиянием гонадотропных гормонов хозяина начинается процесс созревания паразитов, ускорения развития яиц и выхода личинок. Возможно, это один из главных факторов, закрепленных наследственностью, который обеспечивает расселение вида. К моменту нереста рыб экстенсивность заражения дактилогирусами достигает максимума. В период нереста вступает другой, не менее важный фактор — плотность популяции хозяев, которая создается в определенных участках водоема. Этот фактор приводит к увеличению числа паразитов на рыбах. Б. Е. Быховский [2] считает, что увеличение зараженности рыб весной связано с началом массового размножения дактилогирусов за счет личинок, выходящих из перезимовавших яиц и яиц, отложенных сохранившимися особями. Одно из проявлений приспособления дактилогирусов — приуроченность их массового размножения к такому периоду, когда наблюдается наиболее легкий переход от одного хозяина к другому [7]. Летом вступает еще и 3-й фактор — температура. При наличии относительно высоких температур и скоплений рыб на мелководных участках, где кормится и нагуливается рыба, в ряде случаев происходит увеличение численности паразитов до сотни и более экземпляров. Однако в целом в летние месяцы наблюдается снижение заражения рыб дактилогирусами, достигающее в осенне-зимний период своего минимального значения.

В связи с полученными данными следует, видимо, пересмотреть вопрос о холодолюбивых и теплолюбивых видах дактилогирусов. Так, например, *D. auriculatus* считается холодолюбивым [9, 20]. Действительно, максимум его численности падает на холодное время года (февраль—май). Если эта форма холодолюбивая, то черви должны бы развиваться и в осенний период, когда резко падает температура воды. Однако это не так, с сентября по январь численность их резко сокращается. Другие формы — *D. falcatus* и *D. wunderi*, рассматриваются как теплолюбивые [20], но, по нашим данным, максимум заражения ими приходился на май (93.3 и 60%). Противоречивость данных разных исследователей еще раз подчеркивает острую необходимость проведения многолетних экспериментальных исследований по биологии отдельных видов дактилогирид.

Л и т е р а т у р а

1. Богданова Е. А. Сезонные изменения паразитофауны щуки и леща р. Волги. — В кн.: Работы по гельминтологии. К 80-летию акад. К. И. Скрябина. М., 1958, с. 72—78.
2. Быховский Б. Е. Моногенетические сосальщики, их система и филогения. М.—Л., 1957. 502 с.
3. Гусев А. В., Кулемин И. В. Анализ изменчивости признаков, поведения и цикла развития моногеней в связи с возрастом хозяев. — Паразитология, 1971, т. 5, вып. 4, с. 320—329.

4. Д а н и я р о в М. Р. Паразитофауна рыб родника «Чилу-Чор-Чашма» (ТаджССР) с постоянной и высокой температурой воды. — Паразитология, 1975, т. 9, вып. 4, с. 312—314.
5. И з ю м о в а Н. А. Материалы по биологии *Dactylogyrus vastator*, Nybelin. — В кн.: Паразитологический сборник ЗИН АН СССР. Л., 1956, т. 16, с. 229—243.
6. И з ю м о в а Н. А. Сезонная динамика паразитофауны рыб Рыбинского водохранилища (лещ, чехонь, судак, окунь). — Тр. Биол. ст. «Борок», 1958, вып. 3, с. 384—398.
7. И з ю м о в а Н. А. Сезонная динамика паразитофауны рыб Рыбинского водохранилища. — Тр. Ин-та биол. водохр., 1960, вып. 3 (6), с. 283—299.
8. И з ю м о в а Н. А. О биологии и специфичности *Dactylogyrus chranilowi*, Burchowsky, 1931. — В кн.: Паразитологический сборник ЗИН АН СССР. Л., 1969, т. 24, с. 128—134.
9. К о м а р о в а Т. И. Сезонная динамика гельминтофауны некоторых видов рыб дельты Днепра. Проблемы паразитологии. — Тр. Укр. респ. науч. о-ва паразитол., 1964, т. 3, с. 90—105.
10. Л е в и Л. А. О некоторых особенностях полового цикла леща Рыбинского водохранилища. — Тр. НИИ озern. и реч. рыбн. хоз-ва, 1953, т. 33, с. 62—71.
11. Л о п у х и н а А. М., С т р е л к о в Ю. А., Ч е р н ы ш е в а Н. Б., Ю н ч и с О. Н. Метод определения влияния паразитов на численность молоди рыб в озерах. — Паразитология, 1973, т. 7, вып. 3, с. 270—274.
12. М а л а х о в а Р. П. Сезонные изменения паразитофауны некоторых озер Карелии (Кончезеро). — Тр. Карельск. фил. АН СССР, 1961, т. 30, с. 55—78.
13. М а л а х о в а Р. П. О годовых изменениях в зараженности рыб Кончезера. — В кн.: Вопросы экологии животных. Петрозаводск, 1969, с. 27—37.
14. М е й е н В. А. Годовой цикл изменений ичников воблы Северного Каспия. — Тр. ВНИИ морск. рыбн. хоз-ва и океаногр., 1940, ч. 2, с. 99—115.
15. М и к р я к о в В. Р. О некоторых особенностях зараженности леща паразитами в период нереста. — Бюл. ВАСХНИЛ, 1975, вып. 20, с. 40—44.
16. Р у м я н ц е в Е. А. Эколого-сравнительный анализ паразитофауны ряпушки (*Coregonus albula*) и плотвы (*Rutilus rutilus*) водоемов северной Карелии. — В кн.: Болезни и паразиты рыб Ледовитоморской провинции (в пределах СССР). Тюмень, 1971, с. 48—51.
17. Ш а п о в а л Н. Э. Годовой цикл развития ичников леща озера Ленина. — Учен. зап. Днепропетровск. гос. ун-та, 1955, т. 51, с. 119—131.
18. Ш и л о в В. И. Возрастные и сезонные изменения ичников леща в условиях формирования Волгоградского водохранилища. — Тр. Саратовск. отд. ГосНИОРХ, 1962, т. 7, с. 118—129.
19. Ш у л ь м а н Г. Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб. М., 1972. 368 с.
20. Ш у л ь м а н Р. Е., Г р о з д и л о в а Т. А. Изменения паразитофауны некоторых рыб озера Селигер в следующие друг за другом годы. — В кн.: Эколого-паразитологические исследования на озере Селигер. Л., 1969, с. 167—200.
21. Ш у л ь м а н Г. Е., Р е в и н а Н. И., С а ф ь я н о в а Т. Е. Связь физиологического состояния с особенностями овогенеза пелагических рыб. — Тр. ВНИИ морск. рыбн. хоз-ва и океаногр., т. 69, вып. 2, с. 96—108.
22. Ю н ч и с О. Н. Влияние погодных условий разных лет на зараженность молоди плотвы озера Врево отдельными паразитами. — Изв. ГосНИОРХ, 1972, т. 80, с. 75—89.
23. G r ö b e n B e o b a c h t u n g e n ü b e r d i e E n t w i c k l u n g V e r s c h i e d e n e r A r t e n v o n F i s c h s c h m a r o t z e r n a u s d e r G a t t u n g D a c t y l o g y r u s. — Z. Parasitkde, 1940, Bd 11 (5), S. 611—636.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПАРАЗИТОФАУНЫ ЛЕЩА ГОРЬКОВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Эколого-паразитологические исследования ставят целью изучение зависимости паразитофауны, взятой в целом, от изменений внешних условий, окружающих хозяина, и от изменений физиологического состояния самого хозяина [9]. На состав паразитофауны рыб в водоеме оказывает влияние ряд факторов: уровенный режим, температура, течения, наличие высшей водной растительности колоний рыбоядных птиц, качественный и количественный состав организмов — представителей зоопланктона и зообентоса — промежуточных хозяев многих паразитов и др. Паразитофауна рыб определяется также экологией самого хозяина — составом пищи, распределением рыбы в водоеме, ее физиологическим состоянием. Таким образом, эколого-паразитологический анализ становится методом изучения экологии хозяина.

Лещ — основной объект промысла в Горьковском водохранилище. Среднегодовые уловы его в 1963—1973 гг. составляли 2.1 тыс. ц [14]. Представленные ниже материалы — часть общих исследований паразитофауны рыб этого водоема.

Протяженность Горьковского водохранилища 434 км, наибольшая ширина — 14 км. Оно относится к типу равнинно-речных водоемов [13]. По своей морфометрии и гидрологическому режиму водохранилище делится на 5 участков, каждый из которых характеризуется определенным эколого-фаунистическим комплексом.

1. Верхний речной участок — от Рыбинска до Костромы — узкий водоем, до 2 км шириной.

2. Костромское расширение, занимающее Костромскую низменность, — обширный мелководный слабопроточный водоем, средняя глубина 3—4 м.

3. Участок сброса теплых вод Костромской ГРЭС в районе г. Волгореченска, с повышенной температурой во все времена года, используется как водоем-охладитель Костромской ГРЭС.

4. Речной участок — в 10—15 км ниже г. Волгореченска.

5. Приплотинный участок — от Юрьевца до Городца.

В связи с неоднородностью морфометрии, гидрологического и гидробиологического режимов водохранилища мы решили предпринять исследование паразитофауны рыб, в частности леща, в различных его участках. Было интересно выяснить зависимость паразитофауны леща от конкретных экологических условий этих участков. В течение 4 лет (1973—1976 гг.) из различных участков водохранилища методом полного паразитологического вскрытия (кровь не исследовалась) обследовано 130 лещей, обнаружено 25 видов паразитов. Рыба добывалась тралом, сетями и неводом. Размер леща от 29 до 33 см, вес от 500 до 670 г, возраст от 7+(8) до 9+(10) лет.

Верхний речной участок (Рыбинск—Кострома) по своим гидрологическим параметрам близок к режиму Волги до образования водохранилища. Течение здесь достигает в половодье 1.2 м/с, в межень —

0.2—0.8 м/с [4, 27]. В зоопланктоне существенную роль играют коловратки, составляющие в среднем за сезон 46.6% от численности всего комплекса. Кроме коловраток, доминируют клadoцеры *Bosmina longirostris*, *Daphnia longispina* и копеподы *Mesocyclops leuckarti* [21]. Средняя биомасса зоопланктона в июле в горизонте 0—2 м колебалась от 1.0 до 1.6 г/м³, т. е. была в 2.5 раза меньше, чем в приплотинной зоне [6]. В бентосе преобладают *Valvata piscinalis*, *Sphaerium corneum*, *Pisidium omnicus*.

Паразитофауна рыб этого участка Волги до образования водохранилища изучена слабо. Б. Е. Быховский [5] исследовал трематод рыб Волги в районе Костромы. Нами обследовано 235 экз. рыб 17 видов, из которых зараженными оказались 146, что составляет 62.1%, обнаружено 25 видов трематод. У леща зарегистрировано 100%-е заражение *Diplozoon paradoxum* и *Bucephalus polymorphus*, 25%-е — *Asymphylodora imitans* и *Tetracotyle ovata*. В 1943 г. В. П. Столяров [24], проводя паразитологические исследования рыб Волги в районе Ярославля, зарегистрировал у леща 25 видов паразитов. Сравнивая материалы по трематодам, полученные Б. Е. Быховским [5] и В. П. Столяровым [24], видно, что в этот период резко уменьшился процент заражения леща *D. paradoxum* (26.6), *B. polymorphus* (13.3), *A. imitans* (6.6), *T. ovata* (6.6). Вместе с тем отмечены карифиллиды (20%), лигулиды (20%), диплостоматиды (20%). Как видно, фауна паразитов Волги в этом участке уже в 1943 г. начала приобретать лимнофильный характер. Это связано, по-видимому, с процессами, происходящими в Рыбинском водохранилище, которое было создано в 1941 г.

В 1955 г. А. А. Шигин [12] обследовал 171 экз. 15 видов рыб Волги в этом же районе перед образованием водохранилища и обнаружил 85 видов паразитов. У леща было найдено 25 видов паразитов. Сопоставление данных А. А. Шигина [12] с данными В. П. Столярова [24] показывает, что за 12 лет произошло значительное увеличение зараженности леща *D. paradoxum* (85.2%, и. о.¹ 7.0), метацеркариями трематод рода *Cotylurus* (78.8%), карифиллидами (47.8%), *Sphaerostoma bramae* (47.8%). В сборах А. А. Шигина отсутствуют *A. imitans*. Таким образом, процесс становления фауны лимнофильного комплекса паразитов (тетракотилиды, диплостоматиды, карифиллиды) на этом участке Волги продолжался.

С момента образования Горьковского водохранилища, т. е. с 1956 г., исследование паразитофауны рыб этого участка водоема не проводилось. Интересно было выяснить, какова же паразитологическая ситуация в верхнем участке Горьковского водохранилища на 18—20-м году после его образования.

Летом 1974—1975 гг. нами на этом участке (Рыбинск—Кострома) было обследовано 30 экз. лещей, обнаружено 18 видов паразитов (табл. 1).

Паразиты с прямым циклом развития представлены 9 видами. Слабо заражен лещ простейшими (*M. exiguus* — 6.6%) и ракообразными (2 вида). Из моногеней чаще других поражали рыб *D. paradoxum* (63.3%, и. о. 3.9). Пиявки *P. geometra* встречались более чем на половине лещей (53.3%, и. о. 4.8). Среди паразитов, связанных в своем развитии с промежуточными хозяевами, доминировали *D. spathaceum* (93.3%, и. о. 31.5), метацеркарии *C. pileatus* (73.3%) и *S. bramae* (33.3%). Сравнительно высок процент заражения леща *C. laticeps* (46.6%, и. о. 5.2). Виды, вызывающие эпизоотии и наносящие большой вред рыбному хозяйству, такие как *Ligula intestinalis* и *Digramma interrupta*, не были обнаружены. В наших сборах отсутствовали также *B. polymorphus* и *A. imitans* — представители реофильного комплекса.

Полученные данные показывают, что изменение гидрологического и гидробиологического режимов, связанное с образованием Горьковского водохранилища, близость Рыбинского водохранилища с уже сложившейся лимнофильной фауной с одной стороны способствовали становлению

¹ и. о. — индекс обилия.

Т а б л и ц а 1
Паразитофауна леща верхнего речного участка
Горьковского водохранилища

Вид паразита	Экстенсивность заражения, %	Индекс обилия
<i>Myxobolus exiguus</i>	6.6	1.3 цисты
<i>Dactylogyrus auriculatus</i>	6.6	1.4
<i>D. falcatus</i>	3.3	0.1
<i>D. fallax</i>	3.3	0.03
<i>D. wunderi</i>	20.0	5.0
<i>Diplozoon paradoxum</i>	63.3	3.9
<i>Caryophyllaeus laticeps</i>	46.6	5.2
<i>Phyllodistomum elongatum</i>	3.3	0.06
<i>Sphaerostoma bramae</i>	33.3	2.1
<i>Cotylurus communis</i>	16.6	0.3
<i>C. erraticus</i>	3.3	0.03
<i>C. pileatus</i>	73.3	Десятки
<i>Diplostomum spathaceum</i>	93.3	31.5
<i>Raphidascaris acus</i>	3.3	0.03
<i>Philometra ovata</i>	43.3	0.5
<i>Piscicola geometra</i>	53.3	4.8
<i>Paraergasilus rylovi</i>	3.3	0.03
<i>Tracheliastes maculatus</i>	13.3	0.7

форм паразитов лимнофильного комплекса (тетракотилиды, диплостоматиды, карофиллиды) в этом участке водоема, с другой — сокращению видового состава и численности реофилов. Это видно (табл. 2) при сопоставлении данных различных авторов по зараженности леща Волги и верхнего участка Горьковского водохранилища некоторыми паразитами.

Т а б л и ц а 2
Сравнительная зараженность леща некоторыми видами паразитов

Вид паразита	Волга			Водохранилище наши данные, 1974—1975 гг.
	Быковский [5] (трематоды)	Столяров [24]	Изюмова, Шигин [12]	
<i>Diplozoon paradoxum</i>	100	26.6	85.2	63.3
<i>Caryophyllaeus laticeps</i>	—	20.0	47.8	46.6
<i>Sphaerostoma bramae</i>	—	33.3	47.8	33.3
<i>Bucephalus polymorphus</i>	100	13.3	30.4	—
<i>Asymphyiodora imitans</i>	25.0	6.6	—	—
<i>Tetracotyle ovata</i>	25.0	6.6	78.3	73.3
<i>Diplostomum spathaceum</i>	—	20.0	70.0	93.3

К о с т р о м с к о е р а с ш и р е н и е — водоем со своеобразными физико-географическими и гидрологическими особенностями. Его отличает сложная береговая линия, преобладание мелководий (средняя глубина 3—4 м), хорошо развитая высшая водная растительность [7, 14, 15]. Кислородный режим в летнее время благоприятен для существования водных организмов, зимой в большей части водоема возникает дефицит кислорода и создаются заморные условия [1]. Видовой состав фитопланктона и его количественное развитие характерны для водоемов мезотрофного типа, а в отдельных участках даже евтрофированных, что делает эту зону перспективной для нагула молоди различных видов рыб [16]. Видовой состав зоопланктона существенно не отличается от водохранилищного. Общая величина биомассы зоопланктона колеблется от 1.2 [8] до 2.5 г/м³ [6]. Наблюдается зарастание прибрежной высшей водной растительностью [26]. Ряд авторов [7] обращает внимание на возможность интен-

сивного рыборазведения при условии создания запланированного нересто-выростного хозяйства на базе указанного водоема. В связи с этим необходимо знать сложившуюся паразитологическую ситуацию, а также пути и направления формирования и становления паразитофауны рыб в данном участке водохранилища.

Паразитофауна рыб Костромского расширения до настоящего времени не исследовалась. В конце июля—начале августа 1974 г. нами было обследовано 15 экз. леща, зарегистрировано 14 видов паразитов (табл. 3). В сравнении с вышерасположенным речным участком водохранилища здесь несколько ниже заражение *C. pileatus* (66.6%), не найдены *Sphaerostoma bramae*, *Phyllodistomum elongatum*, но высок процент заражения *D. spathaceum* (93.3%, и. о. 21.2). Обнаружены *A. limacoides* (6.6%). Лещ слабо заражен моногенеями.

Т а б л и ц а 3
Паразитофауна леща Костромского расширения

Вид паразита	Экстенсивность заражения, %	Индекс обилия
<i>Myxobolus exiguus</i>	13.3	0.8 цист
<i>Dactylogyrus auriculatus</i>	13.3	5.3
<i>D. falcatus</i>	6.6	4.0
<i>D. wunderi</i>	13.3	6.6
<i>Diplozoon paradoxum</i>	20.0	0.2
<i>Caryophyllaeus laticeps</i>	66.6	4.4
<i>Aspidogaster limacoides</i>	6.6	0.1
<i>Cotylurus communis</i>	13.3	0.4
<i>C. pileatus</i>	66.6	3.1
<i>Diplostomum spathaceum</i>	93.3	21.2
<i>Philometra ovata</i>	26.6	0.7
<i>Piscicola geometra</i>	93.3	6.0
<i>Ergasilus sieboldi</i>	13.3	0.3
<i>Paraergasilus rylovi</i>	66.6	2.6

Лещ значительно заражен *C. laticeps* (66.6%), связанных в своем развитии с олигохетами. Паразитические пиявки *P. geometra* поражают при индексе обилия 6.0, 93.3% рыб — самый высокий процент заражения пиявками, обнаруженный нами на всем водохранилище. Встречен рачок *P. rylovi* (66.6%), обитающий в носовой полости лещей. В речном участке он был найден лишь у 3.3% рыб.

Своеобразие Костромского расширения (мелководность, относительно высокая биомасса зоопланктона, заросли высшей водной растительности) несомненно следует использовать для искусственного разведения и выращивания ценных пород промысловых видов рыб. Паразитологическая ситуация, сложившаяся здесь, не является препятствием для проведения рыбохозяйственных мероприятий.

У часток сброса теплых вод Костромской ГРЭС. Исследование состава и распределения зообентоса в этом районе показало, что средняя биомасса в месте сброса теплых вод почти в 4 раза ниже, чем в водохранилище, и составляет 3.0 г/м². Кроме того, отмечено, что основное значение для развития бентоса имеет характер грунта. Разный характер грунтов перекрывает действие температурного фактора и затрудняет выяснение его влияния. Специфических термофильных форм зообентоса здесь не обнаружено [23]. Зимой в незамерзающей части залива Костромской ГРЭС численность зоопланктона была в 2—2.5 раза выше, чем в водозаборном канале. Весной в зоне подогрева повышение температуры сбрасываемой воды до 26—28.9° вызывает уменьшение количества организмов. В зоне влияния подогретых вод доминирует *Mesocyclops leuckarti* [10].

Вопросом о непосредственном влиянии подогретых вод на паразитофауну рыб в естественных водоемах-охладителях стали заниматься сравнительно недавно. Н. М. Мариц и В. Х. Чокырлан [17] на водоеме-охладителе Молдавской ГРЭС отметили увеличение количества видов паразитов у карповых рыб с 55 до 68. Повышение экстенсивности и интенсивности заражения рыб *C. laticeps* они объясняют наличием значительного количества олигохет — промежуточных хозяев паразита. Н. С. Иванова и В. А. Мусселиус [11] на основании своих наблюдений за паразитофауной карпов, выращиваемых в водоемах-охладителях ГРЭС им. М. Классона, делают выводы о том, что в теплых водах некоторые, относительно холодолюбивые виды будут угнетены, а, возможно, и исчезнут и, наоборот, теплолюбивые виды могут получить широкое распространение и вызвать вспышки заболеваний. О. И. Стрижак [25] отмечает, что в теплом заливе Иваньковского водохранилища рыбы питаются зимой, вследствие чего заражение паразитами, связанными в своем развитии с промежуточными хозяевами, может происходить круглый год. Биомасса бентоса здесь резко снижается, что вынуждает леща питаться зоопланктоном, а это сказывается на зараженности его лигулидами. Различают прямое влияние температуры на сроки созревания паразитов и на развитие беспозвоночных животных, являющихся промежуточными хозяевами многих паразитов (рачки, олигохеты, моллюски), и опосредованное. Последнее выражается в изменении питания рыб.

При обследовании 30 экз. леща в районе сброса подогретых вод Костромской ГРЭС нами обнаружено 16 видов паразитов (табл. 4). Анализ

Т а б л и ц а 4
Паразитофауна леща участка сброса теплых вод
Костромской ГРЭС

Вид паразита	Экстенсивность заражения, %	Индекс обилия
<i>Myxobolus exiguus</i>	3.3	0.26
<i>Dactylogyrus auriculatus</i>	30.0	0.7
<i>D. falcatus</i>	10.0	0.13
<i>D. wunderi</i>	10.0	0.3
<i>Diplozoon paradoxum</i>	43.3	2.4
<i>Caryophyllaeus laticeps</i>	63.3	32.4
<i>Caryophyllaeides fennica</i>	3.3	0.1
<i>Ligula intestinalis</i>	3.3	0.03
<i>Bucephalus polymorphus</i>	3.3	0.03
<i>Sphaerostoma brahamae</i>	3.3	0.03
<i>Cotylurus communis</i>	3.3	0.13
<i>C. pileatus</i>	13.3	0.6
<i>Diplostomum spathaceum</i>	66.6	47.7
<i>Desmidocercella</i> sp.	3.3	0.03
<i>Philometra ovata</i>	23.3	0.3
<i>Piscicola geometra</i>	43.3	8.8

паразитофауны этого участка водохранилища позволяет отметить некоторые характерные особенности зараженности леща в сравнении с другими участками. Так, моногенеи поражали незначительное количество рыб (10—30%) с очень низким показателем индекса обилия (0.3—0.7), кроме *D. paradoxum* — 43.3% (и. о. 2.4). Ленточные черви были представлены в основном *C. laticeps* (63.3%, и. о. 32.4). Трематоды явно находились в неблагоприятных условиях. *S. brahamae* — распространенный паразит леща, найден нами у 3.3% рыб при слабом индексе обилия — 0.03. О. И. Стрижак [25] также отмечает понижение зараженности леща этим паразитом. Даже представители рода *Cotylurus*, встречавшиеся у большого количества рыб в различных участках водохранилища, здесь найдены

всего у 3.3—13.3% лещей с индексом обилия 0.13—0.6, метацеркарии *D. spathaceum* — у 66.6% при и. о. 47.7. Отсюда следует, что, несмотря на понижение общей биомассы бентоса в месте сброса теплых вод ГРЭС по сравнению с другими участками водохранилища, такие паразиты как *C. laticeps* и *D. spathaceum* находят благоприятные условия для увеличения численности. Большой процент заражения леща *C. laticeps* можно объяснить избирательностью его питания. Основным кормом леща в районе теплых вод служат олигохеты — тубифициды, которые являются промежуточными хозяевами гвоздичников. Чем объясняется относительно высокая зараженность рыб *D. spathaceum* — пока сказать трудно.

Речной участок ниже г. Волгореченска, расположенный в 10—15 км ниже района сброса теплых вод Костромской ГРЭС, по гидрологическому и термическому режимам сходен с верхним речным участком водохранилища. Интересно было выяснить, имеется ли влияние сброса теплых вод на паразитофауну леща в этом участке водоема. Обследовано 23 экз. леща, обнаружено 16 видов паразитов (табл. 5). По сравнению с данными, полученными в верхнем речном участке, заметно некоторое увеличение зараженности леща дактилогирисами *D. auriculatus* (17.3%, и. о. 1.0), *D. falcatus* (13.0%, и. о. 0.21). Ленточные черви *C. laticeps* найдены у 56.5% лещей при индексе обилия 7.5, что также несколько выше, чем в верхнем речном участке. Зараженность леща *S. bramae* (47.8%, и. о. 2.7), диплостоматидами (78.2%, и. о. 28.9) и тетракотилидами (65.2%, и. о. 11.0) сходна с таковой верхнего речного участка. Увеличилось заражение паразитическими раками *P. rylovi* (17.3%, и. о. 0.34), *T. maculatus* (21.7%, и. о. 0.34) и появился *E. sieboldi* (8.6%, и. о. 0.17).

Т а б л и ц а 5
Паразитофауна леща речного участка ниже
г. Волгореченска

Вид паразита	Экстенсивность заражения, %	Индекс обилия
<i>Myxobolus exiguus</i>	8.6	2.3
<i>Dactylogyrus auriculatus</i>	17.3	1.0
<i>D. falcatus</i>	13.0	0.21
<i>D. wunderi</i>	26.0	2.1
<i>Diplozoon paradoxum</i>	43.4	1.9
<i>Caryophyllaeus laticeps</i>	56.5	7.5
<i>Phyllodistomum elongatum</i>	4.3	0.26
<i>Sphaerostoma bramae</i>	47.8	2.7
<i>Cotylurus communis</i>	13.0	0.43
<i>C. pileatus</i>	65.2	11.0
<i>Diplostomum spathaceum</i>	78.2	28.9
<i>Philometra ovata</i>	30.7	0.56
<i>Piscicola geometra</i>	26.0	0.8
<i>Ergasilus sieboldi</i>	8.6	0.17
<i>Paraergasilus rylovi</i>	17.3	0.34
<i>Tracheiastes maculatus</i>	21.7	0.34

Полученные данные говорят об увеличении зараженности леща паразитами с прямым циклом развития — дактилогирисами и паразитическими раками. Видовой состав ленточных червей и трематод в исследованных участках (верхнем речном и ниже сброса теплых вод) одинаков, имеются лишь небольшие количественные изменения. Это позволяет сделать вывод о том, что район теплых вод Костромской ГРЭС не оказывает значительного влияния на паразитофауну рыб участка водохранилища, расположенного ниже на 10—15 км.

П р и п л о т и н н ы й у ч а с т о к включает свыше 60% всей площади водохранилища. Его длина 90 км, ширина в районе Юрьевца до

14 км. Это водоем озерного типа с экологическими условиями, благоприятными для обитания рыб озерного комплекса.

Исследования паразитофауны рыб приплотинного участка водохранилища начались с момента его образования, т. е. с 1956 г., и проводились всего 2 года. А. Ф. Барышева [2] обследовала паразитофауну 519 экз. рыб 24 видов в первый год существования водохранилища. Отмечено общее обеднение фауны в количественном отношении в сравнении с рекой. Она объясняет это уменьшением количества моллюсков в Горьковском водохранилище, главным образом представителей родов *Unio*, *Limnaea*, *Planorbis*, *Anodonta*, *Sphaerium*, *Pisidium* — промежуточных хозяев многих паразитов [18]. У леща в этот период был обнаружен 31 вид паразитов, во 2-й год заполнения — 24 вида. Отмечено значительное увеличение численности моногеней (*D. auriculatus*, *D. falcatus*) и ряда паразитов со сложным циклом развития, таких как *C. laticeps*, *S. bramae*, *Bunodera luciopercae*, *Phyllodistomum angulatum* [3]. Это отклонение от общепринятой схемы формирования равнинных водохранилищ авторы объясняют близостью и влиянием уже сложившейся фауны Рыбинского водохранилища. В 1962—1965 гг. в этом участке водохранилища работал гельминтологический отряд волжской экспедиции Горьковского университета. Был отмечен лигулез у уклей — 100% и леща — 25% [20]. Н. Ф. Носков [19] считает, что источником лигулеза на водоеме является речная чайка (*Larus ridibunda*) — заражена лигулидами на 55.8%, и речная крачка (*Sterna hirunda*), пораженная на 52.1%.

В 1973—1976 гг. нами из приплотинного участка было обследовано 30 экз. леща, обнаружено 16 видов паразитов (табл. 6).

Т а б л и ц а 6
Паразитофауна леща приплотинного участка
Горьковского водохранилища

Вид паразита	Экстенсивность заражения, %	Индекс обилия
<i>Myxobolus exiguus</i>	20.0	0.8 цист
<i>Dactylogyrus auriculatus</i>	13.3	0.4
<i>D. falcatus</i>	6.6	0.13
<i>D. wunderi</i>	16.6	0.3
<i>Diplozoon paradoxum</i>	3.3	0.03
<i>Caryophyllaeus laticeps</i>	86.6	31.3
<i>Ligula intestinalis</i>	6.6	0.1
<i>Rhipidocotyle illense</i>	3.3	0.03
<i>Phyllodistomum elongatum</i>	10.0	0.3
<i>Sphaerostoma bramae</i>	13.3	0.2
<i>Cotylurus pileatus</i>	26.6	8.0
<i>Diplostomum spathaceum</i>	50.0	3.4
<i>Philometra ovata</i>	26.6	0.5
<i>Piscicola geometra</i>	6.6	0.1
<i>Ergasilus sieboldi</i>	36.6	1.4
<i>Paraergasilus rylovi</i>	3.3	0.03

Из паразитических простейших *M. exiguus* встречен на 6 лещах (20%). Моногеней представлены *D. auriculatus* (13.3%), *D. falcatus* (6.6%), *D. wunderi* (16.6%), *D. paradoxum* (3.3%). Ленточные черви представлены 2 видами — *L. intestinalis* (66%) и *C. laticeps* (86.6%, и о. 31.3). Высокий процент заражения и численность кариофиллид свидетельствуют о том, что лещ усиленно питается тубифицидами. Численность трематод, связанных в своем развитии с моллюсками, невелика. *Ph. elongatum* поражал 10% лещей, *S. bramae* — 13.3%. Метациркулярии трематод, окончательными хозяевами которых являются рыбацкие птицы, в частности чайковые, также немногочисленны. *C. pileatus* обнаружены на внутренних органах у 26.6% обследованных лещей. Паразиты хрусталика глаз мно-

гих рыб — *D. spathaceum*, зарегистрированы у 50% лещей. Индекс обилия их невелик — 3.4 экз. на 1 рыбу. Наличие лигулид (6.6%) и *Ph. ovata* (26.6%) говорит о том, что лещ питается зоопланктоном. И. Е. Постнов [22] отмечает в пищевом рационе леща (размерные группы до 27—29 см) летом организмы зоопланктона и считает, что при высоких биомассах зоопланктон может успешно заменить многим возрастным группам бентосоядных рыб в нагульный период их основную пищу. Сравнение паразитофауны леща приплотинного участка Горьковского водохранилища на 1—2-м году формирования водохранилища с паразитофауной леща уже сформировавшегося водоема (на 18—20-м году) позволяет отметить, что при том же качественном составе паразитов увеличивалось количество форм лимнофильного комплекса. Так, например, увеличилась численность диплостоматид с 23.5 до 50%, тетрактилид — с 5.9 до 26.6% — паразитов, имеющих окончательных хозяев чайковых птиц. Это говорит об увеличении колоний рыбоядных птиц в приплотинной зоне водохранилища. Повысилась зараженность леща *C. laticeps* с 70.6 до 86.6%. Грунты и гидрологический режим благоприятствуют развитию тубифицид в большей степени, нежели переднежаберных моллюсков сем. *Bithyniidae*, которые являются промежуточными хозяевами *S. bramae*. Численность *S. bramae* снизилась с 70.6 до 13.3%. Большие глубины, ветровое перемешивание поверхностных водных масс, разреженность популяции леща затрудняют заражение рыб паразитами с прямым развитием. Экстенсивность заражения *D. auriculatus* снизилась с 64.7 до 13.3%, *D. paradoxum* — с 64.7 до 3.3%.

Таким образом, в приплотинном участке Горьковского водохранилища сложился лимнофильный комплекс паразитов, становление его шло параллельно с формированием всей экосистемы водоема.

В целом в фауне паразитов леща Горьковского водохранилища в сравнении с рекой с одной стороны наблюдается уменьшение числа видов реофилов, с другой — увеличение видового состава и численности лимнофилов.

Повышенные (летние) температуры в районе сброса теплых вод Костромской ГРЭС оказывают отрицательное влияние на жизнь гидробионтов, в том числе на некоторых паразитов рыб (отсутствие паразитических ракообразных и некоторых трематод). Вместе с тем в этом районе возможны эпизоотии кариофиллеза и диплостоматоза.

Л и т е р а т у р а

1. Баранов И. В. Гидрохимический режим мелководий Горьковского водохранилища. — Изв. НИИ озern. и речн. рыбн. хоз-ва, 1974, т. 89, с. 21—30.
2. Барышева А. Ф. Паразитофауна рыб Горьковского водохранилища в первый год его существования. — Тр. Ин-та биол. водохр., 1960, вып. 3 (6), с. 273—282.
3. Барышева А. Ф., Владимиров В. А., Изюмова Н. А. Паразитофауна рыб Горьковского водохранилища во второй год его заполнения. — В кн.: Биологические аспекты изучения водохранилищ. М.—Л., 1963, с. 171—177.
4. Буторин Н. В. Гидрологические процессы и динамика водных масс в водохранилищах волжского каскада. Л., 1969. 320 с.
5. Быховский Б. Е. *Trematodes* рыб окрестностей г. Костромы. — Тр. Ленингр. о-ва естествоиспыт., 1929, т. 59, вып. 1, с. 13—27.
6. Вилисова И. К. Зоопланктон Горьковского водохранилища. — Изв. НИИ озern. и речн. рыбн. хоз-ва, 1972, т. 77, с. 146—154.
7. Волков В. А., Евдокимов В. Д., Зеликман А. А., Филимонов Л. А. Зоопланктон Костромского разлива (Костромского расширения) Горьковского водохранилища. — Тез. докл. на 1-й конф. по изуч. водоемов бас. Волги. «Волга-1». Тольятти, 1968, с. 109—110.
8. Дзюбан Н. А., Ривьер И. К. Современное состояние зоопланктона Волги. — Тез. докл. на 2-й конф. по изуч. водоемов бас. Волги. «Волга-2». Борок, 1974, с. 31—35.
9. Догель В. А. Паразитофауна и окружающая среда. Некоторые вопросы экологии паразитов пресноводных рыб. — В кн.: Основные проблемы паразитологии рыб. Л., 1958, с. 9—55.

10. Елагина Т. С. Зоопланктон Горьковского водохранилища в районе Костромской ГРЭС. — В кн.: Экология организмов водохранилищ-охладителей. Л., 1975, с. 244—257.
11. Иванова Н. С., Мусселиус В. А. Паразитофауна карпов при садковом выращивании в водоемах-охладителях ГРЭС. — В кн.: Сборник по прудовому рыбоводству. М., 1969, с. 202—205.
12. Изюмова Н. А., Шигин А. А. Паразитофауна рыб Волги в районах Горьковского и Куйбышевского водохранилищ. — Тр. Биол. ст. «Борок», 1958, вып. 3, с. 364—383.
13. Кожеников Г. П. Горьковское водохранилище. — Изв. НИИ озерн. и рыбн. хоз-ва, 1961, т. 50, с. 52—61.
14. Кожеников Г. П., Лесникова Т. В. Горьковское водохранилище. — Изв. НИИ озерн. и рыбн. хоз-ва, 1975, т. 102, с. 87—104.
15. Кутова Т. Н. Растительность мелководий Горьковского водохранилища. — Изв. НИИ озерн. и речн. рыбн. хоз-ва, 1974, т. 89, с. 30—37.
16. Лаврентьева Г. М. Фитопланктон мелководий Горьковского водохранилища. — Изв. НИИ озерн. и речн. рыбн. хоз-ва, 1974, т. 89, с. 37—40.
17. Мариц Н. М., Чокырлан В. Х. Паразитофауна рыб Качурганского лимана-охладителя Молдавской ГРЭС. — Тез. докл. V Всесоюз. совещ. по болезням и паразитам рыб и водных беспозвоночных, М.—Л., 1968, с. 15—16.
18. Мордухай-Болтовской Ф. Д., Гунько А. Ф. Донная фауна Горьковского водохранилища в первый год его существования. — Тр. Ин-та биол. водохр., 1959, вып. 2 (5), с. 73—85.
19. Носков Н. Ф. Роль чайковых птиц в поддержании очага лигулеза на Горьковском водохранилище. — Учен. зап. Горьковск. пед. ин-та, 1964, вып. 42, с. 95—98.
20. Парухин А. М., Трускова Г. М. Работа гельминтологического отряда волжской экспедиции Горьковского гос. ун-та. — Учен. зап. Горьковск. ун-та, сер. биол., 1964, вып. 62, с. 52—59.
21. Петрова М. А. Состав и продукция зоопланктона Горьковского водохранилища. — Тез. докл. на 1-й конф. по изуч. водоемов бас. Волги. «Волга-1». Тольятти, 1968, с. 122—123.
22. Постнов И. Е. Кормовая ценность зоопланктона нижней части Горьковского водохранилища. — Тез. докл. на 1-й конф. по изуч. водоемов бас. Волги. «Волга-1». Тольятти, 1968, с. 123—124.
23. Скальская И. А. Состав и распределение зообентоса Горьковского водохранилища в районе Костромской ГРЭС. — В кн.: Экология организмов водохранилищ-охладителей. Л., 1975, с. 258—271.
24. Столяров В. П. Паразитарные болезни рыб верхней Волги на участке Ярославской и Калининской областей. — Учен. зап. Ленингр. с.-х. ин-та, 1955, вып. 9, с. 180—201.
25. Стрижак О. И. Влияние подогретых вод Конаковской ГРЭС на паразитов рыб Ивановского водохранилища. — В кн.: Рыбохозяйственное изучение внутренних водоемов. Л., 1973, с. 42—47.
26. Экзерцев В. А., Белавская А. П., Кутова Т. Н. Некоторые данные о растительности волжских водохранилищ. — Матер. 1-й конф. по изуч. водоемов бас. Волги. «Волга-1». Куйбышев, 1971, с. 116—120.
27. Ярославцев Н. А. Режим течений Горьковского водохранилища. — Тез. докл. на 1-й конф. по изуч. водоемов бас. Волги. «Волга-1». Тольятти, 1968, с. 69—71.

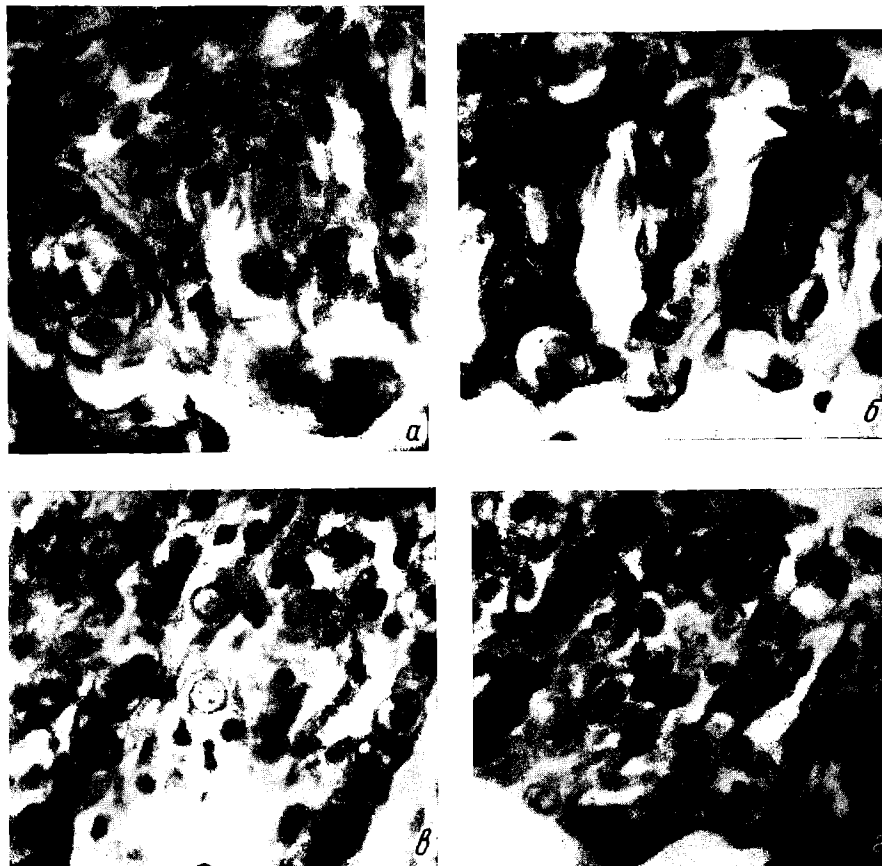


Рис. 10. Влияние низких значений pH на структуру жабр карасей.
а — pH 3.5, пресная вода, б — pH 3.5, дистиллированная вода, в — pH 3.5, Ca^{++} 40 мг/л, г — контроль.

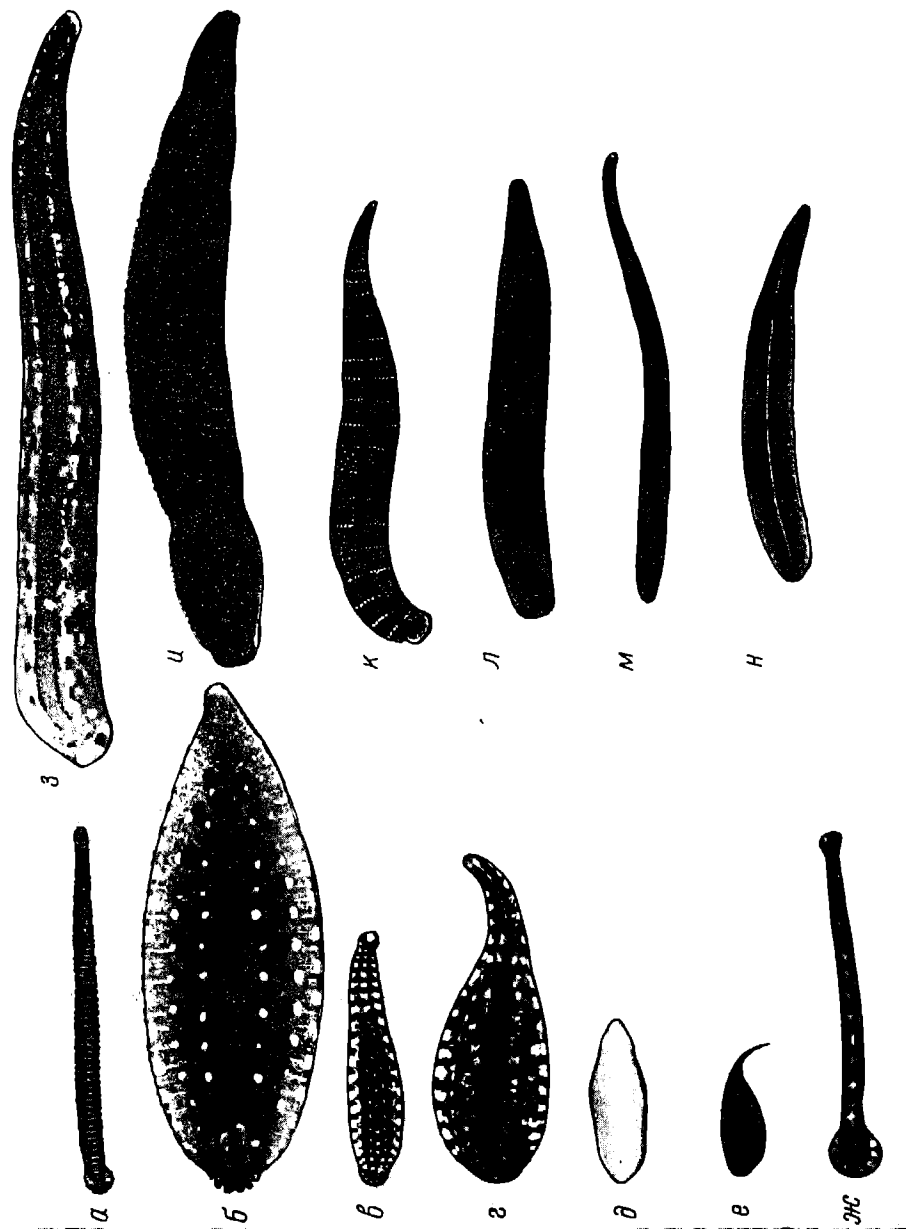
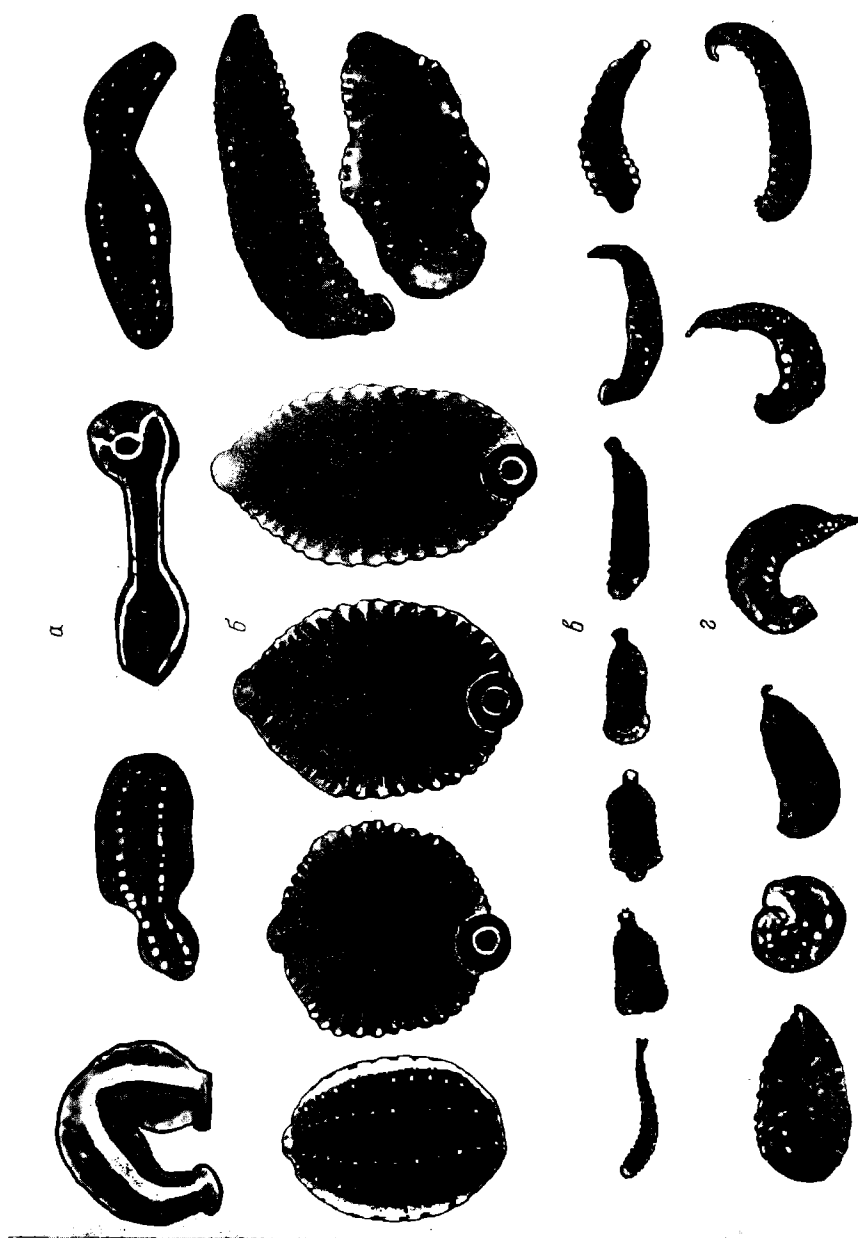


Рис. 1. Пиявки.

а — *P. tessulata* после 1-го кормления, б — *P. tessulata* после 2-го кормления, в — *H. marginata*, г — *G. (G.) contractata*, д — *G. (A.) heteroclita*, е — *H. stagnalis*, ж — *P. geometra*, з — *H. medicinalis*, и — *H. valisuga*, к — *H. (H.) osculata*, л — *H. (H.) tessacea*, м — *H. nigricollis*, н — *H. (D.) lineata*.



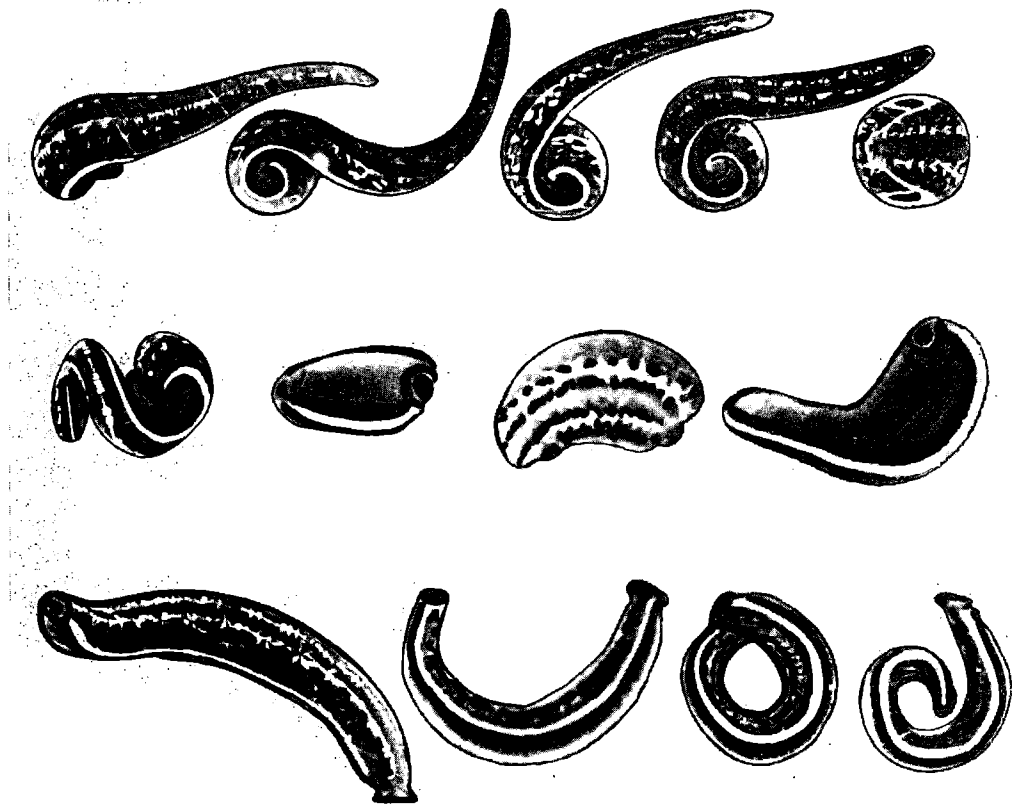


Рис. 4. Последовательность развития (справа налево и сверху вниз) симптомов отравления у *H. medicinalis* в летальных растворах хлорофоса.



Рис. 5. Некоторые симптомы отравления пшявок сем. *Nigrobdeidae* в хлорофосе.
а — *H. (H.) octoculata*, б — *H. (H.) testacea*, в — *H. (H.) nigricollis*.

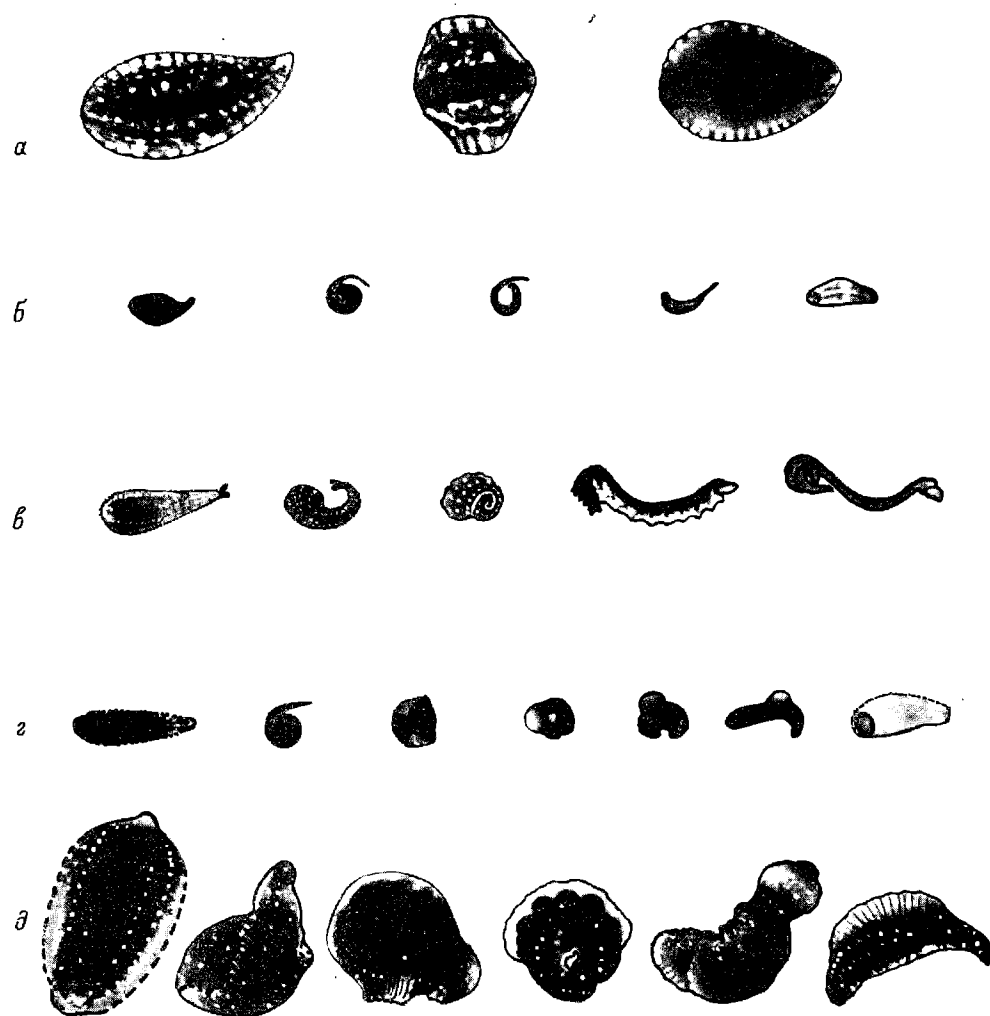


Рис. 6. Последовательность развития (справа налево) симптомов отравления в хлоро-
фосе пиявок сем. *Glossiphoniidae*.
а — *G. complanata*, б — *H. stagnalis*, в — *H. marginata*, г — *P. tessulata* после 1-го кормления, д —
P. tessulata после 2-го кормления.

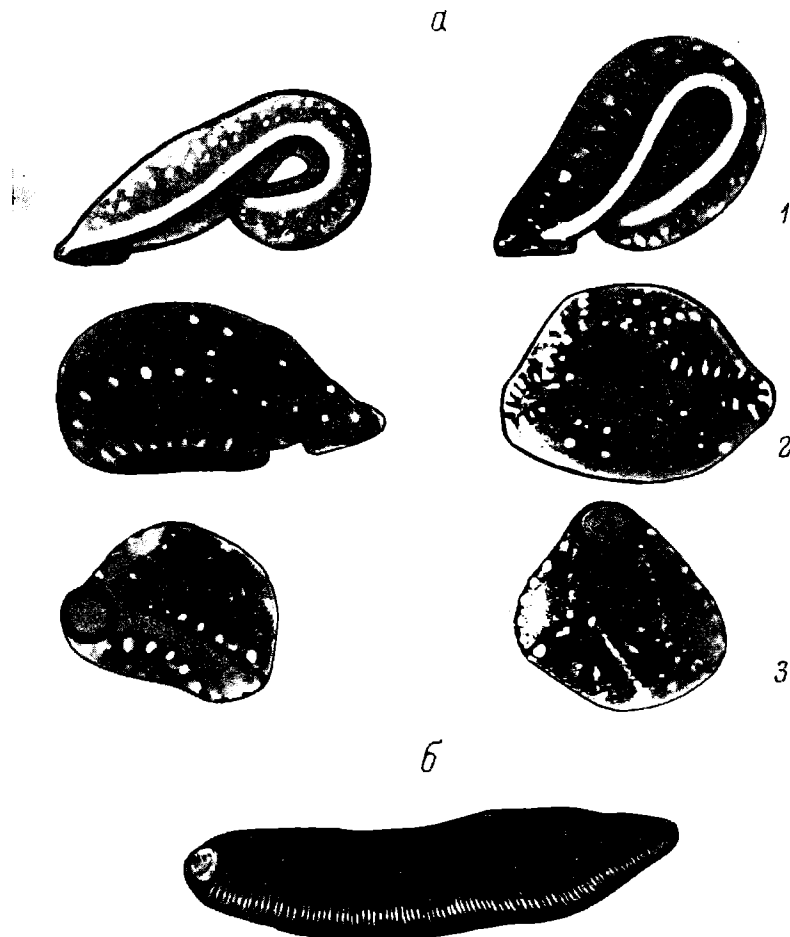


Рис. 7. Некоторые симптомы отравления пиявок в ПХП.

a — подворачивание головных сегментов под брюшко: 1 — *H. medicinalis*, 2 — *P. tessu*
G. complanata; б — выпадение прямой кишки у *H. sanguisuga*.

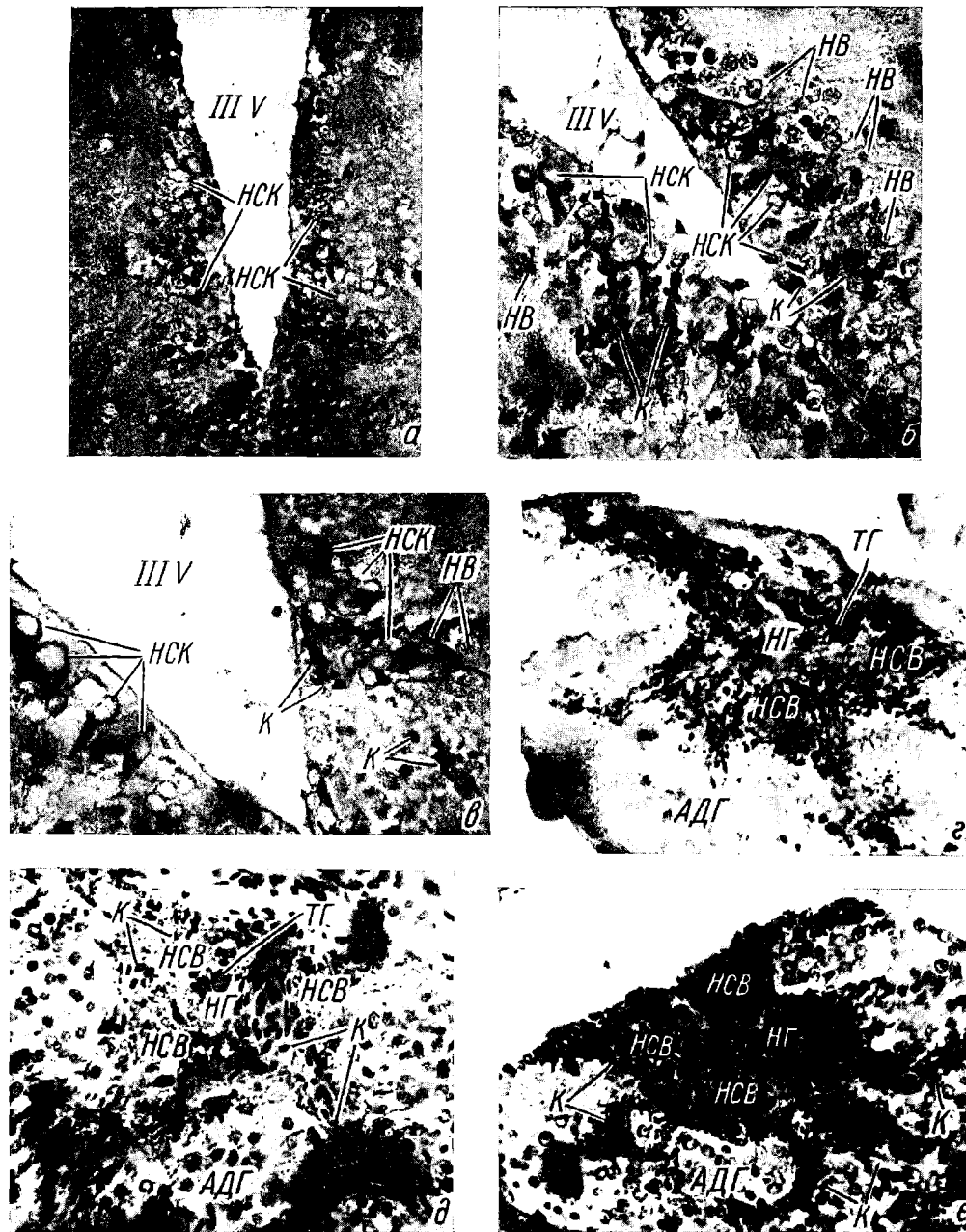


Рис. 1. ГГНС гупши в норме и при действии линдана.

a — общий вид преоптического ядра в контроле, *б* — нейросекреторные клетки преоптического ядра при действии линдана на 1-й фазе отравления (15 мин), *в* — то же на 3-й фазе отравления (5 ч), *г* — нейрогипофиз в контроле, *д* — нейрогипофиз на 1-й фазе отравления, *е* — то же на 3-й фазе отравления. III V — третий желудочек, НСК — нейросекреторная клетка, НВ — нейросекреторное волокно, НСВ — нейросекреторное вещество, К — капилляр, НГ — нейрогипофиз, АДГ — аденогипофиз, ТГ — тело Герринга. Буэн, ПАФ+азан; увел.: *a* — ок. $\times 10$, об. $\times 40$, *б*, *в* — ок. $\times 10$, об. $\times 90$, *г-е* — ок. $\times 15$, об. $\times 40$.

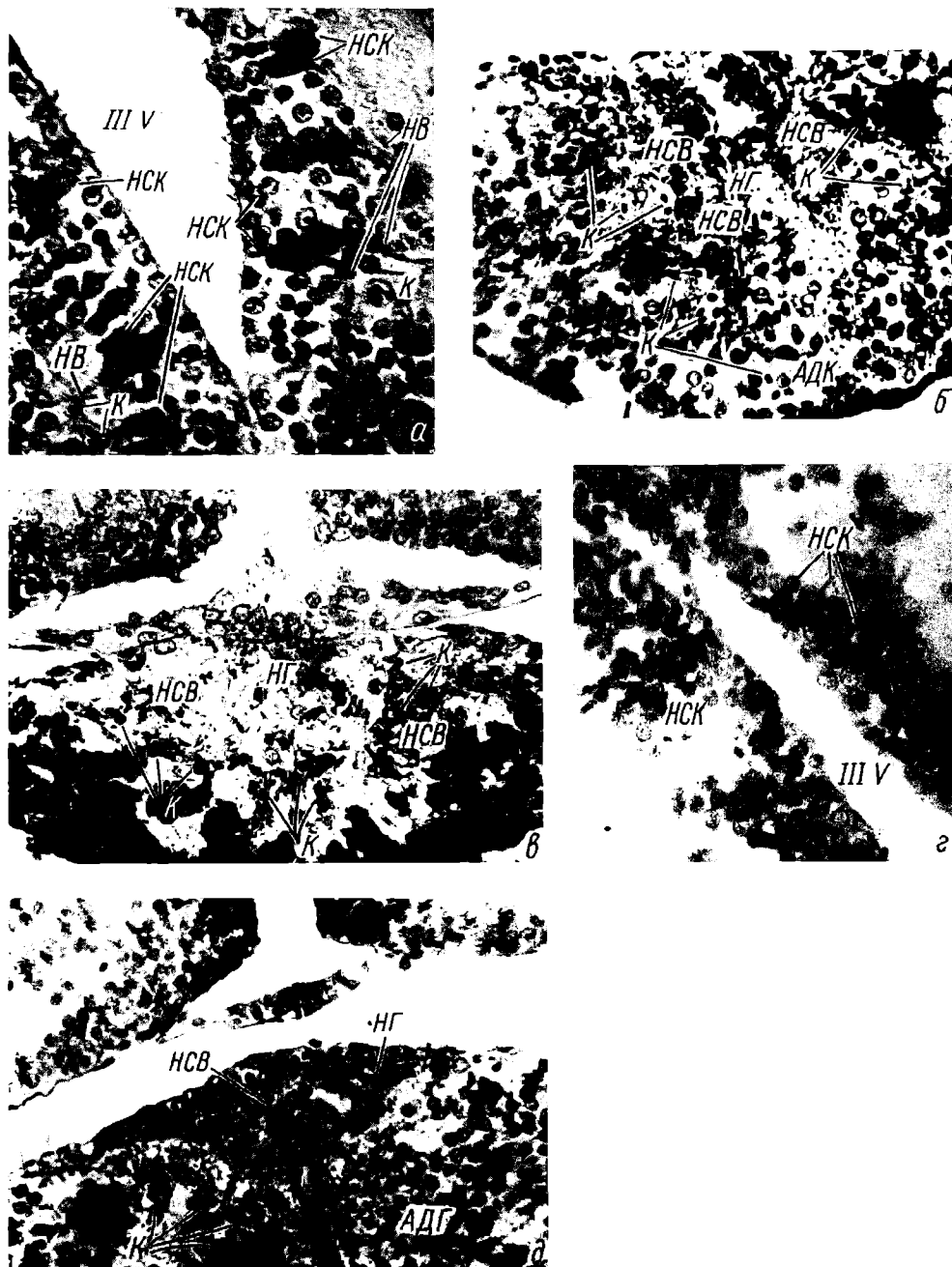


Рис. 2. ГНС группы при действии хлорофоса и «Лотос-71».

а — нейросекреторные клетки при действии хлорофоса на 1-й фазе отравления (1 ч), б — нейрогипофиз при действии хлорофоса на 1-й фазе отравления, в — то же на 2-й фазе отравления (5 ч), г — нейросекреторные клетки при действии «Лотос-71» на 1-й фазе отравления (1 ч), д — нейрогипофиз при действии «Лотос-71» на 2-й фазе отравления (5 ч). Буэн, ПАФ+азан; увел.: а — ок. $\times 10$, об. $\times 90$, б, в, д — ок. $\times 15$, об. $\times 40$, г — ок. $\times 10$, об. $\times 40$. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

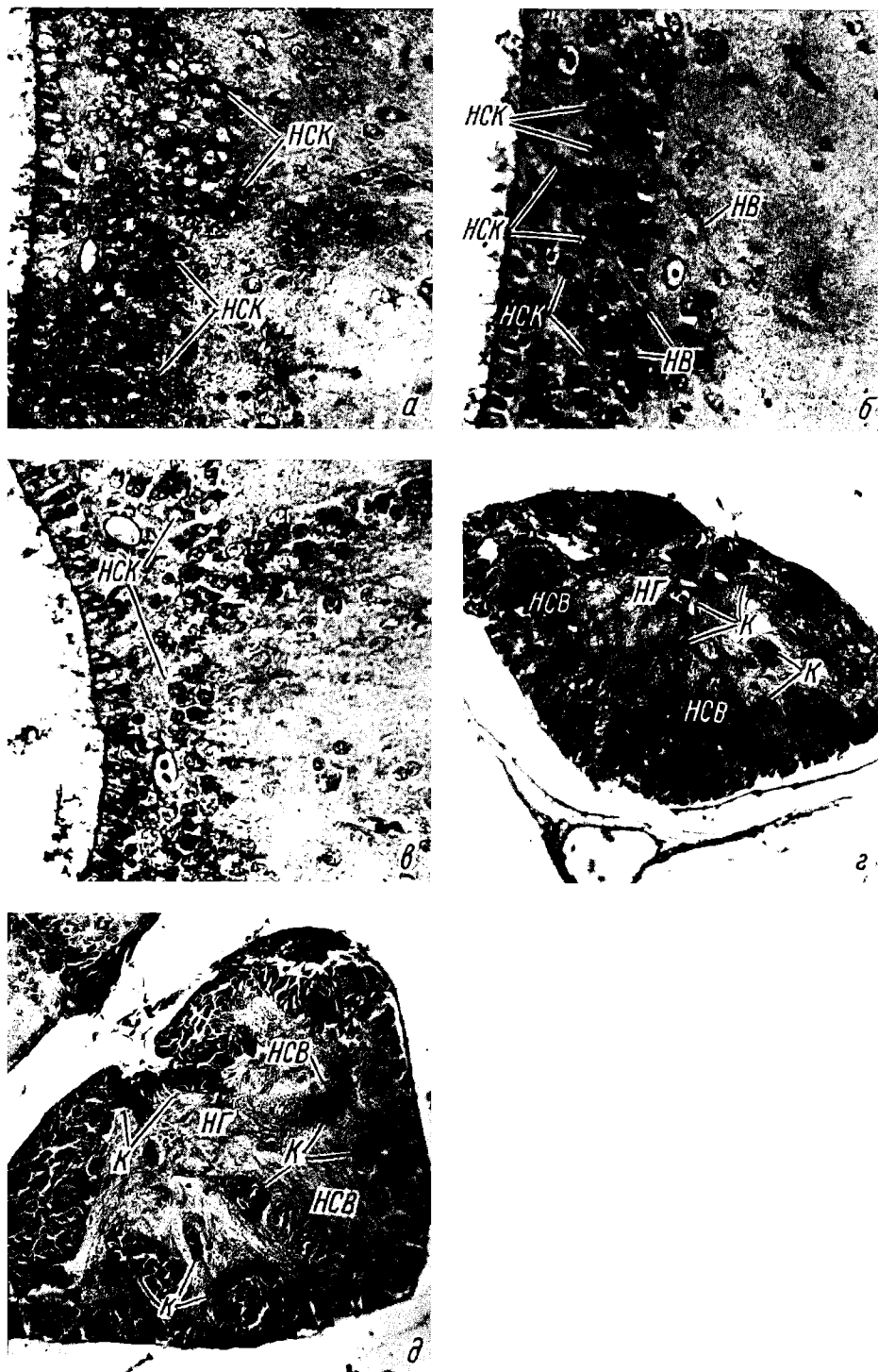


Рис. 3. ГГНС нерки в норме и при действии фенола.

— преоптическое ядро в контроле, б — преоптическое ядро при действии фенола на 1-й фазе отравления (1 ч), в — то же на 3-й фазе отравления (13 ч), г — нейрогипофиз в контроле, д — то же на 3-й фазе отравления (13 ч). Буэн, ПАФ+азан; увел.: ок. $\times 10$, об. $\times 40$. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

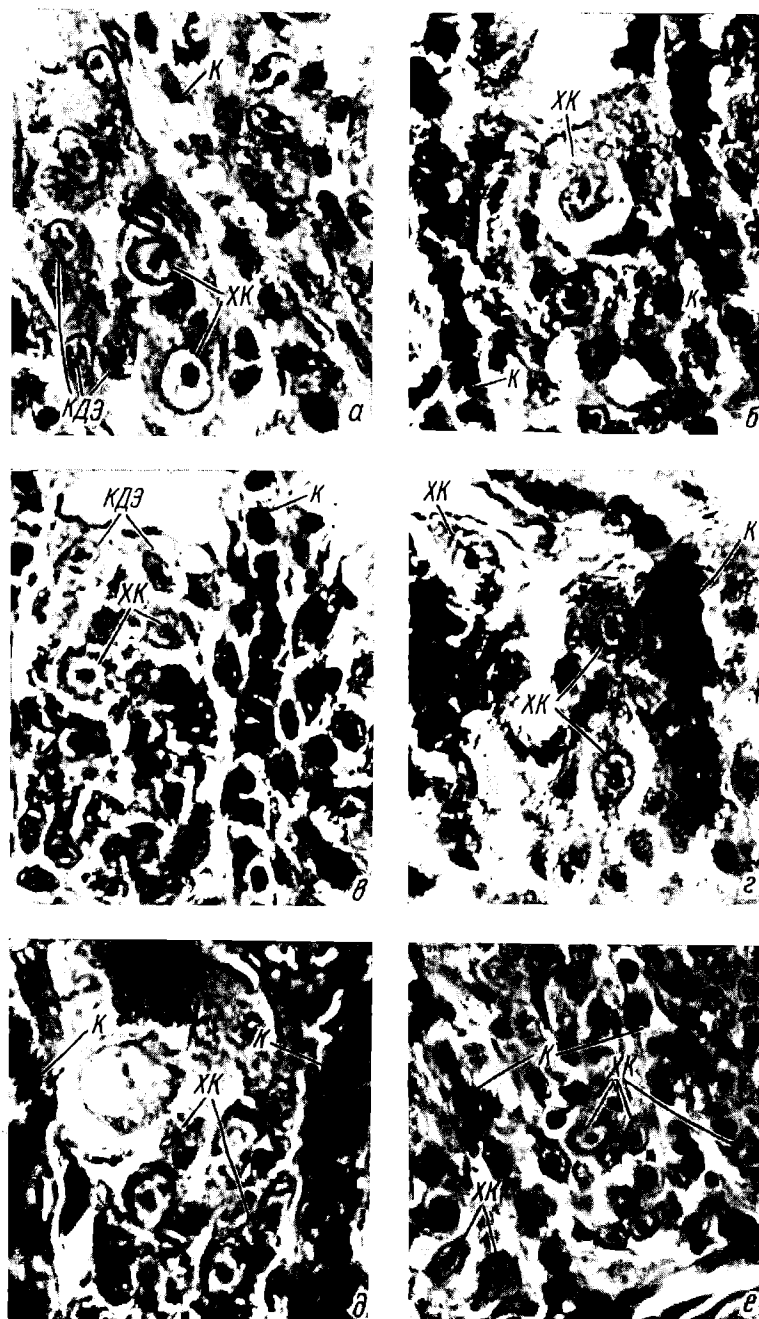


Рис. 1. Жаберный эпителий карася при действии ПХП (0.1 мг/л).
 а — контроль, б — через 30 мин воздействия ПХП, в — то же через 1 ч, г — через 3 ч, д — через 6 ч, е — через 72 ч. ХК — хлоридная клетка, КДЭ — клетка дыхательного эпителия, К — капилляр. Окраска железным гематоксилином по Гейденгайну; увел.: а—д — ок. $\times 12.5$, об. $\times 40$, е — ок. $\times 7$, об. $\times 40$.

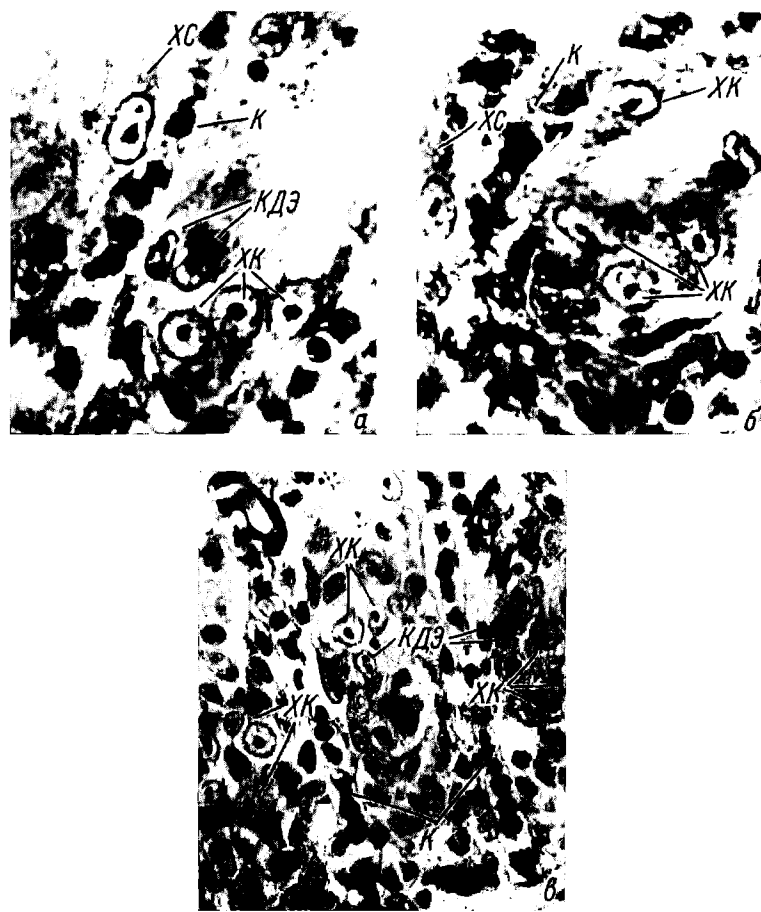


Рис. 2. Жаберный эпителий карася при действии ГХЦГ (8 мг/л).

а — через 30 мин воздействия ГХЦГ, *б* — то же через 1 ч, *в* — через 72 ч. Окраска железным гемаксилином по Гейденгайну; увел.: *а, б* — ок. $\times 12.5$, об. $\times 40$, *в* — ок. $\times 7$, об. $\times 40$. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

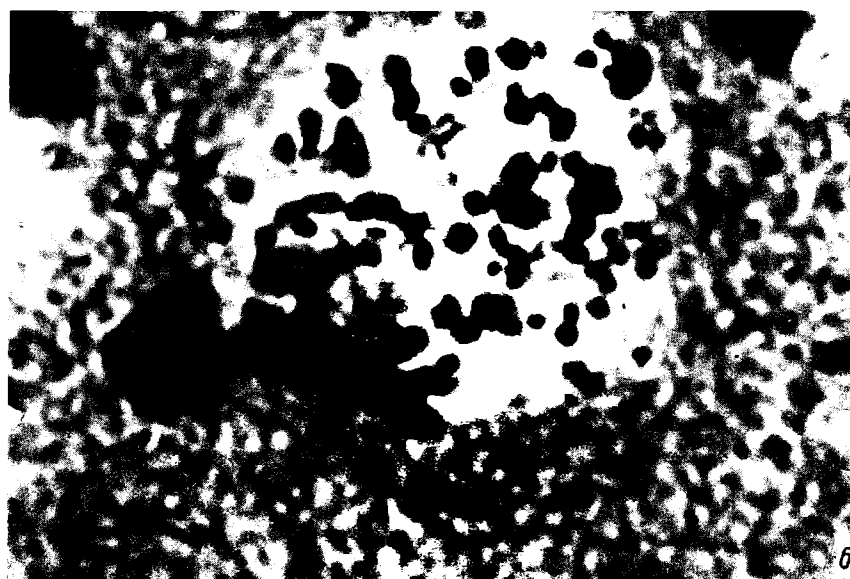
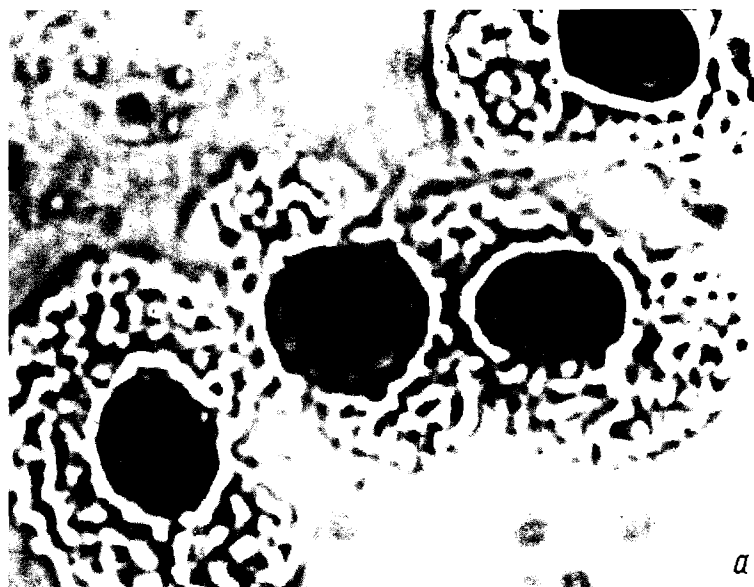


Рис. 2. Микроавторадиографы мазка-отпечатка печени.
а — эритроциты, б — гранулоциты. Окраска по Романовскому—Гимза; увел.: ок. $\times 10$, об. $\times 1$

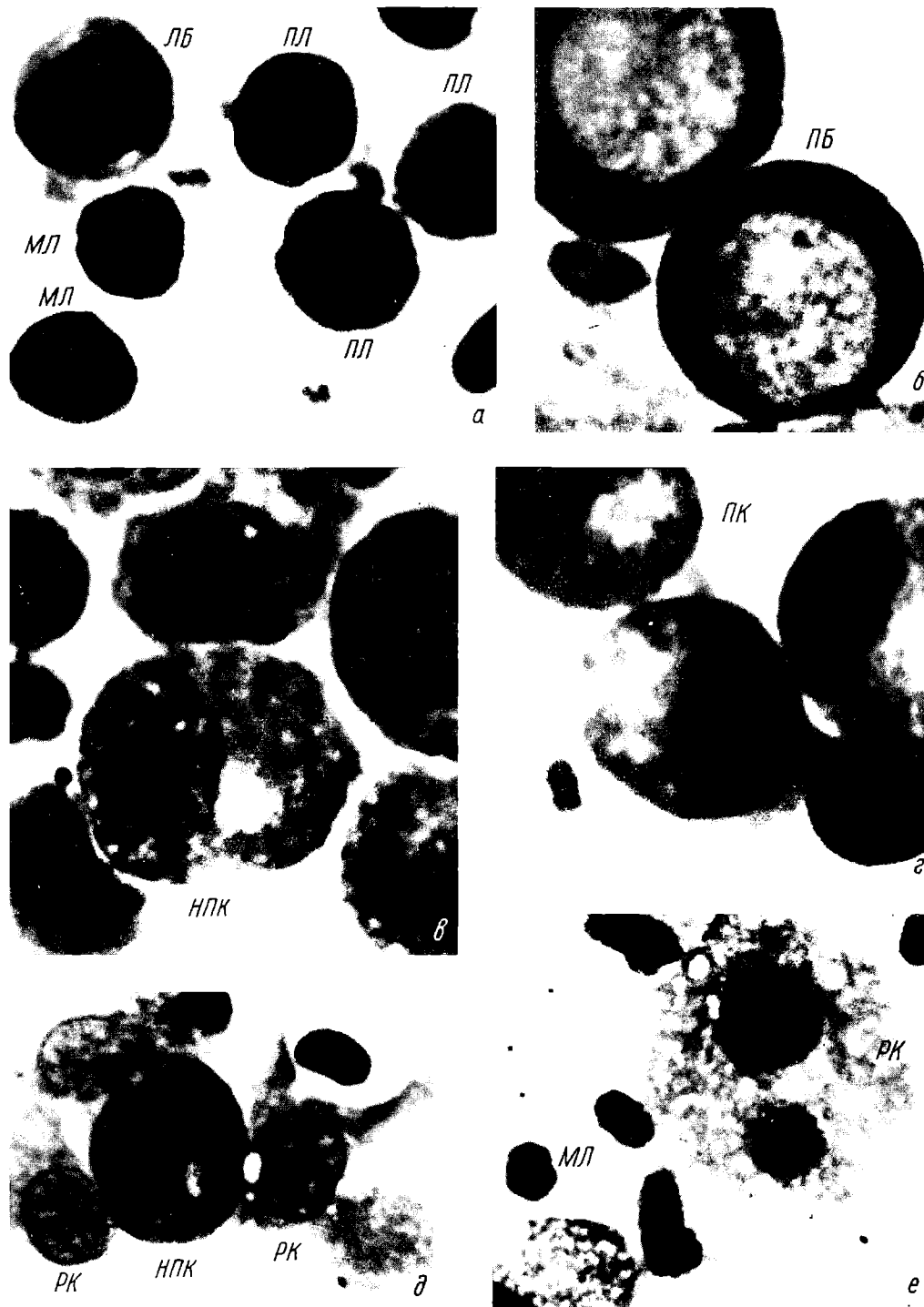


Рис. 3. Иммунокомпетентные клетки.

ЛБ — лимфобласты, ПЛ — пролимфоциты, МЛ — малые лимфоциты, ПБ — плазмобласты, НПК — незрелые плазматические клетки, ПК — зрелые плазматические клетки, РК — ретикулярные клетки. Окраска по Романовскому—Гимза; увел.: а—г — ок. $\times 10$, об. $\times 125$, д, е — ок. $\times 7$, об. $\times 125$.

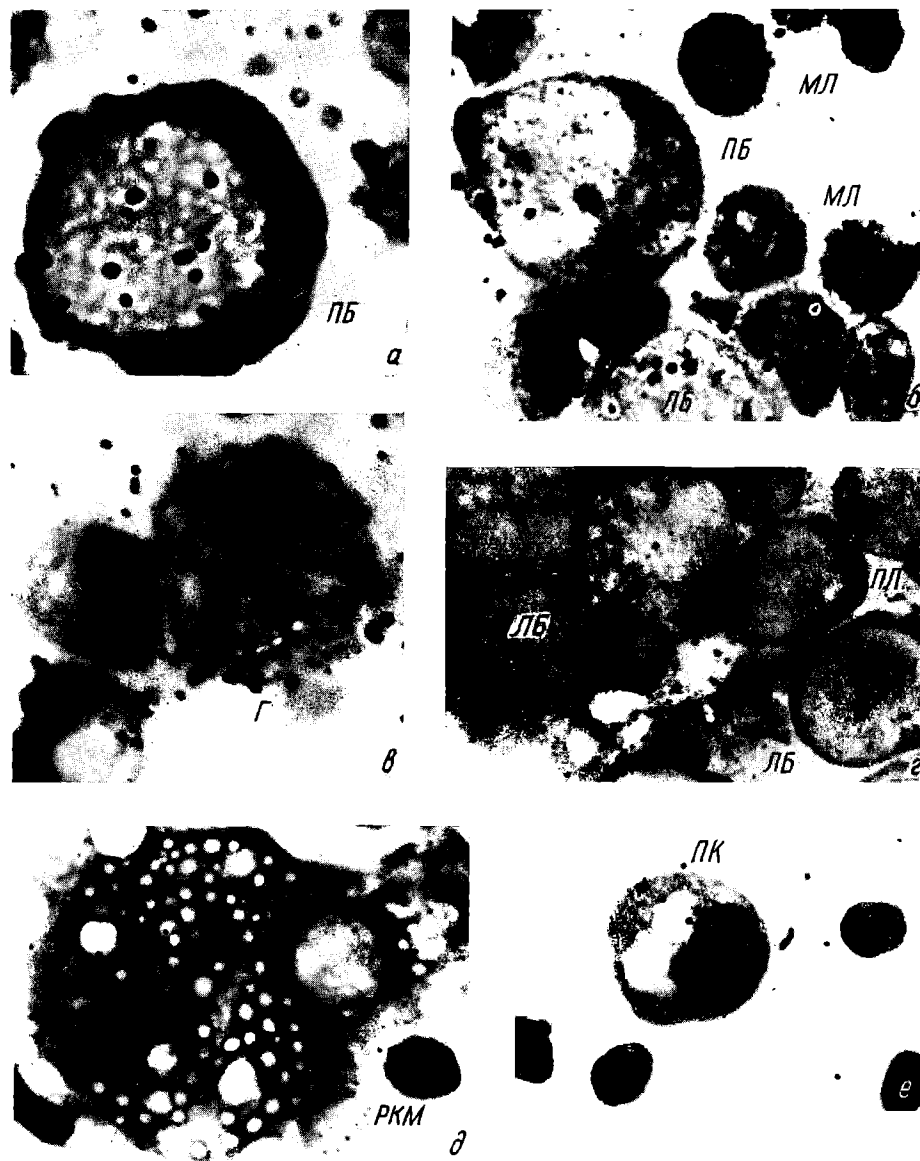


Рис. 4. Микроавторадиографы иммунокомпетентных клеток.

Г — гранулоциты, ПКМ — ретикулярная клетка (макрофаг). Окраска по Романовскому—Гимза; увел.: а—в, д — ок. $\times 10$, об. $\times 125$, г, е — ок. $\times 7$, об. $\times 125$. Остальные обозначения те же, что на рис. 3.

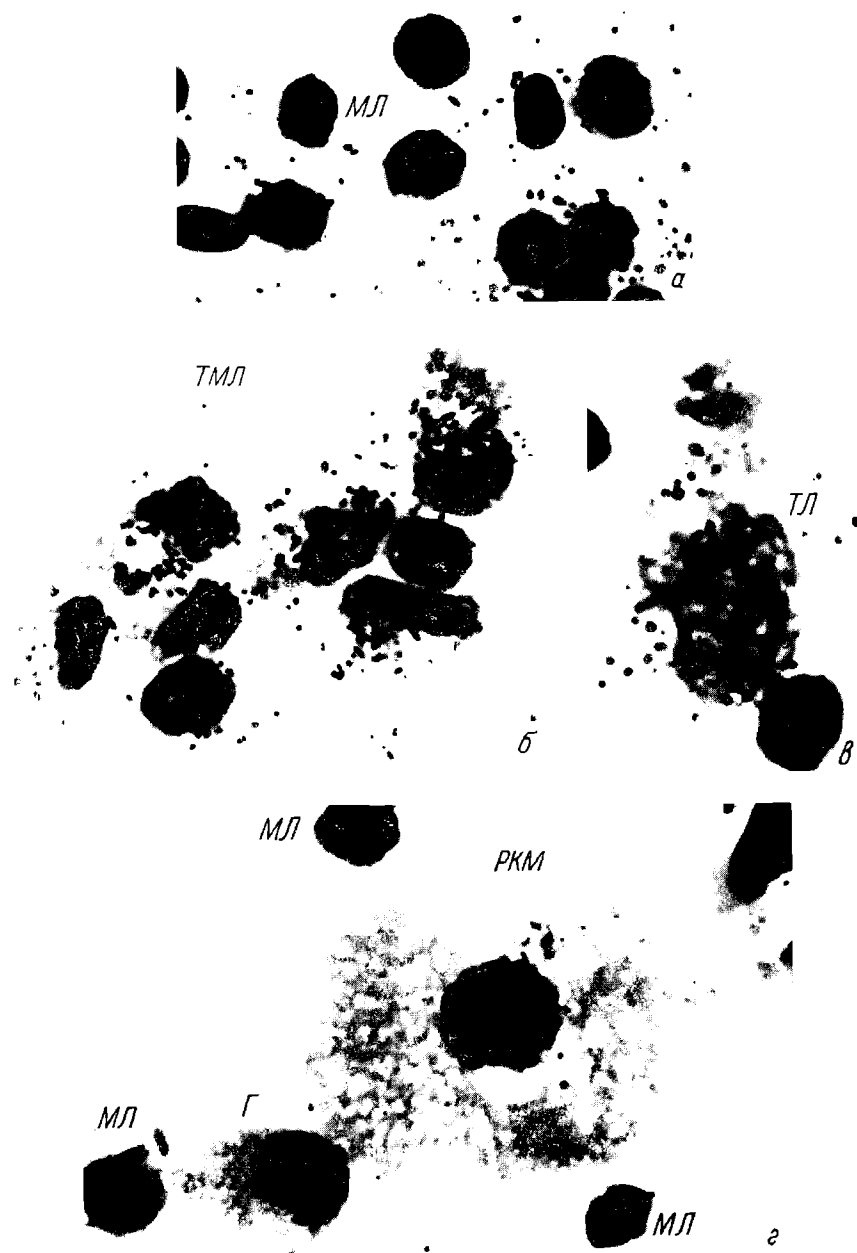


Рис. 5. Стадии фагоцитоза.

a — прилипание бактерий к малым лимфоцитам, *б* — трансформации малых лимфоцитов и погружение бактерий в цитоплазму, *в* — превращение лимфоцита в макрофаг, *г* — ретикулярная клетка (макрофаг). ТМЛ — трансформированный малый лимфоцит, ТЛ — трансформированный лимфоцит, РКМ — ретикулярная клетка (макрофаг). Окраска по Романовскому—Гимза; усл.: ок. $\times 7$, об. $\times 125$. Остальные обозначения те же, что на рис. 3.



Рис. 7. Разрушение лейкоцитов под действием размножающихся бактерий.
 а — 1-я стадия, б — 2-я стадия, в — 3-я стадия. Окраска по Романовскому—Гимза: увел.: ок. $\times 10$, об. $\times 125$. Остальные обозначения те же, что на рис. 3.

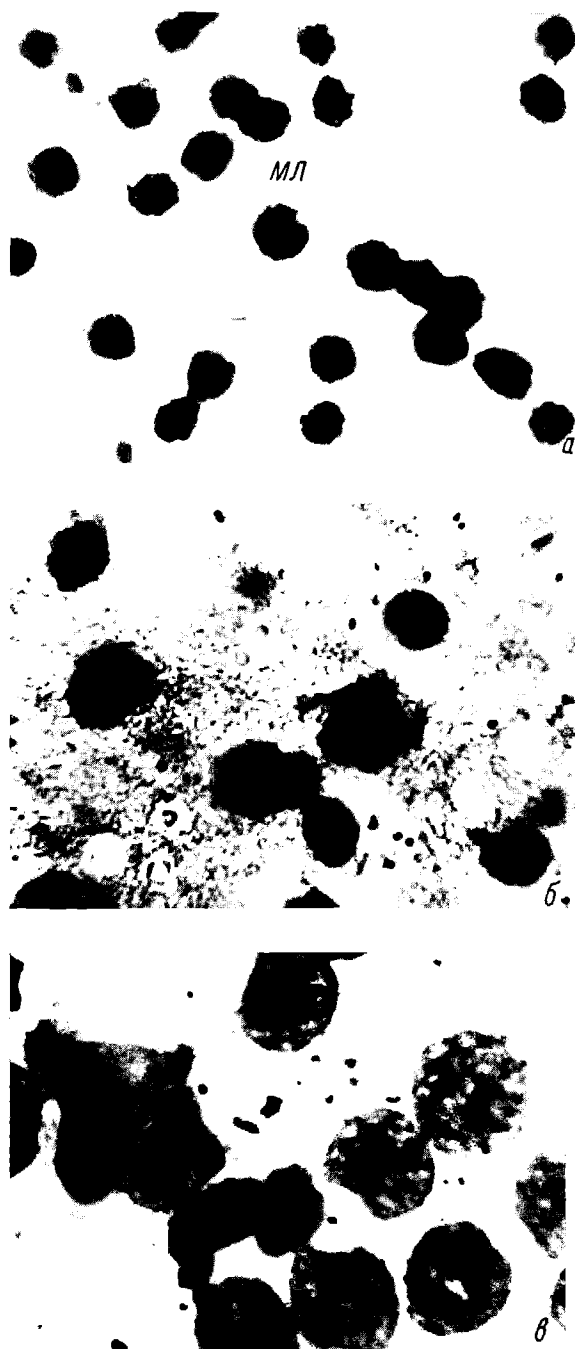


Рис. 9. Разрушение (лизис) лимфоцитов после инъекции грибов *C. albicans*.
 а — 1-я стадия, б — 2-я стадия, в — 3-я стадия. Окраска по Романовскому—Гимза; увел.: ок. $\times 10$,
 об. $\times 125$.

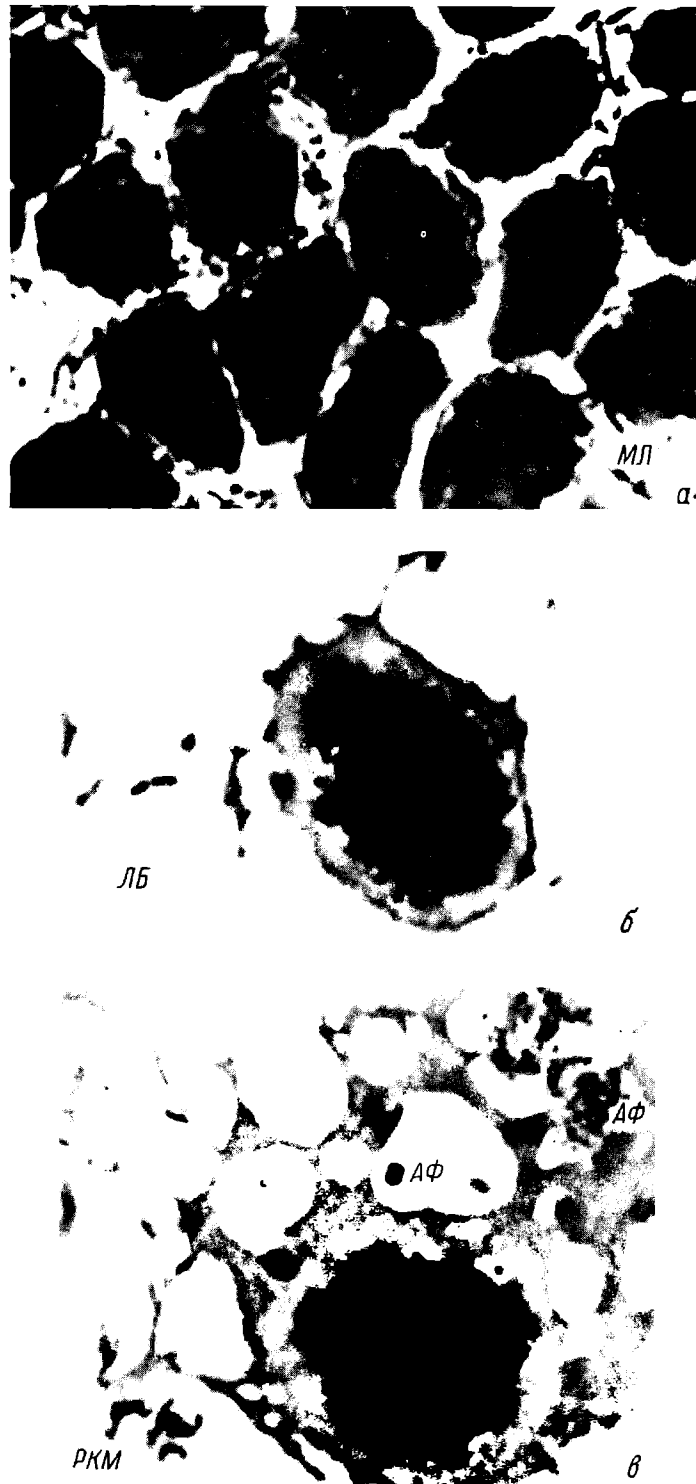


Рис. 12. Фагоцитоз бактерий и трансформация лимфоцитов у иммунных рыб.
 АФ — aberrantные формы бактерий. Окраска по Романовскому—Гимза; увелич. ок. $\times 10$, об. $\times 125$.
 Остальные обозначения те же, что на рис. 3.

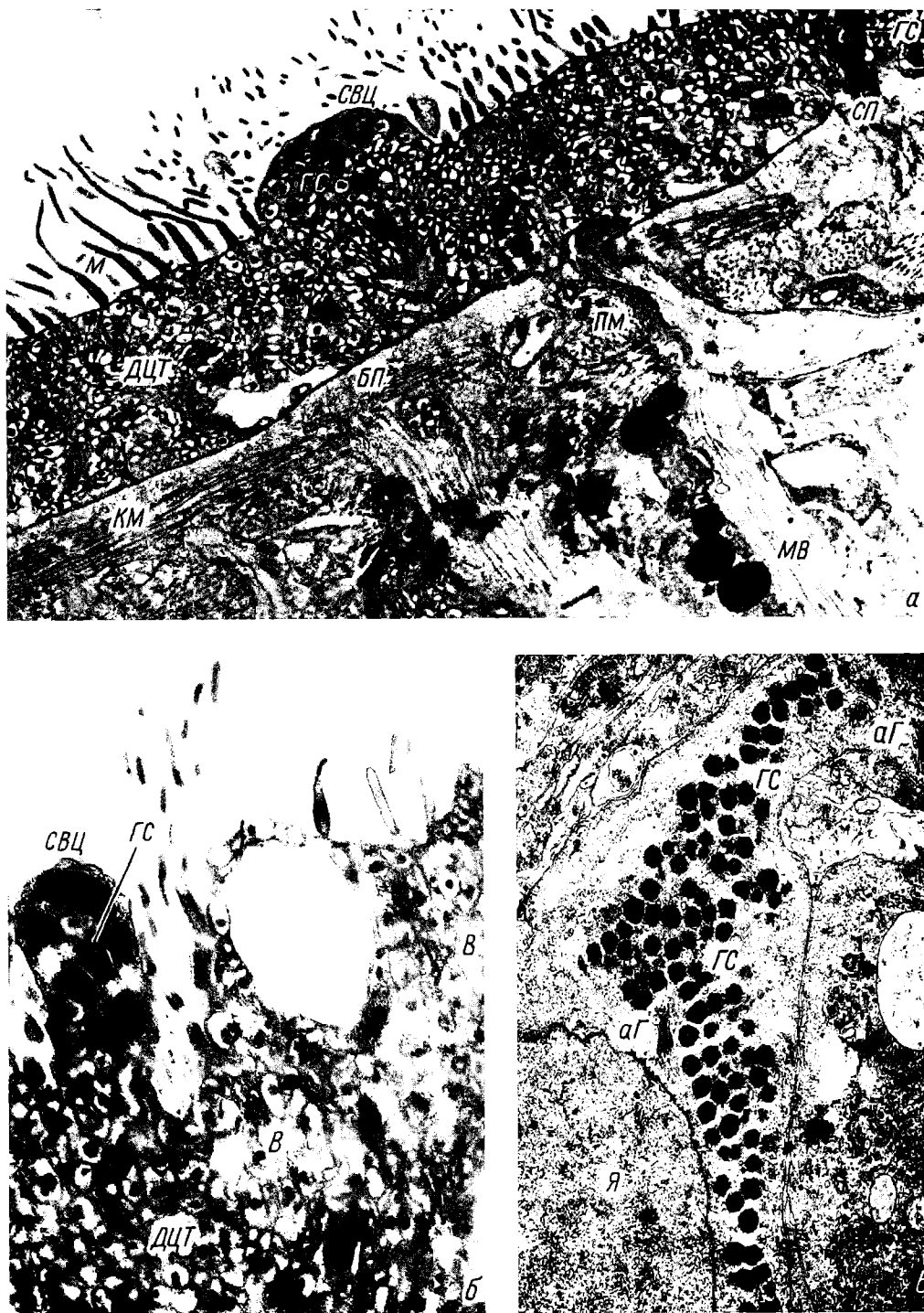


Рис. 2. Ультраструктура железистых образований в сколексе видов рода *Eubothrium*.

а — ультраструктура покровов с выростами цитоплазмы, содержащими гранулы секрета у взрослого *E. crassum* (15 000 ×), б — выход секрета у взрослого *E. crassum* (30 000 ×), в — железистая клетка в паренхиме процеркоида *E. rigosum* (20 000 ×). аГ — аппарат Гольджи, БП — базальная пластинка, В — вакуоли, ГС — гранулы секрета, ДЦТ — дистальный слой цитоплазмы тегумента, КМ — кольцевые мышцы, М — микротрихии, МВ — мышечные волокна, ПМ — продольные мышцы, СВЦ — секреторные выросты паружной цитоплазмы тегумента, СП — секреторный проток, Я — ядро.

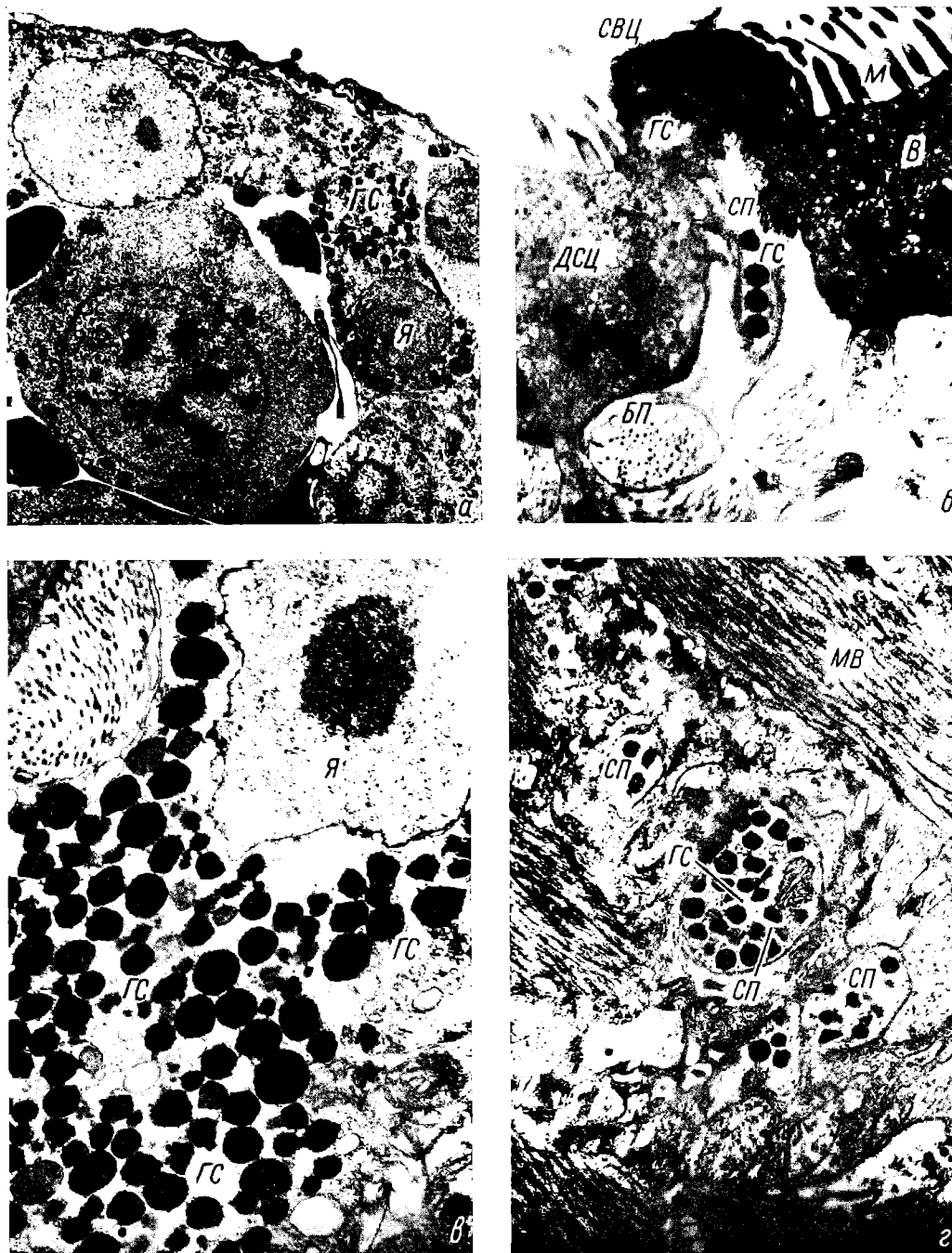


Рис. 3. Ультраструктура железистых образований видов *B. gowkongensis* (а—в) и *T. crassus* (г).

а — железа проникновения в онкосферу коранидия (9000×), б — вырост с гранулами секрета и секреторный проток в тегументе взрослой особи (15 000×), в — железистая клетка с секреторным материалом в сколексе взрослой особи (18 000×), г — секреторные протоки в сколексе плероцерконда *T. crassus* на поперечном срезе (25 000×). Остальные обозначения те же, что на рис. 2.

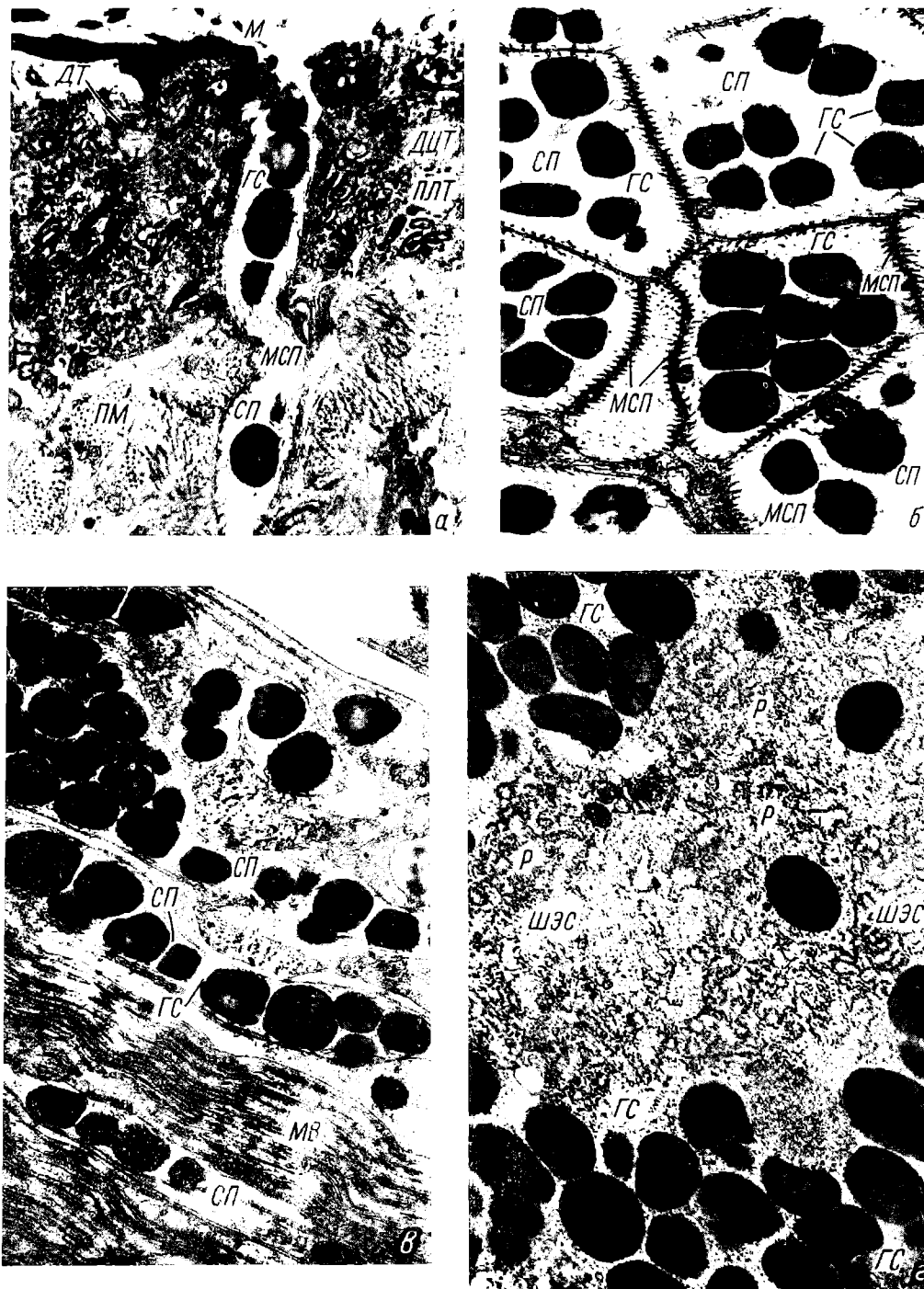


Рис. 6. Ультраструктура железистых образований плероцеркоида *D. latum*.

а — выход секрета непосредственно в окружающую среду из протока, проходящего через тегумент ($30\,000\times$), б — секреторный проток, укрепленный микротрубочками на поперечном срезе ($20\,000\times$), в — секреторный проток на продольном срезе ($20\,000\times$), г — цитоплазма железистой клетки, содержащая гранулы секрета и шероховатую эндоплазматическую сеть ($30\,000\times$). ДТ — дисковидные тела, МСП — микротрубочки секреторных протоков, ПЛТ — пластинчатые тела, Р — рибосомы, ШЭС — шероховатая эндоплазматическая сеть. Остальные обозначения те же, что на рис. 2.

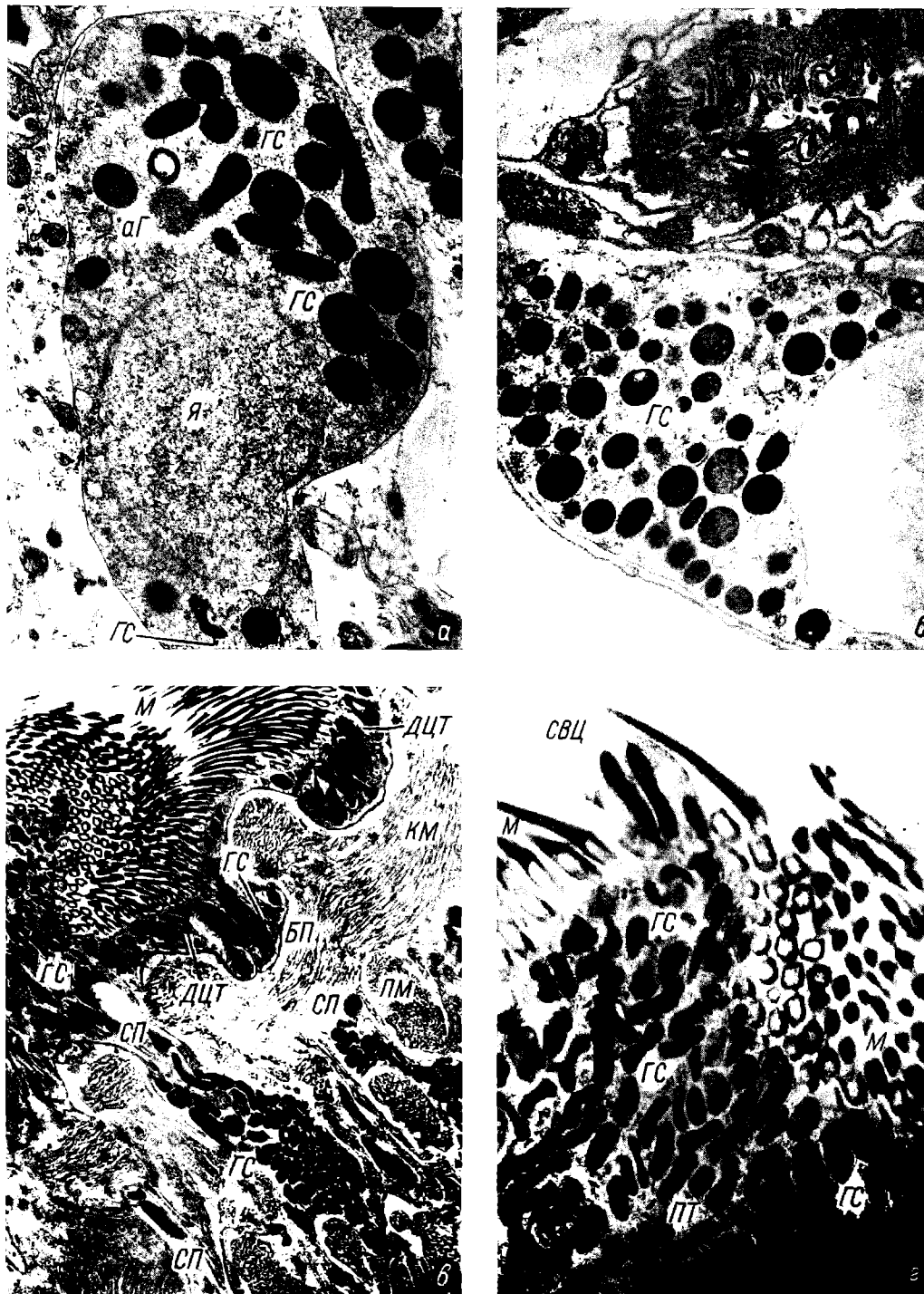


Рис. 8. Ультраструктура фронтальных желез видов *Proteocephalus*, *Cyatocephalus* и *Khawia*.

а — железистая клетка *P. persae* (35 000×), *б* — железистая клетка с мощным мембранным вом-иллексом в области сколекса *C. truncatus* (20 000×), *в* — секреторный проток и тегумент сколекса, заполненный секретом у *K. sinensis* (10 000×), *г* — выход секрета из цитоплазмы тегумента *K. sinensis* (35 000×). ПП — палочковидные тела. Остальные обозначения те же, что на рис. 2.

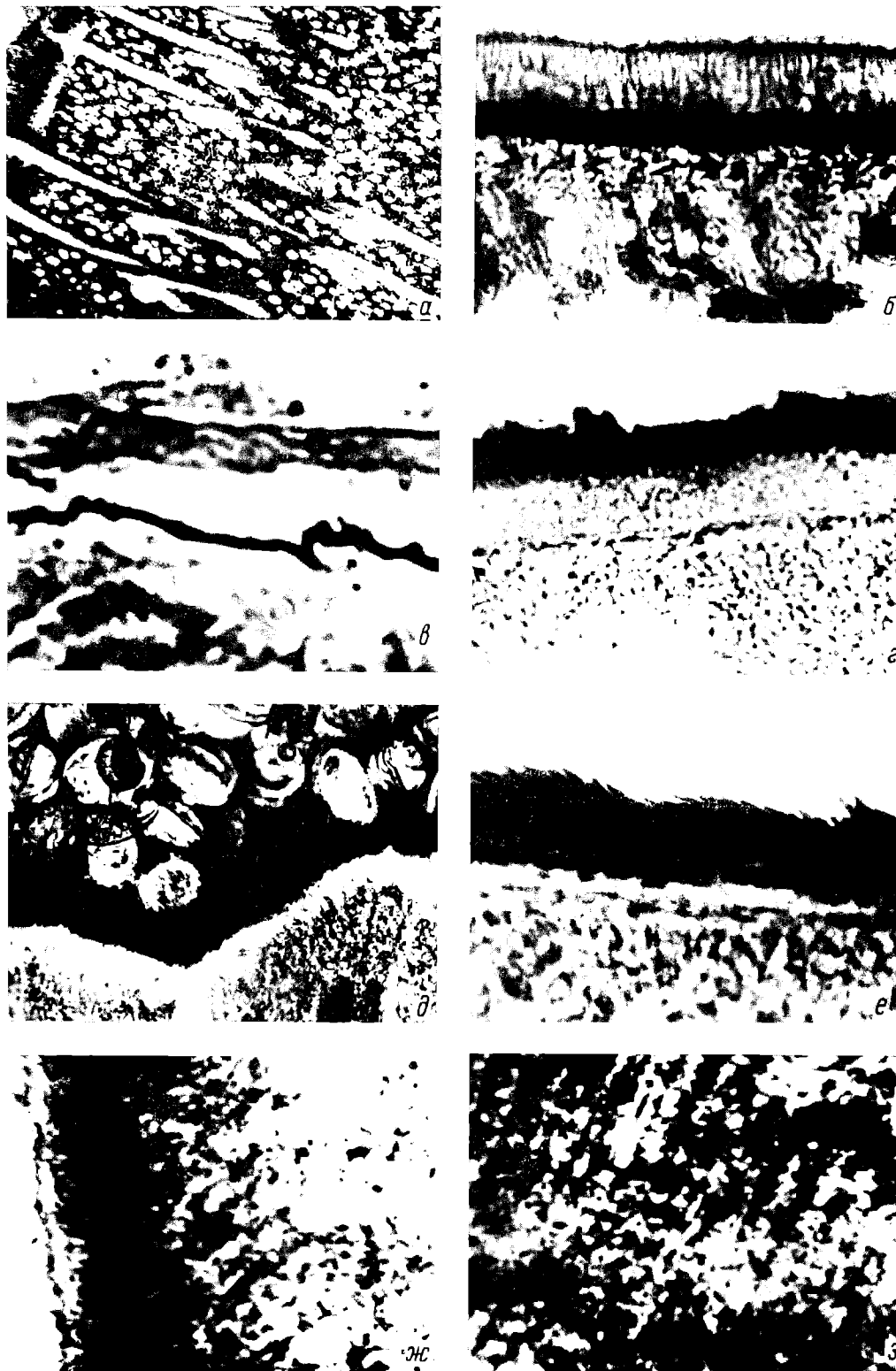


Рис. 5. Взрослые фазы развития *T. nodulosus* (а—в, е) и *E. rugosum* (г, д, ж, з).
а — гликоген в период формирования гонад, б — кислая фосфатаза в покровах, в — то же в выделительной системе, г — щелочная фосфатаза в покровах, д — то же в стенке матки, е — АТФ-аза в микротрихиях, ж — СДГ в субтегументе, з — то же в субтегументальных мышцах.

В. Г. Д а в ы д о в, Б. И. К у п е р м а н

СТРУКТУРА ФРОНТАЛЬНЫХ ЖЕЛЕЗ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ТРЕХ ОТЯДОВ ЦЕСТОД

Железистые образования у цестод известны давно как «железы проникновения» на личиночных стадиях и сколексовые, фронтальные или головные железы у взрослых червей. Несмотря на большое значение этих желез в биологии и осуществлении жизненных циклов цестод, изучение их едва начато. Специальные работы, посвященные этому вопросу, единичны. Ультраструктура и цитология железистых клеток цестод почти не изучены.

Из цестод отр. *Pseudophyllidea* железы имеются у плероцеркоидов *Diphyllobothrium*, взрослых *Glandicephalus antarcticus*, *Adinocephalus pacificus*, *Abothrium gabi*, у 3 видов из отр. *Tetraphyllidea*; из отр. *Cyclophyllidea* железы, локализующиеся в хоботке, обнаружены у *Hymenolepis glandularis*, *Taenia solium*, *Echinococcus granulosus* и др. [9, 10, 13, 14, 21, 22]. В большинстве случаев секрет железистых клеток PAS положителен, за исключением *E. granulosus* [21]. Эпидермальные железы проникновения выявлены в онкосферах некоторых циклофиллидных цестод [17, 18, 20] и процеркоидах отдельных псевдофиллидных цестод [8, 19].

Целью нашего исследования было изучить строение железистых образований, их локализацию, пути выведения и характер секрета, а также возможную функциональную роль у большой группы цестод на разных стадиях развития. На светооптическом и электронномикроскопическом уровнях были исследованы 15 видов цестод — представителей отрядов *Pseudophyllidea*, *Tetraphyllidea*, *Caryophyllidea*.

Материалом для работы послужили корацидии, процеркоиды, плероцеркоиды и взрослые особи цестод, принадлежащих к отрядам: *Pseudophyllidea* — семейства *Amphicotyliidae*, *Triaenophoridae*, *Bothriocephalidae*, *Diphyllobothridae*, *Ligulidae*, *Cyathocephalidae*; *Tetraphyllidea* — сем. *Proteocephalidae*; *Caryophyllidae* — сем. *Caryophyllaeidae*. Стадия развития, видовой состав цестод и их хозяев приведены в таблице.

Целые паразиты или их передние концы фиксировались жидкостью Буэна в течение нескольких суток, затем они отмывались до полного обесцвечивания в 70%-м спирте и хранились в нем до последующей обработки. Заливка в парафин и резка осуществлялись стандартными методами. Для выявления железистых клеток применялась окраска паральдегид-фуксином по Гомори с докраской азокармином (ПАФ). В некоторых случаях употреблялась окраска паральдегид-тионином с докраской флоксином.

Для электронномикроскопических исследований части цестод фиксировались в течение 60 мин 2%-м раствором четырехокси осмия на ацетат-вероналовом или фосфатном буферах (рН 7.4), изотоничным для холодно-кровных животных. Применялась также фиксация 5%-м глутаральдегидом на кокодилатном буфере в течение 90 мин. с последующей 2-часовой дофиксацией четырехокисью осмия. Дегидратация производилась в этиловом спирте возрастающей концентрации и окиси пропилену с по-

Видовой состав исследованных цестод и их хозяев

Вид паразита	Стадия развития	Хозяин	Водоем
<i>Eubothrium rugosum</i>	Процеркоид Плероцеркоид Взрослый	<i>Cyclops vicinus</i> <i>Acerina cernua</i> <i>Lota lota</i>	Рыбинское водохранилище
<i>E. salvelini</i>	Плероцеркоид Взрослый	<i>Gasterosteus aculeatus</i> <i>Salvelinus alpinus</i>	оз. Азабачье, Камчатка
<i>E. crassum</i>	»	<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	р. Камчатка
<i>E. acipenserinum</i>	»	<i>Acipenser stellatus</i>	Дельта Волги
<i>Bothriocephalus gowkongensis</i>	Корацидий Процеркоид Взрослый	<i>Cyclops vicinus</i> <i>Cyprinus carpio</i>	оз. Варегово, Ярославская обл.
<i>Diphyllobothrium latum</i>	Процеркоид Плероцеркоид Взрослый	<i>C. strenus</i> <i>Esox lucius</i> <i>Mesocristes auratus</i>	Рыбинское водохранилище
<i>Diphyllobothrium</i> sp.	Плероцеркоид Взрослый	<i>Oncorhynchus nerka</i> <i>Larus</i>	р. Камчатка
<i>Schistocephalus solidus</i>	Плероцеркоид Взрослый	<i>Gasterosteus aculeatus</i> <i>Larus</i>	оз. Азабачье
<i>Ligula intestinalis</i>	Плероцеркоид	<i>Abramis brama</i>	Рыбинское водохранилище
<i>Triaenophorus nodulosus</i>	Процеркоид Плероцеркоид Взрослый	<i>Cyclops vicinus</i> <i>Perca fluviatilis</i> <i>Esox lucius</i>	То же
<i>T. crassus</i>	Плероцеркоид Взрослый	<i>Coregonus albula</i> <i>Esox lucius</i>	Ладожское озеро
<i>Cyathocephalus truncatus</i>	»	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	оз. Азабачье
<i>Khawia sinensis</i>	»	<i>Cyprinus carpio</i>	оз. Варегово
<i>Proteocephalus percae</i>	»	<i>Perca fluviatilis</i>	Рыбинское водохранилище

следующим заключением в аралдит. Ультратонкие срезы контрастировались уранилацетатом и цитратом свинца и просматривались на электронном микроскопе Tesla-613 при 80 кВ при увеличении 4000—30 000 на полученных негативах.

Отряд PSEUDOPHYLLIDEA

Сем. *Amphicotylidae*. При светооптическом исследовании процеркоида *E. rugosum* в паранхиме его центральной части обнаружено до 10 железистых клеток размером 4—4.5 мкм. Тонкие протоки, отходящие от клеток, направлены к переднему концу и лишь часть из них открывается на боковой поверхности тела. В отличие от процеркоида основная масса железистых клеток плероцеркоида этого вида расположена в центре сколекса и вдоль верхнего и нижнего краев ботрии. Большинство протоков направлено к теменной пластинке, часть их подходит к боковым участкам сколекса. Секреторные протоки на своем протяжении меняют диаметр, значительно расширяясь непосредственно под тегументом. Железистые клетки чаще вытянутой формы, размер их варьирует от 4.8 до 9.6 мкм. Расположение и размер секреторных клеток в сколексе взрослых червей очень сходны с таковыми у плероцеркоидов. Отличия касаются увеличения числа клеток и более развитой сети протоков у половозрелых червей. Расширение концевых отделов протоков на этой стадии видно отчетливо (рис. 1, а—в).

Число железистых клеток у взрослых особей *E. crassum* несколько больше, чем у *E. rugosum*. Характерно, что они локализуются не только в сколексе, но и в области шейки. Значительное количество железистых клеток у плероцеркоида *E. salvelini* расположено в центральной паренхиме сколекса, часть из них встречается в области нижнего края ботрии и в начальных отделах шейки (рис. 1, з) в отличие от *E. rugosum*. Протоки клеток направлены к теменной пластинке и лишь единичные подходят к бот-

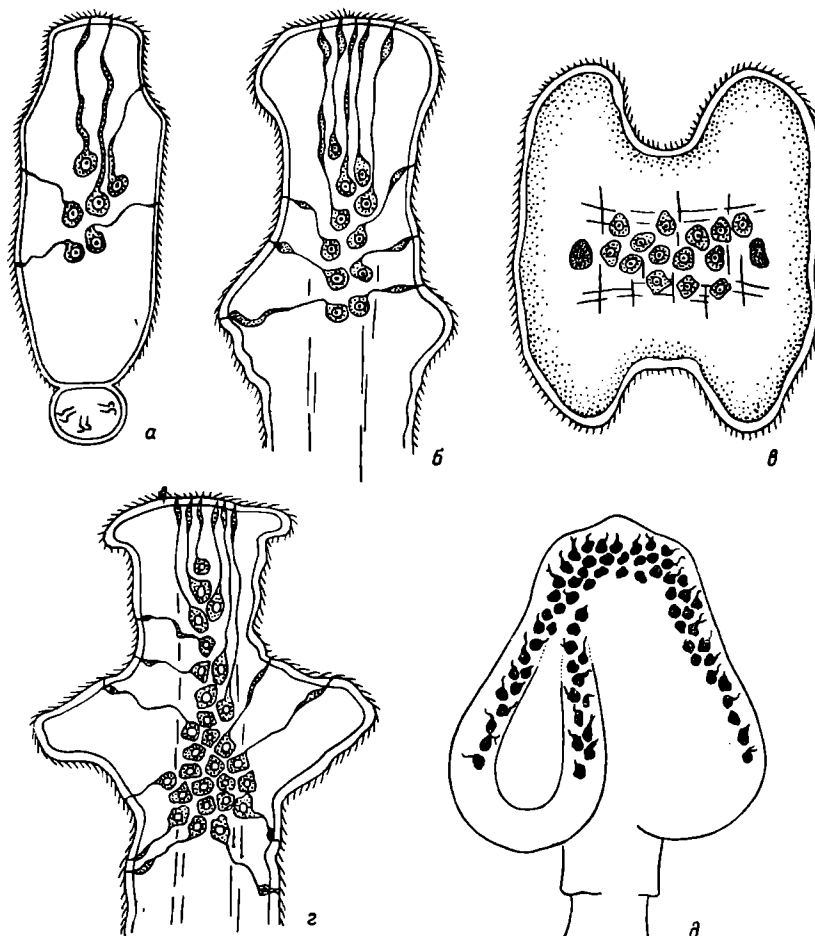


Рис. 1. Схема расположения фронтальных желез у видов *Eubothrium* и *Bothriosephalus* на разных фазах их жизненного цикла.

а — процеркоид *E. rugosum*, б — плероцеркоид *E. rugosum*, в — взрослый *E. rugosum*, г — взрослый *E. salvelini*, з — взрослый *B. gowkongensis*.

ковой поверхности сколекса. В сколексе половозрелых *E. salvelini* обнаружено наибольшее число железистых клеток по сравнению с другими видами этого рода. Железистые клетки в отличие от таковых *E. rugosum* располагаются преимущественно на границе сколекса и шейки. В этой же области открывается значительное число секреторных протоков. В сколексе взрослых червей *E. acipenserinum* железистые клетки немногочисленны, у некоторых экземпляров их вообще не удалось выявить.

Сем. *Bothriosephalidae*. Количество железистых клеток в сколексе взрослых червей *B. gowkongensis* весьма значительно. В верхней части сколекса под теменной пластинкой клетки образуют широкое кольцо, от которого отходят 4 ветви, располагающиеся по краям ботрий (рис. 1, в). Железистые клетки крупные (15—24 мкм), округлой формы,

локализуются непосредственно под субтегументальным слоем. Основная масса коротких широких протоков открывается по краям теменной пластинки и ботрий.

Электронно-микроскопическое исследование *E. rugosum*, *E. crassum*, *E. salvelini*, *E. acipenserinum*, *B. gowkongensis* и *B. scorpii* на разных стадиях онтогенеза показало, что ультраструктура железистых клеток, характер секрета и способ его выведения у них весьма сходны. Железистые клетки в сколексе взрослых червей большей частью вытянуты, грушевидной формы, с крупными ядрами, ядерная мембрана с многочисленными инвагинациями (рис. 3, в). Секрет электронноплотный, в виде округлых гранул, окруженных двойной мембраной, диаметром 1.5—2.2 мкм. Цитоплазма железистых клеток содержит много мембранных комплексов и хорошо развитый аппарат Гольджи. Секреторные протоки являются продолжением отростков железистых клеток, пронизывают базальную мембрану и входят в дистальную цитоплазму тегумента. Они укреплены продольно расположенными микротрубочками вдоль стенки протока. Непосредственно на поверхность сколекса протоки не открываются. Гранулы секрета из протоков выходят в наружную цитоплазму тегумента и вместе с частью ее содержимого образуют выросты, равномерно располагающиеся на теменной пластинке сколекса и на краях ботрий. У плероцеркоидов видов *Eubothrium* и у молодых *B. gowkongensis* строение железистых образований и способ выведения секрета аналогичны таковым у взрослых особей (рис. 2, а, б; 3, б). Выход секрета в окружающую червя среду происходит путем частичного или полного разрушения выростов (рис. 2, б; см. вклейку).

Наряду с плероцеркоидами и взрослыми было исследовано ультра-тонкое строение железистых образований корацидия и процеркоида *B. gowkongensis* и процеркоида *E. rugosum*. В онкосфере корацидия удалось обнаружить 2 железистые клетки, расположенные ближе к ее заднему концу; протоки их открываются, вероятно, в области крючьев. Электронноплотные гранулы секрета, заполняющие цитоплазму клетки, гораздо меньшего диаметра, чем у плероцеркоидов и взрослых форм (рис. 3, а; см. вклейку).

У процеркоидов исследованных видов строение железистых клеток сходно с таковым на последующих стадиях развития (рис. 2, в). Однако выросты с гранулами секрета обнаружены на всей поверхности тела личинки, а не ограничены передней частью.

Сем. *Triaenophoridae*. У процеркоидов *T. nodulosus* железистые клетки (4.5—5 мкм) в количестве 7—12 расположены в центральной паранхиме средней части тела личинки. Отходящие от клеток тонкие протоки открываются преимущественно во фронтальную ямку (рис. 4, б). При исследовании развивающихся и сформированных инкапсулированных плероцеркоидов этого вида на световом уровне нам не удалось обнаружить дифференцированные железистые клетки. Их удалось выявить лишь при экспериментальном заражении окуней и налимов. Клетки округлой формы локализованы в паранхиме сколекса, количество их варьирует от 20 до 30, размер 3—6 мкм. Протоки, отходящие от них, узкие, открываются на теменной пластинке и в ботридиальные ямки (рис. 4, в). У половозрелых червей этого вида на световом уровне не удалось выявить железистые клетки, несмотря на применение различных окрасок.

Строение и локализация железистых клеток у плероцеркоидов *T. crassus* заметно отличаются от *T. nodulosus*. Они значительно крупнее (9—24 мкм), удлинённые, с 1—2 секреторными протоками, открывающимися на краю ботридиальных ямок. Эти клетки выявляются почти у всех исследованных экземпляров и располагаются непосредственно под субтегументальным слоем в области ботрий. Строение и локализация железистых клеток в сколексе плероцеркоидов и половозрелых *T. crassus* аналогичны (4, г).

При электронно-микроскопическом исследовании развивающегося плероцеркоида *T. nodulosus* на всей поверхности его тела обнаружены выросты наружной цитоплазмы тегумента, содержащие мелкие гранулы

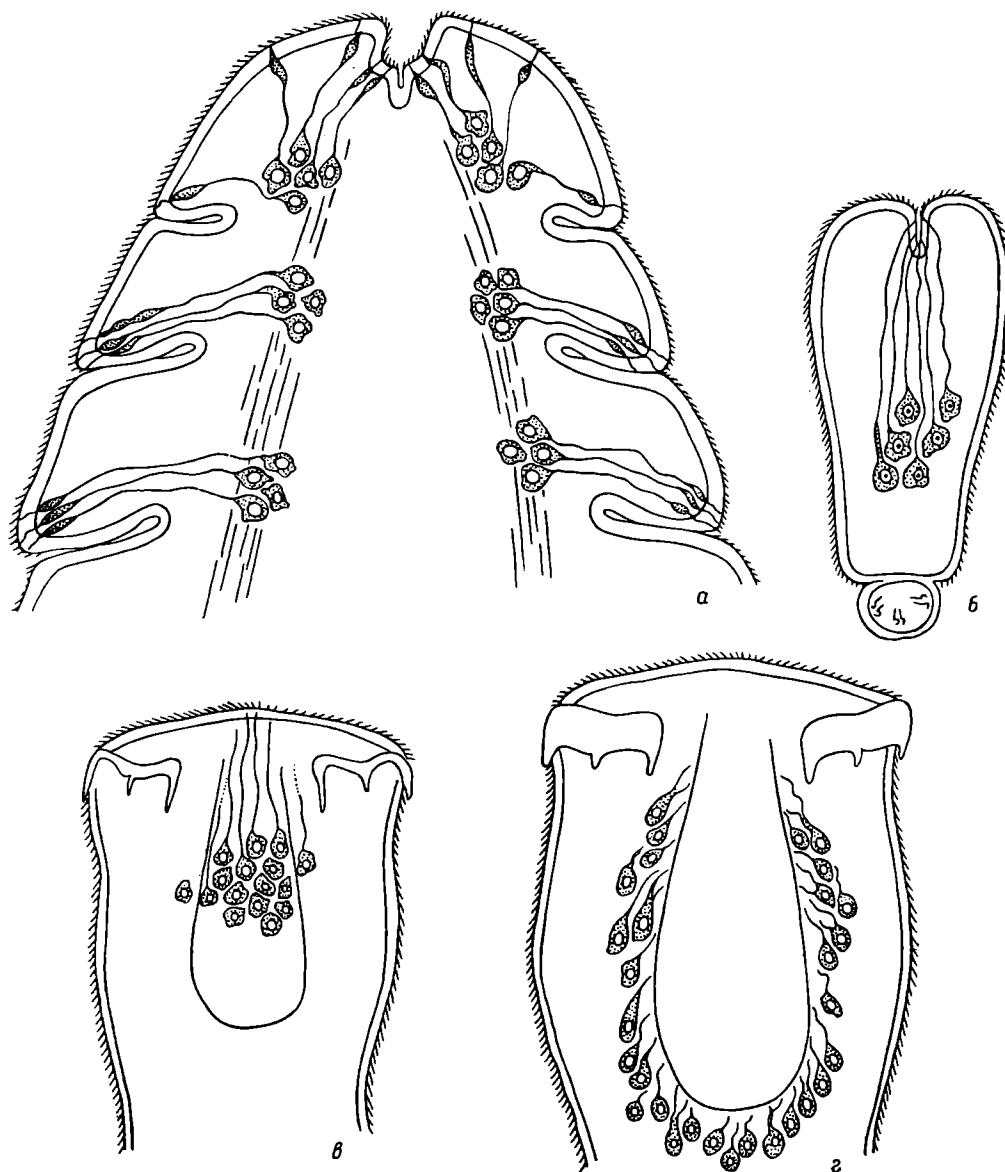
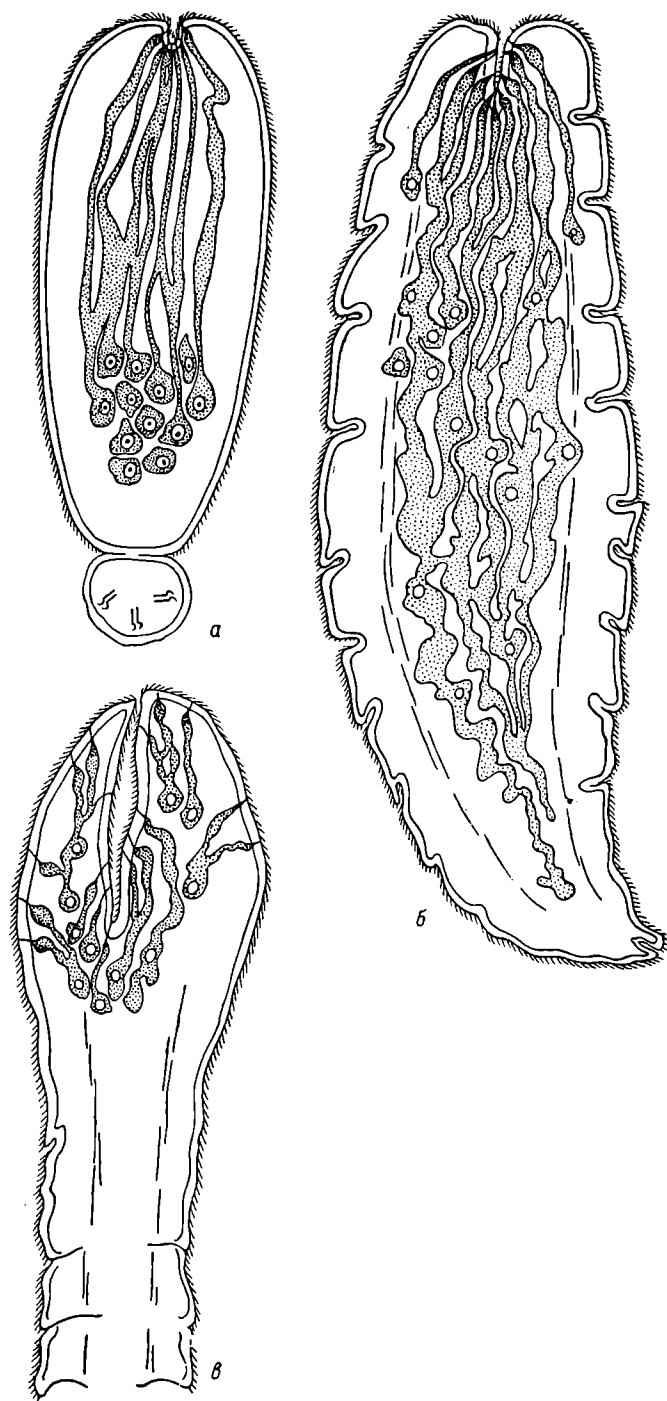


Рис. 4. Схема расположения железистых клеток у цестод *Schistocephalus* и *Triaenophorus* на разных стадиях онтогенеза.

а — плероцеркоид *S. solidus*, б — процеркоид *T. nodulosus*, в — плероцеркоид *T. nodulosus*, г — плероцеркоид *T. crassus*.

секрета. Отмечен сходный характер расположения их у плероцеркоида *T. nodulosus* и процеркоидов *E. rugosum* и *B. gowkongensis*.

В цитоплазме железистых клеток плероцеркоида *T. crassus* содержится большое количество электронно-плотных мелких секреторных гранул, окруженных двойной мембраной, сильно развитый аппарат Гольджи и эндоплазматический ретикулум. Наряду с электронно-плотным секретом в цитоплазме обнаруживается множество прозрачных вакуолей, огра-



Гис. 5. Схема расположения железистых образований у *D. latum* на разных стадиях онтогенеза.

a — процеркоид, *б* — плероцеркоид, *в* — взрослый.

ниченных двойной мембраной, с диаметром вдвое меньшим, чем гранулы секрета, — 0.12 мкм. В протоках секреторных клеток *T. crassus* не обнаружены микротрубочки, характерные для других исследованных цестод (рис. 3, з). Кроме секреторных гранул в протоках часто встречаются митохондрии. Выведение секрета прослежено у взрослых *T. meridionalis*. Секреторные протоки проходят через базальную пластинку и наружный слой тегумента и освобождаются в дистальную цитоплазму, скапливаясь в выростах. Этот способ выведения секрета подобен описанному для видов родов *Eubothrium* и *Bothriocephalus*.

Сем. *Diphyllobothriidae*. Светооптические исследования плероцеркоида *D. latum* показали, что железистые клетки размером от 4.5 до 8 мкм лежат в паренхиме средней и задней частей личинки (рис. 5, а). Отходящие от клеток длинные и широкие протоки, сливаясь между собой, тянутся к переднему концу тела и открываются только в области фронтальной ямки. У плероцеркоида в результате слияния железистых клеток и их протоков образуется многоклеточный комплекс фронтальных желез, заполняющий паренхиму от переднего до заднего конца паразита (рис. 5, б). Клетки, лежащие вне этого комплекса, встречаются редко. В железистой массе наряду с нормальными ядрами много пикнотических, особенно в передней и средней частях плероцеркоида. Секреторные протоки открываются преимущественно в области фронтальной ямки.

У взрослых *D. latum* комплекс железистых клеток располагается только в сколексе. В отличие от плероцеркоидов протоки железистых клеток открываются у них не только в области ботрий, но и по всей поверхности сколекса. Железистые клетки лежат обычно обособленно, протоки их извитые, с большими расширениями (рис. 5, в).

У плероцеркоидов *Diphyllobothrium* sp. из внутренних органов нерки комплекс фронтальных желез развит значительно слабее, чем у *D. latum*. Железы локализируются только в области сколекса и редко обнаруживаются в передней трети тела. У взрослых особей этого вида железистый аппарат развит также слабо. У близкого им вида *S. erinacei* железы не были обнаружены [15, 16].

Субмикроскопическая картина строения железистых образований у плероцеркоидов *D. latum* и *Diphyllobothrium* sp. из нерки весьма сходна. Железистые клетки не имеют четко очерченных границ. В цитоплазме их присутствует сильно развитая гранулярная эндоплазматическая сеть, богатая рибосомами, что свидетельствует об активном белковом синтезе в этих клетках (рис. 6, з). Крупные электронно-плотные округлые гранулы секрета, заполняющие цитоплазму этих клеток, достигают в диаметре 0.8—1 мкм, что почти в 5 раз превышает размер гранул секрета у видов *Eubothrium* и *Bothriocephalus*. Многочисленные секреторные протоки, вплотную прилегающие друг к другу, часто образуют расширения в виде лакун, наполненных секретом (рис. 6, б, в). Стенки протоков укреплены микротрубочками, располагающимися вдоль них. Секреторные протоки, направляющиеся к переднему концу тела, пронизывают базальную пластинку и слой наружной цитоплазмы тегумента. Выход секрета у видов *Diphyllobothrium* в отличие от *Eubothrium*, *Bothriocephalus* и *Triaenophorus* осуществляется из протоков непосредственно в окружающую червей среду (рис. 6, а; см. вклейку).

Сем. *Syathosephalidae*. При светооптическом исследовании половозрелых особей *S. truncatus* обнаружены в области воронкообразного сколекса редко расположенные железистые клетки. Они в основном локализируются под покровами и частично в области шейки (рис. 7, а). Клетки не крупные, большей частью вытянутые, размером 4.5—8 мкм, протоки их тонкие, почти без расширений.

Наблюдения с помощью электронного микроскопа показали, что секреторные клетки весьма интенсивно заполнены электронно-плотным секретом, окруженным двойной мембраной. В отдельных клетках выяв-

ляется мощный комплекс замкнутых мембран, внутри которого содержатся мелкие гранулы секрета (рис. 8, б).

Сем. *Ligulidae*. Железистые клетки плероцеркоида *S. solidus* размером 15—20 мкм, полигональной формы, расположены отдельными комплексами в передней части тела и вдоль всей стробилы в области слоя продольных мышц (рис. 4, а). Протоки клеток, локализованных в передней части тела, открываются в основном во фронтальную ямку и частично на боковую поверхность. Комплексы железистых клеток, расположенных

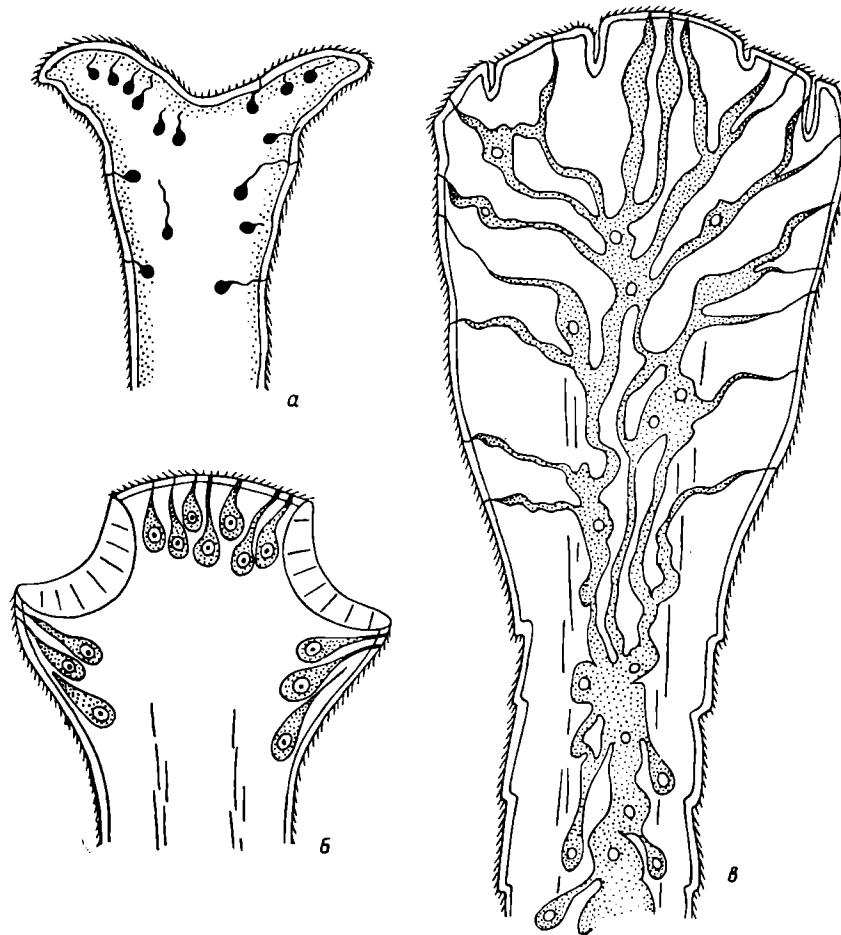


Рис. 7. Схема расположения фронтальных желез у цестод *Cyatocephalus*, *Proteocephalus* и *Khawia*.

а — *C. truncatus*, б — *P. percae*, в — *K. sinensis*.

вдоль тела, приурочены к границам ложных сегментов, их протоки открываются на вершинах складок последних. Протоки тонкие, слабо развитые, в области субтегумента наблюдается их заметное расширение. У половозрелых червей этого вида локализация и количество железистых клеток сходны с таковыми у плероцеркоидов.

Локализация и число железистых клеток у плероцеркоидов и взрослых *L. intestinalis* подробно описаны у *S. solidus*. Можно отметить более мощный комплекс железистых клеток в передней части тела *L. intestinalis* и менее выраженный вдоль стробилы.

При исследовании взрослых *S. solidus* под электронным микроскопом установлено, что строение секреторных протоков, укрепленных продольно

расположенными микротрубочками, подробно таковым у видов рода *Diphyllbothrium*. Протоки, идущие к покровам, сильно расширяются, образуя лакуны, наполненные секретом. Гранулы секрета, ограниченные двойной мембраной, округлой формы, средней плотности, диаметром 0.5—0.6 мкм.

Отряд TETRAPHYLLIDEA

Сем. *Proteocephalidae*. В сколексе и шейке половозрелых *P. percae* выявлены многочисленные железистые клетки вытянутой формы с четко очерченными границами. Они располагаются под субтегументом и даже среди субтегументальных клеток. Короткие широкие протоки открываются на теменную пластинку и у нижней границы присосок (рис. 7, б).

При электронно-микроскопическом исследовании в цитоплазме железистых клеток обнаружены значительное скопление секреторных гранул овальной и палочковидной формы, размером 0.37 мкм и сильно развитая гранулярная эндоплазматическая сеть с большим количеством рибосом. Секреторные протоки заполнены значительным количеством секрета; стенки их укреплены множеством микротрубочек (рис. 8, а).

Отряд CARYOPHYLLIDEA

Сем. *Caryophyllaeidae*. У половозрелых особей *K. sinensis* наблюдается сильно развитый комплекс желез. Отдельные свободнолежащие железистые клетки, локализованные в заднем конце тела в области яичника, дают протоки к переднему концу тела. Протоки сливаются между собой и с выпележащими клетками, формируя железистое образование, подобное описанному нами для плероцеркоида *D. latum* (рис. 7, в). В передней и средней частях тела *K. sinensis* клеточные границы неразличимы. Железистый комплекс лежит в медуллярной паренхиме и лишь отдельные его выросты проникают в кортикальную паренхиму. В переднем конце тела образуются широкие мощные протоки, направляющиеся к фронтальной части сколекса. Более тонкие извитые протоки открываются на боковую поверхность сколекса и в области шейки.

Исследование половозрелых особей *K. sinensis* показало наличие в перинуклеарной цитоплазме железистых клеток, множество секреторных гранул, отличающихся по форме и величине от большинства изученных нами цестод. Гранулы секрета, ограниченные мембраной, крупные, в основном вытянутые и полигональные, частично овальной формы, электронно-плотные, достигающие длины 1—1.5, ширины 0.5—0.8 мкм. Секреторные протоки, забитые секретом, направляются к переднему концу тела, подходят к слою тегумента сколекса, пронизывают базальную пластинку и выбрасывают его непосредственно в цитоплазму. Секреторные гранулы заполняют всю толщу дистальной цитоплазмы тегумента с большей концентрацией в ее верхних слоях (рис. 8, в). Выход секрета из сколекса *K. sinensis* осуществляется иным путем по сравнению с псевдофиллидными цестодами, описанными нами. Одна или несколько гранул секрета, лежащих перпендикулярно к наружной цитоплазматической мембране и тесно соприкасающихся с ней, образуют небольшие выпячивания вместе с содержимым цитоплазмы, которые затем отшнуровываются и попадают в окружающую среду (рис. 8, г). Аналогичная структура железистых образований и выведение секрета отмечены нами для *C. laticeps*. У *Hunterella nodulosa* они не обнаружены [11].

Результаты светооптического и электронно-микроскопического исследования 14 видов цестод — представителей 3 отрядов на разных стадиях онтогенеза, дают основание разделить обнаруженные у них железистые образования на 3 основные группы в зависимости от их функциональной роли в жизненном цикле.

Первая группа желез свойственна личиночным стадиям (корацидий, процеркоид, плероцеркоид), которые достигают места паразитирования в полости тела или внутренних органах промежуточных хозяев путем проникновения через стенку их кишечника. В связи с этим они именуется железами проникновения. Наличие их в онкосферах циклофиллидных цестод отмечено рядом авторов [18, 20]. Они имеют подковообразную форму, расположены в передней части онкосферы, выводные протоки открываются в области крючьев. До сих пор считалось, что в онкосфере псевдофиллидных цестод эти железы отсутствуют. Субмикроскопическое исследование корацидия *B. gowkongensis* показало присутствие в онкосфере желез проникновения, представленных не менее, чем одной парой клеток, локализованных в области крючьев.

Следовательно, проникновение онкосферы через стенку кишечника ракообразных осуществляется механически с участием крючьев и химическим путем под действием секрета, выделяемого железистыми клетками и обладающим лизирующими свойствами.

Сведения о железистых образованиях у процеркоидов цестод весьма фрагментарны [8, 19].

Исследование процеркоидов *D. latum*, проведенные нами, показало, что количество, размер железистых клеток и степень их наполнения секретом во много раз превышают таковые у процеркоидов *T. nodulosus* и *E. rugosum*. Значительное развитие железистого аппарата у процеркоидов *D. latum* мы рассматриваем как явление преадаптации, способствующее активной миграции в тканях хозяина — рыбы на стадии плероцеркоида.

Наиболее мощным железистым аппаратом среди плероцеркоидов исследованных псевдофиллидных цестод обладает *D. latum*, который способен к многократной реинвазии резервуарных хозяев. Как было установлено, степень развития желез проникновения у плероцеркоида *D. latum* значительно выше, чем у *Diphyllbothrium* sp. из полости тела лососевых. По всей видимости, возможность миграций в мускулатуре рыб *D. latum* определяется большим количеством секрета, обладающего лизирующими свойствами, тогда как *Diphyllbothrium* sp. ограничивается лишь проникновением в полость тела, где и инцистируется. Незначительной способностью к реинвазии обладают также плероцеркоиды *D. dendriticum* и *D. ditremum* [10].

Различия в степени развития фронтальных желез характерны и для близких видов *T. nodulosus* и *T. crassus*. У плероцеркоидов первого функционирующие железистые клетки обнаруживаются редко, их активность повышается лишь в определенные периоды (под действием пищеварительных соков хозяина при реинвазии и др.). У плероцеркоидов *T. crassus*, мигрирующих в мускулатуре рыб, наблюдается постоянная активность железистых клеток.

Таким образом, уровень развития и функциональная активность желез проникновения тесно связаны с особенностями биологии и жизненных циклов цестод.

Вторая группа железистых образований встречается у цестод, развитие которых на фазе плероцеркоида (виды рода *Eobithrium*) и взрослой стадии (виды родов *Eubothrium*, *Bothriocephalus*, *Cyatocephalus*, *Triaenophorus*, *Diphyllbothrium*, *Proteocephalus*, *Caryophylleus*) протекает в кишечнике их хозяев. По своему происхождению они связаны с железами проникновения процеркоидов и тканевых плероцеркоидов, но на кишечной стадии развития выполняют иные функции. Железы у исследованных цестод, кроме *Caryophylleus*, локализованы в пределах сколекса.

Несмотря на определенные различия в строении, железы, приуроченные к сколексу, выполняют, по-видимому, сходные функции. Существует мнение об участии их секрета в прикреплении сколекса к слизистой кишечника. Отсутствие детальных исследований по химическому составу секрета желез у цестод не позволяет полностью оценить их функцию.

При окраске на кислые мукополисахариды они дают положительную реакцию, особенно интенсивно прокрашивались секрет и концевые отделы протоков цестод. С помощью окраски бромфенолом синим выявлено высокое содержание белков в железистых клетках. В связи с этим складывается мнение о защитной роли секрета для паразитов, обитающих в химически активной среде кишечника. В пользу этого свидетельствуют некоторые косвенные данные. Значительные патологические изменения слизистой оболочки кишечника, наблюдаемые при высокой интенсивности инвазии *R. gowkongensis* и *E. rugosum*, являются, на наш взгляд, следствием химического воздействия секрета, выделяемого при этом в большом количестве. При слабом и среднем заражении рыб этими видами цестод подобных изменений в кишечнике не наблюдается.

В полном соответствии со степенью развития железистых аппаратов находится и уровень патологических изменений кишечника при сильной инвазии. Наиболее существенные изменения вызывает *B. gowkongensis*, сколекс которого содержит большое число железистых клеток, у *E. rugosum* их заметно меньше и соответственно слабее реакция слизистой кишечника. Самые незначительные изменения вызывают виды *Triaenophorus*, имеющие небольшое число этих клеток. Исходя из этого, можно предположить, что секреция фронтальных желез направлена против воздействия среды кишечника на цестод, в результате чего при низкой и средней инвазии сохраняется равновесие между защитными системами паразита и хозяина. При сильной инвазии оно нарушается, приводя к серьезным патоморфологическим изменениям в кишечнике хозяина преимущественно на взрослой фазе развития.

К третьей группе желез относятся комплексы секреторных клеток у плероцеркоидов и взрослых червей *L. intestinalis* и *S. solidus*, расположенные не только в области сколекса, но и вдоль всего тела. По своему расположению они напоминают межпроглотидные железы у цестоды *M. expansa* [5, 12], однако по структуре существенно отличаются от них. Значительный патологический эффект плероцеркоидов ремнецов на карповых рыбах связан, по нашему мнению, с действием секрета этих желез.

Субмикроскопическое исследование железистых аппаратов представителей отрядов *Pseudophyllidea*, *Tetraphyllidea*, *Caryophyllidea* позволило установить различия в ультраструктуре железистых образований, секреторных протоков, характере секрета и в способах выведения его из сколекса цестод в окружающую среду. Нами установлено 3 типа выведения секреторного материала из цестод, ранее не описанные. Первый связан с накоплением секрета в выростах дистальной цитоплазмы тегумента в области сколекса, куда он поступает через секреторные протоки (*Bothriocephalus*, *Eubothrium*, *Triaenophorus*). Следует отметить, что выросты на поверхности тела псевдофиллидных цестод, не содержащие секрета, обнаруживались ранее некоторыми исследователями [4, 6]. Однако лишь в последнее время у *E. solvelini* выявлены выросты, содержащие гранулы секрета и названные Бойсом «tumuli» [7]. Описанные им структуры не связывались с секрецией и не были интерпретированы. Следует подчеркнуть, что выросты с секретом, обнаруженные нами у процеркоидов *B. gowkongensis* и *E. rugosum*, встречаются на всей поверхности их тела.

Второй тип выведения секреторного материала отмечен для видов рода *Diphyllobothrium*. Секреторные протоки у них пронизывают наружный слой цитоплазмы тегумента и открываются без выроста, выделяя секрет непосредственно в окружающую червей среду.

Третий тип выведения секрета характерен для видов *Caryophyllus*. Секреторный материал поступает по протокам в дистальную цитоплазму тегумента сколекса этих цестод и заполняет ее. Выход секрета осуществляется путем образования выпячиваний части дистальной цитоплазмы тегумента, включающих несколько гранул секрета с их последующим отпну-рованием.

Таким образом, железистые образования и выведение секрета на разных стадиях онтогенеза у цестод в основном приурочены к переднему концу тела или сколексу. Сколекс служит не только органом прикрепления, но связан и с другими функциями: трофической, секреторной и др. Сравнение сколексовых или фронтальных желез цестод с головными железами турбеллярий, моногеней и трематод указывает на известную гомологию этих аппаратов [1—3]. Однако у цестод они более специализированы в связи с глубокой адаптацией к паразитизму, отличаются по структуре и выполняют иные функции. Дальнейшие исследования структуры и функции железистых аппаратов разных групп плоских червей позволят провести более углубленный сравнительный анализ этих образований.

Л и т е р а т у р а

1. Быховский Б. Е. Моногенетические сосальщики, их система и филогения. М.—Л., 1957. 509 с.
2. Иванов А. В., Мамкаев Ю. В. Ресничные черви, их происхождение и эволюция. Л., 1973. 221 с.
3. Краснодембский Е. Г. Железистые образования трематод. — Автореф. канд. дис., М., 1977. 22 с.
4. Куперман Б. И. Ленточные черви рода *Triacnophorus* — паразиты рыб. Л., 1973. 208 с.
5. Логачев Е. Д., Дмитрова Е. К. вопросу о морфологии и гистогенезе межпроглотидных желез цестоды *Moniezia expansa* (Rud., 1810). — *Helminthologia*, 1961, vol. 3, N 1—4, p. 234—243.
6. Тимофеев В. А. Строение кутикулы *Schistocephalus pungitii* на разных фазах его развития в связи с особенностями питания цестод. — В кн.: Электронная и флуоресцентная микроскопия клетки. М.—Л., 1964, с. 50—60.
7. Бойсе N. P. A new organ in cestode surface ultrastructure. — *Can. J. Zool.*, 1976, vol. 57, N 4, p. 610—613.
8. Braten T. An electron microscope study of the tegument and associated structures of the proceroid of *Diphyllbothrium latum* (L.). — *Z. Parasitenkunde*, 1968, vol. 30, N 1, p. 95—103.
9. Farooqi H. U. The occurrence of certain specialised glands in the rostellum of *Taenia solium* L. — *Z. Parasitenkunde*, 1958, vol. 18, p. 308—311.
10. Halvorsen O., Wissler K. Studies of the Helminth fauna of Norway XXVIII: An experimental study of the ability of *Diphyllbothrium latum*, *D. dendriticum* and *D. ditremum* (Cestoda, Pseudophyllidae) to infect paratenic hosts. — *Norweg. J. Zool.*, 1973, vol. 21, N 3, p. 201—210.
11. Hayunga E. G., Mackiewicz J. S. An electron microscope study of the tegument of *Hunterella nodulosa* Mackiewicz and McCrae, 1962. (Cestodea, Caryophyllidae). — *Internat. J. Parasitol.*, 1975, vol. 5, N 3, p. 309—319.
12. Howells R. E., Erasmus D. A. Histochemical observations on the tegumentary epithelium and interproglottidal glands of *Moniezia expansa* (Rud., 1805) (Cestoda, Cyclophyllidae). — *Parasitology*, 1969, vol. 59, N 3, p. 505—518.
13. Jha R. K., Smyth J. D. Ultrastructure of the rostellar tegument of *Echinococcus granulosus* with special reference to biogenesis of mitochondria. — *Internat. J. Parasitol.*, 1971, vol. 1, N 2, p. 169—177.
14. Kuhlrow F. Bau und Differentialdiagnose heimischer *Diphyllbothrium* Plerocercoiden. — *Z. Tropenmed. und Parasitol.*, 1953, vol. 4, N 2, S. 186—202.
15. Kwa B. H. Studies on the sparganum of *Spirometra erinacei*. II. Proteolytic enzyme(s) in the scolex. — *Internat. J. Parasitol.*, 1972, vol. 2, N 1, p. 29—33.
16. Kwa B. H. Studies on the sparganum of *Spirometra erinacei*. III. The fine structure of the tegument in the scolex. — *Internat. J. Parasitol.*, 1972, vol. 2, N 1, p. 35—43.
17. Lethbridge R. C., Gijssbers M. F. Penetration gland secretion by hexacanth of *Hymenolepis diminuta*. — *Parasitology*, 1974, vol. 68, N 3, p. 303—311.
18. Ogren R. E. Development and morphology of glandular regions in oncospheres of *Hymenolepis nana*. — *Proc. Pa Acad. Sci.*, 1955, vol. 29, p. 258—264.
19. Rosen F. Recherches sur le development des cestodes. I. Le cycle evolutif des *Bothriocephales*. — *Bull. Soc. Neuchatel, Sci. nat.*, 1918, vol. 43, p. 241—300.
20. Rybicka K. Ultrastructure of the embryonic syncytial epithelium in a Cestoda *Hymenolepis diminuta*. — *Parasitology*, 1973, vol. 66, N 1, p. 9—18.
21. Smyth J. D. The Physiology of Cestodes. San Francisco, 1969. 279 p.
22. Stirewalt M. A. Chemical biology of secretions of larval helminths. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1963, vol. 113, N 1, p. 36—53.

ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПСЕВДОФИЛЛИДНЫХ ЦЕСТОД

Гистохимическому изучению ленточных червей посвящены многочисленные работы [2, 4, 10—12, 16—18, 22, 24, 25]. В начальном периоде главной задачей было исследовать локализацию и динамику основного энергетического вещества — гликогена, а также липидов, РНК и ДНК. В результате развития гистохимических методик, в особенности гистоферментативных, появилась серия работ, установивших наличие в различных органах ленточных червей таких ферментов, как кислая и щелочная фосфатазы, АТФ-аза, сукцинатдегидрогеназа, фосфорилаза и др. [7, 14, 16, 19, 23, 26]. Применение электронно-микроскопического метода изменило существовавшие представления о строении покровов цестод [15, 27, и др.]. В настоящее время доказано, что тегумент ленточных червей представляет собой синцитий, снабженный специальными выростами — микротрихиями, с помощью которых осуществляются активные процессы всасывания веществ и их экскреция. Однако, несмотря на значительное количество морфо-функциональных исследований, почти все они выполнены на ограниченном числе видов, в основном на высших цестодах из отряда *Cyclophyllidea* и на половозрелых червях. Такой подход не позволяет судить о закономерностях динамики и локализации энергетических веществ и ферментов в сложном жизненном цикле паразитов. В связи с этим нами было проведено сравнительно-гистохимическое изучение представителей семейств отряда *Pseudophyllidea*.

Материалом для исследований послужили 11 видов паразитов из 6 семейств (см. таблицу). Часть видов была изучена на всех фазах онтогенеза. Червей добывали из щук, ершей, окуней, налимов, ряпушки и плотвы, отловленных в Рыбинском водохранилище, а также из дальневосточных лососевых рыб — нерки и кижуча. Половозрелые *L. intestinalis* и *S. solidus* получены из кишечника чаек, а *D. latum* путем экспериментального

Видовой состав и фазы развития исследованных цестод

Вид паразита	Исследованные фазы развития
<i>Triaenoforus nodulosus</i>	Яйца, корацидии, процеркоиды, плероцеркоиды, взрослые
<i>T. crassus</i>	Яйца, корацидии, процеркоиды, плероцеркоиды, взрослые
<i>Eubothrium rugosum</i>	Яйца, процеркоиды, плероцеркоиды, взрослые
<i>E. crassum</i> , <i>E. salvelini</i>	Взрослые
<i>Ligula intestinalis</i>	Яйца, плероцеркоиды, взрослые
<i>Shisthocephalus solidus</i>	Яйца, плероцеркоиды, взрослые
<i>Diphyllbothrium latum</i>	Яйца, корацидии, процеркоиды, плероцеркоиды, взрослые
<i>Diphyllbothrium</i> sp.	Яйца, плероцеркоиды, взрослые
<i>Cyathocephalus truncatus</i>	Яйца, взрослые
<i>Bothriocephalus gowkonensis</i>	Яйца, корацидии, процеркоиды, взрослые

заражения хомяков плероцеркоидами. Яйца ставили на развитие для воспроизведения жизненного цикла в лабораторных условиях.

Для выявления гликогена материал фиксировался смесью Карнуа при температуре 2—4° и хранился в жидкости Петерфи. Срезы обрабатывались шиффовой кислотой (PAS-реакция). Контролем служили препараты, обработанные амилазой при 37° в течение 30 мин. Липиды определялись осмифированием небольших кусочков червей с последующей обработкой Na₂S и заливкой в парафин, а также приготовлением замороженных срезов из тканей, фиксированных по Бейкеру, с окраской суданом 3. Высшие жирные кислоты (ВЖК) выявлялись по методу Фишлера, кислые мукополисахариды — толуидиновым синим с определением мест метахроматического окрашивания. РНК определяли по Браше. Контрольные препараты обрабатывались рибонуклеазой. Неспецифическая кислая и щелочная фосфатазы выявлялись по Гомори с контролем в первом случае, погружением срезов в кипящую воду, а во втором инкубацией в среде без субстрата. АТФ-аза определялась на срезах свежей замороженной ткани по Падикула и Герману с обработкой части срезов раствором строфантина в концентрации 3·10⁻⁴ М, глюкозо-6-фосфатаза — по Вахштейну и Мейзелю, контролем служила фиксация 10%-м формалином. Сукцинатдегидрогеназа (СДГ) определялась как на тотальных препаратах, так и на срезах замороженной ткани с предварительной обработкой абсолютным ацетоном при температуре 2° в течение 15 мин и последующей инкубацией в среде Нахласа при 25° от 15 до 25 мин. Для выявления фосфорилазной активности использовался метод Такеучи в нашей модификации.

ФАЗА ЯЙЦА

Г л и к о г е н. В яйцеклетках гликогена мало, либо он вообще отсутствует. По количеству гликогена в развивающихся яйцах исследованные цестоды разделяются на 2 группы. К первой относятся представители семейств *Amphicothylidae*, *Triaenophoridae*, *Bothriocephalidae* (рис. 1, а), у которых отмечено небольшое количество гликогена в желточных клетках, окружающих зародыш. В завершающих формирование яйцах гликоген локализован в эмбриофоре. Значительно богаче гликогеном яйца цестод из семейств *Ligulidae*, *Diphyllobothriidae* и *Cyathocephalidae*, составляющих вторую группу (рис. 1, б). Сам зародыш у всех исследованных видов гликогена почти не содержит.

Л и п и д ы. Локализация и количество липидов в процессе формирования и развития яиц у всех исследованных видов сходны. Яйцеклетка не содержит жировых включений. Липиды вносятся в яйцо только с желточными клетками (рис. 1, в). В сформированных яйцах жировые включения локализованы между скорлуповой оболочкой и эмбриофором. Небольшое количество содержится в эмбриофоре, полностью отсутствуют липиды в самом зародыше.

Р Н К. По количеству свободной РНК, выявляемой в процессе развития яиц, представители исследованных семейств разделяются на 2 группы. К 1-й относятся паразиты из семейств *Amphicothylidae*, *Cyathocephalidae*, *Triaenophoridae* и *Bothriocephalidae*. Яйцеклетки этих цестод (рис. 1, г) бедны РНК. В клетках дробящегося яйца интенсивность реакции несколько повышается. Окружающие его желточные клетки дают очень слабую реакцию. В сформированных яйцах интенсивную реакцию на РНК показывают только макромеры зародыша, и очень небольшое ее количество содержится в эмбриофоре. У представителей 2-й группы семейств *Ligulidae* и *Diphyllobothriidae* яйцеклетки значительно богаче РНК. Окружающие зародыш желточные клетки обнаруживают очень интенсивную пирониофилию. В сформированных яйцах, как и у представителей 1-й группы, значительное количество РНК содержится в макромерах зародыша.

С Д Г. В яйцеклетках *E. rugosum* и *T. nodulosus* наблюдается интен-

сивное отложение гранул формазана. В заканчивающих развитие яйцах значительная активность СДГ имеет место в клетках зародыша, меньшая — в эмбриофоре (рис. 1, *д*).

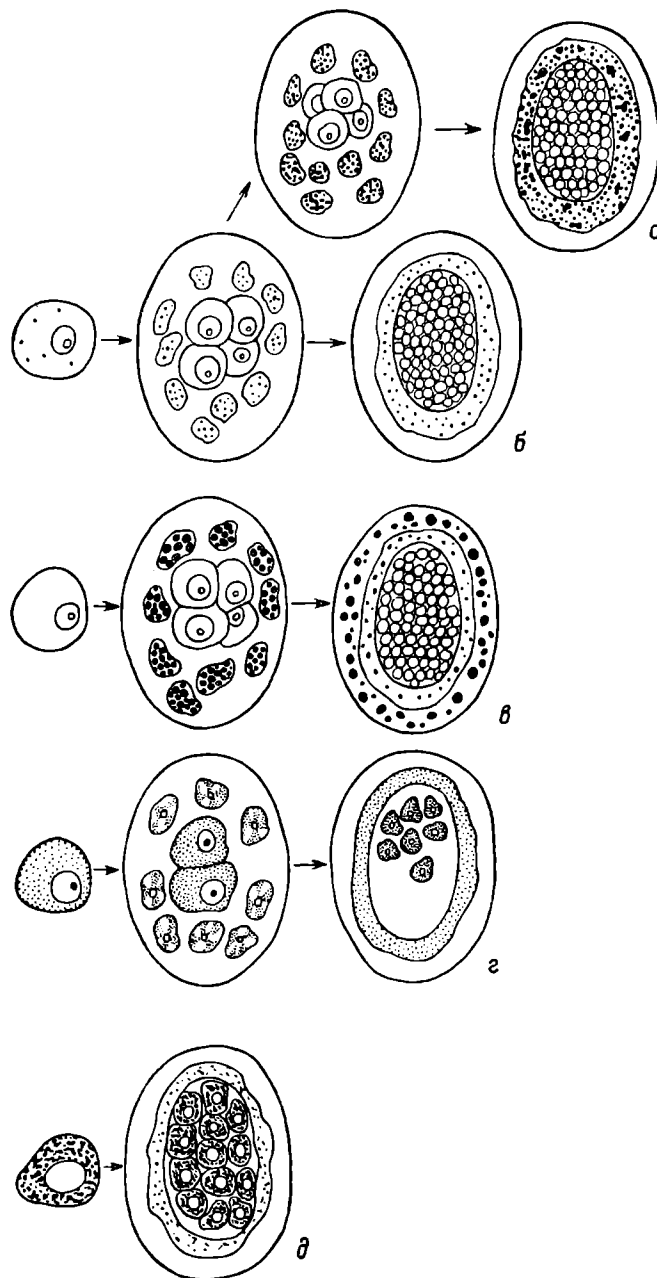


Рис. 1. Яйцеклетки и яйца псевдофиллидных цестод.

а — распределение гликогена у представителей сем. *Ligulidae*, *Diphylobothriidae*, *Cyathocephalidae*, *б* — то же в сем. *Amphicothylidae*, *Triaenophoridae*, *Bothriocephalidae*, *в* — распределение липидов у *E. rugosum*, *г* — РНК у цестод рода *Amphicothylidae*, *д* — СДГ у *E. rugosum*.

ФАЗА КОРАЦИДИЯ

Г л и к о г е н. Большинство изученных цестод имеет свободноплавающую личинку — корацидий, которая способна существовать во внешней среде до 3 суток. Исследование показало, что у корацидиев в возрасте 12 ч

гликоген локализован в ресничной оболочке. По мере плавания личинки его количество уменьшается и к концу 3-х суток он исчезает полностью (рис. 2, а, б). Подобная картина характерна для всех исследованных видов. ¶

Л и п и д ы. У всех изученных личинок липиды локализованы только в ресничной оболочке, их количество несколько увеличивается к концу 3-х суток плавания (рис. 2, в).

Р Н К. Много свободной РНК выявляется только в макрометрах онкосферы, количество которых в зависимости от вида паразита может быть от 6 до 18. Очень слабая реакция в ресничной оболочке (рис. 2, г).

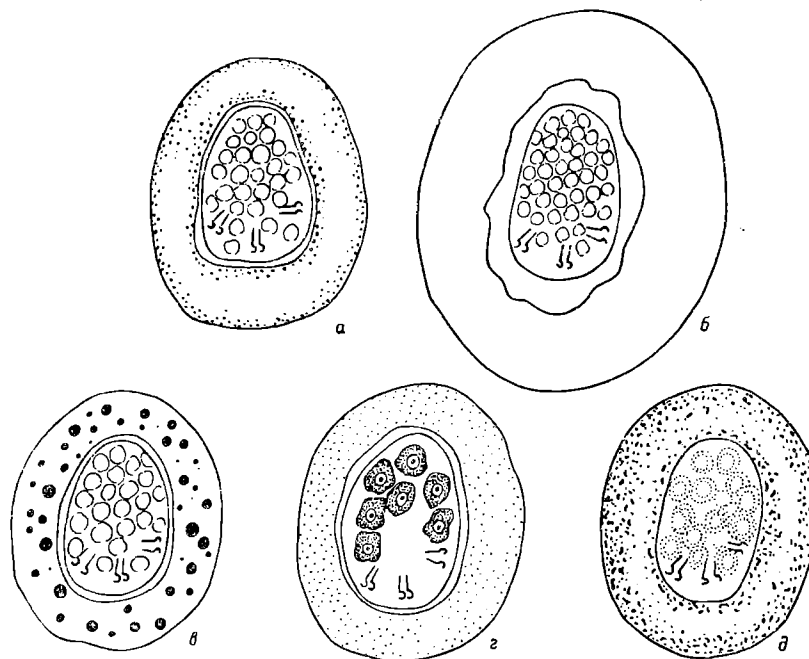


Рис. 2. Корацидии *T. nodulosus*.

а — локализация гликогена у личинки в возрасте 12 ч, б — то же в возрасте 3 суток, в — распределение липидов, г — то же РНК, д — распределение СДГ.

С Д Г. Отложение гранул формазана наблюдается в основном в ресничной оболочке. По мере плавания личинки интенсивность реакции резко снижается (рис. 2, д).

ФАЗА ПРОЦЕРКОИДА

Процеркоиды исследованных видов заканчивают свое развитие в гемоцели *Corperoda* в течение 8—14 дней. Нами были исследованы процеркоиды на разных стадиях развития.

Г л и к о г е н. У процеркоидов на начальных этапах формирования гликогена мало. Мелкие гранулы собраны в скопления, которые более или менее равномерно распределены по всей паренхиме (рис. 3, а). В процессе развития количество гликогена увеличивается и изменяется его характер. Мелкие гранулы тоже образуют скопления, но наблюдается появление и крупных конгломератов (рис. 3, б). У сформированных процеркоидов содержание гликогена резко увеличивается. Вся паренхима плотно заполняется крупными и мелкими гранулами. Относительно свободной остается область субтегумента, где локализованы мелкие гранулы. В церкмере гликогена очень мало (рис. 3, в).

Л и п и д ы. В период формирования мелкие липидные включения в небольшом количестве сосредоточены под покровами личинки (рис. 3, г).

У сформированных процеркоидов в покровах липидов больше, появляются они и в паренхиме. Богат жировыми включениями церкомер (рис. 3, *д*).

Р Н К. Интенсивную пиронинофилию на всех стадиях развития обна-

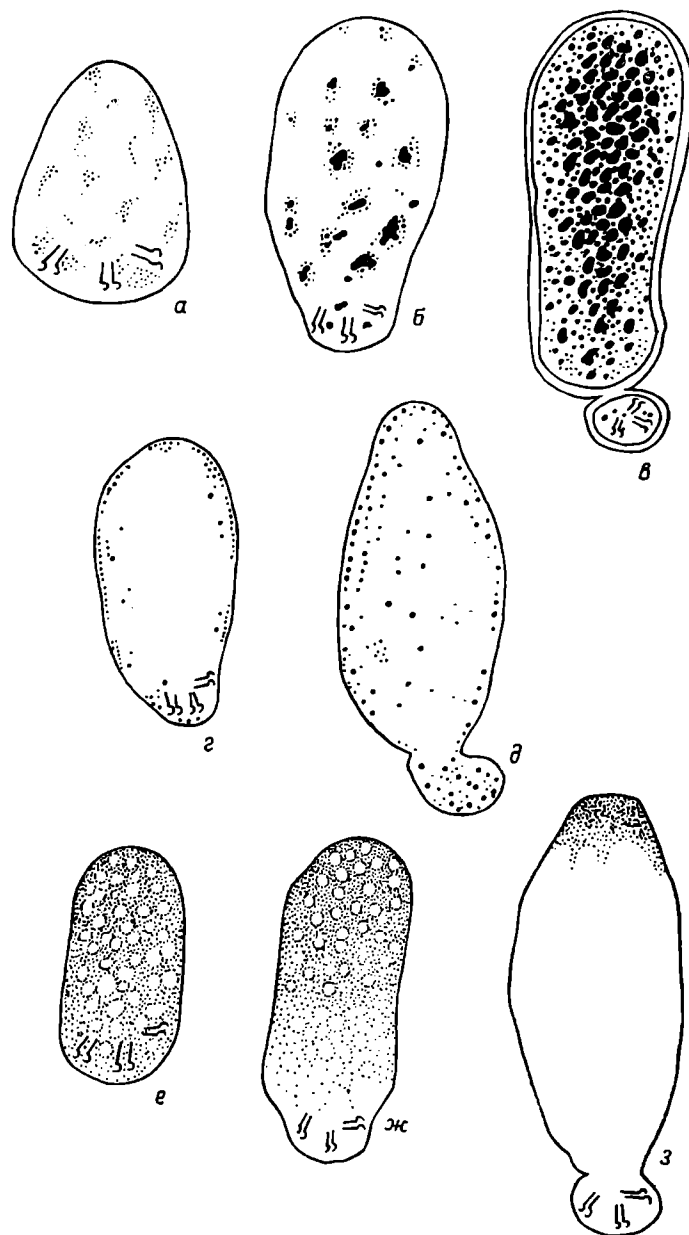


Рис. 3. Процеркоиды *T. nodulosus*.

а — распределение гликогена в начале развития, *б* — то же на промежуточной стадии, *в* — то же у полностью сформированной личинки, *г* — липиды в начале развития, *д* — то же у сформированного паразита, *е* — распределение активности СДГ в начале развития, *ж* — то же на стадии закладки церкомера, *з* — то же у сформированного паразита.

руживают субтегументальные клетки. Слабая реакция отмечена в клетках паренхимы.

С Д Г. На начальных этапах формирования фермент обнаруживается во всей ткани паразита (рис. 3, *е*). По мере развития интенсивная реакция сохраняется только в передней половине тела. В задней части отложения

формаза на менее интенсивны, а в области формирования церкомера вообще отсутствуют (рис. 3, ж). У полностью сформированных процеркоидов активность СДГ проявляется в головном конце (рис. 3, з).

ФАЗА ПЛЕРОЦЕРКОИДА

Наиболее подробно на всех стадиях развития изучены плероцеркоиды *T. nodulosus*, остальные виды — на стадии полного формирования.

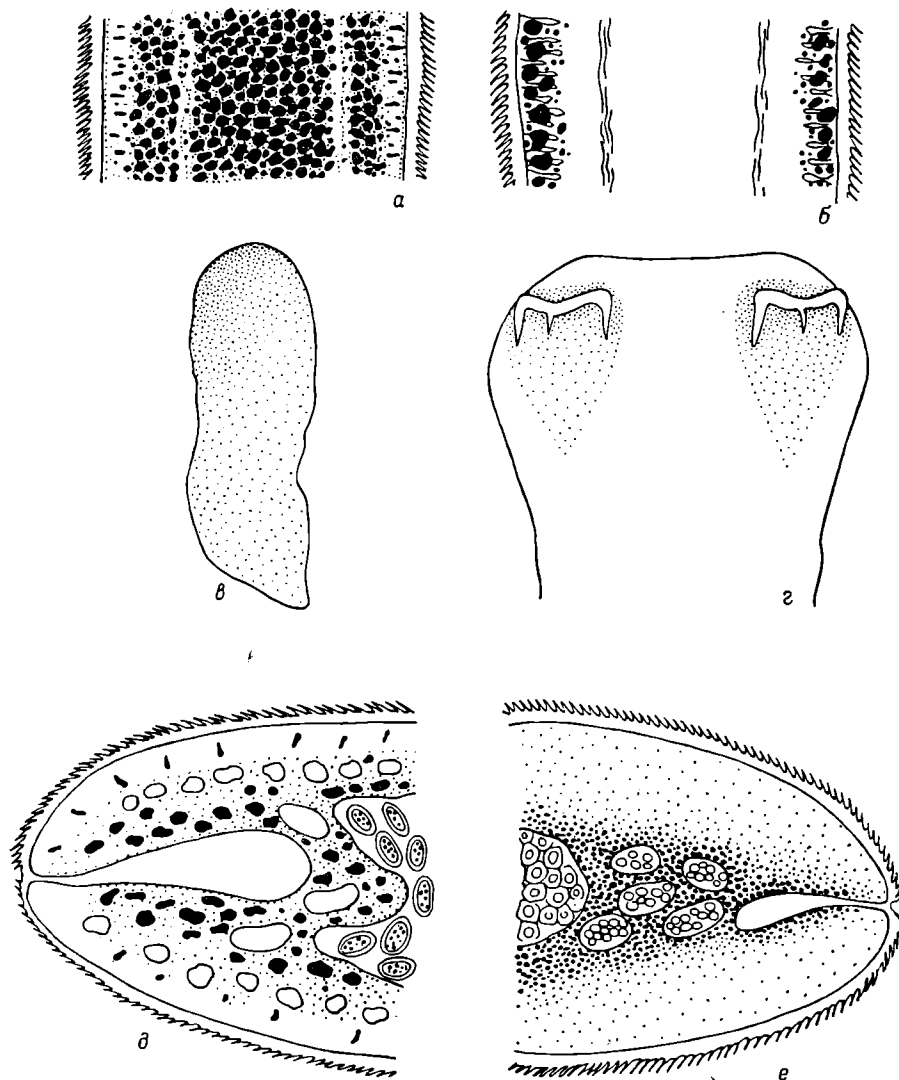


Рис. 4. Плероцеркоиды и половозрелые стробилы *T. nodulosus*.

а — распределение гликогена у сформированного плероцеркоида, б — локализация липидов у сформированного паразита, в — распределение СДГ в развивающемся плероцеркоиде, г — то же у сформированного плероцеркоида, д — гликоген в половозрелой стробиле, е — липиды там же.

Г л и к о г е н. Плероцеркоиды *T. nodulosus* завершают свое развитие в течение 45 суток с момента попадания в печень промежуточного хозяина (окунь, ерш, корюшка). У паразитов в возрасте около 2 недель паренхима равномерно заполнена гранулами гликогена. К ее центральной зоне приурочены крупные гранулы. Характерно, что по сравнению со сформированными процеркоидами гликогена на этой стадии меньше. Плероцеркоиды

в возрасте 3 недель содержат гликогена уже во много раз больше. Паренхима интенсивно заполняется крупными и мелкими гранулами. Относительно свободной остается только область субтегумента, где расположен мелкогранулированный гликоген. У окончательно сформированных паразитов гликоген полностью заполняет всю паренхиму (рис. 4, а). Мало его только в сколексе и субтегументе. Исследование плероцеркоидов из печени крупных 3—4-летних окуней показало, что в некоторых случаях происходит их дегенерация, а у сохранивших жизнеспособность гликогена мало. Гранулы мелкие и равномерно распределены по всей паренхиме. У сформированных плероцеркоидов *T. crassus*, *L. intestinalis*, *S. solidus* и *D. latum* найдены большие запасы гликогена. В значительно меньшем количестве он обнаружен у плероцеркоидов *E. rugosum*. В сколексе гликогена очень мало. Средняя и задняя части тела более или менее равномерно заполнены мелкими гранулами.

Л и п и д ы. У всех исследованных видов липиды в основном сосредоточены в субтегументальном слое (рис. 4, б). У *L. intestinalis*, *S. solidus* и *D. latum* мелкие липидные включения есть и в паренхиме. По мере старения плероцеркоидов значительное количество липидов появляется во внутренней паренхиме.

В Ж К. Жирные кислоты в виде мельчайших включений разбросаны по всей паренхиме *T. nodulosus* и *D. latum*. Некоторая концентрация отмечена вокруг скоплений зародышевых клеток плероцеркоидов.

К и с л ы е м у к о п о л и с а х а р и д ы. Все черви в толще тегумента содержат кислые мукополисахариды. Метакромазия восстанавливается после демитилирования, что указывает на то, что это сульфатированные кислые мукополисахариды.

Р Н К. Интенсивная пиронинофилия наблюдается в большинстве клеток субтегумента и в зародышевых клетках, расположенных в паренхиме. В значительном количестве РНК присутствует в клетках железистой массы плероцеркоидов *D. latum*.

К и с л а я ф о с ф а т а з а. Плероцеркоиды *L. intestinalis*, *D. latum* и *T. nodulosus* содержат кислую фосфатазу по всей толще тегумента. Реакция менее выражена в тегументе сколекса. Интенсивно прокрашиваются стенки выделительных каналов.

Щ е л о ч н а я ф о с ф а т а з а. Сосредоточена в проксимальных частях микротрихий и в верхних слоях тегумента.

С Д Г. Формирующиеся плероцеркоиды *T. nodulosus* обнаруживают интенсивную реакцию на СДГ в передней части тела и значительное снижение ее в задней. У сформированных паразитов отложение формазана наблюдается только в области крючьев (рис. 4, в, г). У *E. rugosum* фермент выявляется в мускулатуре ботрий.

Ф о с ф о р и л а з а. Сформированные плероцеркоиды *T. nodulosus* обладают очень низкой фосфоорилазной активностью. Редкие мелкие зерна амилоида появляются в паренхиме только после 24-часовой инкубации в субстрате.

ВЗРОСЛАЯ ФАЗА

На всех стадиях развития исследованы взрослые фазы *T. nodulosus* и *E. rugosum*. Остальные виды цестод изучались только на половозрелых стадиях.

Г л и к о г е н. В неполовозрелой стробиле *T. nodulosus* в период интенсивного органогенеза в местах закладки семенников, сумки цирруса и яичника гликогена очень мало. Сформированные семенники и сумка цирруса гликогена не содержат. В области субтегумента присутствуют немногочисленные мелкие гранулы. Основные и значительные запасы гликогена сосредоточены в паренхиме между формирующимися половыми органами (рис. 5, а). В сколексе и шейке гликогена немного, в основном он локализован в центральной паренхиме. В половозрелой стробиле наблю-

дается снижение количества гликогена. Крупные гранулы приурочены только к центральной паренхиме. Между половыми органами разбросаны многочисленные мелкие гранулы (рис. 4, д). Подобное распределение гликогена на половозрелой стадии характерно и для других изученных видов. Однако его количество различно. С достоверностью можно говорить о большем содержании гликогена у *E. rugosum*, чем у *T. nodulosus*, а отдельные экземпляры *C. truncatus* обнаруживают только следы гликогена. Дестробиллированные *E. rugosum* также имеют больше гликогена, чем таковые *T. nodulosus*. Содержание налимов в зимовальных прудах с осени до конца весны и периодическое исследование червей показали, что *E. rugosum* сохраняют запасы гликогена в течение всего опытного периода и способны восстанавливать стробилу.

Л и п и д ы. Большие скопления липидов появляются в период формирования гонад. Сами зачатки органов липидов не содержат, но окружающая их паренхима забита липидными включениями, количество которых уменьшается в участках, прилежащих к субтегументу (рис. 4, е). Вокруг половых органов и в паренхиме зрелых стробил липиды обнаруживаются в значительно меньших количествах. В желточных фолликулах только дифференцированные желточные клетки богаты липидами. Сколексы паразитов практически не содержат липидных включений.

В Ж К. Очень интенсивная реакция отмечена в желточных клетках. Высокую концентрацию ВЖК показывают отдельные клетки субтегумента.

К и с л ы е м у к о п о л и с а х а р и д ы. При окраске толуидиновым синим у всех исследованных червей выявляется интенсивная метакромазия по всей толще тегумента. На присутствие сульфатированных кислых мукополисахаридов указывает обратное метилирование. У червей, предварительно не промытых перед фиксацией, выявляется слой внешних кислых мукополисахаридов в области микротрихий. Кислые мукополисахариды выявляются также в зрелых сперматозоидах, находящихся в семеннотрубах, в то время как в семенниках реакция отсутствует.

Р Н К. Наиболее интенсивная реакция на РНК обнаруживается в репродуктивных органах — яичниках и семенниках. Большинство субтегументальных клеток обладает интенсивной пиронинофилией. В клетках паренхимы и в тегументе РНК значительно меньше.

К и с л а я ф о с ф а т а з а. По всей толще тегумента *T. nodulosus*, *T. crassus* и *E. rugosum* откладывается продукт реакции на кислую фосфатазу (рис. 5, б). Положительную реакцию дают клетки субтегумента. Хорошо прокрашиваются мелкие выделительные каналы и пламенные клетки. Менее интенсивно выявляются стенки крупных собирательных каналов (рис. 5, в).

Щ е л о ч н а я ф о с ф а т а з а. Приурочена к проксимальным частям микротрихий и к верхним слоям тегумента *T. nodulosus*, *T. crassus*, *E. rugosum* (рис. 5, г). Интенсивную реакцию на фермент дает стенка матки (рис. 5, д).

А Т Ф - а з а. Обнаружена в микротрихиях *T. nodulosus* и *E. rugosum*. Введение в инкубационную среду строфантина в конечной концентрации $3 \cdot 10^{-4}$ М снижает интенсивность реакции приблизительно вдвое (рис. 5, е).

С Д Г. У *T. nodulosus* и *E. rugosum* отложения гранул формаза выявляются в области субтегумента (рис. 5, ж) и по ходу продольных мышечных волокон, расположенных под тегументом (рис. 5, з). В паренхиме отмечена слабая реакция. СДГ обнаружена в яичнике и развивающихся семенниках. В тегументе реакция слабая. Исследование СДГ на тотальных препаратах показало, что фермент приурочен главным образом к сколексу паразитов и локализован в мышцах, обеспечивающих движение крючьев, или в мышцах ботрий.

Ф о с ф о р и л а з а. В стробилах *T. nodulosus* и *E. rugosum*, находящихся на стадии формирования половой системы, фосфооридазная актив-

ностью обладает паренхимная ткань. После 10—24-часовой инкубации амилоид выявляется равномерно по всей паренхиме. Однако здесь его количество значительно меньше, чем в контрольных препаратах из мускульной ткани рыб.

Результаты исследования показали, что по количеству гликогена яйца псевдофиллидных цестод разделяются на 2 группы. Для первой группы, включающей семейства *Ligulidae*, *Diphyllbothriidae* и *Cyathocephalidae*, характерны значительные запасы гликогена в формирующихся яйцах. Короткие сроки формирования яиц и развития зародышей *Ligulidae* и *Diphyllbothriidae*, проходящие при повышенной температуре в кишечнике птиц и млекопитающих, вероятно, главный фактор, определяющий интенсивное накопление гликогена. Об активном метаболических процессах, происходящих в яйцах этих паразитов, свидетельствует выявление в них большого количества РНК. С другой стороны, отличительная особенность яиц *D. latum* — их способность к продолжительному существованию во внешней среде. Яйца *C. truncatus* при оплодотворении в воду нуждаются в длительном развитии. Для этого требуется запасы питательных веществ. В яйцах цестод из семейств *Triaenophoridae*, *Aphricotylidae* и *Bothriocephalidae* гликогена значительно меньше. Это определяется с одной стороны незначительной метаболической активностью развивающихся зародышей, обладающих слабой интенсивностью реакции на РНК, а с другой — возможностью постоянного снабжения их питательными веществами через яйцевую оболочку, что подтверждается относительно постоянным количеством гликогена на всех стадиях развития яиц. Таким образом, факторами, определяющими запасы гликогена в яйцах псевдофиллидных цестод, могут быть особенности биологии, как указывалось ранее [2, 4], физиологии развития паразитов и физиология хозяина.

Яйца *D. latum* активно поглощают кислород [20, 21]. Обнаруженная в яйцеклетках и развивающихся яйцах *E. gagei* и *T. nodulosus* интенсивная реакция на СДГ в совокупности с имеющимися данными позволяют предположить активное аэробное использование гликогена. В то же время и липиды, обнаруженные в яйцах всех изученных видов в большом количестве, могут в присутствии кислорода играть определенную энергетическую роль. Наряду с этим липиды выполняют, вероятно, и гидростатическую функцию.

Свободноплавающая личинка — корацидий — во время существования во внешней среде не питается, и поэтому естественно быстрое исчезновение у нее запасов гликогена. Присутствие СДГ в ресничной оболочке и в онкосфере личинок *D. latum* и *T. nodulosus*, а также обитание их в богатой кислородом среде позволяют предполагать аэробный тип обмена. К этому выводу приходят и другие авторы [3]. Однако поглощения кислорода корацидиями *D. latum* и *T. nodulosus* обнаружить не удалось [20, 21]. Противоречивость фактов не дает возможности определенно решить вопрос о типе обмена у корацидиев псевдофиллидных цестод. Липиды локализованы в ресничной оболочке корацидиев, их количество остается все время постоянным. Вероятно, как это и считалось ранее, они выполняют только гидростатическую функцию [11]. Наиболее физиологически активными клетками онкосферы являются макромеры, о чем свидетельствует их интенсивная пиронинофилия.

Интенсивное откладывание гликогена в теле процеркоидов происходит после завершения формирования личинок. Накопление таких запасов, по-видимому, становится возможным в результате коренных изменений в строении покровов. Слой микроворсинок исчезает и на поверхности паразита формируется специализированная, характерная только для цестод, абсорбционная структура — слой микротрихий [15]. Концентрация гликогена может быть связана и с окончанием морфо-функциональных перестроек, снижением уровня метаболизма. Наши данные показали высокую активность СДГ в начале формирования плероцеркоидов и снижение

активности в процессе развития. Паразитирование в гемоцели *Copepoda* в условиях хорошего снабжения кислородом, а также высокая активность СДГ и небольшое количество гликогена на начальных этапах развития дают возможность предположить, что в период формирования процеркоидов имеют место аэробные процессы. В пользу этого предположения свидетельствует и незначительное количество липидов. В этом обнаруживается сходство с высшими цестодами, у цистицеркоидов которых показан аэробный тип обмена [10, 23]. Следует отметить, что в церкмере практически не обнаружено гликогена и отсутствует реакция на СДГ. Это показывает слабую функциональную активность церкмера, его редукцию у псевдофиллидных цестод, в то время как у цистицеркоидов он выполняет важные физиологические функции, в частности дыхания [10].

Детальное изучение накопления гликогена у плероцеркоидов *T. nodulosus* показало, что наибольшее его количество наблюдается на завершающих этапах формирования. Большие запасы гликогена отмечены и у остальных изученных плероцеркоидов. Гораздо меньше его содержится в теле плероцеркоидов *E. rugosum*, что, по-видимому, связано с их паразитированием в полости кишечника, тогда как остальные паразитируют в тканях и полости тела хозяев. Вероятно, более активная среда кишечника не может способствовать накоплению больших запасов гликогена на личиночной фазе развития. Значительная активность СДГ у плероцеркоидов *T. nodulosus* обнаружена лишь на начальных этапах формирования. У сформированных плероцеркоидов она проявляется только в мускулатуре активно работающих органов — крючьев сколекса *T. nodulosus* и ботрий *E. rugosum*. Остальные ткани обладают слабой интенсивностью метаболизма, что доказывает как низкая фосфоорилазная активность, так и незначительное количество липидов. В то же время у мигрирующих в мускулатуре хозяев плероцеркоидов *D. latum* и активно растущих длительное время плероцеркоидов *L. intestinalis* и *S. solidus* отмечено значительное содержание липидов в паренхиме.

Наибольшие запасы гликогена у взрослых червей обнаружены на стадии формирования гонад, когда вся паренхима заполнена крупными и мелкими гранулами. Области формирования половых органов не содержат гликогена. Необходимый для активных морфо-функциональных перестроек энергетический материал доставляется из окружающей паренхимы. Об активном потреблении гликогена свидетельствуют скопления липидов вокруг формирующихся половых органов, по мере развития которых количество липидов уменьшается. Часть из них сосредоточивается в желточных клетках, а основная масса экскретируется через покровы, что показано электронномикроскопически [13]. Локализация гликогена у половозрелых гельминтов, подвергшихся исследованию, сходна. Во всех случаях происходит его уменьшение по сравнению с неполовозрелой стадией. Однако оставшееся количество гликогена различно между видами. Так, *E. rugosum* после естественной дестробиляции содержит довольно много гликогена. В то же время нами экспериментально показано, что он способен вновь восстанавливать стробилу. У *T. nodulosus* — одногодичного паразита, после дестробиляции гликогена практически не обнаружено. Таким образом, по количеству гликогена на завершающих стадиях развития можно судить о сохранении или потере жизнеспособности паразитов. В частности, на основании присутствия только следов гликогена у *C. truncatus* можно предположить, что по достижению половозрелого состояния они погибают.

Выявление фосфоорилазной активности у *E. rugosum* и *T. nodulosus* показало, что гликоген синтезируется в паренхиме червей. Однако во всех случаях фосфоорилазная активность по сравнению с таковой в мышцах рыб оказывалась во много раз менее интенсивной. Вероятно, у псевдофиллидных цестод могут существовать и другие пути синтеза и расщепления гликогена.

Локализация жирных кислот у половозрелых гельминтов ~~связана~~ с отдельными субтегументальными и с недифференцированными ~~клетками~~ клетками. Роль жирных кислот в жизнедеятельности цестод ~~не~~ не ясна. Несомненно, что они предшественники липидов. По ~~всей~~ возможности, часть из них, выявляемая в желточниках, используется в ~~качестве~~ энергетического материала, а остальные по мере образования при ~~аэробном~~ расщеплении гликогена непосредственно преобразуются в ~~липиды~~.

Тегумент всех исследованных нами плероцеркоидов и взрослых цестод содержит сульфатированные кислые мукополисахариды. Ряд авторов признает за ними защитную функцию против воздействия кишечных ферментов [19, 28]. В то же время кислые мукополисахариды входят в состав гликокаликса щеточной каймы кишечного эпителия позвоночных животных [9]. Наличие гликокаликса связывается с процессами пристеночного пищеварения. Имеются данные о возможности подобного явления и у цестод [6]. Многими исследователями выявлены в покровах цестод неспецифические и ряд специфических фосфатаз [10, 14, 19, 22, и др.]. Нам также обнаружено присутствие в тегументе исследованных видов неспецифической кислой и щелочной фосфатаз. Интенсивность реакции на АТФ-азу снижалась при действии строфантина, что указывает на присутствие Na-K-АТФ-азы. Она локализована только в микротрихиях. Тегумент обладает значительной активностью гликозо-6-фосфатазы. Обнаруженные ферменты связаны с начальными этапами утилизации и транспорта глюкозы. Это позволяет говорить об активном транспорте питательных веществ через тегумент и о возможности присутствия на покровах цестод пристеночного пищеварения, аналогично таковому у позвоночных животных.

Наличие значительной активности СДГ в субтегументальном слое половозрелых *E. rugosum* и *T. nodulosus* совпадает с данными, полученными на других цестодах [7, 8, 26]. Высокая активность СДГ характерна, в частности, для клеток, выполняющих осморегуляторную функцию [11]. В то же время известно, что цестоды могут регулировать осмотическое давление в своих тканях в достаточно широких пределах и за короткие сроки [5]. Возможно, наряду с нефридиальной системой субтегумент выполняет функцию осморегуляции.

Результаты исследований позволяют заключить, что интенсивность накопления и пути утилизации питательных веществ псевдофиллидными цестодами изменяются в процессе онтогенеза и зависят как от биологии и физиологии паразитов, так и от физиологических особенностей их хозяев.

Тегумент и субтегумент — один из наиболее физиологически активных органов, обеспечивающих основные жизненные функции: трофическую, защитную, транспортную, экскреторную, осморегуляторную.

Л и т е р а т у р а

1. Гинецинский А. Г. Физиологические механизмы водно-солевого равновесия. М.—Л., 1964. 427 с.
2. Гинецинская Т. А., Пальм В., Беседина В. В., Тимофеева Т. А. Закономерности отложения запасных питательных веществ в желточниках плоских червей. — Паразитология, 1971, т. 5, вып. 2, с. 147—154.
3. Гинецинская Т. А., Пурцеладзе А. К. Некоторые особенности обмена и динамика запасных питательных веществ у мирацидиев и корацидиев. — Тр. Всесоюз. ин-та гельминтол., 1971, т. 17, с. 119—122.
4. Гинецинская Т. А., Успенская З. И. Характер отложения гликогена и жира в тканях гельминтов в зависимости от места их локализации в теле хозяина. — Helminthologia, 1965, т. 6, вып. 1—4, с. 319—333.
5. Давыдов О. Н. К осмотической регуляции у некоторых цестод рыб. — Гидробиол. журн., 1975, т. 11, № 4, с. 75—79.
6. Давыдов О. Н., Косенко Л. Я. Пристеночное пищеварение плероцеркоида *Ligula intestinalis*. — Паразитология, 1972, т. 6, вып. 3, с. 269—274.
7. Дивеева-Могила Ю. А., Глазунова Г. А. К вопросу о ферментном составе плоских червей. — Тр. Всесоюз. ин-та гельминтол., 1971, т. 17, с. 123—124.

8. И в а н о в И., Б у р н а ш е в а С. Аэробные энзиматические системы у некоторых кишечных гельминтов рогатого скота и овец. — ДАН СССР, 1945, т. 49, № 3, с. 234.
9. К о м и с с а р ч и к Я. Ю., У г о л е в А. М. Ультраструктура и возможное функциональное значение гликокаликса микроворсинок кишечных клеток. — ДАН СССР, 1970, т. 194, № 3, с. 731—733.
10. К р а с н о щ е к о в Г. П., Б о н д а р е н к о С. К. Гистохимическое изучение цистицеркоидов цестод рода *Aploparaksis* (*Hymenolepididae*). — Паразитология, 1976, т. 10, вып. 1, с. 25—29.
11. Л у т т а А. С. Динамика запасных питательных веществ у паразитических червей в зависимости от цикла их развития. — Учен. зап. ЛГУ, 1939, т. 43, сер. биол., с. 129—171.
12. М а р к о в Г. С. Динамика запасных питательных веществ у паразитических червей в искусственных средах. — Зоол. журн., 1943, т. 22, вып. 1, с. 3—18.
13. Т и м о ф е е в В. А. Электронномикроскопические данные об эскреции липидов *Triaenophorus nodulosus*. — Цитология, 1967, т. 9, вып. 11, с. 1413—1415.
14. Т и м о ф е е в В. А. Локализация кислой и щелочной фосфатаз в кутикуле плероцеркоида и половозрелой формы *Schistocephalus pungitii*. — Цитология, 1970, т. 12, № 8, с. 1039—1044.
15. Т и м о ф е е в В. А., К у п е р м а н Б. И. Электронномикроскопическое исследование процессов возникновения и формирования покровов у цестод на примере *Triaenophorus nodulosus*. — Паразитология, 1973, т. 7, вып. 4, с. 339—348.
16. А г м е С. Histochemical and biochemical studies on some enzymes of *Ligula intestinalis* (*Cestoda*, *Pseudophyllidea*). — J. Parasitol., 1966, vol. 52, N 1, p. 63—68.
17. В а р о н Р. J. On the histology, histochemistry and ultrastructure of the cysticercoid of *Raillietina cesticillus*. — J. Parasitol., 1971, vol. 62, N 2, p. 233—245.
18. В о г и т ш В. Histochemical studies on *Hymenolepis microstoma* (*Cestoda*: *Hymenolepididae*). — J. Parasitol., 1963, vol. 49, N 6, p. 989—997.
19. В о г и т ш В. J., N u n n a l l y D. A. Histochemistry of *Hymenolepis microstoma* (*Cestoda*, *Hymenolepididae*). II. Regional distribution of succinic dehydrogenase. — J. Parasitol., 1966, vol. 56, N 1, p. 55—61.
20. G r a b i e c S., G u t t o w a A., M a l z a h n E., M i c h j l o w W. Investigations on the oxidation-reduction activity in embryos and coracidia of *Triaenophorus nodulosus* by chemiluminescence method. — Bull. Acad. polon. sci, ser. biol., 1969, vol. 17, N 10, p. 609—612.
21. G r a b i e c S., G u t t o w a A., M i c h a j l o w W. Investigation on the respiratory metabolism of eggs and coracidia of *Diphyllbothrium latum* (L.) (*Cestoda*). — Bull. Acad. polon. sci, ser. biol., 1964, vol. 12, N 1, p. 29—34.
22. M a y b e r r y L. F., T i b b i t t s F. D. *Hymenolepis diminuta*; histochemical localisation of glycogen, neutral lipid, and alkaline phosphatase in developing worms. — Z. Parasitenk., 1972, vol. 38, N 1, p. 66—76.
23. M o c z o n T., G u t t o w a A. Oxidoreductase histochemistry in larval stages of pseudophyllidean cestodes. II. Proceroid. — Acta parasitol. pol., 1974, vol. 22, N 1—11, p. 9—14.
24. O h m a n - J a m e s C. Histochemical studies of the Cestodes *Diphyllbothrium dendriticum* Nitzsch, 1824. — Z. Parasitenk., 1968, vol. 30, N 1, p. 40—56.
25. R e i s s i n g M., C o l u c c i A. V. Localisation of glycogen in the cestoda, *Hymenolepis diminuta*. — J. Cell. Biol., 1968, vol. 39, N 3, p. 754—763.
26. S a l m i n e n K. Succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase in adult and plerocercoid *Diphyllbothrium latum*. — Comp. Biochem. and Physiol., 1974, Bd 49, N 1, p. 87—92.
27. T h r e a d g o l d L. T. An electron microscope study of the tegument and associated structure of *Dipylidium caninum*. — Quart. J. Microscop. Sci., 1962, vol. 103, p. 135—140.
28. V a r u t e A. T., M o r e N. K. Histochemical differentiation of mucopolysaccharides in cyst and body-wall of cysticercus of *Taenia taeniaeformis*. — Ann. histochem., 1970, vol. 15, N 4, p. 311—319.

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
Г. А. Виноградов, П. А. Гдовский, В. Е. Матей. Закисление водоемов и его влияние на метаболизм у пресноводных животных	3
Г. А. Виноградов. Адаптация водных животных с различными типами осморегуляции к понижению рН внешней среды	17
Г. А. Виноградов, Г. П. Жариков, Б. А. Флеров. Действие полихлорпинена и гексахлорана на дыхание и осморегуляцию карасей	26
В. И. Козловская, Г. М. Чуйко. Холинэстеразы сыворотки крови рыб сем. <i>Cyprinidae</i> с различной устойчивостью к хлорофосу	32
В. И. Козловская, Н. С. Новичкова, Б. А. Флеров. Изменение белкового состава сыворотки крови карпа при отравлении хлорофосом и полихлорпиненом	42
Л. Н. Лапкина, Б. А. Флеров. Исследование острого отравления пиявок некоторыми токсическими веществами	50
В. Е. Матей. Гипоталамо-гипофизарная нейросекреторная система и симптомокомплексы отравления рыб при действии некоторых токсикантов	60
В. Е. Матей, Н. А. Мальгина. Действие пестицидов на жаберный эпителий карася	68
Б. А. Флеров. Сравнительное изучение реакций избегания токсических веществ у некоторых водных животных	81
Л. В. Балабанова. Судьба парентерально введенных бактерий в организме рыб	88
В. Р. Микряков, Л. В. Балабанова. Клеточные основы иммунитета у рыб	105
В. Р. Микряков, Н. Ф. Силкин, Н. И. Силкина. Антимикробные свойства сыворотки крови рыб	125
Б. И. Куперман. Экологический анализ цестод рыб водоемов Волго-Балтийской системы (Рыбинское, Шекснинское водохранилища, Белое, Онежское, Ладожское озера)	133
Н. А. Изюмова, А. В. Маштак. Сезонная встречаемость дактилогирусов у леща, плотвы и синца Рыбинского водохранилища	160
А. В. Маштак. Экологический анализ паразитофауны леща Горьковского водохранилища	168
В. Г. Давыдов, Б. И. Куперман. Структура фронтальных желез у представителей трех отрядов цестод	177
В. Г. Давыдов. Гистохимическое изучение псевдофиллидных цестод	189