

АКАДЕМИЯ НАУК СССР

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ ПО ПРОБЛЕМАМ ГИДРОБИОЛОГИИ, ИХТИОЛОГИИ
И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ВОДОЕМОВ**

**Институт эволюционной морфологии и экологии животных
им. А.Н. Северцова**

РЕАКЦИИ ГИДРОБИОНТОВ НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ



ИЗДАТЕЛЬСТВО "НАУКА"

Москва 1983

Реакции гидробионтов на загрязнения. М.: Наука, 1983.

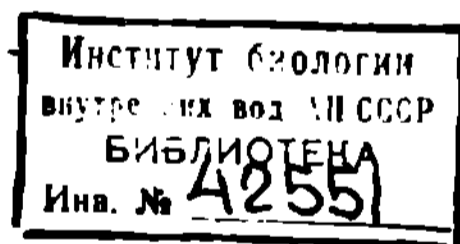
Сборник посвящен актуальным проблемам водной токсикологии, адапционным и регуляторным процессам у гидробионтов при действии токсических веществ. Рассматриваются вопросы нормальной физиологии, иммунологии и биохимии рыб. Результаты исследований могут быть использованы при биотестировании природных и сточных вод.

Книга рассчитана на специалистов в области гидробиологии, водной токсикологии, физиологии и биохимии.

Ответственный редактор

доктор биологических наук

Н.С. СТРОГАНОВ



ПРЕДИСЛОВИЕ

Индустриализация промышленности, интенсификация и химизация сельского хозяйства неизбежно приводят к тому, что в наши водоемы поступают вещества, синтезированные в недавнем прошлом человеком и поэтому не знакомые гидробионтам в ходе их эволюционного развития. Отходы ряда отраслей промышленности и применение удобрений в сельском хозяйстве также увеличивают содержание в пресной воде минеральных соединений. В результате преобразующей деятельности человека осолоняются одни и опресняются другие участки водоемов; использование водоемов для охлаждения систем промышленных предприятий доводит температуру воды до уровней, не свойственных обитающим в них гидробионтам. Все это существенно изменяет среду обитания водных организмов.

В настоящее время в нашей стране проводятся различные мероприятия, направленные на предотвращение загрязнения водоемов, однако сохранить их в первозданном состоянии при современном уровне развития промышленности и сельского хозяйства невозможно. В связи с этим биологи, и в первую очередь водные токсикологи, пытаются установить, до какой степени можно изменить условия в водоемах, чтобы сохранить их для потомков, а народное хозяйство обеспечить продукцией. Чтобы ответить на эти вопросы, необходимо знать реакции гидробионтов на изменение среды обитания. Среди них особое место занимает способность гидробионтов адаптироваться к новым условиям. Вопросы приспособляемости и приспособленности гидробионтов к действию токсикантов, а также выявление механизмов привыкания водных организмов к химическому загрязнению приобрели особую значимость особенно в последнее время, так как есть мнение о том, что водные организмы могут приспособиться к химическому загрязнению в связи с их большой пластичностью.

Статьи, представленные в настоящем сборнике, отражают реакции гидробионтов разного систематического положения и трофического уровня на изменение химического состава воды и ее температуры. В них затронуты вопросы генетической и фенотипической приспособляемости и приспособленности водных организмов к разным группам токсикантов, к биогенным элементам, реакции эмбрионов и личинок рыб на экстремальное состояние температурного фактора; рассмотрены пределы приспособленности и приспособляемости в разные периоды онтогенеза гидробионтов, а также роль факторов среды (температура, pH, соленость и др.) в процессах приспособляемости; представлены данные электронной микроскопии по изменению структур клеток рыб, находившихся в воде с измененным химическим составом.

Во многих работах обсуждается терминология, используемая разными исследователями при анализе реакции гидробионтов на изменение внешней

В сборнике представлены работы не только водных токсикологов, но и экологов, рассматривающих аспекты приспособленности и приспособляемости организмов к действию экстремальных факторов; дана общеприкладная биологическая оценка приспособленности особи и механизмы, ее обеспечивающие. Анализируются особенности изменения нормы реакции при действии различных внешних факторов (естественных и антропогенных) в процессе адаптации рыб к новым условиям существования.

На основании данных, обсуждающихся в сборнике, показано, что водные организмы обладают малой приспособляемостью к химическому загрязнению, хотя временно удается установить проявление адаптивных реакций. Рассчитывать в ближайшее время на возникновение устойчивых к токсикантам видов нет оснований. Пока мы в основном констатируем исчезновение отдельных ценных для народного хозяйства гидробионтов. Способность гидробионтов в ряде случаев адаптироваться к условиям обитания при повышенном загрязнении водоемов приводит к утрате хозяйственной ценности промысловых объектов, возможной кумуляции химических соединений в организме гидробионтов. Миграция их по трофическим цепям может создать прямую угрозу человека.

Мы надеемся, что работы, публикуемые в данном сборнике, помогут в составлении прогнозов для наших водоемов и явятся существенным вкладом в охрану их от возрастающего антропогенного воздействия.

ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ И ПРИСПОСОБЛЯЕМОСТЬ В СИСТЕМЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ГИДРОБИОНТА С ТОКСИКАНТОМ

Н.С. СТРОГАНОВ

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Вторая половина XX столетия характеризуется бурным увеличением производства новых химических соединений, которые в тех или иных количествах попадают в гидросферу. Современная биосфера не успевает перерабатывать огромное количество поступающих в нее химических соединений, вследствие чего возникает химическая загрязненность, приводящая к нарушению исторически сложившегося порядка круговорота веществ в биосфере. Гидросфера и прежде всего поверхностные водоемы несут на себе эту печать прогрессирующего антропогенного влияния в виде химического загрязнения.

В настоящее время очень мало известно о биологической активности многих новых встречающихся в водоемах веществ, синтезированных химиками. В то же время гидробиологи знают, что каждое соединение, находящееся в воде, как среде обитания гидробионтов, рано или поздно попадает в водные организмы, включается в метаболические процессы и в той или иной степени оказывает влияние на порядок течения биохимических процессов. Это проявляется не только в жизнеспособности данной особи, но может иметь и отдаленные последствия — влиять на последующие поколения. В связи с этим необходим не только контроль со стороны водной токсикологии, но и научное прогнозирование возможных отдаленных последствий их действия на гидробиологические процессы.

Перед водными токсикологами встала задача разработать теоретические вопросы взаимодействия гидробионтов с создающейся измененной средой обитания, реагирования гидробионтов на химическое загрязнение водоемов и научного обоснования допустимых пределов изменений среды и жизненных проявлений гидробионтов. Из большого числа проблем мы выбрали вопросы регуляции, адаптации и привыкания. Наш выбор был обусловлен тем, что среди производителей и научных сотрудников небиологов все чаще можно слышать утверждение о большой способности гидробионтов к адаптации к химическому загрязнению. Следовательно, вопрос об адаптации имеет не только теоретическое значение, но и сугубо практическое. Это вопрос сегодняшнего дня охраны вод поверхностных водоемов. В какой степени гидробионты смогут приспособиться к химическому загрязнению и как скоро они смогут это осуществить?

Судя по имеющимся фактам, в этой области нет пока четкого и однозначного ответа для гидробионтов как с длинным, так и с коротким циклом. Судя по промысловым организмам, первые уменьшают свою численность быстрее, чем организмы с коротким жизненным циклом.

Прежде чем повести обсуждение намеченных теоретических вопросов, следует определить границы того явления, которое мы будем рассматривать, и ту терминологию, которой будем пользоваться.

Широко распространенный термин "адаптация" переводится на русский язык как приспособление. Однако понятие приспособление отражает минимум три разных явления. Первое — приспособление как процесс приравнивания особи к изменяющейся среде; изменение физиологических, биохимических, поведенческих и других показателей, т.е. оно отражает интимные процессы приравнивания особи к среде. Иной смысл вкладывается в термин "приспособление" (адаптация) при рассмотрении развития, т.е. становления вида в изменяющейся среде. Здесь тоже имеется в виду процесс, но в основе которого лежат другие механизмы. В частности, большое значение имеет элиминация не пригодных для данных условий особей, возникновение мутаций и их реализация и др. Еще одна трактовка, вкладываемая в слово приспособление, это — образование дополнительного механизма (или механизмов), устройства, прибора и т.п. (например, образование воздушных камер и жировых капель для уменьшения удельного веса).

Термин "адаптация" часто применяется и по отношению к человеку, пережившему климатическую среду, и при переводе с одного языка на другой, а также в социальном плане (привыкание, адаптация одного человека к определенному коллективу, и наоборот).

Производных от слова адаптация довольно много: адаптивность (приспособительность), адаптивный (приспособительный), адаптированность (приспособленность) и др. Имеются и такие понятия, как адаптивная реакция, адаптивная норма, адаптивная радиация (Осборн), адаптивная модификация, адаптивное реагирование и т.д. Имеются и сложные производные — коадаптация (Спенсер), т.е. взаимное приспособление органов, частей (теперь чаще говорят о корреляции функций органов, частей). Есть термин "преадаптация" (Кено), который был выдвинут в противовес дарвинизму и рассматривался как мутационизм. В отечественной литературе под термином преадаптация некоторые исследователи (Георгиевский) понимают приспособленность. Эволюционисты применяют термин "идиоадаптация" — частные приспособления. Имеется еще несколько терминов, производных от слова адаптация.

При рассмотрении проблемы приспособляемости и приспособленности термином адаптация и его производными мы будем пользоваться редко, так как они не вполне четко передают то явление или процессы, которые нас сегодня интересуют. Термины приспособляемость и приспособленность, на наш взгляд, хорошо отражают то явление, которое мы изучаем.

Следует иметь в виду, что приспособленность вырабатывается в процессе эволюции и что история организма есть история его приспособления к меняющейся среде обитания. Приспособленность не абсолютна, а относительна и если организм приспособлен к одной среде, то он уже не приспособлен к другой, качественно отличной от первой.

Из многообразных типов приспособленностей и приспособляемостей мы рассмотрим только те, которые относятся к абиотической среде, и совсем не будем касаться приспособленности и приспособляемости организма к организму. Нас будет интересовать приспособленность и приспособляемость как генотипическая (передающаяся по наследству), так и фенотипическая, возникающая в результате прямого действия среды на организм.

Приспособляемость как свойство живого возникло вместе с возникновением жизни. За прошедшую многомиллионную историю жизни на Земле виды возникали и развивались при постоянном воздействии среды обитания. Современные организмы приспособлены к определенной, исторически сложившейся среде, к определенным пределам ее изменемости. Когда среда обитания изменяет химический состав (в наше время в результате деятельности человека), то в силу своих возможностей гидробионты должны приспособляться к новым для них условиям. Каков будет успех такой приспособляемости — зависит от возможностей организма, с одной стороны, и от природы, интенсивности и скорости изменения химического загрязнения — с другой. Особенно напряженно и не всегда успешно протекает приспособляемость к экстремальным условиям среды.

В дальнейшем под приспособляемостью будем понимать процессы приравнивания (физиологические, биохимические и др.) к изменяющейся среде обитания. Они могут протекать с разной эффективностью и полнотой в интересах особи и вида. В процессах приспособляемости участвуют разные структуры и функции. Под приспособленностью мы будем понимать полноту соответствия в сохранении специфики организма, вида при изменяющейся среде обитания. Поэтому критерием приспособленности может быть в конечном итоге только выживаемость особи и сохранность вида. При воздействии токсикантов (химическое загрязнение) уже наблюдаются случаи, когда взрослые особи живут и растут, но не размножаются или рождается нежизнеспособное потомство. При таком положении вид обречен на вымирание. К такому биологическому критерию приспособленности теперь следует добавить и хозяйственный, под которым понимается отсутствие у сохраняющегося вида ненужных или вредных для человека свойств (накопление ядовитых веществ, снижение роста, плодовитости и т.п.).

В системе организм—среда мы обращаем внимание как на изменения в организме (на его реакции) при изменении среды (действие токсиканта), так и на изменения в популяции.

Проблема взаимоотношения организм—среда разрешалась биологами с давних времен и накопилось много различных воззрений. Действие природных факторов среды на организмы рассматривается всеми эволюционистами и экологами. Но изучение реакций организма на токсическое воздействие различных веществ ведется немногими исследователями и ограничивается преимущественно определением выживаемости, или резистентности. В наше время эта проблема привлекает внимание не только практиков (специалистов по охране природы) но и теоретиков, так как дальнейшая эволюция жизни на Земле будет осуществляться при значительном воздействии разных токсикантов на все стороны жизненного процесса. Химическое загрязнение среды жизни выступает уже как новый фактор эволюционного процесса жизни на Земле. Оба подхода к рассмотрению приспособляемости организма и популяции можно выразить следующими схемами (рис. 1 и 2).

Исходное состояние организма (см. рис. 1) вполне соответствует той среде, в которой он исторически сложился. Организм приспособлен к ней. Его приспособленность полная, так как он не только сам живет, но и обеспечивает продолжение вида. Попадание в окружающую организм среду

Приспособленность Приспособляемость

*Приспособленность
или
смерть:*

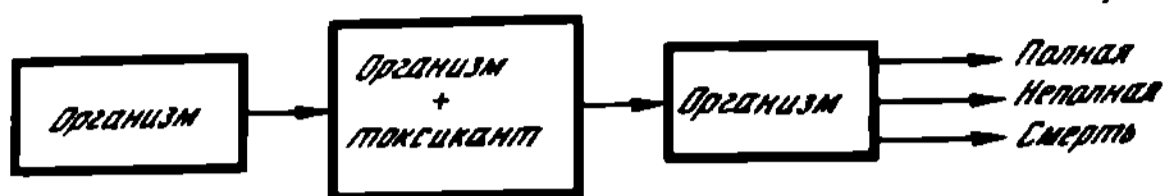


Рис. 1. Индивидуальная приспособляемость
Объяснения в тексте

Приспособленность

Приспособляемость

*Приспособленность
или
гибель*



Рис. 2. Приспособленность популяции
Объяснения в тексте

токсических веществ (или создание других экстремальных воздействий, например, резкое изменение температуры) вынуждает организм изменять свои биохимические, физиологические и другие процессы так, чтобы сохранить свою специфику обмена при изменившейся среде. Эти реакции организма и есть разные стороны единого процесса приспособляемости.

Большинство физиологов и биохимиков изучают эти реакции и устанавливают между ними корреляции, зависимости и последовательности. Однако таких исследований недостаточно для понимания приспособляемости и приспособленности. Всегда возникает вопрос: к чему приведут происходящие изменения в организме, какова биологическая значимость их? На этот законный вопрос можно ответить только после исследования третьего звена в этой цепи связей, т.е. новой приспособленности: насколько приспособленным стал организм к изменившейся среде и будет ли он размножаться и давать жизнеспособное потомство.

Как видно из схемы рис. 1, возможны три исхода реакций: 1) приспособленность полная — сохраняется не только особь, но и вид; 2) приспособленность неполная — особь живет долго, но не дает потомства или дает нежизнеспособное; 3) приспособленность очень мала и особь погибает.

Несколько по-иному протекают процессы в популяции при изменении среды обитания (см. рис. 2). На схеме показано, что исходная популяция хорошо приспособлена к данной среде. При добавлении токсических веществ популяция начинает перестраиваться в силу разнокачественности особей, ее составляющих. Хотя в каждом организме возбуждается вихрь биохимических, биофизических и физиологических реагирований, но у

некоторых особей они недостаточны, и особь погибает. Элиминация таких особей обуславливает фундаментальные изменения в популяции.

Степень приспособляемости особи к экстремальному воздействию среды мы вначале изучали на рыбке гамбузии. Были отобраны гамбузии, которые в зимний период переносили понижение температуры воды. При снижении температуры изменение газообмена отмечается у всех особей. При постепенном понижении температуры от 25 до 16° (понижение на 3° в час) потребление O_2 в начале опыта резко снижается, затем устанавливается на несколько более высоком уровне и рыбки живут длительно. При снижении от 25 до 10° вначале наблюдается примерно такое же изменение в потреблении O_2 , но уже на 2–3-й день потребление O_2 резко уменьшается и рыбы гибнут на 3–4-й день. Совершенно ясно, что гамбузия не может приспособиться к такому резкому изменению температуры.

В следующем опыте температуру воды снижали от 25 до 10° ступенчато: сперва – до 16° (рыбы жили 23 дня), затем – до 10°. Как видно, первоначальные реакции приспособляемости гамбузии принципиально одинаковы в обоих вариантах опыта, но результат разный. При ступенчатом понижении температуры до 10° гамбузии жили 40 дней, т.е. в 10–12 раз дольше, чем при постепенном, но непрерывном снижении от 25 до 10°. В том и другом случае полного приспособления не произошло, но ступенчатое снижение температуры давало организму лучше проявить свои приспособительские возможности. Это могло иметь биологическое значение в природной среде.

Если в этом случае выявляется небольшая индивидуальная (физиологическая) приспособляемость, то надо полагать, что в популяции эти пределы допустимых изменений будут больше и, следовательно, в силу разнокачественности больше приспособляемость особей, составляющих популяцию. При экстремальном воздействии это ведет к отбору особей с разной степенью приспособительных способностей.

Разнокачественность особей в популяции можно выразить обычной вариационной кривой (рис. 3). При воздействии токсиканта или какого-либо экстремального фактора элиминируют в первую очередь наиболее чувствительные особи со слабой приспособляемостью. Остающиеся особи, генетически отличные от погибших, продолжают жить и давать потомство. Надо полагать, что среди этого потомства будут особи, которые способны давать нормальное жизнеспособное потомство. В силу такого механизма изменения популяция становится приспособленной к новой среде, хотя физиологическая приспособляемость каждой отдельной особи и невелика.

Исходя из такого понимания связей организм – экстремальная среда, мы провели серию опытов по влиянию пентохлорфенолята натрия (ПХФ-Na) на дафний (*Daphnia magna* Straus). ПХФ-Na – гербицид, широко применяющийся в сельском хозяйстве. На это вещество имеется ПДК (медицинская), равная 5 мг/л. При такой концентрации дафнии живут всего 10–14 дней. Вначале мы определили выживаемость дафний даже в малых концентрациях. Молодь от дафний, живших в чистой культуральной среде, помещали в раствор ПХФ-Na (5 мг/л). Наблюдалась довольно частая гибель во всех взятых нами пометах (рис. 4). Причем от самок первых двух пометов была получена молодь.

Аналогичные опыты были поставлены с зеленой водорослью *Scenedes-*

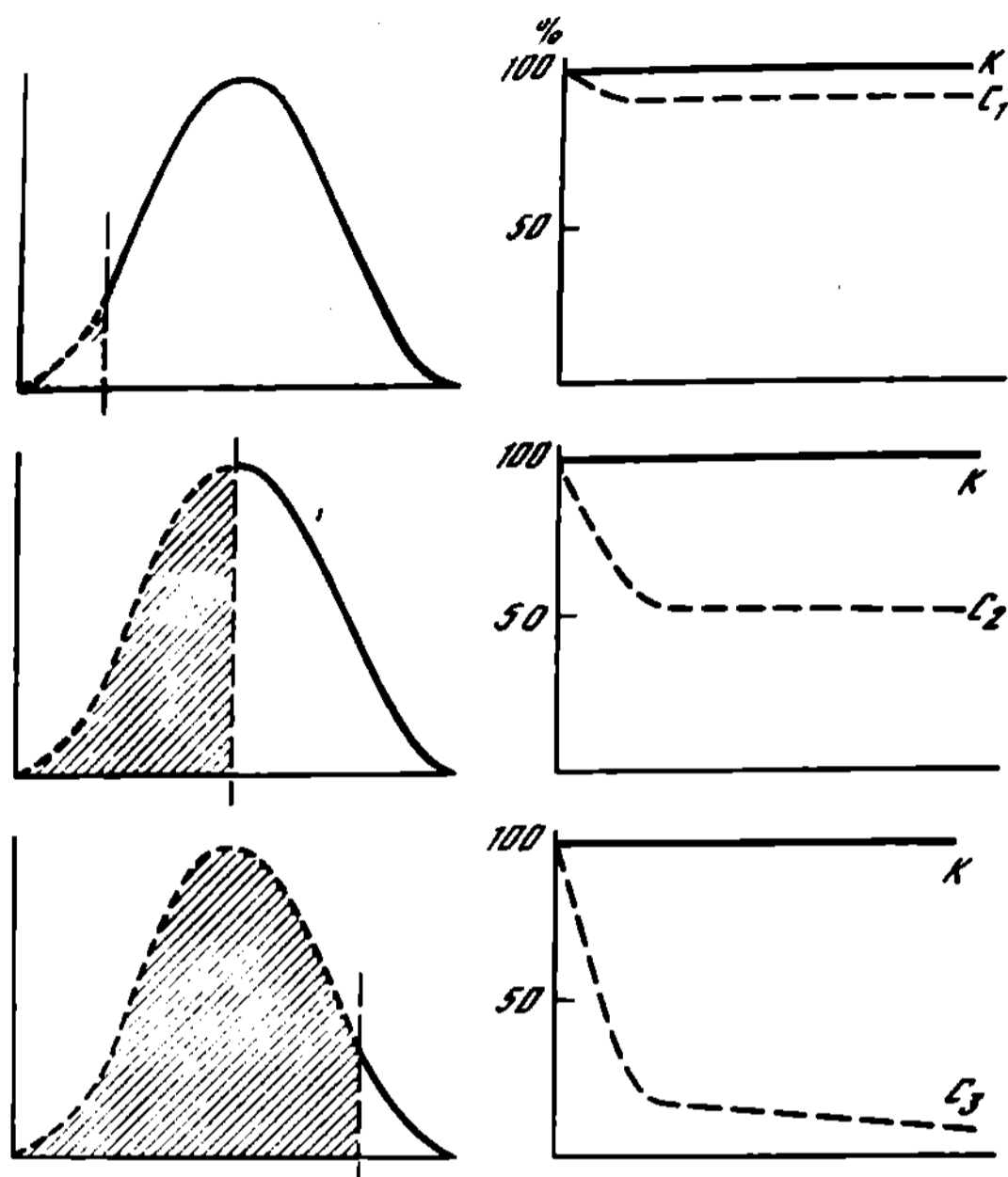


Рис. 3. Разнокачественное отношение *Daphnia magna* St. к токсиканту ПХФ-На (5 мг/л)

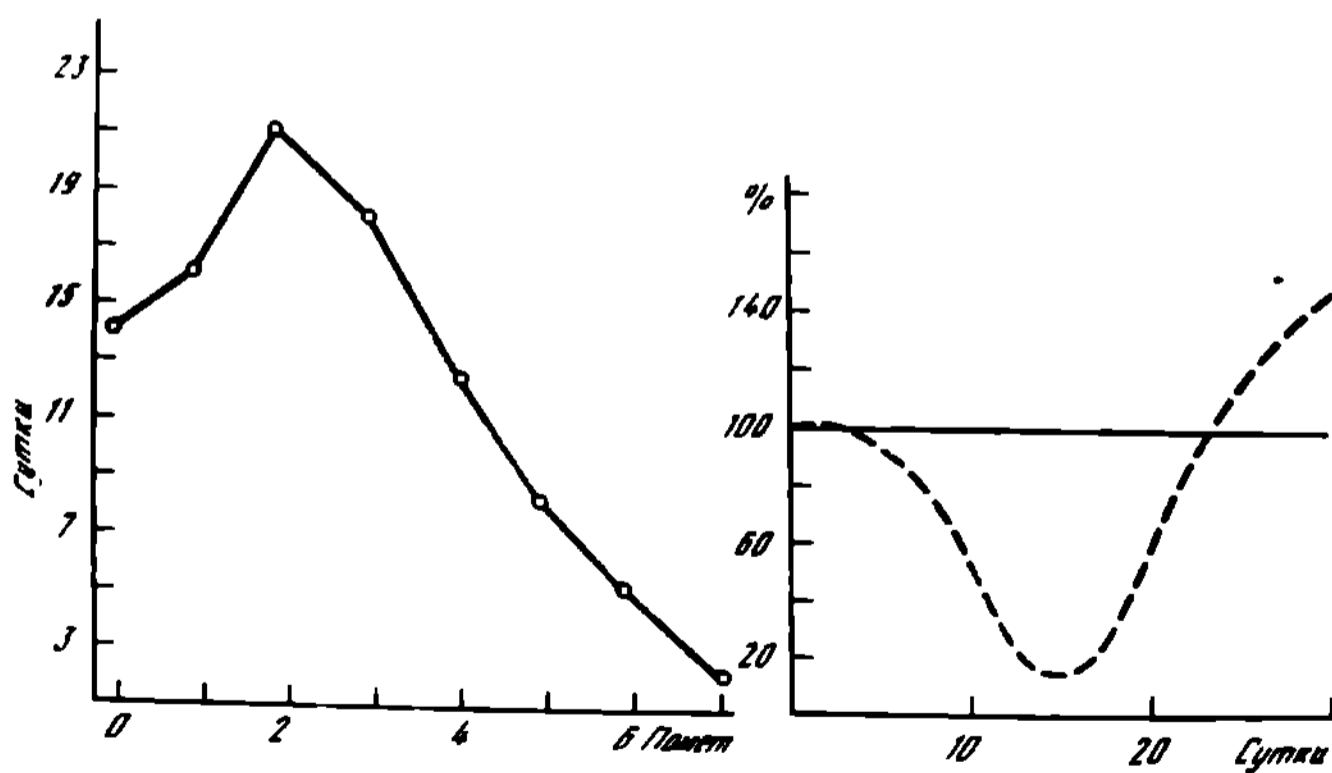


Рис. 4. 100%-ная гибель *Daphnia magna* St. из разных пометов в растворе ПХФ-На концентрацией 5 мг/л

Рис. 5. Влияние токсикантов на численность *Scenedesmus quadricauda*, в % к контролю

mus. Эти опыты показали, что после некоторого первоначального снижения численности клеток в популяции происходит нарастание их численности (рис. 5). Эти результаты можно объяснить тем, что после гибели наиболее чувствительных клеток остающиеся более резистентные особи размножаются и восстанавливают популяцию. Однако имея дело с многомиллионной популяцией, трудно выяснить приспособляемость особей.

В последующих опытах мы помещали в стаканчики с растворами ПХФ-На (5 мг/л) по 5 дафний (возраст 5 суток) и исследовали их выживаемость и размножение в трех поколениях (таблица).

При такой постановке опыта не образуется устойчивых к токсиканту дафний. Хотя продолжительность жизни в группе временно увеличилась, но в 3-м поколении дафнии погибли.

Разнокачественность особей в группе видна из того, что некоторые особи в 1-м поколении не дали пометов, а другие дафнии дали пометы даже во 2-м поколении. Разнокачественность особей, полученных от одной исходной особи путем партеногенеза, хорошо можно видеть из следующего опыта. Из помета одной 10-дневной самки взято 10 однодневных дафний, которые помещены по одной в 10 стаканчиках с 10 мл чистой воды в каждом. Нарождающуюся молодь в каждом помете каждого стаканчика переносили в стаканчик с 100 мл раствора ПХФ-На (5 мг/л) и регистрировали выживаемость и размножение в каждом последующем помете. В продолжение 151 дня следили за выживаемостью и плодовитостью потомства от каждой исходной самки. От некоторых самок получено 28 пометов, составивших 3297 особей. Эта молодь, развившаяся от самок, живущих в чистой воде, сразу же попадала в раствор ПХФ-На (5 мг/л). Часть из них погибала, а часть жила и размножалась: от этих особей было получено 5904 экземпляра. Некоторые из них дали четыре поколения. Однако из достаточно большого числа дафний, полученных в опытах (9201 особь), ни одна не могла полностью приспособиться к жизни в растворе ПХФ-На с концентрацией 5 мг/л. Весьма примечательно, что одна исходная самка жила в чистой воде 106 дней и дала в 21-м помете 813 экземпляров. Эта молодь, помещенная в раствор, содержащий 5 мг/л, тоже была плодовита: в 1-м поколении было 9 пометов, а в 4-м поколении только один. Исходные самки, 5-я и 6-я, жили 138 дней и дали молоди 26 и 27 пометов, в которых было 1008 и 1058 молоди. Жизнеспособность потомства от этих дафний (5-й и 6-й) были низкой — они довольно быстро погибали в растворе. Самка 7-я жила 151 день и дала 28 пометов, составивших 1180 особей. Часть особей из этих пометов жила в растворе с 5 мг/л ПХФ-На и дала четыре поколения. Продолжительность жизни дафний из разных поколений исходных самок колебалась от 14 до 61 дня.

Этот опыт дает результат, принципиально сходный с полученным в опытах с влиянием токсиканта на численность популяции зеленой водоросли (см. рис. 5). Как и там, происходит постоянная элиминация мало стойких особей и остаются более стойкие, за счет которых популяция продолжает существовать.

Приспособляемость дафний к ПХФ-На отличается от приспособляемости гамбузий к пониженной температуре. Каждая гамбузия увеличивает продолжительность жизни за счет сохранения обмена на определенном уровне, а популяция дафний — за счет элиминации мало резистентных особей.

Влияние ПХФ-На (5 мг/л) на выживаемость и размножение дафний

Поколения	Максимальная ЛК ₅₀ , сутки	Пометы	Молодь
Исходное	14	1-3	152
1-е	36	0-4	230
2-е	34	0-1	7
3-е	4	0	0

Во втором случае популяция обогащается генетически стойкими экземплярами, хотя и этого оказывается мало для приспособленности популяции к ПХФ-На и концентрации 5 мг/л.

В следующей серии опытов мы хотели выяснить возможность популяции дафний выжить в растворе ПХФ-На в концентрации 5 мг/л после предварительного ее содержания при концентрации 1 мг/л. В этой серии опытов по 100 экз. дафний разного возраста помещали в литровые банки с раствором ПХФ-На концентрацией 1 мг/л и в чистую воду (контроль). 100 экз. дафний в 1 л раствора или воды создают повышенную плотность, но не максимальную, встречающуюся в прудах. После 35 дней пребывания дафний в растворе 1 мг/л их переносили в раствор с концентрацией 5 мг/л. Численность популяции при 1 мг/л и в контроле была примерно одинаковой, но после переноса в раствор 5 мг/л численность дафний стала падать, и через 55 дней все они погибли.

Таким образом, опыты по влиянию ПХФ-На на дафний показали, что они не способны приспособиться к существованию в растворе ПХФ-На в концентрации 5 мг/л даже после предварительного пребывания в растворе ПХФ-На низкой концентрации. Из нескольких тысяч особей не оказалось ни одной, которая могла бы приспособиться полностью. Может быть, необходимо вести отбор на повышенную резистентность к данному экстремальному воздействию из сотен тысяч особей или даже миллионов. При концентрации 1 мг/л популяция существовала 115 дней. Численность ее колебалась, как и в контроле, от 60 до 240 особей. Опыт был прекращен.

Опыты, поставленные с хлористой медью по такому же плану, дали принципиально такие же результаты.

Подводя общий итог проведенным исследованиям, следует сделать следующие выводы.

1. Процессы приспособляемости организма к токсиканту весьма разноплановы. Все они направлены, однако, на сохранение жизни особи. Разнообразное реагирование особи на экстремальное воздействие имеет приспособительное значение. Процессы приспособляемости проявляются в изменениях биохимических, биофизических, физиологических, поведенческих и других показателей. Изучение показателей на уровне только особи недостаточно. Необходимо давать биологическую оценку изменениям всех показателей.

2. Процессы приспособляемости протекают на основе уже имеющейся у организма приспособленности, общей способности реагировать на данное изменение среды. Возможности индивидуальной (физиологической) при-

способляемости ограничены пределами, наследственно закрепленными. Каждая особь имеет свои возможности к приспособляемости.

3. В системе взаимодействий гидробионта с токсикантами приспособленность организма достигается на основе генетической нормы реакций, и каждый организм в условиях не сильно изменяющейся среды обитания переходит от одной приспособленности к другой через звенья процессов приспособляемости.

4. Оценку степени приспособленности следует производить с биологических позиций. При полной приспособленности существует вид, а при неполной – особь, но она или не размножается или дает нежизнеспособное потомство. Привыкание есть частичная приспособленность. Биологическая значимость происходящих изменений во время приспособления может быть правильно оценена только в приспособленности – ее полноте и надежности.

5. Механизмы, обеспечивающие приспособленность особи и популяции к изменившейся среде (например, появление свойств токсичности), требуют разных методов изучения. Разнокачественность особей в популяции обеспечивает ей более широкие возможности приспособляться, чем возможность каждой отдельной особи в популяции. Расширение эффективности приспособляемости популяций осуществляется за счет элиминации наиболее чувствительных особей к данному токсиканту.

УДК 616.003.96

ОБ АДАПТИВНОСТИ И ПЛАСТИЧНОСТИ ВОДНЫХ ОРГАНИЗМОВ

А.Ф. КАРПЕВИЧ

*Всесоюзный научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства
и океанографии МРХ СССР*

На симпозиуме по теоретическим проблемам водной токсикологии в 1980 г. были представлены интересные материалы по влиянию новых для гидробионтов элементов среды и сделана попытка осветить кардинальный вопрос – приспособливаются ли водные организмы к новым и загрязняющим веществам и носят ли их реакции сходный характер с экологическими. Обсуждался и еще более общий вопрос – в какой степени экологические закономерности применимы в токсикологии, а в связи с этим и применимость в этой области экологической терминологии?

Рассмотрим вначале проблему терминологии. Большинство исследователей используют экологическую терминологию с неоднозначным пониманием содержания ее отдельных терминов. Так, наиболее часто употребляется термин "адаптация" и как синонимы – "приспособление" и "привыкание". Широкое применение этого термина привело, как нам кажется, к утрате строгого содержания понятия "адаптация" (см. ниже). В настоящее время оно стало употребляться с уточнениями: "генетическая" (генотипическая), "фенотипическая" и "физиологическая" адаптации. Кроме того, начинает входить в употребление термин "привыкание" – с неясным

содержанием и отдающий "бытовизмом". В экологии, помимо этого, употребляются термины "пластичность организмов", "экологическая прочность", "физиологическая терпимость", "толерантность", "акклимация", "акклиматизация", "приспособленность" и "приспособляемость" (соответственно как завершённый и продолжающийся процессы).

В краткой статье не удастся рассмотреть содержание всех этих понятий, но, возможно, наша попытка найдет критический отклик и поможет выработать более точную терминологию или более строгое содержание отдельных понятий. Это будет способствовать и возникновению более прочного моста между экологией и токсикологией, с одной стороны, и выявлению большей специфики последней — с другой.

"Адаптация" и "адаптивность" (приспособление и приспособляемость). Наиболее общее определение адаптивности приводит С.Н. Скадовский [1955]: "Сущность приспособляемости состоит в том, что организм в онтогенезе способен сохранять основные закономерности движения живой материи, несмотря на изменения внешней среды" (с. 240).

Г.Ф. Гаузе [1941] пишет, что индивидуальной, или физиологической, приспособляемостью называют способность организмов полезным для них образом реагировать на изменение условий существования; приспособляемость находит свое объяснение в специфической структуре живых систем, сложившейся в процессе естественного отбора.

В соответствии с нашими представлениями [Карпевич, 1975] приспособляемость (или адаптивность) — это свойство целых систем (организма, популяции, вида, ценоза) осваивать измененные условия среды, сохраняя при этом видовую специфику. Адаптивность базируется на основном свойстве живой материи — ее пластичности, скованной у видов естественным отбором, вследствие чего адаптивность ограничивается наследственной консервативностью вида и становится адаптацией вида.

Адаптация — это положительный для вида результат проявленной особью адаптивности при ее взаимодействии с измененной средой. Сущность адаптации авторами понимается неоднозначно [Ушаков, 1958; Проссер, Браун, 1967; Шкорбатов, 1973; и др.], но большинство советских ученых сходятся в основном — адаптация это морфофизиологические изменения особей отдельных популяций, возникающие при их взаимодействии с измененной средой и способствующие сохранению целостности вида.

Таким образом, любые реакции и изменения физиологии и морфологии особи на всех стадиях развития, возникающие под влиянием изменений в привычной среде или при появлении новых веществ, могут считаться адаптивными, если сохраняются видовые черты и способность к продуцированию жизнестойкого потомства.

В свете этих соображений определение Проссера и Брауна [1967] адаптации как общего термина, означающего любое изменение или реакцию организма, способствующие его выживанию в изменившейся среде, неточно, так как хорошо известно, что выживание особи еще не означает сохранение ее жизнеспособности. Эти авторы и сами понимают расплывчатость данного ими определения и вводят уточнения: физиологическая адаптация, означающая конформацию (изменение) внутреннего состояния организма, а также компенсация, т.е. восстановление внутреннего состояния

в результате длительной акклимации¹ и акклиматизации. Эти уточнения раскрывают характер физиологических реакций организма при изменении среды, но не отвечают на коренные вопросы — о возникновении адаптивности, пределах ее возможностей и о материальной основе адаптации и адаптивных реакций.

Формирование пластичности и адаптивности. Материальной основой адаптивности является свойство живой материи к изменчивости, т.е. ее пластичность. Она позволяет живому переносить колебания факторов и элементов внешней среды в широком диапазоне напряжений и концентраций. Иначе на первых этапах развития живая материя погибла бы даже при незначительных изменениях в среде ее становления. Об этом свидетельствует и следующий факт: чем ниже организация живого организма (вирусы, бактерии, простейшие), тем он пластичнее, тем легче и в более широком диапазоне переносит колебания внешних факторов, тем быстрее осваивает разнородные элементы; при этом происходит не только перестройка его физиологических процессов, но и генотипа, а следовательно, и видовых свойств.

Пластичность целых организмов базируется на большей терпимости белков, тканей и ферментативных систем к изменению условий среды. Например, взрослые особи рыб различного происхождения переносят изменение температур в разных пределах: арктические (сайка *Boreogadus saida*) и антарктические (нототения *Notothenia rossi mormorata*, *Trematomus hansonii*, *N. gibberifrons* и др.) от $(-1,0) - (-1,9)$ до $+5-8^{\circ}\text{C}$; умеренно-холодноводные (треска *Gadus morhua morhua*) от $-1,5$ до $+10-12^{\circ}\text{C}$; бореальные (карповые *Cyprinus carpio*) от 0 до $+25-28^{\circ}\text{C}$; тропические (тилапия *Tilapia mossambica*) от $+14$ до $+35^{\circ}\text{C}$. Протеолитические ферменты, например, трески, сохраняют *in vitro* активность до $+60^{\circ}$, а ткани, в которых энзимы вырабатываются, — до $+40-42^{\circ}\text{C}$. Благодаря пластичности тканей и физиологических процессов, а также благодаря совершенству регуляторных механизмов в эксперименте отдельные взрослые особи многих видов пойкилотермных животных способны переносить изменения среды в большем диапазоне, чем вид, и особенно популяции, к которым эти особи принадлежат; их молодь и ранние стадии развития менее жизнестойки, а размножение возможно в еще более ограниченных термических, солевых и др. условиях (рис. 1).

Способность изолированных клеток и тканей выживать в более широком диапазоне колебаний факторов (температуры) и элементов (ионный состав и т.п.) среды, чем пойкилотермные животные, а также способность экстрагированных из тканей ферментов еще больше расширять границы [Проссер, 1977], видимо, и является базой пластичности особей и выражается их экологической терпимостью [Карпевич, 1975].

Итак, способность переносить изменение среды за пределами видовой специфики есть физиологическая терпимость — толерантность особей.

¹ Акклимация, по Проссеру и Брауну [1967], — компенсаторное изменение, возникающее в организме при длительном отклонении какого-либо одного фактора внешней среды (обычно в лабораторных условиях) от первоначального уровня. Полная акклимация выражается в том, что функциональный уровень остается одинаковым в различных условиях среды (там же см. об акклиматизации).

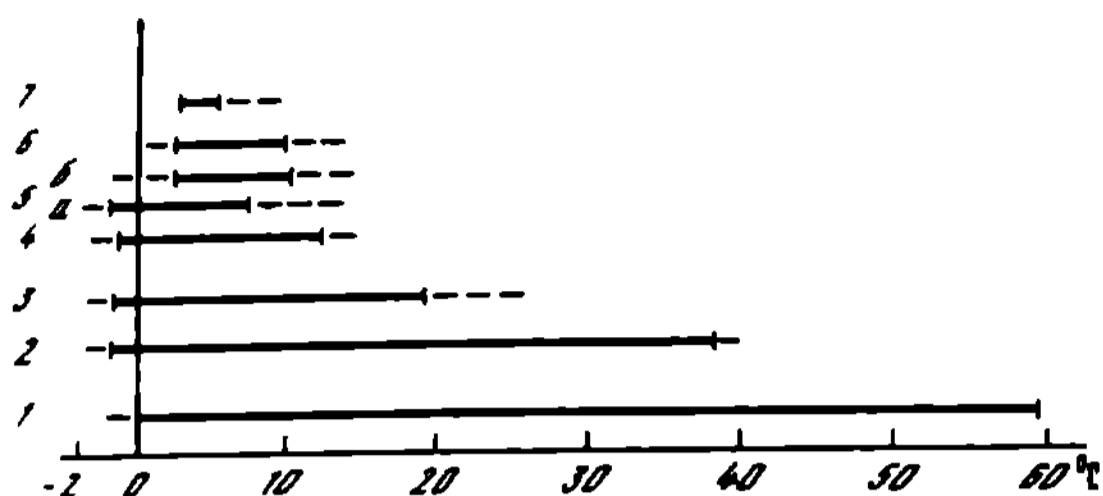


Рис. 1. Температурные диапазоны ($^{\circ}\text{C}$) жизнедеятельности трески *Gadus morhua morhua* на разных стадиях развития и уровнях организации

По оси абсцисс — температура среды; по оси ординат — сплошные линии: 1 — активность протеолитических ферментов; 2 — функционирование тканей кишечника; 3 — выживание особей; 4 — существование вида; 5 — существование популяций Северной Атлантики (5a) и Балтийского моря (5б); 6 — выживание молоди; 7 — размножение у Лофотенских островов; прерывистые линии — возможное увеличение температурных диапазонов

Физиологическая терпимость не является адаптацией в указанном выше понимании, так как она ведет к сохранению жизни только индивидуума, а не популяции и вида. В течение недель и месяцев особи выживают в несвойственной для вида среде, например, в присутствии загрязняющих веществ (нефти, пестицидов и др.), поэтому толерантность гидробионтов можно ошибочно принять за адаптацию, "привыкание".

Таким образом, в особи заложено, во-первых, свойство живой материи переносить изменчивость среды — пластичность. На ее базе формируются толерантность особей и первые реакции организма на внешние воздействия, не всегда адаптивные. В основе пластичности особи лежит физиологическая и биохимическая структура семейства, рода, к которым принадлежит вид, во-вторых, особи присущи свойства вида, которые ограничивают возможности пластичности и приспособительных реакций организма, и, в-третьих, популяции свойственно проявлять наиболее ярко выраженную адаптивность, но в более ограниченных пределах колебаний среды, чем обитает вид, и сохранять в потенции неиспользуемые в данной среде видовые черты.

Для проявления адаптаций на этих уровнях требуется разное время: наименьшее (часы, сутки) для ответа особи на изменение среды, колебание факторов в которой протекает в привычном для существования популяции диапазоне (немедленная адаптация, по терминологии Хачатка и Сомеро [1977], а по существу это — популяционная адаптация); более длительное время (сутки, недели, месяцы, а иногда период, необходимый для завершения биологического цикла) требуется для проявления адаптаций, свойственных виду. В отдельных отрезках видового диапазона температур, солености и т.д. возможны установление нового уровня обменных процессов (конформация), акклиматизация особей и образование новой популяции (видовая адаптация). Наконец, для сдвигов видовых адаптаций требуется длительное время, необходимое для включения отбора при массовой элиминации особей в ряде поколений. В результате воз-

возникновение "генотипической адаптации" (эволюционной, по Качачка, Сомеро) и отклонение от вида.

Толерантность особей, обладающих пассивной осморегуляцией (черви, моллюски и др.), полностью проявляется при постепенном изменении концентрации (с малыми перепадами концентраций реагента) в течение двух недель и более. За этот срок успевают перестроиться физиологические процессы организма и определиться диапазон толерантности, крайние отрезки которого чрезвычайно сильно зависят от сопутствующих факторов среды. Поэтому в диапазоне толерантности характер протекания обменных процессов у особей не одинаков. В экспериментах наиболее часто выявляются зоны концентраций веществ, вызывающие: компенсаторные и конформативные изменения в обмене и других физиологических процессах, т.е. когда проявляются популяционные или видовые адаптации. Реже отмечается зона, в которой нарушается соотношение между отдельными ветвями обмена (энергетическим, пластическим и генеративным) и в которой при длительном обитании может быть интенсивное дыхание особи, но невозможно ее размножение и формирование популяции.

Придавая важное значение выявлению различия между толерантностью и адаптивностью, попытаемся рассмотреть их формирование и проявление у гидробионтов при изменении привычных, недовитых и отпугивающих веществ.

Адаптивные свойства вида и толерантность особи при изменении привычных факторов среды. Виды существуют в форме популяции. Условия существования каждой из них более ограничены, чем у вида в целом. При резком изменении какого-либо фактора среды (например, температуры) оптимум выживания особей проявляется в пределах колебания температур, которые обычны в среде существования данной популяции. При постепенном изменении, с малыми перепадами напряжений факторов или концентрации элементов и веществ, у особей сначала проявляются потенциальные (скрытые у данной популяции) видовые свойства, позволяющие им выживать в более широком диапазоне, чем обитает популяция (в диапазоне вида), а затем проявляется и терпимость, позволяющая этим особям переносить колебания в среде в более широком диапазоне, чем может обитать вид.

Например, вид моллюска *Dreissena polymorpha* широко распространен и его популяции обитают в типично пресных, слабо солоноватых (0–2 и 3–10‰) водах. Популяции дрейссен, обитающие в пресных водоемах (реках, водохранилищах, озерах) и не встречавшиеся в течение бесчисленного числа поколений с соленой водой, сохраняют способность выживать в каспийской воде соленостью до 10‰ (4,2‰ хлора). В этих солевых пределах дрейссены выживают на всех стадиях развития и образуют многочисленные, устойчивые популяции. У краев солевого диапазона – в пресных и солоноватых водах – у них появляется морфофизиологическая обособленность [Карпевич, 1955]. В эксперименте при резком изменении солености (при прямом переносе моллюсков из естественной среды обитания в любую соленость) солевые оптимумы выживания двусторонки близки к условиям обитания их популяций (рис. 2, 1-3). При постепенном изменении солености (изменение солености на 2‰ через 2 суток) диапазон

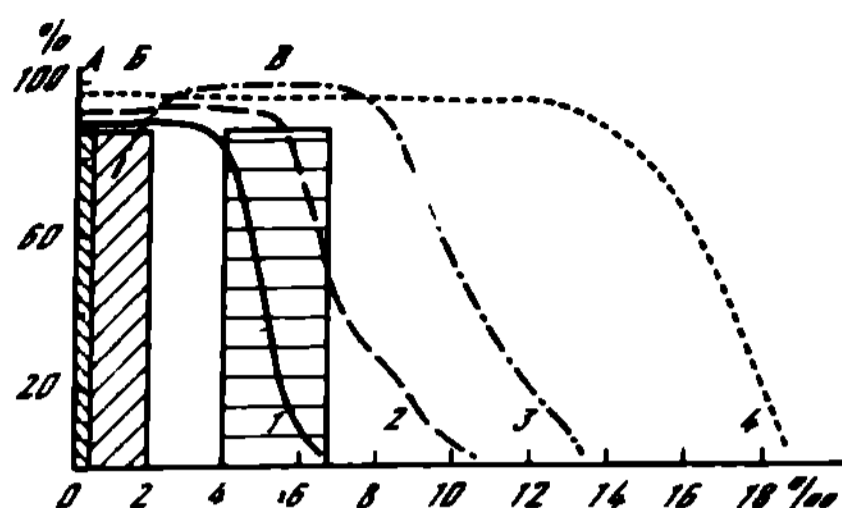


Рис. 2. Естественный солевой диапазон обитания разных популяций *Dreissena polymorpha* Каспийского бассейна и выживание их особей в эксперименте при изменении солености среды

По оси абсцисс – соленость среды, ‰. Солевые диапазоны популяций: А – волжской; Б – северокаспийской, западной; В – северокаспийской, восточной; по оси ординат – выживание особей этих популяций (%) при резкой смене солености (1–5) и всех популяций при постепенном изменении солености (акклимация) (4). Длительность опыта более 30 суток, $T = 18-20^{\circ}\text{C}$

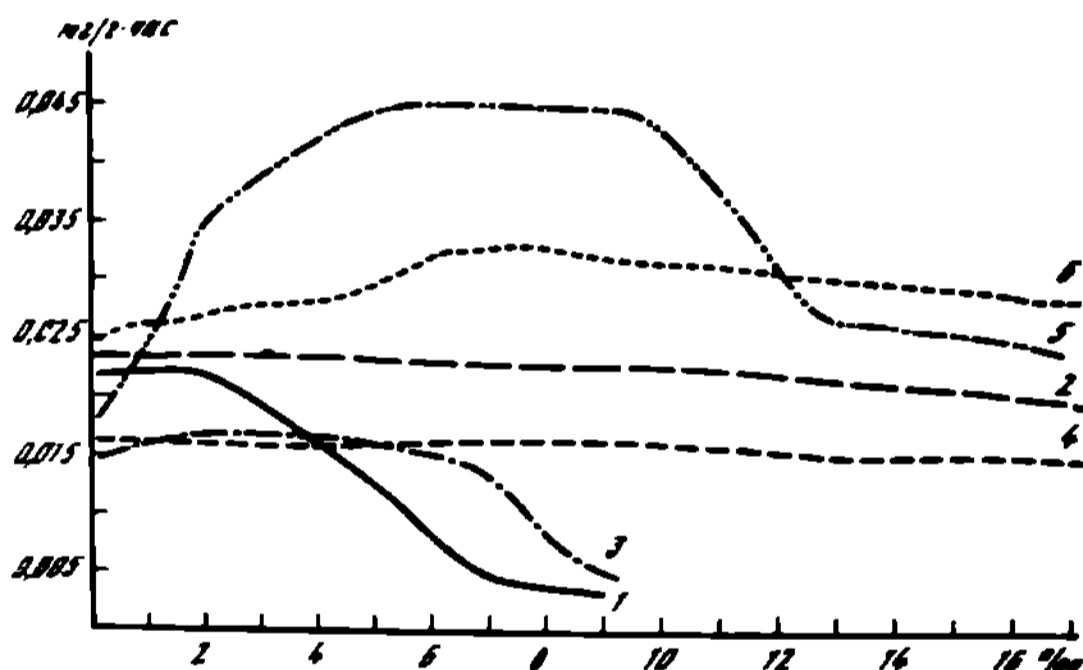


Рис. 3. Потребление кислорода *Dreissena polymorpha* разных популяций Каспийского бассейна при резком (кривые 1, 3, 5) и постепенном (2, 4, 6) изменении солености в среде обитания

По оси абсцисс – соленость среды; по оси ординат – потребление кислорода особями популяций: волжский (1, 2), западной (3, 4) и восточной (5, 6). Солевой диапазон обитания популяций тот же, что и на рис. 2. $T = 17-19^{\circ}\text{C}$

выживания раздвигается – 0–10–12‰, а отдельные особи переносят каспийскую воду соленостью 15–17 и даже 20‰ (6,3–7,0‰ хлора).

Следовательно, метод акклимации позволяет раскрыть полностью толерантность и пластичность особей данного вида, но не дает возможности очертить зону адаптации. Это видно из следующего.

В общем, для вида в диапазоне 0–10‰ оптимальная интенсивность энергетического обмена поддерживается, как и в обычных для обитания отдельных популяций солевых диапазонах: у "пресноводных" – 0–2‰.

западной" — 0,5; восточной — 4—10‰. За пределами этих зон отмечается снижение потребления кислорода (рис. 3, 1, 3, 5).

При постепенном изменении солевой среды и физиологической адаптации дрейссен из опресненной среды интенсивность их дыхания близка к уровню контроля — компенсация только с некоторой слабой тенденцией к снижению по мере повышения солености (рис. 3, 2).

У восточной, наиболее "соленой" популяции интенсивность дыхания почти в 2—2,5 раза выше, чем у волжской и западной. Это в некоторой степени зависит от их меньших размеров. Но измельчание восточной дрейссен в первую очередь обусловлено повышенной интенсивностью газообмена, для поддержания которого расходуется значительная часть энергии пищи, что приводит к ограничению пластического обмена. Более того, изменение в осморегуляторном процессе и распределение энергии пищи привело к морфологическим отклонениям, позволившим выделить эту форму в вид *Dreissena polymorpha andrusovi* [Андрусов, 1897; Жадин, 1952; Карпевич, 1953, 1955; Логвиненко, Старобогатов, 1968]. И все же эта форма не образует устойчивых популяций за пределами видовой характеристики — свыше солености 10‰ (4,2‰ хлора). Следовательно, солевой диапазон 0—10‰, пригодный для размножения всех популяций дрейссен, генетически закреплен еще при становлении вида *Dreissena polymorpha*, он относительно постоянен, передается по наследству, и у особей сохраняется в потенции. Приобретенное в результате отбора свойство формировать популяции в пределах этого солевого диапазона является завершенным процессом — генетической адаптацией, или приспособленностью, вида *D. polymorpha*, по терминологии С.Н. Скадовского и Н.С. Строганова. Все внутривидовые изменения, наблюдаемые у популяций, носят количественный, временный или обратимый характер — это фенотипические адаптации, присущи они отдельным внутривидовым образованиям.

Наряду с этим, как показано выше, дрейссена способна кратковременно выживать в более широком диапазоне солености, чем ее популяция в вид — до 15—17‰ каспийской воды (см. рис. 2 и 3). Но в этой крайне соленой среде у них снижается интенсивность обмена на 30—40%, увеличивается отход и не образуется устойчивой популяции. Следовательно, выживание особей, попавших в сублетальные условия, сколь длительно оно ни было, не является завершенной адаптацией — это проявление их терпимости к изменению солевой среды. Базируется она на морфофизиологической организации, т.е. на пластичности особи, и зависит в значительной мере от совершенства регуляторных механизмов и сопутствующих факторов среды. Приведем примеры видовых адаптаций и толерантности гидробионтов разного происхождения и с разными осморегуляторными механизмами.

Двустворчатый моллюск *Cerastoderma lamarckii* морского происхождения обитает в относительно опресненных зонах вдоль Атлантического побережья и образует своеобразные популяции в Балтийском, Черном, Азовском, Каспийском и Аральском морях. Солевой диапазон вида лежит в пределах 4—9—20—25‰ (2—3—10,1—10,3‰ хлора). Отдельные популяции занимают более узкие диапазоны (рис. 4): черноморская — около 18, азовская — 7,5—12‰, а наиболее восточная аральская — 10—12‰ (3,5—4,2‰ хлора). При изменении солености в эксперименте особи азовской

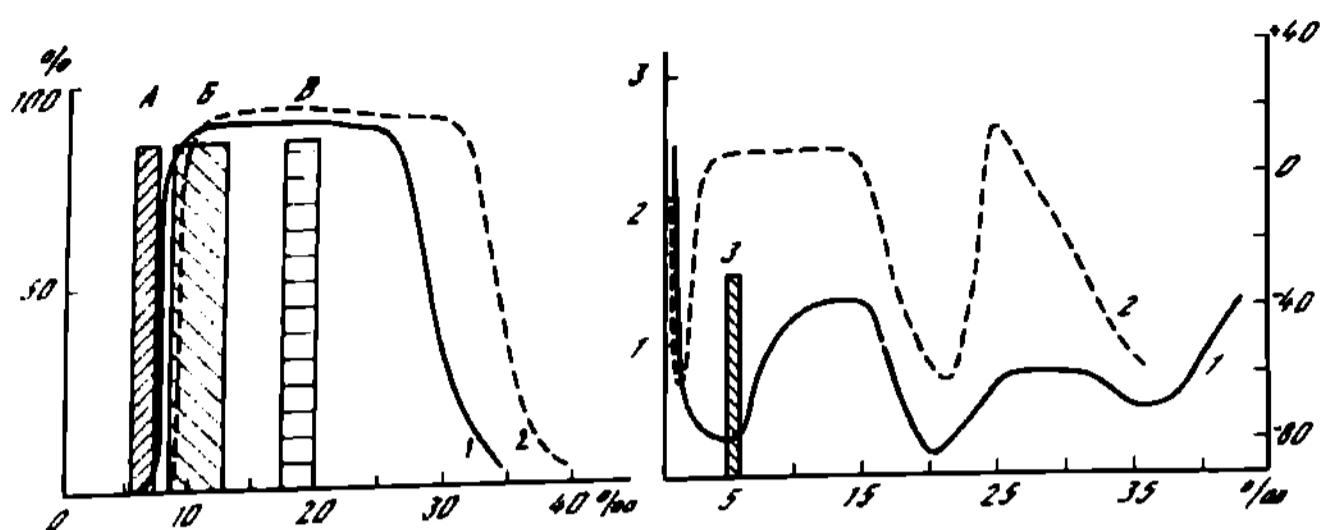


Рис. 4. Естественные солевые диапазоны обитания разных популяций *Cerastoderma lapidus* и выживание особей с эксперименте

По оси абсцисс —, соленость среды, ‰. Обитание популяций: А — Рижский залив; Б — Азовское и Аральское море; В — Черное море; по оси ординат — выживание особей при изменении солености, %: 1 — азовская популяция; 2 — аральская популяция. Их хлорные диапазоны сближаются: 3,9–13,6 и 3,5–14 ‰

Рис. 5. Солевые диапазоны обитания популяции *Mesidotea entomon* Рижского залива, выживание и дыхание ее особей с эксперименте при резкой смене солености

По оси абсцисс — соленость среды и обитание популяции (3); по оси ординат, %: среднесуточная гибель (слева, 1) и потребление кислорода в отклонениях от контроля (справа, 2)

сердцевидки выживали в пределах 7,5–25 ‰, а аральской — 10–35–40 ‰ (10,2–10,4 ‰ хлора). Следовательно, и особи популяций являются носителями наследственных видовых черт морских форм и их солоноватых популяций. Раскрыв в эксперименте эти потенциальные солевые свойства, мы предположили, что при осолонении южных морей условия жизни сердцевидки улучшатся. В настоящее время этот прогноз оправдался.

Солевой диапазон равноногого рака *Mesidotea entomon* ограничен соленью 3–14 ‰ (до 7,1 ‰ хлора). Его популяция в Рижском заливе Балтийского моря обитает при соленью 5,5–6,0 ‰ (3,2 ‰ хлора). В потенции морской таракан сохраняет способность выживать в солевом диапазоне вида и за его пределами, так как особи переносят при температуре 10–14 °С в течение многих суток и даже месяцев соленью 0,5–36 ‰ (0,25–10,9 ‰ хлора). Но в опресненной среде (0,5–1,5 ‰) и соленью (выше 14 ‰) отход увеличивается [Карпевич, Шурин, 1978]. В воде соленью выше 15 ‰ раки теряли внутреннюю влагу, у них снижалась интенсивность энергетического обмена, они становились вялыми и впадали в состояние анастезии, хотя внешне угнетение проявлялось крайне слабо и, самое интересное, в повышенной соленью снижался отход (рис. 5). Отдельные особи выживали более 90 суток, их панцири становились жесткими, линьки отсутствовали, но вследствие малой траты энергии на жизнедеятельность за 40 суток экспозиции при соленью свыше 25 ‰ погибло всего 40% особей, тогда как в критической соленью (15 ‰) — 80%, а при 3 °С отхода не было во всем диапазоне.

Отдельные виды даже одного семейства обладают разной толерантностью в сублетальных и даже летальных условиях. Например, толерантность особей видов широко распространенного семейства карповых не-

одинакова в крайних солевых условиях. Большинство видов, включая и полупроходные, избегают соленость азовской воды свыше $10-12\text{‰}$ (6‰ Cl), но тарань и шемая неделями выживают в воде соленостью $13-14\text{‰}$, а при низких температурах и в воде с соленостью 16‰ . Напротив, лещ (особенно его молодь) не переносит соленость свыше 8‰ . Азовская популяция судака (сем. окуневых) обитает при $10-12\text{‰}$, а взрослые особи переносят до 18‰ , но слепнут. Пока не ясно, как формируется толерантность особей, ограничен ли ее объем генетическим кодом или биохимической структурой.

Одно несомненно, что экологическая выносливость в одних случаях зависит от характера регуляторных процессов и совершенства выделительной системы, в других — от проницаемости клеточных оболочек, в третьих — от свойств жиров и белков и всегда в значительной степени от сопутствующих факторов среды. От толерантности зависит разнокачественность, и при отборе она способствует выживанию некоторых особей.

Видимо, генетические свойства включаются в процессы физиологической выносливости особей только в случае постоянного обитания популяции в крайних условиях (солевых, температурных и т.п.), при постоянной и массовой элиминации особей, как это имело место у андрусовской дрейссены Северного Каспия. Но и у нее несколько расширился солевой диапазон толерантности особи, а не вида в целом.

Сходные реакции выявлены при действии повышенных концентраций неядовитых веществ.

Адаптивность и толерантность гидробионтов при действии иона марганца. Популяция двустворчатого моллюска *Macoma baltica*, зарывающегося в грунт, обитает в Рижском заливе при минимальных концентрациях иона марганца: в воде — $0,006-0,06\%$, в грунте — до $0,1\%$ и не встречается на коричневых грунтах при более высоких концентрациях этого иона. В эксперименте взрослые особи макомы выживали при температуре $12-14^{\circ}\text{C}$ в растворах хлористого марганца, приготовленных на воде Рижского залива соленостью $5,5\text{‰}$ с концентрацией этого иона от $1-2$ до $80-100$ мг/л в течение $3-4$ месяцев [Карпевич, Шурин, 1970, 1977]. Содержание марганца (оно определялось методом нейтрон-активационного анализа) у макомы в естественных условиях принято за контрольное. В экспериментах содержание марганца оказалось наибольшим в покровных тканях и физиологически — активных органах всех моллюсков, а в инертных мышцах, гонадах и других органах оно было наименьшим [рис. 6, А (*Macoma baltica*), рис. 6, Б (*Dreissena polymorpha*), рис. 6, В (*Mya arenaria*)].

Параллельное определение гибели моллюсков и потребления кислорода позволило выявить следующее: минимальные концентрации марганца в естественной среде поддерживают "нормальную" интенсивность газообмена, и мы называем их "концентрацией обеспечения" обмена веществ; в растворах $1-3$ мг/л интенсивность обмена несколько увеличивается — "концентрация стимулирования"; при $5-10$ мг/л, видимо, в билу осмоса проникновение иона внутрь организма ограничено, интенсивность обмена стабилизируется на уровне контроля, гибель животных наименьшая — это концентрация "изотонии", "экологической валентности" или "акклимации"; при $12-17$ мг/л (а при пониженных температурах

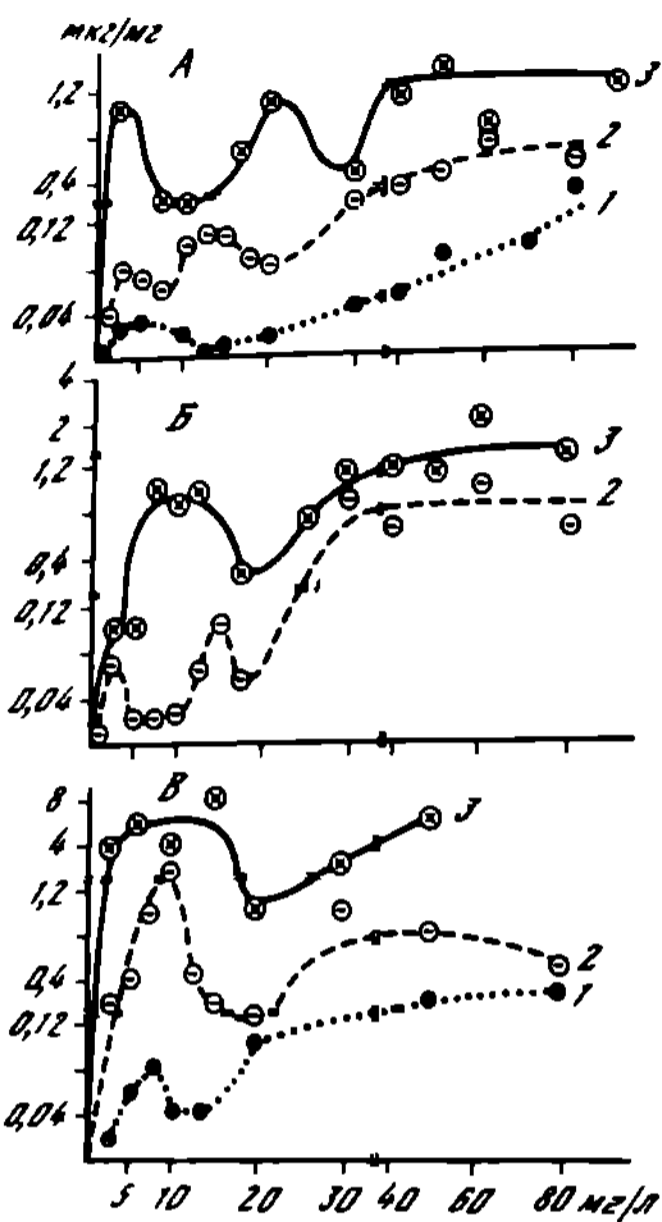


Рис. 6. Содержание иона марганца у моллюсков Рижского залива в зависимости от его содержания в растворах $MnCl_2$.

А — *Macoma baltica*; Б — *Dreissena polymorpha*; В — *Mya arenaria*; 1 — нога; 2 — печень; 3 — мантия. По оси абсцисс — содержание марганца в растворах, по оси ординат — в органах (к сухому весу)

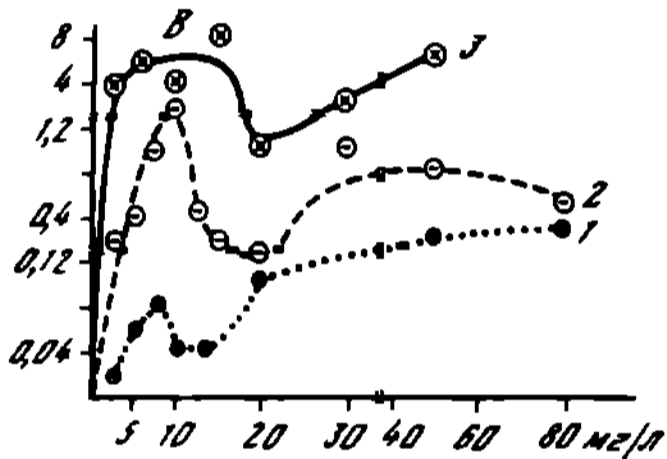
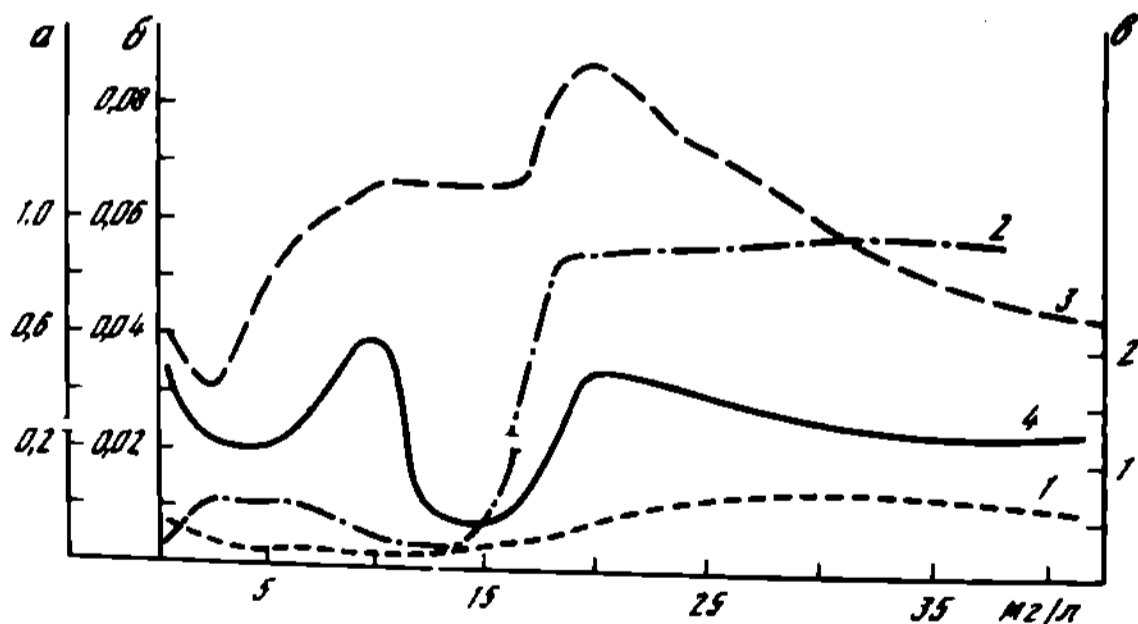


Рис. 7. Влияние марганца на *Mesidotea entomon* после 70–80-суточного их содержания в растворах хлористого марганца разной концентрации при температуре 12–14°С

По оси абсцисс — содержание марганца; по оси ординат: а — содержание марганца в гонаде (1) и печени (2), мкг/мг сухого веса; б — среднее потребление кислорода через 22–53 суток от начала опыта, мл/г/ч (3); в — среднесуточный отход за 70–80 суток экспозиции, % (4). Т — 17–18°С

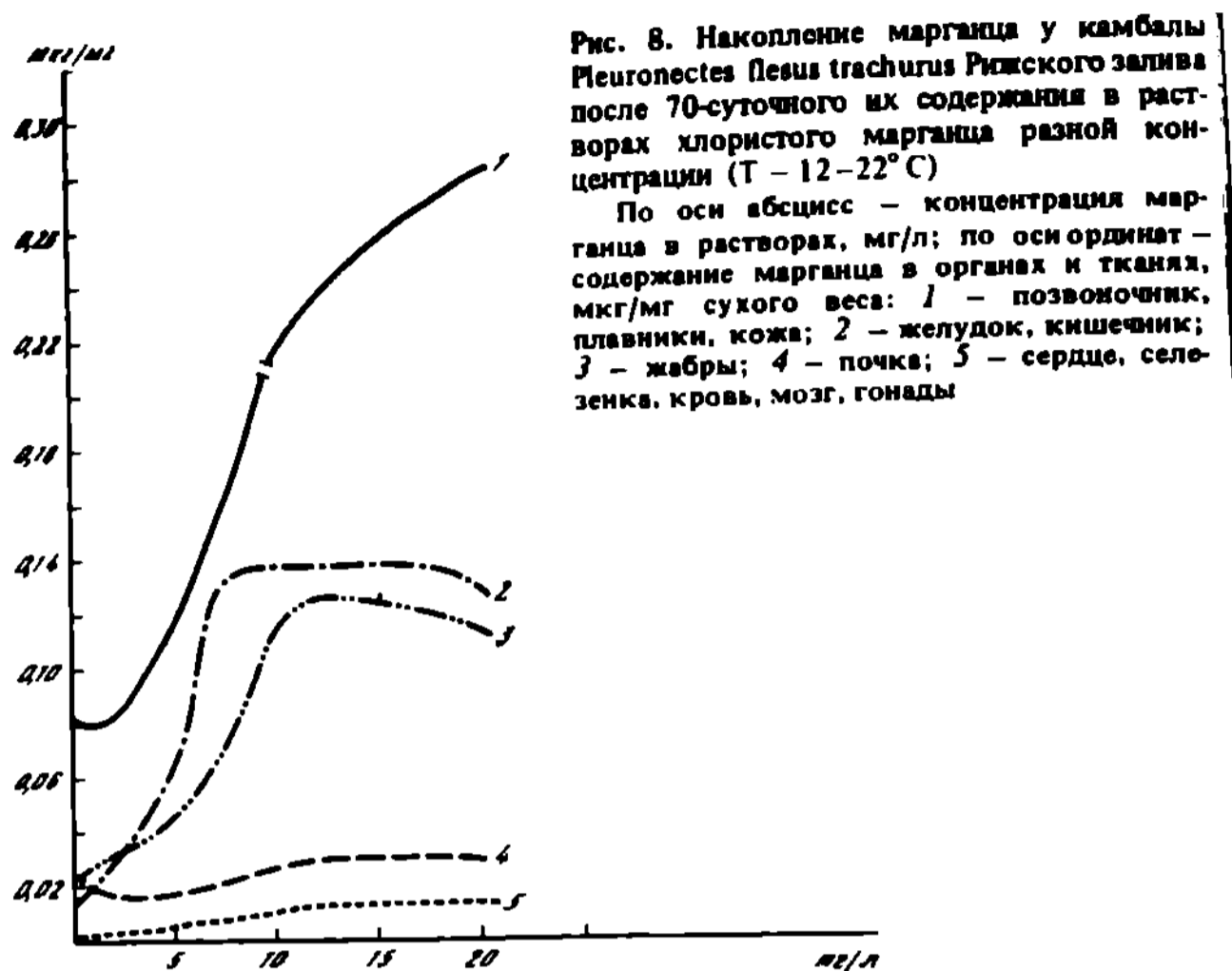


до 10) увеличивается интенсивность газообмена и экскреции. В результате из внутренних органов удаляется марганец (или не допускается в полость тела) и резко увеличивается его концентрация в покровных и скелетных тканях и образованиях, а также в физиологически активных органах (печень и жабры). В растворах данной концентрации (12–17 мг/л)

в организме — "концентрация защитной реакции" макомы; при содержании марганца в растворе более 20 мг/л моллюски не справляются с потоком иона, он накапливается в больших количествах во всех тканях, полостных жидкостях и органах, даже таких защищенных, как гонады, угнетает газообмен. Однако моллюски живут неделями с содержанием иона в печени до 0,12–0,2 мкг/мг сухого веса по сравнению с 0,005 мкг/мг в контроле (рис. 6 и 7), проявляя минимальную активность и высокую физиологическую терпимость, — это "концентрации анестезии", "угнетения", сублетальная, по принятой в экологии терминологии. И все же особи постепенно утрачивают жизнестойкость и, самое главное, — способность к размножению. При прямой пересадке половозрелых маком в растворы марганца концентрацией 20–30 мг/л происходил обортивный нерест. Следовательно, при концентрациях марганца, вызывающих защитную реакцию (12–15 мг/л) и угнетение, выживание особей возможно за счет угнетения генеративного и, вероятно, пластического обменов.

Ракообразные обладают более совершенным механизмом осморегуляции, чем моллюски. Морской таракан *Mesidotea entomon*, обитающий на грунте, распространен в Рижском заливе при более высоком содержании марганца в воде придонного слоя (10–40 мг/л), чем моллюски. В эксперименте изоподы выживали более 70 суток (при 12–14°С) в растворах с концентрацией марганца 50 мг/л и 30 суток при концентрации 80 мг/л без заметных сдвигов в поведении и с минимальной гибелью (0,5–1% в сутки) преимущественно травмированных особей (рис. 7, В. 4). Казалось, что эти раки более стойки к действию иона марганца. Но постепенно, при увеличении длительности экспозиции, определялась их чувствительность к действию марганца. В наиболее слабых растворах (до 2,5 мг/л) несколько увеличивается содержание марганца в печени и уменьшается в гонадах, снижаются потребление кислорода и отход. При 7,5–10 мг/л увеличиваются интенсивность дыхания и гибель (слабых особей), но снижается содержание марганца в печени и сохраняются наиболее низкие его концентрации в гонадах. Это свидетельствует об активном его удалении из органов раков. У особей, содержащихся в растворах 10–15 мг/л (см. рис. 7, 1, 2), осморегуляторный аппарат также справляется с потоком иона и гибель раков минимальна, а интенсивность дыхания хотя и повышена, но относительно стабильна (см. рис. 7, 3). При 15–17 мг/л резко увеличивается содержание иона в печени (в 8 раз) и гонаде (в 2–3 раза), увеличивается интенсивность дыхания (защитная реакция) и вследствие перенапряжения — возрастает гибель животных.

Еще более высокие концентрации марганца (20–40 мг/л) сопровождались увеличением его содержания в покровных и внутренних органах, включая гонаду. В результате их перегрузки ионом постепенно снижалась интенсивность дыхания, хотя и поддерживалась на более высоком уровне, чем в контроле. Раки в состоянии анестезии были малоактивны, траты на жизнедеятельность были минимальными, а потому гибель была незначительная и длительность выживания увеличилась. Зона физиологической терпимости (толерантности) раков оказалась значительной — 30–60 мг/л (см. рис. 7). В растворах с концентрацией марганца 30–80 мг/л емкость тканей печени, панциря, гонад в первые 10–20 суток опыта истощалась.



ется, накопление иона в них практически прекращается, и его количество в печени держится на уровне 1 мкг/мг сухого вещества; в таком состоянии при температуре $10-12^{\circ}\text{C}$ некоторые особи жили 82 суток.

Выделительная система речной камбалы *Pleuronectes flesus trachurus* Рижского залива еще более совершенна, чем у ракообразных, и тем не менее эта рыба оказалась более чувствительной к действию высоких концентраций марганца, чем раки и моллюски.

При малых концентрациях марганца в среде обитания ($1-3$ мг/л) его содержание во внутренних органах было также минимальным и вызывало слабую стимуляцию газообмена; рыбы в этой среде выживали наиболее длительно (месяцы).

При $7.5-15$ мг/л марганца защитная роль покровных тканей и активность выделительных органов повышалась; концентрация иона в коже, костях позвоночника, плавниках, а также в почках, жабрах резко увеличивалась, а в плавательном пузыре, сердце, мозге оставалась почти на уровне контроля (рис. 8). Благодаря защитной роли покровов и осморегуляции траты на обмен были невысоки (потребление кислорода держится на низком уровне), и камбалы выживали в этой среде около 70 суток с минимальным отходом (рис. 9, А, 1, 2).

При $17-20$ мг/л иона в растворах его накопление во внутренних органах заметно увеличивается, несмотря на резкое увеличение интенсивности дыхания, что свидетельствует о больших затратах энергии на выделение марганца и защиту организма от его избытков. Концентрация иона в мозге, сердце и других органах также повышается, это вызывает повышенный отход, и через 20–30 суток все подопытные рыбы погибают.

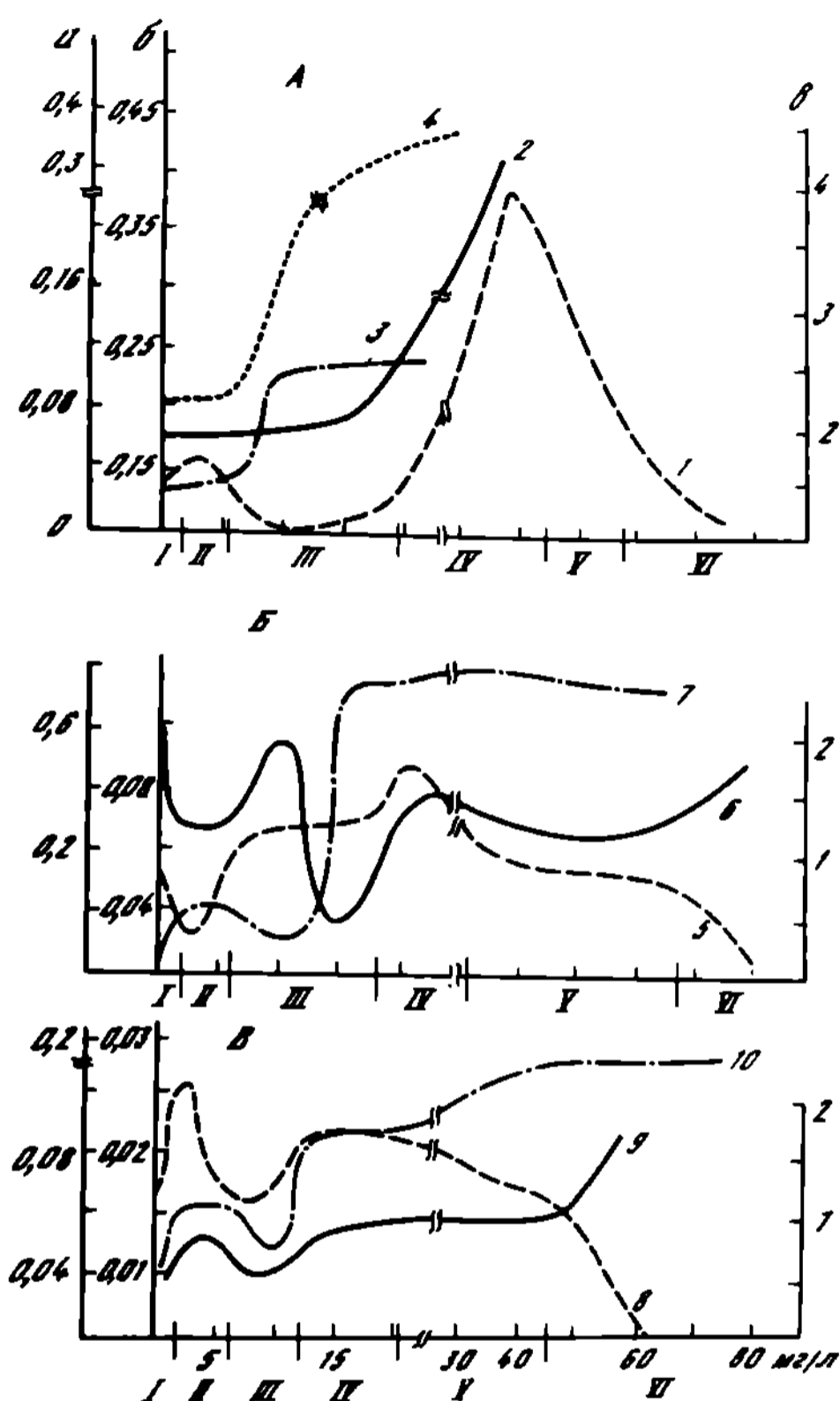


Рис. 9. Интенсивность газообмена (1, 5, 8) и оттока (2, 6, 9) гидробионтов в зависимости от содержания марганца в их тканях и органах (3, 7, 10 – в печени и 4 – в покровных тканях)

По оси абсцисс – содержание марганца в растворах; по оси ординат: а – содержание марганца в органах, мкг/мг сухого веса; б – потребление кислорода, мл/г/час, в – среднесуточная гибель, %; А – *Pleuronectes Vezus trachurus* (1–4); Б – *Mesidotea entomol* (5–7); В – *Macoma baltica* (8–10). I–VI – категории концентраций марганца, вызывающие существенные изменения в обмене веществ (см. текст)

Таким образом, диапазон концентраций иона марганца в среде, в котором проявляются адаптивные свойства, у речной камбалы больше (до 17 мг/л), чем у морского таракана и макомы (до 10–12 мг/л), а зона толерантности оказалась наименьшей. Та же закономерность сохраняется, если судить по накоплению иона в печени: зона адаптивности камбалы 0,03–0,08, а у раков 0,02–0,05 мкг/мг сухого вещества.

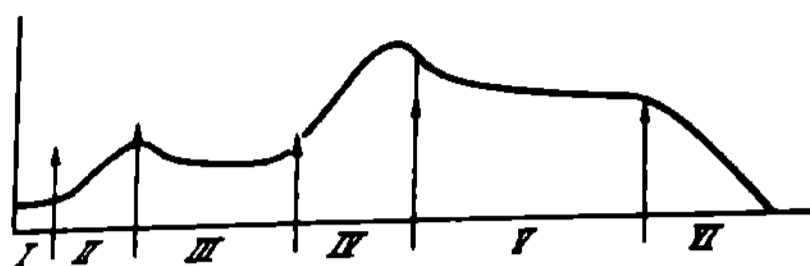


Рис. 10. Категории концентраций, вызывающие у водных организмов существенные изменения в уровне газообмена и других процессов под влиянием неядовитых веществ (схема)

По оси абсцисс – примерные диапазоны концентраций реагента: I – обеспечение; II – стимулирование; III – экологическая валентность, изотония, проявление потенциальной адаптивности; IV – защитная реакция; V – угнетение; VI – летальный исход; по оси ординат – примерная интенсивность газообмена

Итак, если рассматривать реакции физиологических процессов гидробионтов под влиянием реагента, то можно отметить следующие его важнейшие концентрации (рис. 10).

I – включающиеся в обменные процессы как необходимый элемент для поддержания обмена и жизнедеятельности организма – “концентрации обеспечения”;

II – ускоряющие протекание физиологических процессов (развитие, рост, созревание и т.п.), но не ухудшающие жизнеспособности организма и обеспечивающие формирование популяции – “концентрации стимулирования”;

III – близкие к изотонии или вызывающие защитную реакцию организма против излишнего накопления чуждых веществ и ионов. Изменения в уровне обмена обычно носят количественный (компенсаторный или конформативный) характер и протекают в пределах адаптивных возможностей вида – “концентрация адаптивной валентности”, или изотонии;

IV – вызывающие резкое повышение газообмена, обусловленное необходимостью выведения из организма этих ненужных веществ, и приводящие к предельно высоким тратам энергии для защиты жизненных функций особи. При этом жизнеспособность сохраняется только ограниченное время – “концентрации защитной реакции”;

V – вызывающие угнетение преимущественно пластического и генеративного обменов при относительно высоком энергетическом, необходимом для выживания особи. Формирование популяций невозможно – “концентрация угнетения”, “анестезия индивидов” или “сублетальные концентрации”;

VI – угнетающие все физиологические процессы вследствие чрезмерного накопления в организме реагента, задерживающие развитие, рост и вызывающие повышенную гибель особей при прочих благоприятных условиях среды – “летальные концентрации”.

Первые три категории концентраций веществ (см. рис. 10) вызывают реакции организмов в пределах их адаптивных видовых возможностей; последние – вызывают реакции организмов, базирующиеся на их пластичности, они (реакции) не являются адаптивными, а толерантными.

Адаптивность и толерантность при влиянии отпугивающих веществ (репеллентов). Цинеол – репеллент, компонент эфирных масел эвкалипта,

лаванды, иссопа, видимо, не является ядовитым веществом, но даже в небольших дозах отпугивает рыб [Карпевич, 1973; Айзпурите, 1974]. При концентрации 0,4 мг/л из зоны действия цинеола уходят все подопытные рыбы (карпы, плотва и др.), при концентрации 0,2 мг/л — 90% рыб и при 0,04 мг/л — 50% рыб. Наряду с этим карпы жили без заметных повреждений более 14 суток в растворах этого репеллента концентрацией 100 мг/л, но рыбы не питались и не реагировали на приближение человека. В начале опыта было отмечено изменение в составе форменных элементов крови и резкое увеличение кроветворной функции, а затем ее угнетение. После возврата рыб в чистую среду физиологические функции у рыб восстанавливались. При определении интенсивности потребления кислорода норма удерживалась в концентрациях цинеола до 0,5 мг/л (I–III категории концентрации цинеола), при 0,75 мг/л в течение почти двух декад имело место повышение газообмена, вызванное защитной реакцией рыб (IV категория), а затем оно постепенно снизилось. Ранее это снижение нами принималось как компенсаторное, но, видимо, последовало угнетение энергетического обмена, так как значительно ухудшился состав крови (V категория).

Следовательно, концентрация цинеола 0,75 мг/л относится к IV категории, а все более концентрированные растворы вызывают видимую, "ложную" адаптацию рыб, основанную на их физиологической терпимости к действию репеллента, но приводящую к угнетению и нарушению основных функций (питания, размножения и др.) — снижению общей жизнестойкости и угасанию жизнеспособности (IV категория). Эти реакции четко проявились и у дафний.

В хроническом опыте в течение 2 месяцев при 20–24°С мы изучали влияние цинеола на дафний *Daphnia magna* в течение четырех поколений. Выяснилось, что концентрации этого репеллента 0,25 мг/л стимулируют размножение без вреда для рачков (концентрация II категории), при 0,5 мг/л разницы в темпах размножения по сравнению с контролем не было (концентрация III категории); при концентрации 1 мг/л и пониженной температуре (20°С) наблюдалось ускорение темпов размножения, а при 24°С — угнетение. В то же время дафнии выживали в растворах 10–50 мг/л в течение 10 суток, но не размножались, следовательно, концентрации цинеола около 1 мг/л относятся к IV категории, а выше — до 50 мг/л — к сублетальным (V). При 100 мг/л дафнии погибали в течение 24 ч (VI категория).

Толерантность и адаптивность при влиянии некоторых ядовитых веществ. Определение действий ядовитых веществ с этих позиций предоставим специалистам. Здесь только укажем на хорошо известные факты действия ядовитых и наркотических веществ, применяемых в медицине (мышьяка, опиума и др.). В очень малых дозах (тысячные и миллионные разведения) эти вещества поддерживают и стимулируют обмен веществ у человека и, следовательно, и для них найдены концентрации I и II категорий; имеется и зона адаптации — "привыкания" к ним организма без вреда для его жизнеспособности. Но более высокие концентрации, к которым организм также как бы привыкает и длительное время живет, но постепенно утрачивает жизнеспособность и жизнестойкость — это "ложная" и более того "опасная адаптивность", а вернее толерантность.

Видимо, адаптация с сохранением жизнестойкости гидробионтов к веществам нервно-паралитического действия невозможна, так как проявляется реакция "ложного привыкания" (пестициды и др.).

Рассмотрение реакций гидробионтов на привычные, неядовитые и отпугивающие вещества (соли, марганец, цинеол) показало, что приспособление к ним возможно в пределах их малых концентраций, в которых изменение в обмене гидробионтов носит преимущественно количественный характер с тенденцией к компенсации или конформации; жизнеспособность особей сохраняется, но жизнестойкость может меняться. Эти адаптации носят экологический характер (физиологический или фенотипический) независимо от товарных, пищевых, кормовых и прочих качеств гидробионтов. Если он накопил вещества, опасные для его потребителей (хищников и консументов последующего пищевого звена), то изменчивость и реакции сорбента становятся объектом изучения не только экологов, но и токсикологов и даже медицинских работников.

Токсиканты в значительно меньших концентрациях, чем указанные для неядовитых веществ, могут вызывать реакции водных организмов всех категорий: I – обеспечения обмена; II – стимуляции, III – адаптивной реакции физиологических процессов, IV – защитной реакции особи, V – угнетения и VI – летали. Но пределы концентраций, в которых могут проявиться эти реакции, очень узки, а некоторые полностью выпадают. Приспособление гидробионтов к загрязнению может быть только в пределах первых трех категорий концентраций, т.е. до ПДК, хотя и при этом некоторые гидробионты могут оказаться опасными для их потребителей.

Следовательно, адаптивность, или приспособляемость, водных организмов возможна в пределах их видовых свойств – в пределах генотипической адаптации. Вне ее "приспособление" особи носит временный, ложный и даже опасный для вида характер, так как способствует удлинению жизни индивидуума за счет нарушения жизненно важных функций (питания, роста, размножения).

Несмотря на значительную толерантность особей формирование популяции длительноциклических, высокоорганизованных гидробионтов чаще всего невозможно, так как особи погибают раньше, чем включается естественный отбор. Только у низкоорганизованных и короткоциклических видов (вирусы, бактерии, водоросли и др.) при массовой и частой элиминации особей на базе их разнокачественной пластичности быстро (с точки зрения эволюционного процесса) изменяется видовой диапазон адаптивности. Под влиянием неядовитых веществ и лечебных токсикантов и при включении естественного отбора возможно изменение генетического кода и переход на новый уровень адаптивности этих видов. Поэтому загрязнение для высокоорганизованных гидробионтов и, конечно, человека вдвойне опасно, так как постепенно усиливается непосредственное их действие, а также опосредованное – через большую жизнеспособность опасных и болезнетворных организмов (вирусы, бактерии, водоросли, простейшие и др.).

Теоретически в отдаленном будущем вполне возможен процесс постепенного исчезновения длительно живущих и с малочисленным потомством видов (осетровых и других рыб) и преобладание короткоциклических, т.е. представляется вероятным возврат к существам первых этапов возникновения жизни на Земле.

В природе должен сохраняться экологический принцип "Сам живи и обеспечь жизнеспособность потомства своего и других гидробионтов, даже своих консументов", а в токсикологии — "хорошо бы самому выжить", т.е. "не до жиру — быть бы живу". В этом и заключается основное различие между экологией и токсикологией.

ЛИТЕРАТУРА

- Андрусов Н.И. Ископаемые и живущие Dreissenidae Евразии. — Тр. СПб. о-ва естествоиспытателей. Отд. геологии и минералогии, 1897, т. 25.
- Айзпуриете И.Ф. Влияние репеллентов на некоторых рыб и среду их обитания: Автореф. дис. . . . канд. биол. наук. М., 1974.
- Гаузе Г.Ф. Экологическая приспособляемость. — Успехи соврем. биологии, 1941, т. 14, вып. 2, с. 227–242.
- Жадин В.И. Моллюски пресных и солоноватых вод СССР. Определитель по фауне СССР. М.; Л., 1952.
- Карпевич А.Ф. Отношение двустворчатых моллюсков Сев. Каспия и Арала к изменению солености среды: Дис. . . . д-ра биол. наук. М., 1953, т. 1.
- Карпевич А.Ф. Некоторые данные о формообразовании у двустворчатых моллюсков. — Зоол. журн., т. 34, № 1, 1955, с. 46–67.
- Карпевич А.Ф. Теория и практика акклиматизации водных организмов. М.: Пищ. пром-сть, 1975.
- Карпевич А.Ф., Айзпуриете И.Ф. Влияние цинеола на молодь карпа и дафний: Тез. докл. на II Всесоюз. конф. по экологической физиологии рыб. М.: Наука, 1973, с. 77–78.
- Карпевич А.Ф., Шурин А.Т. Влияние марганца на моллюсков Рижского залива. Сообщение III. — В кн.: Рыбохозяйственные исследования в бассейне Балтийского моря. Рига, 1970, № 6, с. 171–195.
- Карпевич А.Ф., Шурин А.Т. Влияние вод разной солености и иона марганца на выживание и дыхание балтийской речной камбалы *Pleuronectes Pesus trachurus* Dunker Рижского залива. — Вопр. икhtiологии, 1973, т. 13, вып. 5 (83), с. 901–913.
- Карпевич А.Ф., Шурин А.Т. Роль марганца в обменных процессах моллюсков Балтийского моря. — Биология моря, 1977, № 6, с. 50–57.
- Карпевич А.Ф., Шурин А.Т. Влияние солености и иона марганца на *Mexidotea entomon*. — Гидробиол. журн., 1978, т. 14, вып. 1, с. 88–94.
- Логвиненко Б.М., Старобогатов Я.И. Тип моллюски Mollusca: Атлас беспозвоночных Каспийского моря. М.: Пищ. пром-сть, 1968.
- Проссер Л., Браун Ф. Сравнительная физиология животных. М.: Мир, 1967.
- Проссер Л. Сравнительная физиология животных. М.: Мир, 1977, т. II.
- Скадовский С.Н. Экологическая физиология водных организмов. М.: Сов. наука, 1955.
- Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир.
- Ушаков Б.П. О консервативности белковой плазмы вида у пайкилотермных животных. — Зоол. журн., 1958, т. 37, вып. 5, с. 693–706.
- Шкорбатов Г.Л. Эколого-физиологические аспекты микроэволюции водных животных. Харьков: Изд-во Харьк. ун-та, 1973.

МЕХАНИЗМЫ ПРИСПОСОБЛЕНИЯ ВОДНЫХ ЖИВОТНЫХ К ТОКСИЧЕСКИМ ВЕЩЕСТВАМ

Б.А.ФЛЕРОВ

Институт биологии внутренних вод АН СССР

Общепринято под адаптацией понимать изменения, направленные на повышение жизнеспособности вида, популяции, организма, органа и т.д. ко всякого рода вредным воздействиям. Выделяются два принципиально различных вида адаптации: генетическая (передаваемая по наследству) и негенетическая, или фенотипическая (также ее называют индивидуальной, физиологической, онтогенетической, экологической и т.д.). Фенотипическая адаптация разделяется на две формы: поведенческую адаптацию и привыкание [Серавин, 1972]. Благодаря поведению (имеется в виду оборонительное) животное осуществляет перемену среды, уходя от вредного фактора (реакция избегания); естественно, устойчивость животного к фактору не изменяется. В отличие от поведенческой адаптации привыкание характеризуется повышением устойчивости самого организма.

Аспекты изучения фенотипических адаптаций подробно изложены в методологической статье В.В.Хлебовича и В.Я.Бергера [1975]. На основании собственных и литературных данных авторы сделали два важных вывода: 1) для самых разнообразных гидробионтов акклимация (привыкание к изменению одного из факторов среды, сопровождающееся компенсаторными реакциями), как правило, завершается примерно через 2 недели; 2) динамика процесса фенотипической адаптации носит фазный характер. В связи с этим при постановке экспериментов по исследованию адаптаций требуется соблюдение определенных условий и прежде всего достаточной продолжительности периода акклимации. Так, изучая адаптацию водных животных к токсикантам, исследователи ограничиваются постановкой экспериментов в течение 1–4 дней. При таких условиях процесс акклимации не завершается: в зависимости от вида животного и специфики действующего агента он может находиться в разных переходных фазах, что в конечном итоге приводит к необоснованным выводам, а также к невозможности сопоставления результатов исследования.

Между тем вопрос об адаптации гидробионтов к токсическим веществам имеет большую теоретическую и практическую значимость. Знания о закономерностях фенотипической адаптации гидробионтов к токсикантам нужны, и в случае установления факта адаптации к тем или иным токсическим агентам следует это обстоятельство учитывать при определении ПДК.

В водной токсикологии исследованию адаптации уделяется недостаточное внимание. Имеющиеся данные довольно противоречивы. Приведем некоторые корректно выполненные работы. Фромм [Fromm, 1970] акклимировал золотую рыбку к низким (0,5) и высоким (5 и 25 мг/л) уровням NH_3 в воде в течение 20–56 дней и нашел, что выделение мочевины при последующих 24-часовых экспозициях в растворах 0,08–2,37 мг/л не зависело от концентрации или продолжительности предварительной акклимации. Шульц-Вайхенбаук [Schulze-Wiehenbrauck, 1976] акклимировал форель в течение 3 недель к сублетальным концентрациям NH_3 , затем помещал их в

остротоксический раствор. Акклиммированные рыбы показывали 100%-ную выживаемость, в то время как в контроле выживаемость составляла всего 30%. Тёрстон (Thurston, 1982) также выявил повышение устойчивости к аммонии у радужной форели к летальным воздействиям после предварительной их акклимации в течение 29 дней в сублетальных концентрациях. Чем выше концентрация токсиканта и длиннее период акклимации (29 и 54 дня), тем выше устойчивость рыб к остро летальным концентрациям аммония. Через 2 дня после помещения акклиммированных рыб в чистую воду приобретенная устойчивость исчезала. Наши собственные данные свидетельствуют, что группы, выдержанные в сублетальных концентрациях в течение недели, 1, 1,5, 4 и 20 месяцев, не приобретали устойчивости к фенолу. Наоборот, в некоторых случаях обнаруживалась кумуляция токсических эффектов. Это наблюдалось в случае постепенной акклимации от 2 до 12 мг/л с еженедельным увеличением концентрации на 2 мг. Отсутствие фенотипической адаптации у группы и дафний отмечалось и в опытах с полихлорпиреном [Флеров, 1970, 1971].

Следует специально остановиться на работе Мэлэси [Mâlăsea, 1968], посвященной изучению адаптации. Автор применял следующие вещества: ртуть, аммоний, цианиды, хром, цинк, свинец и фенол. Период акклимации в сублетальных концентрациях этих токсикантов составлял 2 и 4 дня. Затем рыбы помещались в остротоксические концентрации, в которых гибель происходила в течение нескольких часов. При такой постановке опытов автор получал увеличение устойчивости у акклиммированных рыб и даже предложил коэффициент приспособления, понимая под ним отношение продолжительности выживания 50% акклиммированных рыб к таковой у интактных. Он варьировал от 1,2 до 2,2. Коэффициент адаптации снижался по мере увеличения экспозиции. Из-за слишком короткой экспозиции в сублетальных концентрациях и высокой тестирующей концентрации автор, по нашему мнению, имел дело с кратковременной компенсаторной реакцией, а не с явлением фенотипической адаптации. Она вряд ли играет существенную приспособительную роль в природе.

Приведенные выше данные по вопросу об индивидуальной адаптации, а также имеющиеся в литературе другие результаты [Лукьяненко, 1967; Saliba, Ahsanullah, 1973] свидетельствуют скорее о том, что фенотипическая адаптация либо не проявляется, либо проявляется редко.

Рассмотрим поведенческую адаптацию — реакции избегания токсических веществ водными животными. Данные получены главным образом на различных видах рыб. Исследованы реакции на цианиды, фенолы, соли цинка, меди, угольную кислоту, аммиак, сероводород, пестициды, детергенты. Реакция избегания широко варьирует в зависимости от химической природы токсикантов и видовой принадлежности животных. Установлено, что величина реакции пропорциональна концентрации вещества. Большинство исследованных видов рыб проявляют реакцию избегания, начиная с сублетальных концентраций. Однако избегаются не любые токсические вещества. Например, фенол избегается карповыми рыбами, но не избегается даже в смертельных концентрациях лососевыми. Пестициды плохо избегаются рыбами. Обнаружены области концентраций некоторых соединений, обладающие привлекающими свойствами [Флеров, 1974, 1979].

Исследовано оборонительное поведение некоторых беспозвоночных: моллюсков, ракообразных, насекомых.

лицинской пиявки, жабронога, водяного ослика. Наиболее эффективно избегались детергенты, фенол, наиболее слабо или совсем не избегались пестициды. Подтверждена общая закономерность, что ответ на токсиканты пропорционален силе воздействия. Специально проведены эксперименты, направленные на выяснение вопроса, почему животные не избегают пестицидов (полихлорпинена, хлорофоса). Опыты на жаброногих показали, что эти вещества нарушают хеморецепцию и тем самым не дают возможности животным распознавать токсические вещества и уходить от них [Флеров, 1979].

Реакции избегания имеют важное приспособительное значение. Для практики весьма существенно знать, на какие вещества реагируют животные, знать диапазон их эффективных концентраций, виды животных, которые осуществляют реакции. Эти вопросы требуют своего дальнейшего разрешения.

Основной путь приспособления водных животных к токсикантам — это отбор или осуществление генетической адаптации. На гуппи проведены опыты по отбору, показывающие, что именно этим путем рыбы приобретают устойчивость к токсикантам. Уже первое поколение было в 5 раз устойчивее к фенолу, чем исходное. За три поколения резистентность возросла в 6,5 раз. Роль отбора в приобретении устойчивости подтверждена в экспериментах с полихлорпиненом. Устойчивость особей первого поколения, полученного от выживших в растворе полихлорпинена рыб, была в 2,5 раза выше, чем исходная. Другие варианты экспериментов показали, что приобретаемая устойчивость носит неспецифический характер. Рыбы, резистентные в результате отбора к полихлорпинену, становились одновременно устойчивыми и к фенолу, и наоборот [Флеров, 1971]. Эти результаты подтверждают данные, полученные по приобретению устойчивости к токсическим веществам насекомыми [Сборник "Приобретение насекомыми и клещами устойчивости к ядам", 1959].

Резистентные после отбора к токсикантам гуппи подвергались принципиально иному воздействию — заражению инвазионным возбудителем *Ichthyophthirius multifiliis*. Оказалось, что потомство отобранных на устойчивость к фенолу рыб, которое не имело непосредственного контакта с токсикантом, обладало примерно в 6 раз большей восприимчивостью к инвазии, чем контрольное. Во втором аналогичном эксперименте, но уже с полихлорпиненом у более устойчивых к нему гуппи также наблюдалась повышенная восприимчивость к ихтиофтириозу. Повторение результатов при использовании другого токсиканта показало, что это было не случайным. По всей вероятности, одновременно с генотипами, обеспечивающими повышенную устойчивость к токсикантам, произошел отбор генотипов, обуславливающих слабую сопротивляемость к инвазии. Отсюда следует, что механизмы устойчивости к инвазионным возбудителям и токсикантам различны и сбалансированы в организме так, что с усилением одних другие ослабляются. Результаты этого исследования свидетельствуют, что популяции рыб, более приспособленные к обитанию в токсической среде, в большей степени могут быть подвержены действию возбудителей инвазионной природы [Владимиров, Флеров, 1974].

Американские исследователи работали на удобной модели для изучения механизмов устойчивости. Это — гамбузии из некоторых оросительных сис-

м дельты Миссисипи, которые по своей резистентности к хлорорганическим пестицидам отличаются по сравнению с обычными на три порядка. Показано, что у устойчивых гамбузий в мозгу накапливается меньше токсиантов, чем у чувствительных рыб. Кроме того, у устойчивых гамбузий мембраны клеток связывают меченый ^{14}C эндрин сильнее, чем у чувствительных [Wells, Yarbrough, 1973]. Если американские коллеги идут по пути большего изучения процессов проницаемости, то мы изучаем другой немаловажный механизм — особенности ферментов-мишеней, на которые действуют токсиканты. В этом плане изучаются фосфорорганические пестициды и в качестве модели взят хлорофос.

Известно, что токсичность фосфорорганических соединений обусловлена их способностью необратимо ингибировать холинэстеразу. Производилось сравнение особенностей холинэстеразы нервных ганглиев двух видов моллюсков (прудовика и катушки), сильно различающихся по устойчивости. Катушка в 100 раз устойчивее прудовика. Электрофоретические исследования холинэстераз, а также опыты с хлорофосом *in vitro* показали, что неодинаковая устойчивость объясняется различиями в активности холинэстераз и чувствительности их к токсиканту [Козловская, Чуйко, 1979].

Аналогичные исследования проведены на четырех видах карповых рыб: карпе, леще, плотве и синце.

Установлено, что первые два вида более устойчивы к хлорофосу (соответствующие ЛК_{100} составляли 500 и 200 мг/л), чем вторые (ЛК_{100} соответственно равны 60 и 70 мг/л). У всех четырех видов рыб в сыворотке крови выявился фермент со свойствами ацетилхолинэстеразы, а у слабоустойчивых еще выявился дополнительный фермент со свойствами холинэстеразы, которого в количественном отношении было больше. В опытах *in vitro* (при инкубации гелей в хлорофосе) большей к нему чувствительностью обладал фермент, относящийся к типу холинэстеразы. По-видимому, этим и объясняется меньшая устойчивость к хлорофосу плотвы и леща [Козловская, Чуйко, 1979].

Представляется, что разработка вопроса о биохимических основах устойчивости к токсикантам важна для водной токсикологии. Биохимические показатели бесспорно могут служить предсказателями (предикторами) устойчивости.

Не стоит надеяться на случаи проявления фенотипической адаптации у водных животных к токсическим веществам и тем более рекомендовать ее использование для практики (идеи о разбавлении стоков и т.д.). Приспособляемость водных животных к токсикантам осуществляется путем отбора. Однако этот путь может одновременно ослаблять другие защитные механизмы организма. В настоящее время актуальной задачей является установление физиолого-биохимических механизмов устойчивости. Их знание необходимо для прогноза влияния загрязняющих веществ и для разработки мероприятий по защите водного населения от токсикантов.

ЛИТЕРАТУРА

- Владимиров В.Л., Флеров Б.А. Восприимчивость к ихтиофтириозу у рыб после отравления фенолом и полихлорпиненом. — Информ. бюл. Ин-та биол. внутренних вод, 1974, № 25, с. 35–37.
- Козловская В.И., Чуйко Г.М. Холинэстеразы сыворотки крови рыб сем. Cyprinidae с различной устойчивостью к хлорофосу. — Тр. Ин-та биол. внутренних вод АН СССР, 1967, вып. 38 (41), с. 32–41.

- Лукияненко В.И. Токсикология рыб. М.: Пищ. пром-сть, 1967. 216 с.
- Приобретение насекомыми и клещами устойчивости к ядам: Сб. статей. Ред. Б.И.Руккати. М.: ИЛ, 1959. 331 с.
- Сервин Л.Н. Анализ понятия "гомеостазис". – Тр. Петергоф. биол. ин-та при ЛГУ, 1972, т. 21, с. 3–27.
- Тёрстон Р.В. Факторы, влияющие на токсичность аммиака для рыб. – В кн.: Теоретические вопросы водной токсикологии. Л.: Наука, 1982, с. 104–120.
- Флеров Б.А. Изучение адаптации гуппи к фенолу. – Гидробиол. журн., 1970, т. 6, № 3, с. 104–106.
- Флеров Б.А. К вопросу о приспособлении гидробионтов к токсическому фактору. – Там же, 1971, т. 7, № 6, с. 61–66.
- Флеров Б.А. Об использовании в водной токсикологии исследований поведения животных. – Там же, 1974, т. 10, № 5, с. 114–120.
- Флеров Б.А. Поведенческие аспекты водной токсикологии. – В кн.: Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов. Л.: Наука, 1979а, с. 266–276.
- Флеров Б.А. Сравнительное изучение реакций избегания токсических веществ у некоторых водных животных. – Тр. Ин-та биол. внутренних вод АН СССР, 1979б, вып. 38 (41), с. 81–87.
- Хлебович В.В., Бергер В.Я. Некоторые аспекты изучения фенотипических адаптаций. – Журн. общ. биологии, 1975, т. 36, № 1, с. 11–25.
- Fromm P.O. Toxic action of water soluble pollutants on freshwater fish. – Water Pollution Control Reserch Series. 18050 DST 12/70 U.S. Envir. Protect. Ag., Washington D.C., 1970. 56 p.
- Målbeca V.J. Untersuchungen über die Gewöhnung der Fläshe an hohe Konzentrationen toxischer Substanzen. – Arch. für Hydrobiol., Bd. 65, N 1, S. 74–95.
- Saliba L.J., Ahnnullah M. Acclimation and tolerance of *Artemia salina* and *Ophryotrocha labronica* to copper sulphate. – Mar. Biol., 1973, vol. 23, N 4, p. 297–302.
- Schulze-Wiehenbrauck H. Effect of sublethal ammonia concentrations on metabolism in juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). – Ber. dt. wiss. Kommn. Meeresforsch., 1976, vol. 24, p. 234–250.
- Wells M.R., Yarbrough J.D. In vivo and in vitro retention of (C^{14}) aldrin and (C^{14}) dieldrin in cellular fractions from brain and liver tissues of insecticide-resistans and susceptible *Gambusia*. – Toxicol. Appl. Pharmacol., 1973, vol. 24, N 2, p. 190–196.

УДК 574.64:594:577.1

О НЕКОТОРЫХ МЕХАНИЗМАХ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ГИДРОБИОНТОВ К РАЗЛИЧНЫМ ТОКСИКАНТАМ

Л.П.БРАГИНСКИЙ, А.Я.МАЛЯРЕВСКАЯ, Т.И.БИРГЕР,
Ф.Я.КОМАРОВСКИЙ, Ф.М.КАРАСИНА

Институт гидробиологии АН УССР

Антропогенное воздействие на водоемы сопровождается поступлением в водную среду токсикантов различного происхождения и разного химического состава. Среди них: метаболиты и токсины синезеленых водорослей, пестициды, поверхностно-активные вещества и многие другие. При изучении их влияния на организм гидробионтов весьма существенным является вопрос о том, какие звенья системы метаболизма в организме гидробионтов обуславливают их резистентность при выживании в условиях интоксикации. В поисках таких механизмов мы провели эксперименты с гидробионтами, отличающимися различной устойчивостью к действию токсикантов.

Нами изучалось воздействие летальных концентраций синезеленых водорослей и их токсинов, пестицидов (ДДТ и хлорофоса), а также детергентов (метилпропилцеллюлозы и алкилмоносультата) на пресноводных рыб (окунь, карась) и беспозвоночных (гаммариды, олигохеты, моллюски).

Метаболиты, токсины синезеленых водорослей и пестициды являются нервно-паралитическими и дыхательными ядами. Механизм действия детергентов на животных менее изучен. Имеются сведения лишь о нарушении отдельных звеньев метаболизма под их влиянием у теплокровных животных [Ботязова, 1976; и др.]. В связи с этим представляло интерес сопоставление некоторых показателей, характеризующих резистентность гидробионтов при интоксикациях, вызванных различными ядами. В качестве показателей резистентности гидробионтов к действию этих токсикантов мы обратили внимание на содержание в тканях гидробионтов никотинамидных коферментов и коферментного витамина В₁. Как известно, никотинамидным коферментам принадлежит существенная роль в регуляции клеточного обмена и в преобладании того или иного пути расщепления веществ [Лабори, 1970]. Витамин В₁ также занимает ключевые позиции в метаболических процессах [Островский, 1971].

При анализе экспериментальных данных нами были обнаружены общие закономерности распределения изучаемых компонентов у гидробионтов, а именно сравнение более устойчивых к действию токсикантов и гипоксии видов с менее резистентными свидетельствовало о том, что суммарный уровень никотинамидных коферментов был несколько ниже у первых. Так, например, у карасей, более устойчивых к действию токсикантов по сравнению с окунем, общее содержание никотинамидных коферментов было значительно ниже (и в контроле и во время гибели при действии синезеленых водорослей, табл. 1). У менее резистентных к токсикантам гаммарид содержание никотинамидных коферментов составляло $377,06 \pm 26,73 - 596,60 \pm \pm 45,00$, в то время как у более устойчивых к действию токсикантов моллюсков (дрейссена речная) — $127,91 \pm 13,81 - 155,01 \pm 5,17$ [Биргер, 1979].

Весьма существенным является тот факт, что соотношение суммы окисленной и восстановленной форм в тканях гидробионтов, отличающихся различной устойчивостью к токсикантам, было разным. Так, судя по отношению окисленной и восстановленной форм никотинамидных коферментов, в тканях окуней преобладала окисленная форма никотинамидных коферментов, в то время как у карасей превалировала восстановленная (см. табл. 1). У гаммарид также превалировала окисленная форма никотинамидных коферментов (отношение $\text{НАД}^+/\text{НАД}-\text{H}_2$ у них равнялось $2,08 \pm 0,21 - 2,11 \pm 0,13$), а у дрейссены речной, по данным Т.И. Биргера [1979], — восстановленная форма (отношение составляло $1,01 \pm 0,25 - 1,62 \pm 0,18$). Преобладание в тканях гидробионтов, более устойчивых к действию токсикантов, восстановленной формы никотинамидных коферментов является свидетельством в пользу возможности более легкого переключения их метаболизма на анаэробный путь, что и позволяет таким организмам выживать при действии токсикантов.

Изучение развития процесса интоксикации позволило обнаружить у гидробионтов фазовое изменение содержания никотинамидных коферментов и витамина В₁ [Биргер, Маляревская, 1977]. Эти изменения наблюдались при влиянии на рыб метаболитов, токсинов синезеленых водорослей, пестици-

Таблица 1

Содержание никотинамидных коферментов в тканях рыб и величина отношения окисленной и восстановленной форм, мкг/г

Ткань	Состояние рыб	Токсианты					
		Живые водоросли		Разлагающиеся водоросли		Токсины синезелено- вой водоросли	
		Сумма	Отно- шение	Сумма	Отно- шение	Сумма	Отноше- ние
Карась							
Мозг	Контроль	462,71	0,54	462,71	0,54	462,71	0,54
	Агония	655,9	0,48	903,31	0,36	1119,47	0,74
	Гибель	757,16	0,38	502,85	0,57	839,13	1,03
Печень	Контроль	502,93	1,47	502,93	1,47	502,93	1,46
	Агония	525,49	2,21	474,54	1,24	499,47	2,14
	Гибель	342,39	0,87	393,53	1,91	368,49	0,90
Сердце	Контроль	1051,23	1,01	1051,23	1,01	1051,23	1,01
	Агония	1059,99	0,82	789,70	0,75	1128,47	0,48
	Гибель	447,63	0,77	717,92	0,87	800,60	0,64
Кишеч- ник	Контроль	267,09	1,32	267,09	1,32	267,09	1,32
	Агония	303,17	0,88	307,73	0,69	307,74	1,49
	Гибель	275,27	0,32	270,68	0,45	209,97	0,90
Мышцы	Контроль	114,88	1,39	114,88	1,40	114,88	1,40
	Агония	207,23	1,25	271,33	1,38	189,39	0,81
	Гибель	201,74	0,34	160,61	1,20	126,74	1,08
Окунь							
Мозг	Контроль	679,26	2,34	679,26	2,34	679,26	2,34
	Агония	640,70	3,23	607,62	—	598,84	0,75
	Гибель	459,73	2,93	696,60	0,33	212,47	1,29
Печень	Контроль	690,60	1,54	696,60	1,54	696,60	1,54
	Агония	734,34	1,79	577,56	—	679,91	0,99
	Гибель	513,28	1,61	—	0,26	687,04	0,45
Сердце	Контроль	1948,72	1,91	1948,72	1,92	1948,72	1,92
	Агония	2884,40	2,39	324,50	—	1520,07	0,72
	Гибель	1454,16	0,63	1229,15	1,46	1284,72	0,78
Кишеч- ник	Контроль	324,5	1,03	324,5	1,03	324,05	1,03
	Агония	318,5	1,87	—	—	382,28	1,05
	Гибель	234,69	1,06	293,62	0,27	655,37	0,37
Мышцы	Контроль	356,47	1,84	356,47	1,84	356,47	1,85
	Агония	352,09	5,85	—	—	427,51	0,74
	Гибель	131,33	1,88	159,56	0,78	378,51	0,24

дов (ДДТ и хлорофоса), а также гипоксин. Так, например, в тканях рыб (судаков) на фазе повышенной двигательной активности, вызванной действием токсинов синезеленых водорослей, уровень никотинамидных коферментов возрос на 24—95%. Ко времени гибели он снизился в основном в большинстве тканей. У окуней, у которых уменьшение суммы никотина-

Таблица 2

Содержание общего тиамина в органах карпа, мкг/г

Вариант	Орган	$M \pm m$	Отклонение от контроля, %	P
Контроль	Печень	$3,19 \pm 0,35$	—	—
	Кишечник	$3,50 \pm 0,28$	—	—
Опыт: I фаза	Печень	$7,37 \pm 1,08$	+ 131,0	< 0,001
	Кишечник	$3,67 \pm 0,06$	+ 4,9	> 0,1
Опыт: II фаза	Печень	$2,73 \pm 0,002$	— 14,4	> 0,1
	Кишечник	$2,57 \pm 0,12$	— 26,6	< 0,02
Гипоксия	Печень	$2,94 \pm 0,43$	— 7,8	> 0,1
	Кишечник	$1,50 \pm 0,23$	— 57,1	< 0,001

мидных коферментов в ряде тканей было наибольшим к моменту гибели, это снижение достигало иногда 69% по сравнению с контролем.

Увеличение суммы никотинамидных коферментов на фазе повышенной двигательной активности у рыб было связано с мобилизацией жизненных ресурсов, направленных на преодоление интоксикации. На этой же фазе наблюдалось повышение в тканях рыб содержания витамина B_1 . Например, в тканях печени карпа количество витамина B_1 повысилось на 131% по сравнению с контролем. К моменту гибели оно снизилось в печени карпа на 14% (табл. 2).

При действии на рыб изучаемых токсикантов в их тканях наряду с изменением количества тиамина и никотинамидных коферментов изменялась также и активность дыхательных ферментов [Маляревская, 1979]. Было замечено, что организмы, которые отличаются лабильностью содержания никотинамидных коферментов, более устойчивы к действию токсикантов. Так, выживание большинства экземпляров окуней в условиях действия летальных для этого вида концентраций было обусловлено повышением в их тканях количества никотинамидных коферментов на 17–13,5% по сравнению с контролем (табл. 3). В большинстве тканей этих окуней преобладала восстановленная форма НАД. У карасей, находившихся некоторое время в воде с дефицитом кислорода ($0,86 \pm 0,07$ мг/л), во всех тканях повысилось количество никотинамидных коферментов на 100–317% по сравнению с контролем. При этом в их тканях преобладала восстановленная форма никотинамидных коферментов. Как известно, превалирование этой формы никотинамидных коферментов способствует преобладанию в тканях анаэробного пути расщепления углеводов.

У беспозвоночных гаммарид, пластинчатожаберных моллюсков и хирономид также отмечена связь между способностью к повышению уровня никотинамидных коферментов и устойчивостью к действию токсикантов [Биргер, Маляревская, 1977]. Действие токсинов синезеленых водорослей на оксифильных гаммарид вызвало в их тканях снижение никотинамидных коферментов. В то же время под влиянием этих же токсинов в тканях более резистентных к действию ядов дрейссен содержание никотинамидных коферментов возросло вдвое, у хирономид — почти в девять раз. Количество восстановленных форм НАД⁺ при этом более значительно увеличилось у дрейссен и хирономид.

Таблица 3

Влияние условий содержания на рыб

Орган и ткань	Условия содержания	Отклонение от контроля, %			
		НАД+НАДФ	НАДН+НАДФН	(НАД+НАДФ) + (НАДН+НАДФН)	$\frac{\text{НАД+НАДФ}}{\text{НАДН+НАДФН}}$
Окунь					
Мозг	Хроническое влияние токсинов синезеленых водорослей	- 18,7	+ 99,7	+ 16,7	- 59,4
Печень	То же	+ 81,3	+ 218,4	+ 135,3	- 44,8
Сердце	"	+ 67,3	+ 124,7	86,9	- 25,5
Кишечник	"	+ 39,7	+ 2,2	+ 21,2	+ 36,9
Мышцы	"	- 23,5	+ 48,1	- 2,3	- 52,2
Карась					
Мозг	С аэрацией	+ 149,1	+ 105,0	+ 118,0	+ 20,4
	Без аэрации	+ 317,0	+ 77,5	+ 162,0	+ 137,0
Печень	С аэрацией	+ 120,3	+ 85,8	+ 106,0	+ 21,7
	Без аэрации	+ 230,8	+ 291,0	+ 237,0	- 3,5
Сердце	С аэрацией	+ 45,5	+ 139,9	+ 92,0	- 39,6
	Без аэрации	+ 101,0	+ 219,0	+ 160,0	- 36,6
Кишечник	С аэрацией	+ 95,8	+ 219,0	+ 149,0	- 38,6
	Без аэрации	+ 213,0	+ 187,0	+ 202,0	+ 8,6
Мышцы	С аэрацией	+ 233,0	+ 187,0	+ 102,0	+ 8,6
	Без аэрации	+ 267,0	+ 553,0	+ 391,0	- 45,0

Содержание витамина В₁ у оксифильных беспозвоночных (гаммарид) при интоксикации снижается, так же как и у рыб, при действии токсинов синезеленых водорослей — на 93–95%. У дрейссен и хирономид под влиянием этого же токсина количество витамина В₁ в тканях повышается на 161–221%. Такие же изменения отмечены в тканях этих беспозвоночных и при влиянии на них ДДТ.

Представляло интерес сопоставить уровни витамина В₁, активности дыхательных ферментов и некоторых других показателей в организме гидробионтов при влиянии на них веществ, отличающихся механизмом действия. Как было сказано выше, метаболиты, токсины синезеленых водорослей, ДДТ и хлорофос являются нейротоксическими ядами, угнетающими также дыхание гидробионтов. Что же касается биохимического механизма влияния на живые организмы детергентов, то он окончательно не раскрыт. Однако имеются данные о том, что влияние детергентов на организм проявляется в нарушении протоплазматических мембран [Чалов, Давыдов, 1976] и активности дыхательных ферментов [Ботяхова, 1976].

Мы испытывали влияние на беспозвоночных (катушки) двух детергентов: метилпропилцеллюлозы и алкилмоносульфата. Первое из них в концентрациях 1 мг/л и 1 г/л не вызывало гибели моллюсков в течение 2 су-

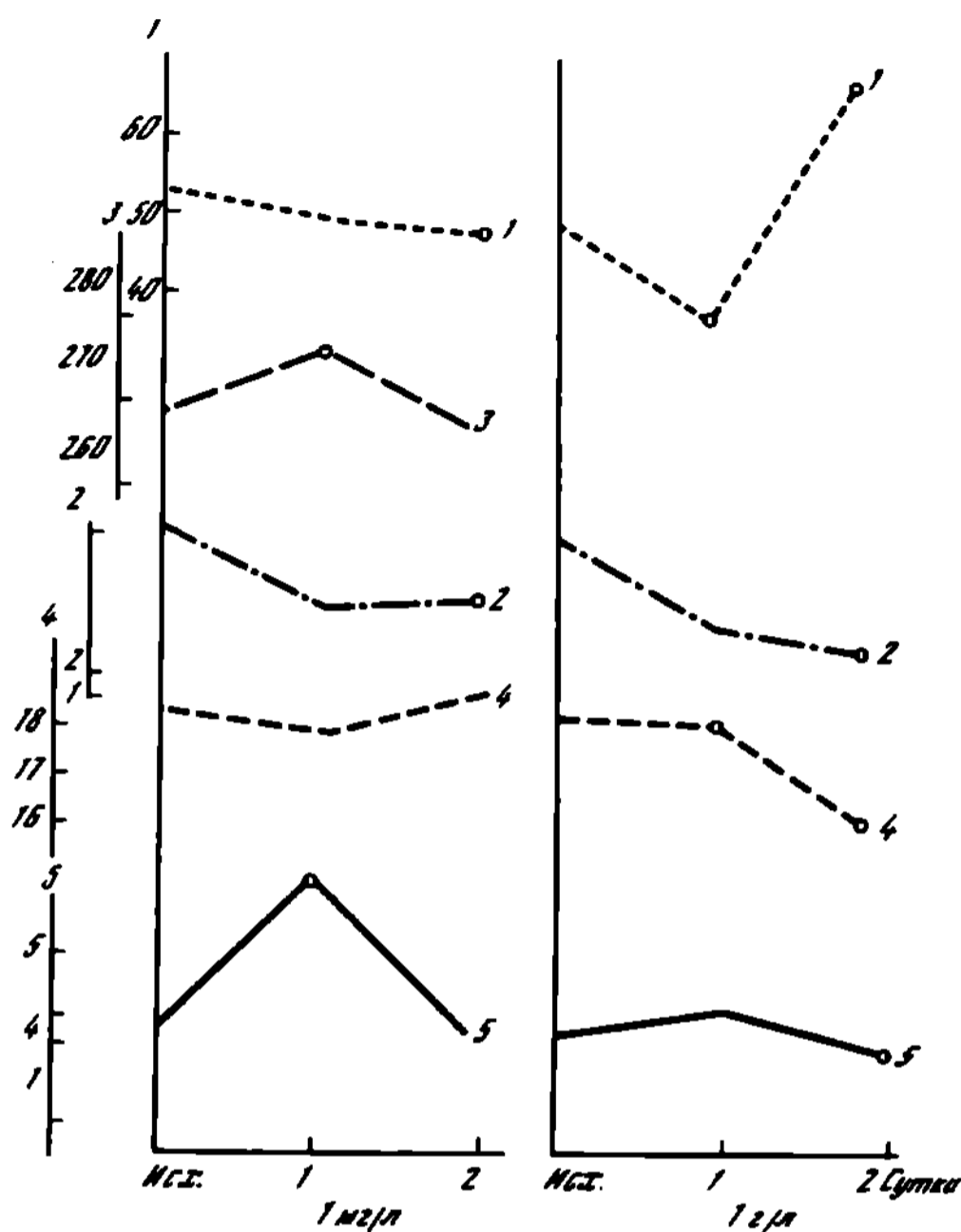


Рис. 1. Влияние метилпропилцеллюлозы на изменение физиолого-биохимических показателей моллюсков

1 — цитохромоксидазная активность, в мг образовавшегося индофенола на 1 г сырой ткани; 2 — потребление кислорода моллюсками, в мг/л на 1 г живого веса в сутки; 3 — сукцинатдегидрогеназная активность, в мг образовавшегося формазана на 1 г сырой ткани; 4 — содержание сухого вещества, %; 5 — содержание общего тиаминна, мкг/г

ток. Второе в концентрации 1 мг/л не приводило к гибели катушек также за 2 суток. При концентрации в воде 10 мг/л алкилмоносulfата не наблюдалось гибели моллюсков за сутки, на вторые сутки была отмечена гибель 50% организмов. О том, что метилпропилцеллюлоза оказалась сравнительно малотоксичной при испытываемых концентрациях, свидетельствовали следующие данные. При воздействии на катушек раствором метилпропилцеллюлозы в концентрации 1 мг/л в течение суток не было отмечено достоверных изменений в потреблении ими кислорода, содержании в их тканях сухого вещества и цитохромоксидазной активности. В то же время в этот период в тканях катушек достоверно возросло содержание витамина В₁ вследствие мобилизации жизненных ресурсов для преодоления интоксикации (рис. 1). За первые сутки достоверно увеличилась также сукцинатдегидрогеназная активность. На вторые сутки при действии на моллюсков алкилмоносulfата-

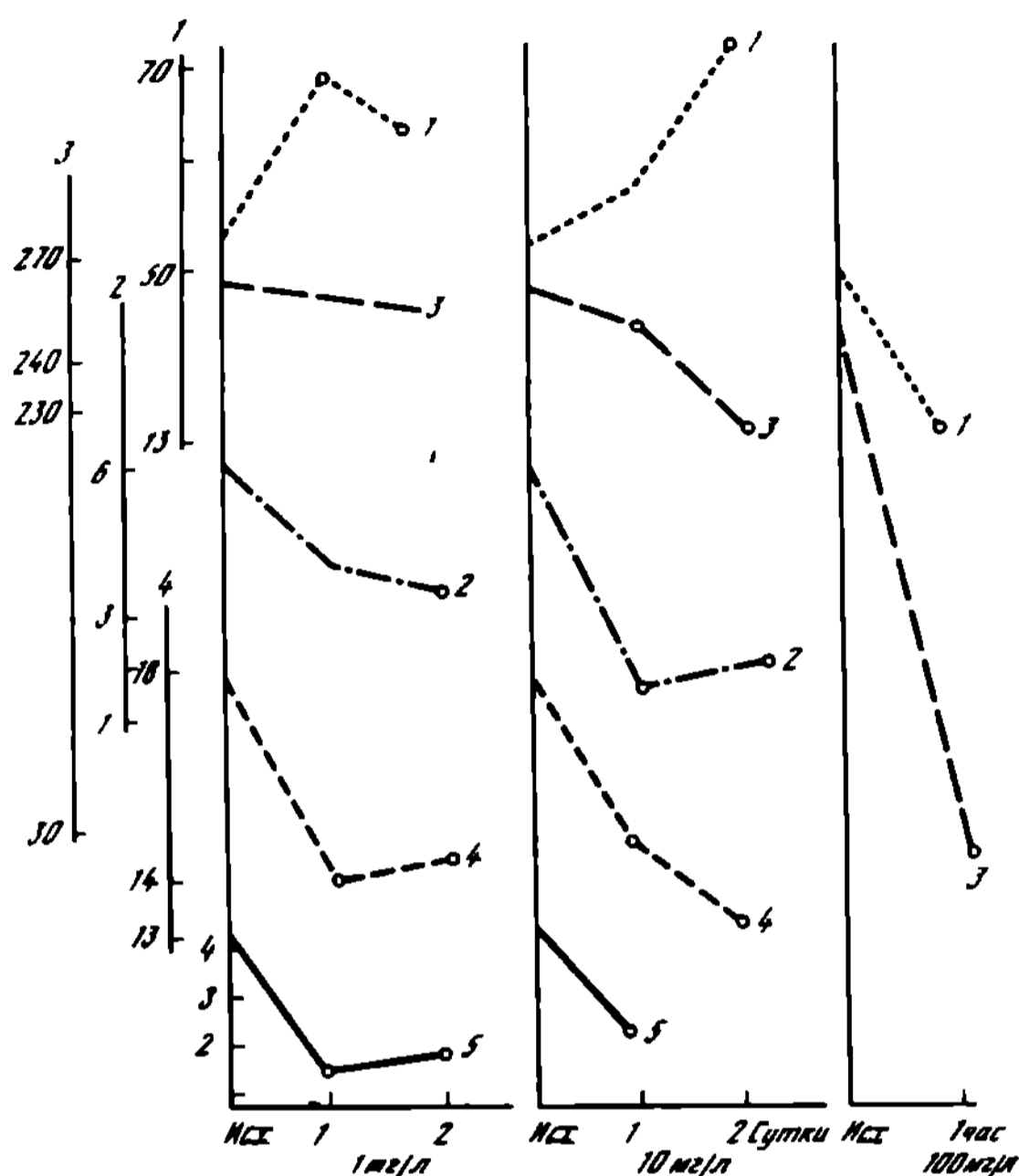


Рис. 2. Влияние алкилмоносульфата на физиолого-биохимические показатели моллюсков

Обозначения те же, что на рис. 1

та (1 мг/л) наблюдалась тенденция к снижению потребления кислорода и цитохромоксидазной активности, содержания витамина B_1 . Однако эти изменения не были достоверными. Изменения этих показателей не были также достоверными через сутки после действия более высокой концентрации метилпропилцеллюлозы (1 г/л), за исключением достоверного повышения по сравнению с контролем уровня цитохромоксидазной активности. На вторые сутки при влиянии этой же концентрации отмечены достоверное снижение потребления кислорода (на 242% по сравнению с контролем), содержания в тканях сухого вещества (на 13%), повышение цитохромоксидазной активности (на 23%). Намечалась тенденция к снижению содержания общего гиамина в тканях моллюсков при действии 1 г/л препарата. Однако изменение этого показателя было недостоверным.

Более значительное влияние на изучаемые показатели оказал раствор алкилмоносульфата (рис. 2). Уже при содержании моллюсков в растворе с 1 мг/л этого препарата на первые сутки, а также на вторые отмечены досто-

верные снижения содержания в тканях сухого вещества и витамина B_1 , сукцинатдегидрогеназной и активности повышения цитохромоксидазной активности по сравнению с контролем. Под влиянием 10 мг/л эти изменения усугублялись на первые же сутки. Ко вторым суткам действия этой концентрации (ко времени гибели 50% моллюсков) в тканях оставшихся в живых особей были отмечены достоверные угнетения потребления кислорода, повышение цитохромоксидазной активности (на 26%) по сравнению с контролем, падение сукцинатдегидрогеназной активности (на 14%), снижение содержания в тканях сухого вещества (на 40%) и уменьшение уровня общего тиамин (на 39%).

Результаты проведенных нами экспериментов свидетельствуют, что при действии детергентов резистентность гидробионтов зависит от изменения в их тканях уровня витамина B_1 . При его повышенном содержании в тканях, как, например, при действии малых концентраций метилпропилцеллюлозы, организм сопротивляется интоксикации. К моменту гибели организмов зафиксировано четкое падение содержания витамина B_1 (на 39% по сравнению с контролем). Особый интерес, на наш взгляд, представляет то обстоятельство, что и нейротоксические вещества (метаболиты, токсины синезеленых водорослей, ДДТ и хлорофос), так же как и вещества, механизм действия которых на живые организмы еще не выяснен (детергенты), вызывают нарушения одних и тех же метаболических звеньев.

Таким образом, в обеспечении токсинорезистентности гидробионтов существенная роль принадлежит уровню никотинамидных коферментов и витамина B_1 в их тканях.

ЛИТЕРАТУРА

- Бабанов Г.П., Бабанов А.Г., Буров Ю.А., Абрамян Г.Г. и др. К механизму действия поверхностно-активных веществ на организм. — В кн.: Сравнительные исследования изменений физиологических функций под влиянием естественных и синтетических детергентов. Ярославль, 1976, с. 9–17.
- Биргер Т.И. Метаболизм беспозвоночных в токсической среде. Киев: Наук. думка, 1979.
- Биргер Т.И., Маляревская А.Я. О некоторых биохимических механизмах резистентности водных беспозвоночных к токсическим веществам. — Гидробиол. журн., 1977, 13, № 6, с. 69–73.
- Ботяхова О.А. Сравнительные исследования активности сукцинатдегидрогеназы печени. Влияние разных факторов на активность сукцинатдегидрогеназы. — В кн.: Сравнительные исследования изменений физиологических функций под влиянием естественных и синтетических детергентов. Ярославль, 1976, с. 76–79.
- Лабори А. Регуляция обменных процессов. М.: Медицина, 1970.
- Маляревская А.Я. Обмен веществ у рыб в условиях антропогенного евтрофирования водоемов. Киев: Наук. думка, 1979.
- Островский Ю.М. Тиамин: Избранные главы по биохимии витамина B_1 . Минск: Белорусь, 1971.
- Чалов Ю.П., Давыдов А.И. К вопросу об изменении проницаемости мембран гепатоцитов при введении желчных кислот. — В кн.: Сравнительные исследования изменений физиологических функций под влиянием естественных и синтетических детергентов. Ярославль, 1976, с. 22–27.

К ВОПРОСУ АДАПТАЦИИ СВОБОДНОЖИВУЩИХ ИНФУЗОРИЙ К НЕФТЯНОМУ СУБСТРАТУ

О.Г.МИРОНОВ

Институт биологии южных морей АН УССР

Внешняя и внутренняя среда организма диалектически едины. Все биологические виды на земле способны существовать только в определенных условиях, они развиваются и размножаются лишь в характерной для них экологической нише. Это оказалось возможным благодаря приспособительным механизмам, объединенным общим понятием "адаптация". Данный термин в биологическом его смысле предполагает широкий круг явлений и реакций индивидуального, популяционного, видового, биоценотического и биогеоценотического порядка, определяющих приспособление индивида, биоценоза к условиям внешней среды. В зависимости от того, на каком уровне рассматривается процесс адаптации, ее механизмы и критерии будут различны, как и само определение этого понятия.

Сейчас накоплен уже определенный материал, особенно для высших организмов, который в какой-то степени меняет наши представления о постоянстве внутренней среды организма. Гомеостаз как постоянство внутренней среды существует, но к нему необходимо делать поправку на адаптацию. Это имеет прямое отношение к водной токсикологии, особенно к методологии токсикологических исследований и оценке экспериментальных результатов. По-видимому, основным критерием токсичности, как указывал Н.С.Строганов [1969], должна оставаться оценка действия токсиканта на выживаемость, а также плодовитость и качество потомства.

В этой связи все оценки по действию токсиканта на основе многочисленных физиолого-биологических показателей должны объясняться с обязательным учетом адаптационных возможностей организма и обратимости вредных воздействий. Это, естественно, не умаляет значимости дальнейшего развития физиолого-биохимических исследований, как первого и тонкого показателя при оценке взаимодействия организмов и их сообществ с токсикантами, а также как прогностического показателя возможного летального исхода или влияния на плодовитость и качество потомства.

Эти показатели в основном разработаны и широко применяются для макрогидробионтов. Что касается одноклеточных организмов, например бактерий, то в связи с методическими трудностями выявление многих индивидуальных оценок их жизнедеятельности пока не представляется возможным. С другой стороны, хорошо известны высокая адаптационная способность микроорганизмов и широкая, достигающая до нескольких порядков величин их вариабельность в чувствительности к тем или иным токсикантам. В то же время причины этих явлений далеко не изучены, хотя важность исследований в этом направлении не вызывает сомнения, учитывая, что данная группа организмов принимает основное участие в процессах самоочищения и детоксикации вредных веществ в водоемах. В этом плане мы очень мало знаем о деятельности простейших в условиях загрязнения водоемов токсическими веществами.

Действие нефти, как и других токсикантов, довольно широко изучается

на микрогидробионтах, а также фито- и зоопланктоне. Что касается действия загрязнений на бактериальные сообщества, то этот вопрос практически не освещен в литературе. Известно, что нефть и особенно ее производные широко применяются для борьбы с болезнетворными бактериями, и, по-видимому, углеводороды могут губительно действовать на различные микробиальные сообщества в море. С другой стороны, известно, что широкая группа бактерий способна использовать углеводороды нефти в качестве единственного источника углерода и энергии.

Сведения о взаимодействии простейших с нефтью весьма ограничены, а вопросами адаптации этих организмов к нефти практически никто не занимался. Да и само понятие "адаптация" применительно к простейшим весьма сложно и здесь пока не найдены методические подходы и тесты для применения термина "адаптация", или "привыкание". В этой связи одним из этапов решения этой проблемы могут служить наблюдения над инфузориями в морской воде, загрязненной нефтью.

Элмхерст [Elmhirst, 1922] отмечал размножение *Oxyrrhis marina*, *Amoeba* sp., *Bodo* sp., *Diophrys* sp. в экспериментальных условиях в балластной воде танкеров. По данным Спунера [Spooner, 1968], некоторые реснитчатые заглатывали нефтяные комочки. Эндрюс и Худгей [Andrews, Hoodgate, 1974] провели наблюдения над взаимодействием морских простейших и нефтяных остатков. Полученные данные свидетельствуют, что морские простейшие захватывают остатки сырой кувейтской нефти как в экспериментальных, так и в полевых условиях.

Жизнеспособность двух массовых видов инфузорий Черного моря *Euplotes vannus* и *Diophrys appendiculata* прослежена нами [Миронов, Авдеева, 1973] в морской воде с концентрацией нефти 1,0–0,001 мл/л. Для предварительного определения жизнеспособности инфузорий в лабораторных условиях были поставлены серии экспериментов с *Euplotes vannus* в морской воде без добавления нефти. Результаты наблюдений показывают, что развитие инфузорий в морской воде без добавления нефти зависит от физиологического состояния выведенной культуры. Так, в пяти сериях экспериментов максимальная численность инфузорий одного и того же вида при одних и тех же условиях опыта (температура, освещенность, состав морской воды и т.д.) колебалась от нескольких десятков до нескольких тысяч. При этом время максимального развития приходилось на различные сроки. С подобным явлением нам приходилось сталкиваться и в опытах с другими микроскопическими организмами, например с зоопланктоном [Миронов, 1969].

На этом основании в последующих наблюдениях мы сравнивали только данные об изменении динамики численности инфузорий, а не абсолютные результаты их подсчета. Во всех опытах динамика численности инфузорий зависела от концентрации нефтепродуктов, а абсолютная численность инфузорий сильно колебалась.

При содержании нефти 1,0 и 0,1 мл/л инфузории *Diophrys appendiculata* в первые сутки практически не делились. При концентрации нефти 1,0 мл/л они гибли на 6-й день. В воде с содержанием нефти 0,1 мл/л через 4 дня количество инфузорий начало возрастать, однако их максимальная численность была в несколько раз ниже, чем в контроле. Концентрации нефти 0,01 и 0,001 мл/л угнетали развитие инфузорий. В опыте с содержанием нефти 0,001 мл/л абсолютное число инфузорий было в 1,5 раза выше, чем в конт-

роле. Примерно такое же действие оказывали различные концентрации нефти на развитие *Euplotes vannus*.

Проведенные наблюдения показывают, что некоторые виды способны нормально развиваться в морской воде, содержащей нефть до 0,1 мл/л.

Длительные наблюдения за динамикой развития простейших на нефтяных остатках в море осуществить практически невозможно. В этой связи нами [Миронов, Авдеева, 1978] были поставлены опыты в условиях, близких к естественным, для чего применялся морской проточный аквариум объемом около 1000 л.

Первый этап эксперимента длился в течение зимне-весеннего периода, когда температура морской воды была 9–14°С. Через 5 суток с момента разлива нефти на нефтяной пленке были обнаружены две формы — представители родов *Euplotes* и *Uronema*, а через 10 суток к ним прибавились представители *Diophrys*, *Zoothamnium* и *Vorticella*.

Общая численность инфузорий в течение месяца нарастала и достигла 200 экземпляров в пробе. Следует отметить, что начиная с февраля численность простейших несколько колебалась. В марте число инфузорий увеличилось до 280 экземпляров и появились новые формы — представители родов *Dysteria*, *Microregma* и *Actinotricha*. В апреле были обнаружены простейшие, относящиеся к роду *Lacrymania*. В конце апреля—начале мая численность простейших сократилась. Помимо инфузорий, в нефтяных сгустках обнаружены турбеллярии, нематоды, гарпактициды, диатомовые водоросли и полихеты.

Второй этап эксперимента продолжался в течение летне-осеннего периода — с июля по октябрь. В это время наряду с анализом состава инфузорий мы вели количественный учет нефтеокисляющих микроорганизмов, используя метод предельных разведений. Методика проведения опыта была прежней. Анализ численности инфузорий и нефтеокисляющих микроорганизмов показал, что между этими величинами наблюдается корреляционная связь в пределах $R=32$. Однако данная корреляция не может в полной мере характеризовать взаимоотношения между бактериями и простейшими, поскольку последние в значительной степени развиваются на бактериальном детрите. При этом следует отметить, что уже через неделю после начала эксперимента под нефтяной пленкой появился рыхлый сероватый налет, состоящий из бактериального детрита. Спустя месяц нефть распалась на отдельные островки темно-коричневого цвета, покрытые бактериальной пленкой. В сентябре (через 2 месяца после начала эксперимента) нефть представляла собой небольшие сгустки, покрытые серовато-коричневой детритной пленкой с сохранившейся внутри густой каплей нефти.

В первый месяц второго этапа эксперимента отмечалось постоянное присутствие таких массовых форм, как *Euplotes*, *Holosticha*, *Actinotricha*, *Diophrys*, *Dileptus*. Они появились в пробе в первую неделю эксперимента, а их численность возросла до нескольких десятков экземпляров в пробе. В августе наряду с уже ранее встречавшимися группами появились представители родов *Grateromorpha*, *Dysteria*, *Uroleptopsis*, *Holophrys*, а общая численность простейших достигла 250–260 экземпляров. В последующие месяцы наблюдалось постепенное уменьшение количества инфузорий. В конце августа их число снизилось до нескольких десятков в пробе и оставалось на этом уровне до конца эксперимента.

Встречаемость различных форм инфузорий на протяжении первого и второго этапов эксперимента показана ниже.

Встречаемость различных форм инфузорий на нефти в морской воде

Род	Первый этап эксперимента					Второй этап эксперимента			
	январь	февраль	март	апрель	май	июль	август	сентябрь	октябрь
Euplotes	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diophrys	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gratormorpha		+	+	+	+		+	+	+
Uronema	+	+	+	+					
Zoothamnium		+	+	+				+	+
Vorticella		+	+	+		+	+	+	+
Uroleptosis		+	+	+			+	+	
Holosticha	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Actinotricha			+	+		+	+	+	+
Dysteria			+	+			+	+	
Dileptus						+	+	+	
Holophrya							+	+	
Lacrymaria				+	+				
Microregma			+	+					

Представители большинства систематических групп инфузорий развивались на нефтяной пленке как в зимне-весенний, так и летне-осенний периоды. Исключение составляют инфузории рода *Microregma*, присутствие которых было отмечено только в конце марта — начале апреля, причем число их превышало в этот период число всех остальных форм. Некоторые представители инфузорий встречались в незначительных количествах или отсутствовали в том материале, который использовали для анализа. В пленках и стужках детрита поселялись и другие группы организмов — в больших количествах личинки моллюсков, нематоды, полихеты, гарпактициды.

Таким образом, в процессе разрушения нефти на нефтяных остатках происходит развитие инфузорий, относящихся к различным систематическим группам, что может свидетельствовать об адаптации этих организмов к нефтяному загрязнению. При этом отмечаются значительные вариации в численности организмов как в течение времени, так и по принадлежности к отдельным родам. Возможно, это связано в том, что большинство инфузорий представлено организмами с разным пищевым спектром (бактериофаги, всеядные, хищники).

ЛИТЕРАТУРА

- Миронов О.Г. Влияние нефтяного загрязнения на некоторых представителей черноморского зоопланктона. — Зоол. журн., 1969, т. 48, № 7, с. 980–984.
Миронов О.Г., Авдеева С.У. Влияние нефтяного загрязнения на развитие некоторых черноморских инфузорий. — Биол. науки, 1973, № 5, с. 19–21.

- Миронов О.Г., Авдеева С.У. Развитие сообщества простейших на нефти в морской воде. – Там же, 1978, № 10, с. 48–50.
- Строганов Н.С. Водная токсикология и санитарная гидробиология. – Гидробиол. журн., 1969, № 5, с. 5–13.
- Andrews A.R., Hoodgate G.D. Some observations on the interactions of marine Protozoa and crude oil residues. – Marine Biology, 1974, vol. 25, P. 7–12.
- Elmhirst R. Investigation on the effects of oil tanker discharge. Rep. Scott. – Mar. Biol. Assoc., 1922, p. 8–9.
- Spooner M.F. Scientific aspects of pollution of the sea by oil. London: Inst. of Petrol., 1968. 67 p.

УДК 628.515:591.524.1 (28)

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АДАПТАЦИИ

К.Ф.СОРВАЧЕВ

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова

Приспособление, или адаптация, живых организмов к постоянно изменяющимся условиям внешней среды является одной из главных причин эволюции. По Энгельсу, мысль о постепенном преобразовании организмов, их приспособлении к изменяющейся среде приводила к учению об изменчивости видов. Проблема механизмов приспособления живых организмов к условиям внешней среды, а также закрепления возникающих в ходе эволюции полезных признаков представляет одну из наиболее интересных и актуальных проблем современной биологии, водной токсикологии и медицины.

Адаптация к среде отмечена на всех уровнях биологической организации. Процесс адаптации у высокоорганизованных животных сложен и многосторонен. В зависимости от методов исследования адаптацию часто подразделяют на экологические, биохимические и другие группы. Подразделение такое условно, так как в настоящее время трудно представить приспособительные изменения микроструктур организмов без определенных функциональных изменений их в тканях и органах, которые, в свою очередь, связаны с изменениями клеточных микроструктур и в конечном счете с соответствующими изменениями белков и нуклеиновых кислот [Шкорбатов, 1973]. Гораздо менее изучено то, что мы называем "биохимической адаптацией к условиям жизни". В связи с этим возникает вопрос: а какие типы адаптации не являются биохимическими? Можно проследить, по крайней мере теоретически, что любое изменение в организме в конечном счете связано с какими-то изменениями, происходящими на молекулярном уровне [Хочачка, Сомеро, 1977].

Имеются многочисленные доказательства, что в ходе филогенетического развития происходили глубокие перестройки типов метаболизма и лежащих в их основе биохимических реакций, катализируемых различными ферментными системами [Покровский, 1966]. Вот почему изучение процессов биохимических адаптаций на разных уровнях, в частности к химическим структурам токсических веществ, влиянию их на обменные и ферментативные функции, может дать убедительные и интересные материалы уже на первых стадиях познания биологической сущности приспособительных реакций при токсикации водных организмов даже в пределах ПДК.

Для того, чтобы в полной мере оценить значение процессов фотосинтеза в жизни растений, К.А.Тимирязев сказал, что растение — это лист. Много лет спустя крупнейший физиолог А.Ф.Самойлов отметил, что животное — это мышцы. Не оспаривая огромного значения сократительной функции в возникновении и совершенствовании животного мира, А.М.Уголев [1972], с именем которого связано открытие нового направления в физиологии, считает, что животное — это прежде всего пищеварение. Точнее, мир животных — это мир гетеротрофных организмов. Питание является наиболее древней связью между живыми организмами и окружающей средой.

Среди многочисленных факторов внешней среды, постоянно воздействующих на организм, ведущая роль принадлежит пище. Однако продукты питания, в отличие от всех других факторов внешней среды, попадая в организм, лишаются своей видовой специфичности. Компоненты пищи трансформируются в энергию физиологических функций и структурные элементы организма. Питание обеспечивает рост, развитие и размножение. Именно в акте ассимиляции пищи явления адаптации могут быть выявлены наиболее ярко. В процессе длительной эволюции питание оказало влияние на морфологические, физиологические и биохимические формы адаптации. На современном этапе развития науки о питании главное направление исследований перемещается от изучения общих физиологических закономерностей пищеварения и энергетического обмена к более трудным и сложным явлениям с необходимыми для расшифровки закономерностями ассимиляции пищевых веществ на клеточном и субклеточном уровнях. При этом особое внимание уделяется изучению конкретных путей превращения различных компонентов пищи, механизму регуляции и адаптации клеточных ферментов к химической структуре пищевых веществ, а также влиянию пищи на структуру и функцию клеточных мембран [Покровский, 1974].

Как показывают итоги многочисленных исследований, реакции ферментной адаптации проявляются на всех уровнях ассимиляции пищи: от акта пищеварения до усвоения конечных продуктов питания на клеточном и субклеточном уровне. Предполагается, что в основе ферментной адаптации к пище лежит соответствие структуры ферментных систем организма химическим структурам пищевых веществ и количественным пропорциям в рационе питания. В предложенной формулировке правило соответствия приобретает общебиологическое значение, а адаптация к пище — это его проявление в конкретных условиях меняющихся режимов питания, направленных на поддержание биохимического гомеостаза организма.

При обсуждении приспособления ферментного аппарата к качеству пищи целесообразно дифференцировать определенные виды ферментных адаптивных реакций, каждая из которых различается как по механизму их возникновения и реализации, так и по длительности и стойкости возникающих изменений [Покровский, 1974].

Первый тип адаптации отражает приспособление к имеющимся в окружающей среде источникам энергии и пищевых веществ, происходившее в процессе длительной эволюции живых существ с момента возникновения жизни. Эволюция всех форм начинается с первого акта поглощения пищи и образования биокаталитически активных белков. В дальнейшем этот тип адаптации основывается на генетическом закреплении биосинтеза биологических катализаторов белковой природы и их организации в пределах кле-

точных структур, на их встроенности в биологические мембраны и создании ферментных ансамблей и констелляций (взаимного расположения ферментов). Возникающие при этом ферментные характеристики клеток организмов являются чрезвычайно стойкими, отражающими типы обмена веществ, характерные для каждого из биологических видов.

Второй тип адаптации характеризуется тем, что живые существа приобретают возможность использовать находящиеся в пище уникальные низкомолекулярные соединения в качестве кофакторов ферментов. Эти соединения являются производными витаминов, которые для большинства видов животных становятся незаменимыми факторами питания. Этот тип адаптации относится к более позднему периоду эволюции и отражает сокращение ферментных систем, предназначенных для синтеза незаменимых компонентов пищи в связи с постоянством их нахождения в обычных источниках пищи.

Третий тип ферментативной адаптации возникает на высших этапах развития животного организма, когда устанавливается регулятивная связь между окружающей средой и желудочно-кишечным трактом через посредство нервно-рефлекторных и гуморальных реакций. Это наиболее яркий и лабильный вид адаптации ферментных систем пищеварительного аппарата — быстрая регуляция реакций приспособления секреции пищеварительных желез к качественным особенностям пищевых продуктов. Именно этот вид адаптации хорошо изучен И.П.Павловым и его школой.

Четвертый тип адаптации связан с поступлением в кровеносную систему питательных веществ из желудочно-кишечного тракта. Казалось бы, что высшая степень совершенства регулирующих нервно-рефлекторных и гуморальных систем организма, практически обеспечивающих биохимический гомеостаз его внутренних сред, сводит к минимуму влияние метаболитов, поступающих из крови в клетки органов и тканей. Однако глубокое изучение ферментных реакций по отношению к характеру питания на клеточном уровне приводит к выводу, что качественный и количественный состав пищи оказывает определяющее влияние на состояние ферментных систем организма. Эти адаптивные изменения ферментной активности представляют один из важных механизмов поддержания гомеостаза.

Поступающие из пищеварительного тракта питательные вещества являются не только источником энергии и пластического материала, но, поступая в кровь, становятся мощными гуморальными регуляторами метаболизма. Особенно отчетливо это проявляется при избыточном потреблении сахара, жиров и недостатке незаменимых аминокислот, витаминов. Экзогенный аминокислотный дисбаланс при определенной длительности его в питании приводит к истощению биохимических механизмов организма. В этом случае возникает эндогенный дисбаланс, т.е. нарушение нормального аминокислотного состава крови и тканей, ведущее к нарушениям метаболизма всего организма.

Между пищеварительной системой и обменом веществ существует многосторонняя связь. Она выражается не только в тонкой координации пищеварительной деятельности и обмена, обусловленной нервной и гуморальной регуляциями, но и в наличии специальных функций желудочно-кишечного тракта, способствующих протеканию химических процессов в тканях. Различают несколько сторон деятельности желудочно-кишечного тракта.

1. Ферментативная и физико-химическая обработка пищевых веществ

(пищеварение в узком смысле слова). Пищевые вещества расщепляются до простых соединений, переводятся в водорастворимые состояния, лишаются видовой специфичности и токсичности и тем самым подготавливаются к переходу во внутреннюю химическую среду организма. Далее эти вещества всасываются в кровь и достигают тканей и клеток.

2. Выделение в полость желудочно-кишечного тракта эндогенных веществ в составе сока поджелудочной железы и кишечника, участвующих в метаболизме. Указанные вещества переходят в просвет желудочно-кишечного тракта, где так же как и экзогенные, расщепляются и всасываются. Происходит, таким образом, кругооборот веществ между кровью и пищеварительной системой. На данном этапе важно проследить степень поражения токсическими веществами секреторной функции панкреатической железы у рыб.

3. Экскреторная функция, выраженная в выделении с секретами желез из крови в полость желудочно-кишечного тракта продуктов обмена или токсических веществ, которые частично, а иногда полностью выбрасываются с фекалиями. Если вещество впоследствии в значительной степени всасывается, то и в этом случае выделение его имеет важное значение, так как обуславливает временное исключение из внутренней среды.

4. Процессы, обусловленные нормальной кишечной микрофлорой, которые являются также одной из сторон деятельности желудочно-кишечного тракта рыб. К ним относится синтез значительного количества витаминов группы В и витаминов К. Эти витамины, как установлено, способны всасываться в заднем отделе кишечника. Сюда же следует отнести превращения в кишечнике желчных кислот и пигментов под влиянием микрофлоры, что играет важную роль в экскреции стероидов и порфиринов. Микрофлора участвует в конечном звене пищеварительных процессов (инактивация кишечных и ряда панкреатических ферментов) и выполняет защитную функцию, препятствуя развитию патогенных микроорганизмов. Деятельность микрофлоры находится в тесной связи с состоянием пищеварительного тракта и характера питания. Многие токсические вещества, попадая в организм рыб, удаляются через кишечник, где могут концентрироваться и задерживаться какое-то время и поражать или угнетать кишечную микрофлору. Некоторые исследователи ошибаются, считая, что микрофлора кишечника рыб не играет существенной роли в метаболизме организма. В литературе стали появляться работы, доказывающие значительную роль микрофлоры кишечника рыб в поддержании гомеостаза организма.

Пятый тип приспособления ферментного синтеза к особенностям питания связан с определенными периодами онтогенеза. Он характеризует процессы ферментного созревания организма и отражает принцип соответствия ферментных систем организма химическим структурам пищи и токсических веществ, которые получает организм в ходе индивидуального развития; соответствие ферментных систем может быть нарушено вследствие угнетения синтеза каких-то ферментов под влиянием токсических веществ. Эта проблема должна быть в плане интенсивных исследований водной токсикологии.

Шестой тип адаптации проявляется с особой отчетливостью при взаимодействии ферментных систем на мембранах клеточных структур кишечника. В связи с этим особое значение приобретает исследование влияния пита-

ния на структуру и функциональные свойства клеточных мембран. А.М.Уголевым [1972] было установлено, что, помимо двух классических типов пищеварения – внеклеточного и внутриклеточного, существует третий тип – мембранное пищеварение, которое осуществляется в момент контакта пищевых субстратов с ферментами, локализованными на внешней поверхности мембран микроворсинок кишечных клеток. Ферменты, адсорбированные на поверхности мембран, приобретают новые свойства: они обладают большой устойчивостью к тепловой и кислотной денатурации и более высокой кинетической активностью.

В настоящее время отмечается значительный прогресс в области исследования физиологии всасывания. Это связано не только с практическими нуждами медицины, необходимостью познания теоретических основ питания человека, кормления сельскохозяйственных животных и рыб, но также и с развитием новой науки о тончайшей структуре и функции мембран – мембранологии. До конца 40-х годов многие исследователи считали, что взаимодействие между пищеварением и всасыванием ограничивается тем, что в результате гидролитических процессов, происходящих в полости кишечника, образуются вещества, подлежащие транспорту. Однако образование готовых к всасыванию продуктов пищи является необходимым, но недостаточным условием перехода от пищеварения к всасыванию. Последнее также требует наличия специальной структурной и функциональной организации. Основу такой организации, по-видимому, составляет взаимодействие ферментов, завершающих гидролиз пищевых веществ, с входами в транспортную систему. Те и другие в большинстве случаев локализованы на внешней поверхности мембраны кишечных клеток, превращая ее в пищеварительно-транспортную систему.

Большинство исследователей, характеризуя работу кишечника как целостной системы, считают, что распределение ферментных активностей вдоль кишечника имеет приспособительное значение. В передних и средних отделах происходит интенсивный полостной и мембранный гидролиз пищевых веществ, тогда как в дистальных осуществляется главным образом всасывание воды, солей, желчных кислот и многих других компонентов, поступающих в полость в составе пищеварительных соков поджелудочной железы и др.

Процесс всасывания веществ из кишечника и их транспорт в кровяное и лимфатическое русло осуществляются посредством диффузии, осмотического давления и главным образом активного транспорта веществ через кишечную стенку, происходящего с затратой энергии. В настоящее время показан активный перенос не только органических питательных веществ, но и электролитов и даже воды. Поскольку всасывание требует энергии, то нарушение энергетического обмена, даже при сохранности ультраструктуры кишечных клеток, должно приводить к ослаблению активного транспорта.

Важнейшей особенностью кишечного транспорта является его высокая специфичность. Под этим подразумевается способность двух веществ с одинаковыми размерами и структурным сходством молекул транспортироваться по-разному. При всасывании аминокислот, сахаров и других веществ между ними существуют конкурентные взаимоотношения за транспортные системы или на уровне энергетического источника. Оказалось, что переваривание даже двух субстратов одновременно является чрезвычайно трудным

процессом, требующим высокой организации ферментных процессов. Это не укладывается в рамки классического представления о независимом переваривании пищевых веществ под влиянием разнообразных ферментов. При этом справедливо допустить, что при одновременной работе многих пищеварительных ферментов количество образующихся конечных продуктов может превысить транспортные возможности кишечных клеток. При естественном пищеварении, для которого характерна одновременная переработка большого количества компонентов (белков, жиров, углеводов и др.), переработка пищевых продуктов осуществляется поразительно слаженно и в короткое время. Однако наши представления о том, как реализуется эта организация, весьма туманны.

Сказать, что взаимодействие в процессе многосубстратного пищеварения предполагает некоторую организацию, далеко недостаточно. Взаимодействие в живых системах всегда организовано. А.М.Уголев [1972] выдвигает по крайней мере три предположения, которые приближают нас к пониманию, как организуются эти процессы.

1. Взаимодействие между различными субстратами на стадии мембранного гидролиза осуществляется при участии или через посредство мембраны, с которой связаны ферменты. Определенные точки мембраны могут выполнять при этом активные функции, т.е. быть рецепторами модификаторов и участвовать в передачах сигналов на фермент, меняя его конфигурацию. Мембрана может выполнять при этом в известной степени пассивные функции, играя роль шасси, на котором в определенном порядке сгруппированы ферменты и рецепторы. В последнем случае взаимодействие осуществляется без прямого участия мембраны, однако сольюбилизация (растворение) ферментов должна приводить к потере ими регуляторных свойств.

2. Ферменты, обеспечивающие мембранное пищеварение, являются структурами, активные центры которых выполняют как каталитические, так и модификаторные функции. Подобные явления описаны, например, для активного центра химотрипсина. Показано, что контактный участок фермента неспецифичен и может сорбировать на себе различные вещества, которые не являются субстратами этого фермента.

3. Взаимодействие осуществляется в пределах молекулы фермента, которая обладает не только ферментативными, но и регуляторными функциями. Регуляторные и ферментативные функции могут быть локализованы в пределах одной третичной структуры (гомостерическое взаимодействие). Эта точка зрения приобрела самое широкое распространение в последние годы и постоянно привлекается для объяснения основных явлений организации метаболизма. Мысль о том, что по крайней мере некоторые ферменты выполняют не только акторные, но и регуляторные функции, не нова в современной биологии. Более того, идея регуляции на уровне активности ферментов является одним из основных представлений об организованном обмене. В сущности, благодаря регулированию на уровне ферментов последние из простых отдельных специфических катализаторов превращаются в системы, которые позволяют осуществлять управление и регулирование клеточным метаболизмом целого организма.

По современным представлениям, регуляция на уровне ферментативной активности осуществляется с помощью одного из трех механизмов: иностерического, аллостерического и гомостерического. Не исключено, что в со-

тественных условиях используются все три возможных механизма и более. Кроме информационных изменений, на регуляторные функции могут влиять конкурентное ингибирование, ферментативная специфичность, термодинамическое соотношение и другие факторы. Например, ингибиторные эффекты, возникающие при одновременном всасывании двух аминокислот, определяются не только сродством к переносчику и скоростью диссоциации комплекса переносчик—субстрат, но и многими другими факторами.

Адаптивные возможности любого организма в плане приспособления его к различным условиям питания, в том числе к источникам питания, несомненно велики. Однако это приспособление в условиях загрязненности водоемов во всех случаях должно приводить к изменению ферментных пропорций или ферментной конституции тканей организмов, к большой напряженности работы тех ферментных систем, которые связаны с превращением веществ, составляющих главную часть пищевых продуктов рыбы, которые содержат даже в пределах допустимых концентраций чужеродные и вредные для организма соединения. Имеются достаточно убедительные данные, показывающие, что даже в здоровом, молодом организме эти адаптивные возможности ограничены, и их поломка может быть выявлена при различных видах пищевых недостаточностей и нарушениях пропорций веществ в рационе. Естественно, что установление ПДК для отдельных организмов гидросферы — это только первая ступень исследований, которая дает возможность поддерживать жизнь водоема в какой-то отрезок времени, чтобы адаптироваться к постоянно изменяющимся условиям среды, в которой накапливаются чужеродные соединения.

Наиболее перспективными исследованиями являются работы, в широком плане проводимые коллективом лаборатории водной токсикологии кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ под руководством Н.С.Строганова, по определению чувствительности гидробионтов различного систематического положения и разного физиологического состояния к оловоорганическим соединениям с целью выявления наиболее чувствительных звеньев в общем круговороте веществ экосистемы и чувствительных периодов в жизненном цикле водного организма [Строганов, 1971, 1975, 1979]. Вполне оправдано предположение о связи между разной чувствительностью гидробионтов, составляющих данное сообщество, к действию токсикантов и направлением возможной перестройки сообщества при данной концентрации токсиканта. Причем чем больше его концентрация, тем большее число видов будут депрессированы, тем глубже произойдет качественное изменение состава сообщества. Для прогнозирования возможных изменений в водоеме могут принести пользу данные о сравнительной чувствительности гидробионтов при разных концентрациях, широкий диапазон которых позволяет предвидеть возможные изменения в численности особей видов. Зная, какие виды при данной концентрации токсиканта получают стимул к увеличению своей численности и какие ее уменьшают, можно предвидеть возможный характер изменений, их направление и глубину в межвидовых соотношениях водных сообществ.

ЛИТЕРАТУРА

- Покровский А.А. Алиментарный фактор в биохимической адаптации. – В кн.: Проблемы биохимической адаптации. М.: Медицина, 1966, с. 13–31.
- Покровский А.А. Роль биохимии в развитии науки о питании. М.: Медицина, 1974.
- Строганов Н.С. Биологический критерий токсичности в водной токсикологии. – В кн.: Критерий токсичности и принципы методик по водной токсикологии. М.: Изд-во МГУ, 1971, с. 14–29.
- Строганов Н.С. Некоторые общие вопросы анализа действия оловоорганических соединений на гидробионтов. – В кн.: Оловоорганические соединения и жизненные процессы гидробионтов. М.: Изд-во МГУ, 1975, с. 241–259.
- Строганов Н.С. Общее заключение о предлагаемых ПДК. – В кн.: Реагирование гидробионтов на оловоорганические соединения. М.: Изд-во МГУ, 1979, с. 82–84.
- Уголев А.М. Мембранное пищеварение. М.: Наука, 1972.
- Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир, 1977.
- Шкорбатов Г.Л. Эколого-физиологические аспекты микроэволюции водных животных. Харьков: Изд-во ХГУ, 1973.

УДК 574.64:597:577.1

РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА РЫБ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ

А.Я.МАЛЯРЕВСКАЯ

Институт гидробиологии АН УССР

Поступление в результате хозяйственной деятельности человека в водоемы различных токсических веществ приводит к необходимости выяснения влияния их на метаболизм гидробионтов и особенно на регуляторные механизмы метаболизма при интоксикации.

Как известно, все разнообразие метаболических процессов, протекающих в организме животных, можно свести к следующим основным процессам [Хочачка, Сомеро, 1977; и др.].

1. Поступление в организм различных веществ, необходимых для биосинтеза нуклеиновых кислот, белков, липидов и углеводов.

2. Образование в организме высокоэнергетических соединений, используемых в процессах биосинтеза, ионной регуляции и др.

3. Генерирование биологических восстановителей, например, восстановленной формы никотинамидных коферментов, используемых в реакциях восстановления на отдельных этапах метаболизма.

4. Биосинтез в клетках организма нуклеиновых кислот, белков, липидов, обусловленный взаимосвязью и взаимодействием трех вышеперечисленных процессов.

Согласно современным представлениям [Лаборн, 1970; Ньюхолм, Старт, 1977; и др.], существенная роль в регуляции синтеза и распада веществ в организме теплокровных животных принадлежит соотношению как

макроэнергетических соединений $\frac{АТФ}{АДФ \cdot \Phi_n}$, так и никотинамидных коферментов $\frac{НАД^+}{(НАД-H_2)}$. Имеются также сведения о значительном участии кофер-

ментных витаминов в регуляции метаболизма животных [Чаговец, Лахно, 1974; и др.].

Для выяснения роли никотинамидных коферментов и коферментных витаминов, в частности группы В, в регуляции обмена веществ при интоксикации мы изучали изменение этих показателей при воздействии на некоторых пресноводных рыб (окуня, судака, карася и др.) токсикантов различного происхождения, оказывающих нервно-паралитическое действие на рыб (метаболитов и токсинов синезеленых водорослей, пестицидов ДДТ и хлорофоса), а также недостатка кислорода в среде, как составной части действия токсикантов.

В данном сообщении рассмотрены результаты опытов, в которых применялись заведомо летальные концентрации токсических веществ. Под влиянием летальных количеств естественных и искусственных токсикантов, а также гипоксии у рыб развивалась однотипная клиническая картина, свойственная состоянию острой интоксикации. Фаза повышенной двигательной активности сменялась фазой адинамии перед гибелью. Для анализа, как правило, рыб брали на этих двух фазах.

Для характеристики проводимых экспериментов использовали ряд методов: гидрохимические [Савченко и др., 1961], физиологические (определение газообмена по Веселову [1956], обмена азота по Карзинкину и Кривобоку [1962]) и биохимические (определение количества витамина В₁ по методу Букина с сотрудниками [1955] с последующей экстракцией флуоресцирующих примесей по Елисеевой [1953], тиамингидролазной активности по методу Энгельгардта и Татарской [1948], содержания никотинамидных коферментов по Хафу и Перльцвайгу [Huff, Perlzweig, 1947]).

В результате проведенных экспериментов было обнаружено, что влияние естественных (метаболиты синезеленых водорослей и их токсины) и искусственных токсикантов (ДДТ, хлорофоса) на рыб слагалось из действия самого токсического начала и влияния измененного гидрохимического фона. При внесении в воду аквариумов летальных концентраций изучаемых токсикантов в ней снижалось количество кислорода иногда до 85% по сравнению с контролем и увеличивалось содержание углекислоты. Так, например, количество свободной углекислоты в воде контрольного аквариума составляло $4,50 \pm 0,60$ мг/л. В воде при изучении влияния на рыб гипоксии также снижалось количество кислорода и повышалось содержание углекислоты. Применение изучаемых токсикантов и гипоксии способствовало согласованному изменению метаболизма рыб, что проявлялось к моменту гибели рыб в угнетении пластического и усилении энергетического обмена. Отражением этих нарушений на уровне организма было изменение дыхания и обмена азота. Изменение потребления кислорода имело фазовый характер. Если на фазе повышенной двигательной активности дыхание увеличивалось иногда на 20% по сравнению с контролем, то на фазе адинамии, предшествующей гибели рыб, потребление кислорода снижалось. Например, у окуня под влиянием синезеленых водорослей оно уменьшилось на 70%, их токсинов — на 83, хлорофоса — на 20 и гипоксии — на 54%.

Под влиянием летальных концентраций токсикантов и гипоксии в тканях рыб происходили усиленные затраты органических веществ, расходуемых на поддержание жизнедеятельности. Вначале использовались углеводы, затем — липиды. Однако затраты углеводов и липидов оказывались в условиях острой интоксикации и гипоксии недостаточными, и в тканях рыб наступал распад белков. Эти изменения содержания органических ве-

ществ сопровождалось обводнением тканей. О глубине нарушений метаболизма свидетельствовало нарушение обмена белка не только по линии потребления, усвоения и распада, но, что по-видимому особенно важно и его синтеза [Маляревская, 1979]. Для суждения о том, что лежит в основе изменений органических веществ в тканях рыб при интоксикации и гипоксии, особый интерес представляют материалы по динамике никотинамидных коферментов в тканях рыб при интоксикации и гипоксии. Следует отметить, что, несмотря на особую роль этих коферментов в регуляции процесса метаболизма, как показано в опытах, проведенных с теплокровными животными, для рыб определение их изменений при интоксикации никем не проводилось.

Нами было установлено, что живые и разлагающиеся синезеленые водоросли, а также их токсины вызывают фазовое изменение количеств никотинамидных коферментов, идущее параллельно накоплению токсинов в тканях рыб. Во время усиленной двигательной активности рыб, появления судорог (фаза агонии) происходит мобилизация жизненных ресурсов, а именно содержание окисленной формы НАД в их тканях увеличивалось на 4–72%, а восстановленной — до 12–92% в зависимости от вида рыб и функционального назначения ткани. У окуня повышение количества восстановленной формы было обнаружено только в сердце, у карася — во всех органах, кроме печени. Перед гибелью у рыб, потерявших подвижность, содержание окисленной формы НАД снизилось, также изменилась сумма никотинамидных коферментов и их отношение (табл. 1).

При воздействии живых синезеленых водорослей уменьшение суммы никотинамидных коферментов в тканях окуня к моменту гибели составляло в отдельных случаях 63% по сравнению с контролем. Понижение уровня суммы никотинамидных коферментов при действии разложившихся синезеленых водорослей составляло 55%, а их отношение — 86% по сравнению с контролем. При воздействии токсинов синезеленых водорослей на окуня эти величины достигали 69 и 74%. Уменьшение суммы никотинамидных коферментов и их отношения наблюдались к моменту гибели во всех тканях рыб при действии пестицидов (ДДТ и хлорофоса). Под влиянием гипоксии отношение $\text{НАД}^+/\text{НАД}-\text{H}_2$ снизилось к моменту гибели рыб по сравнению с контролем. Сумма же этих коферментов при гипоксии в некоторых тканях рыб была выше, чем в контроле. В этих случаях, видимо, повышение их величины на стадии агонии было столь значительным, что к моменту гибели рыб, несмотря на уменьшение этого показателя, его абсолютная величина была близка к контролю.

Преобладание восстановленной формы никотинамидных коферментов приводит к превалированию анаэробного пути расщепления углеводов. Под воздействием токсикантов и гипоксии экономичный путь получения АТФ сменяется более древним механизмом — окислением глюкозы на аноксидатном пути. Воздействие метаболитов синезеленых водорослей, их токсинов, пестицидов и гипоксии вызывает нарушение процесса освобождения энергии химических связей, заключенных в белках, липидах и углеводах. Нарушение обмена углеводов происходит уже на первых этапах вследствие изменения соотношения окисленных и восстановленных форм никотинамидных коферментов, которые являются компонентами первых ферментов, участвующих в гликолизе, — анаэробных дегидраз. Помимо этого,

Т а б л и ц а 1. Влияние естественных и синтетических токсиكانтов на содержание никотинамидных коферментов в тканях рыб

Орган, ткань	Состояние рыб	Отклонение от контроля, %			
		НАД ⁺	НАД-Н ₂	НАД ⁺ +НАД-Н ₂	$\frac{\text{НАД}^+}{\text{НАД-Н}_2}$
О к у н ь					
Живые синезеленые водоросли					
Мозг	Агония	+ 2,7	- 25,1	- 5,6	+ 38,0
	Гибель	- 28,0	- 42,4	- 32,3	+ 21,4
Печень	Агония	+ 11,6	- 4,0	+ 9,6	+ 16,2
	Гибель	- 25,1	- 28,1	- 23,4	+ 3,9
Сердце	Агония	+ 58,6	+ 26,2	+ 48,0	+ 24,5
	Гибель	- 56,6	+ 33,5	- 25,0	- 67,5
Кишечник	Агония	+ 26,1	- 36,6	- 1,9	+ 81,5
	Гибель	- 26,7	- 28,7	- 27,7	+ 2,9
Мышцы	Агония	+ 32,7	- 79,2	- 1,1	+ 317,0
	Гибель	- 62,8	- 63,6	- 63,2	+ 2,2
Разлагающиеся синезеленые водоросли					
Мозг	Гибель	- 68,3	+ 124,7	- 10,5	- 85,9
Печень	То же	- 72,3	+ 67,9	- 17,1	- 83,1
Сердце	"	- 43,1	- 25,1	- 37,0	- 24,0
Кишечник	"	- 61,8	+ 44,4	- 9,5	- 73,8
Мышцы	"	- 69,7	- 28,6	- 55,2	- 57,6
Токсины синезеленых водорослей					
Мозг	Гибель	- 74,8	- 54,2	- 68,8	- 44,9
Печень	То же	- 49,5	+ 73,0	- 1,4	- 70,8
Сердце	"	- 56,1	+ 8,1	- 34,1	- 59,4
Кишечник	"	+ 7,9	+ 198,6	+ 102,0	- 64,1
Мышцы	"	- 68,4	+ 143,8	+ 6,2	- 73,9
Гипоксия					
Мозг	Гибель	- 17,0	+ 46,8	+ 2,1	- 43,2
Печень	То же	- 23,5	+ 92,8	+ 21,8	- 60,4
Сердце	"	- 10,3	+ 92,0	- 25,0	- 53,1
Кишечник	"	- 40,6	- 67,2	- 120,7	- 66,0
Мышцы	"	- 40,1	+ 143,0	+ 23,9	- 75,5
Хлорофос					
Мозг	Гибель	- 38,2	- 0,5	- 26,8	- 38,0
Печень	То же	- 53,1	- 25,9	- 42,5	- 36,4
Сердце	"	- 37,0	+ 21,4	- 17,1	- 48,4
Кишечник	"	- 54,5	- 19,4	- 37,1	- 43,7
Мышцы	"	- 51,1	- 62,4	- 55,0	+ 31,5
С у д а к					
ДДТ					
Мозг	Гибель	- 21,4	+ 25,5	- 2,1	- 37,6
Печень	То же	- 44,5	+ 30,5	- 21,4	- 57,5
Сердце	"	- 66,2	+ 43,4	- 43,6	- 76,4
Кишечник	"	- 49,7	+ 76,0	- 3,3	- 71,4
Мышцы	"	- 56,7	- 71,5	- 64,9	+ 61,9

снижение синтеза никотинамидных коферментов наряду с усиленными их затратами приводит к блокировке превращения веществ в цикле Кребса, поскольку эти коферменты входят во все ферменты указанного цикла (за исключением сукцинатдегидрогеназы). Общая блокировка цикла Кребса ведет также к нарушению переноса как на уровне сукцинатдегидрогеназы, так и терминального фермента дыхательной цепи — цитохромоксидазы [Маляревская, 1979].

Под влиянием изучаемых токсикантов в тканях рыб изменилось также содержание витаминов группы В.

Обнаруженное нами ранее снижение содержания витамина В₁ при действии метаболитов синезеленых водорослей мы рассматривали как специфическое. Развитие В₁-авитаминоза наступало у рыб вследствие расщепления витамина В₁ тиаминазой, активность которой повышалась под влиянием синезеленых водорослей [Маляревская и др., 1973]. Так, увеличение активности тиаминазы в печени и кишечнике рыб под действием синезеленых водорослей на 21–40% по сравнению с контролем вызывало у них начальную стадию паралича, а на 29,8–55,0% — их гибель. Снижение количества общего тиамина в печени на 43–60% приводило к начальной стадии паралича, на 65–74% — к гибели рыб. Поскольку инъекции тиамина рыбам, находившимся в начальной стадии паралича, прекращали у рыб судороги и продлевали их жизнь на 48 ч, в то время как рыбы, не получавшие инъекции на той же стадии, гибли через 2 ч, были основания считать В₁-авитаминоз специфичным изменением для интоксикации метаболитами синезеленых водорослей. Наблюдения в натуральных условиях также подтверждали нашу гипотезу. У рыб в период "цветения" в водохранилище активность тиаминазы увеличивалась, а содержание общего тиамина снижалось по сравнению с периодом, когда "цветение" отсутствовало. Чтобы убедиться в этом окончательно, следовало определить, каким образом нативные токсины, выделенные из синезеленых водорослей, влияют на рыб? У окуня нами на стадии агонии было установлено, что токсины синезеленых водорослей в летальных концентрациях вызывали повышение активности тиаминазы в тканях печени до 177%, кишечника — до 46–312% по сравнению с контролем. В опытах с судаком под действием токсинов синезеленых водорослей активность тиаминазы повышалась на 79–299%. Уровень общего тиамина при этом снижался в тканях печени рыб на 27–101%, кишечника — на 51–312%. Гипоксия также способствовала повышению активности тиаминазы в печени судака на 118%, в кишечнике — на 64% и снижению содержания общего тиамина в печени на 43%, в кишечнике — на 22% по сравнению с контролем. Такая же закономерность отмечена и для толстолобика (табл. 2).

Таким образом, нами впервые было обнаружено, что у рыб под влиянием токсинов, метаболитов синезеленых водорослей, ДДТ, хлорофоса и гипоксии развивается эндогенный В₁-авитаминоз. Недостаток витамина В₁ вызывает нарушение метаболических звеньев на участке, связывающем гликолиз с циклом Кребса, в самом цикле и в транскетолазной реакции пентозного цикла. Помимо того, возникают и другие существенные нарушения в обмене веществ, в частности в обмене ацетилхолина.

Участие витамина В₁ в обмене ацетилхолина в мозге связано с тем, что тиаминпирофосфат, являясь коферментом карбоксилазы, обеспечивает распад пировиноградной кислоты, осуществляя тем самым этап, необходимый

Таблица 2

Активность тиаминазы (мкг/г·ч) и содержание общего тиамина (мкг/г) в органах толстолобика

Условия опы- тов (внесено)	Орган	$M \pm m$	Отклонение от контроля, %	P
Т и а м и н а з а				
Контроль	Печень	468,47 ± 6,37	—	—
	Кишечник	553,25 ± 3,14	—	—
Синезеленые водоросли	Печень	603,18 ± 6,18	+ 28,9	< 0,001
	Кишечник	764,71 ± 11,05	+ 38,2	< 0,001
Контроль (к данным по действию хло- рофоса)	Печень	397,28 ± 18,99	—	—
	Кишечник	571,50 ± 11,58	—	—
Хлорофос	Печень	1069,26 ± 8,31	+ 61,8	< 0,001
	Кишечник	1066,19 ± 7,15	+ 82,5	< 0,001
Т и а м и н				
Контроль	Печень	4,30 ± 0,13	—	—
	Кишечник	2,42 ± 0,06	—	—
Синезеленые водоросли	Печень	2,46 ± 0,24	— 42,8	< 0,001
	Кишечник	1,34 ± 0,12	— 44,6	< 0,001
Контроль (к данным по действию хло- рофоса)	Печень	3,12 ± 0,18	—	—
	Кишечник	1,58 ± 0,09	—	—
Хлорофос	Печень	0,75 ± 0,01	— 76,0	< 0,001
	Кишечник	0,93 ± 0,001	— 41,7	< 0,001

для синтеза ацетилхолина. Поскольку витамин B_1 и холинэстераза связаны между собой в метаболизме и обеспечивают нормальное функционирование нервной системы, интоксикация и гипоксия, затрагивающие процессы, протекающие в нервной системе, не могли не повлиять на активность холинэстеразы. Мы наблюдали ее угнетение под действием синезеленых водорослей. Величина активности холинэстеразы в опытах, описанных выше, под действием синезеленых водорослей снизилась по сравнению с контролем у окуня в мозге и печени на 61–50%, их токсинов — на 22–38%, ДДТ — на 50–80%, гипоксии — на 87–89%, хлорофоса — на 42–73%; у карася под влиянием водорослей — на 21–51%, их токсинов — на 24–77%, ДДТ — на 9–59%.

Множественность нарушений метаболических процессов в тканях обусловлена также изменением и других витаминов группы В в тканях рыб, в частности витамина B_2 и B_{12} [Маляревская и др., 1973].

Следовательно, полученные нами данные свидетельствуют о том, что при действии на рыб токсикантов различного происхождения и гипоксии происходит нарушение процесса освобождения энергии химических связей, заключенных в белках, липидах и углеводах вследствие изменения регуляторов обмена — коферментов и коферментных витаминов.

ЛИТЕРАТУРА

- Букин В.Н., Поволоцкая К.Л., Кондрашова А.А. и др. Флуорометрический метод определения тиамин. — В кн.: Витаминные ресурсы и их использование. М.: Изд-во АН СССР, 1955, сб. 3, с. 91–99.
- Веселов Е.А. Методы изучения газообмена у рыб и водных беспозвоночных. — В кн.: Жизнь пресных вод. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1956, т. 4, кн. 2, с. 79–124.
- Елисеева Г.Д. Флуорометрическое определение тиамин, кокарбоксилазы и рибофлавина в биохимических объектах. — В кн.: Витамины. Киев: Изд-во АН УССР, 1953, вып. 1, с. 38–57.
- Карзинкин Г.С., Кривобок М.Н. Методика постановки балансовых опытов по изучению обмена азота у рыб. — В кн.: Руководство по методике исследований физиологии рыб. М.: Изд-во АН СССР, 1962, с. 108–126.
- Лабори А. Регуляция обменных процессов. М.: Медицина, 1970.
- Маляревская А.Я., Биргер Т.И., Арсан О.М., Соломатина В.Д. Влияние синезеленых водорослей на обмен веществ у рыб. Киев: Наук. думка, 1973.
- Маляревская А.Я. Обмен веществ у рыб в условиях антропогенного евтрофирования водоемов. Киев: Наук. думка, 1979.
- Ньюсхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма. М.: Мир, 1977.
- Савченко Н.С., Дятловицкая Ф.Г., Ярошенко В.А., Альбова Е.А. Методы химического и микробиологического анализа воды. Киев: Госмедиздат УССР, 1961.
- Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир, 1977.
- Чаговец Р.В., Лахно Е.В. Коферментные витамины и коферменты. — В кн.: Витамины, Киев: Изд-во АН СССР, 1974, вып. 7, с. 3–10.
- Энгельгардт В.А., Татарская В.И. О коферменте тиаминазы. — Биохимия, 1948, т. 13, вып. 3, с. 279–287.
- Huff J.W., Perlzweig W.A. The fluorescent condensation product of N¹-methylnicotinamide and acetone. — J. Biol. Chem. Baltimore. Amer. Soc. Biol. Chem., 1947, vol. 147, N 1, p. 157–167.

УДК 582.232.6:628.394

АДАПТАЦИОННЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МОРСКОЙ МИКРОФЛОРЫ ПРИ УТИЛИЗАЦИИ УГЛЕВОДОРОДОВ В ПРИСУТСТВИИ ДДТ

И.А. ДИВАВИН, Ю.П. КОПЫТОВ

Институт биологии южных морей АН УССР

Из веществ, загрязняющих океан, наибольшую опасность для гидробионтов представляют углеводороды и пестициды. Опасность пестицидов заключается не только в их высокой токсичности, но и в способности к накоплению и передаче по звеньям пищевой цепи. Она усиливается тем, что у пестицидов нет аналогов в живой природе и, следовательно, отсутствуют природные механизмы их утилизации. Концентрация пестицидов в Мировом океане постепенно возрастает, а перемещаясь с океанскими течениями, они попадают в самые отдаленные районы и оказывают влияние практически на все экосистемы. Таким образом, пестициды, как и углеводороды, можно сейчас считать одним из экофакторов морской среды антропогенного характера. Задача изучения их влияния на различные биологические процессы приобрела актуальный характер. В то же время известно, что основной путь утилизации этих соединений — микробиологическое окисление. В то время как углеводородоокисляющих микроорганизмов выделено и изучено дос-

таточно много [Миронов, 1971], выделить культуру микроорганизмов, способных усваивать ДДТ в качестве единственного питательного субстрата, никому еще не удавалось [Ротмистров и др., 1975]. Однако ДДТ окисляется накопительными культурами микроорганизмов.

В данной работе мы определяли биохимические изменения в углеводородокисляющих микроорганизмах в процессе их адаптации к ДДТ и влияние различных концентраций ДДТ на скорость окисления нефти и нефтепродуктов. Как известно, пестициды (и ДДТ в том числе) являются производными углеводов. Они плохо растворимы в воде и весьма хорошо в различных углеводородах. Поэтому они могут легко аккумулироваться в нефтепродуктах. Можно считать, что морская микрофлора испытывает более высокий пресс со стороны пестицидов по сравнению с прочими водными организмами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проводили со свежевыделенной смешанной культурой нефтеокисляющих микроорганизмов, полученной из морской воды. Подробная методика эксперимента приводится в настоящем сборнике в статье Ю.П. Копытова и И.А. Дивавина. В одной серии опытов в среду добавляли анастасиевскую нефть (1 мл/л), перемешивали 20 мин, отстаивали в течение суток. Нижний слой эмульсий фильтровали через слой ваты и разливали по колбам с добавками ДДТ в количестве 0,1–1,0–10,0 мг/л. В другой серии опытов в среду добавляли соляр (450 мг/л), эмульгировали и также разливали по колбам с добавкой ДДТ в количестве 0,01 мг/л. Полученные эмульсии нефти и соляра с соответствующими добавками ДДТ стерилизовали и использовали в опытах. Колбы с внесенной культурой нефтеокисляющих микроорганизмов инкубировали при комнатной температуре на качалке при 150 об/мин. Продолжительность экспериментов составляла 6 суток. На 6-е сутки в опытах с нефтью и на 3-и и 6-е в опытах с соляром углеводороды экстрагировали CCl_4 для определения остаточного количества нефтепродуктов. Биомассу отделяли центрифугированием, отмывали от среды и использовали для определения сухой массы и биохимических анализов. Содержание свободных нуклеотидов и нуклеиновых кислот определяли по методу А.С. Спирина [1958]. Кислоторастворимые продукты разделяли на колонках с акрилексом Р-2 на нуклеотиды, нуклеозиды и основания. В первой фракции определяли количество рибо- и дезоксирибонуклеотидов [Шаткин, 1972]. На 6-е сутки в опытах с соляром определяли состав и содержание отдельных групп свободных нуклеотидов на колонках с дауэксом-1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что условия культивирования существенно влияют на биохимический состав микроорганизмов [Ткаченко и др., 1971]. Адаптация микроорганизмов к иному субстрату, связанная с выработкой новых ферментов, не может, видимо, происходить без изменений РНК, ДНК, белка и фонда свободных низкомолекулярных предшественников этих макромолекул. Данные наших опытов, представленные в табл. 1, подтверждают

Таблица 1

Количественные результаты биохимического анализа, роста микроорганизмов и утилизации нефтепродуктов (%)

Культура	Нуклеотиды	Основания	Дезоксирибонуклеотиды	Рибонуклеотиды	РНК	ДНК	Белок	Биомасса	Соляр
И	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
С-1	24,9	43,6	20,6	55,6	105,1	62,8	34,2	921,0	56,7
Д-1	24,2	43,6	18,7	65,5	107,8	65,9	31,0	1010	60,2
С-2	22,9	39,1	5,0	62,5	110,3	66,6	55,3	1213	47,1
Д-2	24,2	48,3	4,2	75,8	113,0	52,0	46,2	1176	55,0

Обозначения: И — исходная культура; С-1 — рост на соляре 3 суток; С-2 — то же 6 суток; Д-1 — рост в присутствии ДДТ (0,01 мг/л) 3 суток; Д-2 — то же 6 суток.

это. Как видно, при переносе накопительной нефтеокисляющей культуры микроорганизмов со среды МПА на среду с соляром происходят значительные изменения в биохимическом составе микроорганизмов. Через 3 суток уменьшилось содержание практически всех исследуемых соединений, кроме РНК. Через 6 суток этот процесс продолжался по отношению лишь к таким компонентам клетки, как свободные основания и дезоксирибонуклеотиды. Для других соединений мы наблюдали процесс некоторого восстановления после значительного спада. Наиболее существенны изменения дезоксирибонуклеотидов, содержание которых падает до уровня 5% по отношению к исходной культуре. В то же время снижение рибонуклеотидов до 55–62% не отражается на синтезе РНК. Данные по биохимическому составу микроорганизмов получены в период логарифмического роста и перехода в стационарную фазу. В это время происходит интенсивная утилизация соляра. Так, через 3 суток (лог-фаза) его осталось лишь 56,7% от исходной концентрации. При переходе от лог-фазы к стационарной окисление замедляется, хотя идет еще достаточно интенсивно.

Влияние ДДТ через 3 суток проявляется только в повышении содержания рибонуклеотидов, через 6 суток ДДТ тормозит процесс восстановления ДНК и, что особенно важно, — белка. Вероятно, с этими группами веществ связано замедление утилизации соляра микроорганизмами в присутствии ДДТ. На среде с соляром скорость окисления равна 41 мг/л в сутки, а в присутствии ДДТ — 35 мг/л. Следует, видимо, также отметить, что в присутствии ДДТ в культуре микроорганизмов уменьшается содержание гуаниловых нуклеотидов и повышается количество адениловых (табл. 2). Хорошо известно, что парафины в первую очередь потребляются микрофлорой. Этой причиной, а также достаточно высокой концентрацией соляра объясняются хороший рост микроорганизмов и интенсивное окисление субстрата.

В другой серии опытов при использовании в качестве источника углерода анастасиевской нефти (в концентрации 40 мг/л) через 6 суток микроорганизмы находились в стадии отмирания (табл. 3), поскольку количество биомассы составляло 20–25% от начальной. Но к этому времени количество утилизированной нефти в отсутствие ДДТ было не намного меньше, чем в опыте с соляром (соответственно 47 и 53%), хотя скорость окисления в этот момент была намного меньше (соответственно 1,9 и 41 мг/л в сутки).

Таблица 2

Содержание кислоторастворимых нуклеотидов микроорганизмов, мол. %

Культура	Цитидиловые	Уридилиловые	Гуаниловые	Адениловые
И	22,48	27,16	26,69	23,65
С-2	20,98	29,05	27,03	22,93
Д-1	21,88	24,72	23,19	30,19

Таблица 3

Влияние ДДТ на скорость окисления нефти в биомассу микроорганизмов

Культура	Концентрация угле- водородов, мг/л		Скорость био- окисления, мг/л в сутки	Биомасса М/о, %	
	начальная	конечная		начальная	конечная
К-1 (среда+нефть)	38,8	32,3		100	
К-2 (то же+М/о)	38,8	20,7	1,9	100	27,3
О-1 (то же+0,1 мг/л ДДТ)	38,9	24,6	1,3	100	24,8
О-2 (то же+1мг/л ДДТ)	39,8	27,2	0,8	100	22,6
О-3 (то же+10 мг/л ДДТ)	38,8	29,9	0,4	100	21,3

Обозначения: К – контроль; О – опыт; М/о – микроорганизмы.

Таблица 4

Биохимический состав микроорганизмов, в % к контролю

Культура	РНК	ДНК	Свободные нук- леотиды	Белок
К-2	100,0	100,0	100,0	100,0
О-1	84,5	84,8	80,4	100,0
О-2	87,5	86,6	67,5	98,0
О-3	85,0	87,8	54,0	102,0

Скорость окисления нефти в фазе отмирания микроорганизмов зависит от концентрации ДДТ, причем величина изменения скорости окисления имеет тенденцию к уменьшению.

В этой серии опытов мы проследили влияние различных концентраций ДДТ как на скорость окисления нефти, так и на биохимические показатели микроорганизмов. Как видно из табл. 4, концентрации ДДТ от 0,1 до 10 мг/л снижают содержание нуклеиновых кислот практически одинаково, содержание белка не изменяется, количество же кислоторастворимых нуклеотидов имеет ярко выраженную зависимость от концентрации ДДТ.

Таким образом, ингибирование процесса биodeградации нефти и нефтепродуктов различными концентрациями ДДТ весьма значительно. При

отсутствии отдельного определения ДДТ и нефтяных углеводородов невозможно сказать, происходила ли деградация ДДТ. По данным Л.Ф. Ермаковой с соавторами [1973], черноморская микрофлора использовала за 45 суток 20% ДДТ, внесенного в качестве единственного источника углерода и энергии. Подавление процесса биodeградации нефтепродуктов, вероятно, отражает те изменения, которые происходят в содержании биологически активных компонентов микробной клетки.

ЛИТЕРАТУРА

- Ермакова Л.Ф., Грель Е.В., Штевнева А.И. Окисление нефтепродуктов и ДДТ в морских водах и донных отложениях. — Материалы Всесоюз. симпоз. по изученности Черного и Средиземного морей, использованию и охране их ресурсов. Киев: Наук. думка, 1973, с. IV, ч. 30.
- Миронов О.Г. Нефтеокисляющие микроорганизмы в море. Киев: Наук. думка, 1971.
- Ротмистров М.Н., Гвоздяк П.И., Ставская С.С. Микробная деструкция синтетических органических веществ. Киев: Наук. думка, 1975.
- Спирин А.С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот. — Биохимия, 1958, т. 23, № 5, с. 656–660.
- Ткаченко В.В., Рылкин А.Н., Шкидченко А.Н., Стеркин В.Э. Влияние условий культивирования на фракционный состав белков микроорганизмов. — Микробиология, 1971, т. 40, № 4, с. 651–654.
- Шаткин А. Колориметрические методы определения ДНК, РНК и белка. — В кн.: Методы вирусологии и молекулярной биологии. М.: Мир, 1972, с. 184–189.

УДК 582.232.6:628.394

АДАПТАЦИЯ МОРСКОЙ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩЕЙ МИКРОФЛОРЫ К КОМБИНИРОВАННОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ (экологические и физиолого-биохимические аспекты)

Ю.П. КОПЫТОВ, И.А. ДИВАВИН

Институт биологии южных морей АН УССР

В настоящее время загрязненность Мирового океана изменяется не только количественно, но и качественно. Кроме нефтепродуктов, в морскую воду ежегодно в возрастающих количествах стали поступать такие опасные соединения, как пестициды, фенолы, поверхностно-активные вещества (детергенты) и т.д. Возрастает загрязненность морей, особенно внутренних, всевозможными хозяйственно-бытовыми стоками, имеющими в своем сложном составе легкоусвояемую для гетеротрофных микроорганизмов органику. Можно с уверенностью сказать, что в настоящее время ни один из поллютантов в море практически не встречается в чистом виде. Очевидно, наличие сопутствующих веществ будет оказывать определенное влияние на протекание процесса биodeградации нефтяных углеводородов. Поэтому особый интерес представляет исследование процесса адаптации морской микрофлоры к утилизации субстратов углеводородного характера в присутствии других органических соединений.

Изучение динамики изменений физиолого-биохимических показателей (содержание ДНК, РНК, свободных нуклеотидов) позволяет судить о глу-

бные, скорости и характере адаптационных перестроек, происходящих в бактериальных клетках при смене питательных субстратов. В нашей работе мы исследовали динамику изменений некоторых физиолого-биохимических показателей нефтеокисляющих и фенолразрушающих микроорганизмов в процессе утилизации как отдельных поллютантов (нефть, фенол), так и при их сочетании с веществами белковой или углеводной природы. Также была изучена скорость биodeградации поллютантов в данных условиях с целью выяснения влияния дополнительных источников питания на процесс окисления нефти.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Данное исследование состояло из двух серий опытов. Каждая из серий имела три варианта. В первой серии опытов изучали процесс биodeградации анастасиевской нефти накопительной культурой нефтеокисляющих микроорганизмов в присутствии глюкозы. Накопительную культуру выделяли из морской воды методом селективных культур по Л.Г. Родиной [1965]. Посевной материал выращивали на чашках Петри с мясопептонным агаром в течение 2 суток. Делали смыв средой Диановой—Ворошиловой, дважды отмывали бактериальные клетки от агара. Микроорганизмы отделяли центрифугированием, ресуспендировали в той же минеральной среде и вносили по 50 мл инокулята в колбы со средой, содержащей в первом варианте глюкозу (100 мг/л), во втором глюкозу (50 мг/л) и в третьем эмульгированную анастасиевскую нефть (100 мг/л).

Во второй серии опытов исследовали процесс биodeградации фенола чистой культурой *Bacterium album* в присутствии пептона. Эта культура известна как активный утилизатор фенола [Ермолаев, 1975]. Подготовку посевного материала проводили по описанной выше методике, однако вместо среды Диановой—Ворошиловой использовали минеральную среду Калабиной—Роговской. Инокулюм в объеме 50 мл вносили в колбы со средой, содержащей в первом варианте пептон (200 мг/л), во втором пептон и фенол (по 100 мг/л), в третьем фенол (200 мг/л).

Колбы инкубировали при комнатной температуре в течение 3 суток на качалке при непрерывном перемешивании со скоростью 150 об/мин. Каждые сутки из колб для анализов отбирали по четыре пробы объемом 50 мл. Пробы с нефтью экстрагировали гексаном, в экстракте весовым методом определяли количество оставшейся нефти. Фенол определяли колориметрически по Столбунову [1966]. Биомассу отделяли центрифугированием (8 тыс. об/мин, 20 мин), сухой вес биомассы определяли по общепринятой методике [Д. Мейнелл, Э. Мейнелл, 1967]. Экстракцию свободных нуклеотидов проводили 0,5 N HClO₄ в течение часа на холоду, содержание их определяли спектрофотометрически [Спирин, 1958]. Количество нуклеиновых кислот определяли по методу Нечаевой [1966], содержание белка — по методу Барбурга [цит. по: Тавровская и др., 1972].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии экспериментов рост накопительной культуры нефтеокисляющих микроорганизмов на среде с глюкозой отличался короткой лаг-фазой. Уже через сутки после начала опыта урожай биомассы в первом варианте достиг максимума, в 8,3 раза превысив вес биомассы инокулюма. После этого наступила фаза ускоренного отмирания клеток, в результате чего сухой вес биомассы снизился до 154 мг/л (см. таблицу). На 3-и сутки биомасса микроорганизмов вновь возросла до 252 мг/л. Это вторичное увеличение биомассы микроорганизмов, по-видимому, связано с использованием бактериями веществ, поступивших в культуральную среду из отмирающих клеток в результате их автолиза. В микробиологии это явление называется критическим ростом [Роуз, 1971].

Иной характер роста микроорганизмов наблюдался во втором варианте опыта на среде с глюкозой и нефтью. В течение первых суток сухой вес биомассы увеличился в 1,8 раза, достигнув величины 150 мг/л. За период между 1-ми и 2-ми сутками наблюдался относительно небольшой прирост биомассы — она возросла всего до 186 мг/л. За 3-и сутки сухой вес биомассы увеличился до 260 мг/л. Такой характер роста биомассы микроорганизмов напоминает явление, известное микробиологам под названием диауксия [Шлегель, 1972], которое отмечается при выращивании микроорганизмов на среде, содержащей смесь питательных веществ. В этих условиях наблюдается последовательная утилизация субстратов — по мере истощения запасов одного питательного вещества микроорганизмы адаптируются к потреблению другого. При этом на кривой роста биомассы появляется характерный перегиб, соответствующий моменту переключения на утилизацию нового субстрата. Похожая картина наблюдалась в рассматриваемом варианте опыта. Возможно, при совместном присутствии глюкозы и нефти происходит их последовательная утилизация. Вероятно, по этой причине в данном варианте опыта остаточная концентрация нефти была на 11% выше, чем при росте микроорганизмов на среде с одной нефтью.

В третьем варианте опыта, где в качестве источника углерода и энергии микроорганизмами использовалась анастасиевская нефть, характер роста биомассы первые двое суток количественно практически не отличался от второго варианта опыта. Резкое отличие по сухому весу биомассы микроорганизмов было отмечено через 3 суток. Во втором варианте опыта в это время вновь наблюдался рост клеток, а в третьем варианте их биомасса снизилась с 192 до 172 мг/л.

Сказанное выше позволяет предположить, что используемые микроорганизмы при росте на нефти в присутствии глюкозы в первую очередь утилизируют нефтяные углеводороды и только через 2 суток адаптируются к потреблению углеводов. При этом в культуральной среде еще имеются углеводороды, доступные для их ферментных систем.

Динамика биохимических изменений в составе клеточного вещества бактерий оказалась также характерной для каждого из используемых субстратов и в целом отражала характер роста на нем данной культуры микроорганизмов. Так, "колебательному" росту бактерий на глюкозе соответствовала приблизительно такая же картина изменения биохимических показателей, причем увеличение количества биомассы сопровождалось

Содержание биохимических компонентов и рост биомассы микроорганизмов при различных условиях культивирования

Источник углерода	Время опыта, час	Биомасса, мг/л	ДНК, %	РНК, %	Свободные нуклеотиды, %	Белок, отн. %
Инокулюм		84	2,32	9,78	2,35	100
Глюкоза	24	698	0,34	2,43	1,47	67
Нефть	24	158	0,77	6,34	2,60	25
Глюкоза+нефть	24	150	1,30	9,56	3,90	132
Глюкоза	48	154	1,71	10,11	4,59	360
Нефть	48	198	0,75	3,90	4,00	175
Глюкоза+нефть	48	186	1,12	5,97	3,38	373
Глюкоза	72	252	0,93	4,57	3,35	13
Нефть	72	172	0,79	3,61	3,28	360
Глюкоза+нефть	72	260	0,76	3,93	3,29	357
Инокулюм		81	1,44	7,60	1,22	100
Пептон	24	290	0,28	1,60	0,30	78
Фенол	24	330	0,38	2,01	0,39	74
Пептон+фенол	24	250	0,49	3,36	1,26	100
Пептон	48	120	0,97	5,29	0,68	204
Фенол	48	280	1,40	5,50	0,67	227
Пептон+фенол	48	225	1,61	4,62	0,65	76
Пептон	72	137	1,20	3,78	0,75	80
Фенол	72	357	1,27	3,37	0,59	78
Пептон+фенол	72	310	0,91	2,82	0,53	93

лось уменьшением относительного количества исследуемых компонентов клеточного вещества, и наоборот. Особый интерес представляет факт изменения содержания ДНК на единицу сухой биомассы. Вероятно, это объясняется тем, что бактериальный рост сопровождается изменением размеров и веса бактериальных клеток. Изменение содержания других клеточных компонентов, особенно РНК, видимо, вызвано этими же причинами, но здесь уже начинают играть значительно большую роль изменения скорости биосинтеза этих веществ в процессе утилизации субстрата. Содержание этих компонентов в микробных клетках может колебаться в значительных пределах и определяется в основном скоростью протекания метаболических реакций. Интересным является также тот факт, что биохимические показатели используемой культуры бактерий при их росте на среде с нефтью и на комбинированном субстрате через 3 суток опыта оказались практически одинаковыми, и это несмотря на то, что, как отмечалось выше, к этому времени характер роста стал значительно различаться. Биохимические показатели культуры, выращенной на среде с глюкозой через 3 суток, также ненамного отличались от соответствующих показателей двух других субстратов, за исключением содержания белка, где разница была значительной. Это, вероятно, говорит о том, что уровень метаболизма через 3 суток на всех субстратах различается незначительно, невзирая на разницу в скорости роста.

В целом необходимо отметить, что характер биохимических изменений в составе бактериальных клеток при росте на комбинированном субстрате

был гораздо более похож на аналогичные изменения в культуре, выращенной на среде с нефтью, чем при выращивании микроорганизмов на среде с глюкозой. Как было показано выше, при наличии глюкозы было утилизировано углеводов на 11% меньше, чем при росте на среде с одной нефтью. Следовательно, наличие в морской воде, загрязненной нефтью других органических соединений, например, углеводов, может привести к значительному снижению скорости биodeградации нефти, о чем предупреждают в своих работах и другие исследователи [Миронов, 1972].

Во второй серии экспериментов изучали особенности роста *V. alburn* на среде Калабиной—Роговской, содержащей пептон (1-й вариант), пептон и фенол (2-й вариант) и только фенол (3-й вариант). Фенол считается весьма токсичным для микроорганизмов веществом. Если для нефти предельно допустимая концентрация (ПДК) установлена в пределах 0,1–0,3 мг/л, то для фенола она на два порядка ниже и равна 0,001 мг/л. Однако хорошо адаптированные штаммы фенолразрушающих микроорганизмов, к которым относится и используемая нами культура, способны расти при высоких концентрациях фенола, используя его в качестве источника углерода и энергии.

Несмотря на то, что во второй серии опытов условия эксперимента значительно отличались от первой серии (другая культура микроорганизмов, другая минеральная среда, другие субстраты — пептон вместо глюкозы и фенол вместо нефти), в обоих случаях наблюдались некоторые общие закономерности. Из таблицы видно, что кривая роста биомассы фенолразрушающих микроорганизмов на пептоне (1-й вариант) по своему характеру практически не отличается от роста накопительной культуры на среде с глюкозой. Имеющиеся различия касаются количественного аспекта роста — максимальный урожай биомассы на среде с пептоном значительно ниже, чем на среде с глюкозой. Рост фенолразрушающих бактерий на среде с фенолом отличается от роста на среде с пептоном в основном количественно. Выход биомассы на 1-е сутки здесь выше, чем на среде с пептоном, и снижение количества биомассы через 2 суток выражено не столь отчетливо. Вторичное увеличение биомассы через 72 часа после начала опыта даже несколько превосходит первый максимум. Рост бактерий на комбинированном субстрате как по качественным, так и по количественным аспектам роста в целом ближе к росту на феноле, что, видимо, свидетельствует об одновременном потреблении субстратов с некоторым преимуществом в пользу фенола. Лучший рост фенолразрушающих бактерий на среде с фенолом по сравнению с ростом на среде с пептоном, вероятно, свидетельствует о наличии у этих микроорганизмов ферментных систем, способных легко и быстро окислять фенол. Необходимо отметить следующее: в составе белка и белковых гидролизатов всегда имеется некоторое количество ароматических аминокислот (фенилаланин, тирозин), механизм утилизации которых весьма сходен с механизмом утилизации фенола. При этом используются некоторые общие ферментные системы. Частичная окисленность фенола тоже, вероятно, увеличивает его доступность в качестве питательного субстрата для микроорганизмов. Надо полагать, что именно по этим причинам столь широко распространена в природе способность к разрушению фенола среди самых разнообразных групп микроорганизмов [Ротмистров и др., 1975].

Изучение биохимических показателей в процессе утилизации субстратов показало, что рост фенолразрушающих микроорганизмов как на среде с пептоном, так и на среде с фенолом сопровождается примерно одинаковыми изменениями. Картина этих изменений, особенно при использовании фенола, очень близка качественно к изменениям, наблюдавшимся при выращивании накопительной нефтеокисляющей культуры микроорганизмов на среде с глюкозой. Надо также отметить колебательный характер этих изменений, установленный нами ранее при использовании глюкозы, причем эти колебания синхронны с колебаниями плотности биомассы и также находятся в противофазе. Эта закономерность нарушается лишь для РНК и свободных нуклеотидов через 3 суток при выращивании на среде с пептоном. Рост бактерий на комбинированном субстрате сопровождается изменениями, заметно отличающимися от происходящих при культивировании на отдельных субстратах. Особенно это заметно для ДНК (через 72 часа), а также белка и свободных нуклеотидов в течение всего опыта. Видимо, как и в первой серии опытов, изменения в метаболизме бактериальных клеток не подчиняются закону аддитивности. Однако через 3 суток биохимические показатели бактерий, выращенных на разных субстратах, оказались близкими по своим значениям. При росте бактерий на среде с фенолом в присутствии пептона в конце опыта осталось 7,5 мг/л фенола, в то время как при выращивании этих микроорганизмов в среде с одним фенолом его осталось 5,9 мг/л.

Таким образом, наличие легко усваиваемых соединений белкового или углеводного характера замедляет процесс утилизации углеводов, в том числе и ароматических.

ЛИТЕРАТУРА

- Ермолаев К.К. Распространение и эколого-биохимические характеристики фенолразрушающих микроорганизмов Черного моря: Автореф. ... канд. биол. наук. Севастополь, 1975.
- Мейнелл Д., Мейнелл Э. Экспериментальная микробиология. М.: Мир, 1967.
- Миронов О.Г. Биологические ресурсы моря и нефтяное загрязнение. М.: Пищ. пром-сть, 1972.
- Нечаева Е.П. К методике определения нуклеиновых кислот в молодых зеленых растениях. — Физиология растений, 1966, т. 13, № 5, с. 919–923.
- Родина Л.Г. Методы водной микробиологии. М.; Л.: Наука, 1965.
- Ротмистров М.Н., Гвоздяк П.И., Ставская С.С. Микробная деструкция синтетических органических веществ. Киев: Наук. думка, 1975.
- Роуз Э. Химическая микробиология. М.: Мир, 1971.
- Спириин А.С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот. — Биохимия, 1958, т. 23, № 5, с. 656–660.
- Столбунов А.К. Роль бактерий в самоочищении некоторых днепровских водохранилищ от фенольного загрязнения. — Гидробиол. журн., 1966, № 2, вып. 2, с. 26–31.
- Тавровская О.Л., Липсиц Д.В., Горшкова Т.А. Азотсодержащие вещества картофеля и методы их определения. — Тр. Ин-та картоф. хоз-ва, 1972, вып. 11, с. 3–46.
- Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир, 1972.

НЕКОТОРЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ ПРИВЫКАНИЯ

К.А. КУЗЬМИНА, Л.В. ЗОТОВА

Саратовский государственный медицинский институт

Привыкание — толерантность (резистентность) — состояние приспособления, характеризующееся ослаблением реакции на те же количества яда. Для получения прежнего эффекта требуется увеличение дозы [Крамер, Камерон, 1975]. По мнению Н.В. Лазарева [1967], привыкание — это сложная перестройка функций, в результате которой изменяется сопротивляемость организма к очень разнообразным воздействиям, имеющим тенденцию нарушить гомеостаз. Привыкание к вредному веществу развивается как результат максимального напряжения компенсационных механизмов. В условиях длительного воздействия яда за привыканием неизбежно следует фаза срыва и выраженной интоксикации. Именно поэтому привыкание рассматривается как фаза хронического отравления [Люблина и др., 1971; Голубев и др., 1975; Толоконцев, Филов, 1976; Трахтенберг и др., 1978].

Следовательно, обнаружение симптомов привыкания, проявляющегося, в частности, в исчезновении предпатологических изменений или патологических сдвигов со стороны различных органов и систем в начальный период токсического воздействия яда, свидетельствует о том, что данный яд даже в низких концентрациях обладает повреждающим действием.

Исследованиями многих авторов было показано, что в крови организма, находящегося в фазе привыкания к данному яду, при одних и тех же условиях токсического воздействия обнаруживаются меньшие количества токсиканта, чем в крови контрольного животного, подвергающегося затравке впервые. Но если животное, находившееся в условиях длительного контакта с ядом, уже миновало фазу привыкания и приобрело повышенную чувствительность к яду, накопление вещества в крови оказывается более значительным, чем в контроле [Добрынина, 1968; Люблина и др., 1971; Голубев и др., 1973].

Конкретные механизмы привыкания во многом зависят от физико-химических и токсических свойств яда, характера его воздействия, путей поступления в организм, а также от видовых особенностей организмов. К числу наиболее общих механизмов привыкания с учетом уровня организации живых систем относятся следующие.

1. Механизмы изоляции организма от токсикантов. Это в первую очередь механизмы, обеспечивающие снижение проницаемости клеточных мембран, препятствующие проникновению яда через контактирующие поверхности, и механизмы обезвреживания яда на месте первичного контакта с ним. Последнее может быть достигнуто за счет денатурации белковых поверхностных структур, выработки защитных белков (слизи), увеличения активности детоксицирующих ферментов, увеличения сорбционной способности барьерных тканей, снижения активности рецептивных субстанций клеточных мембран и др.

2. Механизмы, снижающие концентрацию яда, проникшего в жидкие среды организма (кровь, лимфу), что может обеспечиваться связыванием яда с полисахаридами и белками, с их наиболее реактивными группами (аминными, карбоксильными, сульфгидрильными и др.), а также детоксикацией яда ферментами жидких сред организма.

3. Механизмы, препятствующие проникновению яда в ткани из крови и лимфы. К числу таковых относятся снижение проницаемости гистогематических барьеров, увеличение сорбционной и детоксикационной способности барьерных систем (например, лимфатических узлов, печени и др.).

4. Механизмы, снижающие токсическое воздействие яда (в первую очередь на органы и ткани-мишени). Последнее может быть достигнуто за счет депонирования яда в "нейтральных" органах и тканях, ускорения разрушения и инактивации яда в тканях и органах за счет повышения активности соответствующих ферментов, снижения чувствительности рецептивных субстанций клеток-мишеней, активации дублирующих механизмов, нивелирующих в определенной степени нарушенную функцию.

5. Механизмы, усиливающие элиминацию яда из организма, что может явиться следствием (в зависимости от природы яда) или усиления или угнетения активности соответствующих ферментов.

Таким образом, привыкание—это результат ряда сложных механизмов взаимодействия яда и организма на разных уровнях его организации. И в настоящее время привыкание обнаружено к самым разнообразным ядам [Люблина и др., 1971; Голубев и др., 1973].

Понятие "привыкание" тесно переплетается с понятием "изменчивость". Последняя подразделяется на мутационную и модификационную. Модификационная изменчивость характеризует границы приспособительных реакций отдельной особи, так как зависит от нормы реакции, определяемой генотипом данного организма. Мутационная изменчивость лежит в основе приспособительных механизмов популяции в целом. В условиях повторного воздействия токсического агента срабатывает механизм естественного отбора, и число особей с "полезной" мутацией возрастает; в итоге популяция в целом приобретает устойчивость к данному яду. Привыкание за счет мутационной изменчивости — более медленный процесс, чем за счет модификационной. В механизмах мутационной изменчивости у прокариот наибольшую роль играют мутации внехромосомной ДНК, у эукариот — преимущественно хромосомной ДНК. В связи с этим толерантность к химическим агентам на уровне популяции у прокариот развивается быстрее, чем у эукариот. На молекулярном уровне механизм "полезной" мутации сводится к изменению количественного синтеза или активности ферментных систем, участвующих во всех перечисленных выше механизмах привыкания и в первую очередь ферментов, обеспечивающих метаболизм яда в организме.

Резистентность может явиться следствием не только увеличения активности определенных ферментов, но и снижения ферментной активности. Последнее связано с особенностями токсического эффекта данного яда на организм: яд может ослаблять или усиливать ту или иную функцию. По мнению ряда авторов [Толоконцев, Филов, 1976], показатели привыкания к яду могут быть неспецифическими и специфическими, отражающими патогенез отравления. Чаще всего о наличии или отсутствии привыкания к

тому или иному токсическому агенту судят по интегральным неспецифическим тестам (выживаемость, величины LD_{50} , LD_{100}) в условиях повторного воздействия яда на организм.

Основным недостатком подобных методических подходов является малая степень их информативности с точки зрения возможностей вскрытия интимных механизмов токсического эффекта яда, ибо при этом наиболее ранние изменения в организме, не приводящие к гибели, но указывающие на интоксикацию, не принимаются во внимание. Кроме того, они затрудняют научно обоснованное прогнозирование влияния токсикантов на состояние популяции и экосистемы в целом.

В последнее время при решении ряда вопросов токсикологии, в том числе и привыкания, все больше внимания уделяется специфическим для данного яда тестам, которые определяются их точкой приложения [Гигатулина и др., 1971; Голубев и др., 1973; Толоконцев, Филон, 1976]. Так как основным звеном в сложном комплексе механизмов привыкания являются изменения ферментных систем, определяющие в значительной степени судьбу яда в организме, становится очевидным, что исследование привыкания на молекулярном уровне, в частности изучение состояния ферментных систем в процессе формирования привыкания, является весьма перспективным.

Известно, что в процессе метаболизма яда в организме он может подвергаться конъюгации, окислению, декарбоксилированию, дезаминированию и пр. К числу ферментов, катализирующих метаболизм многих ядов, относятся такие, как каталаза, пероксидаза, цитохромоксидаза и другие, содержащие сульфгидрильные группы. Последние входят также в состав многих белков, в том числе и альбуминов, обеспечивающих механизмы связывания и депонирования многих ядов [Торчинский, 1977]. Не случайно поэтому, что перечисленные выше ферменты и SH-группы в последние годы стоят в центре внимания многих токсикологических исследований.

В водной токсикологии изучение биохимических параметров затруднено в связи с невозможностью использования существующих методов их определения без соответствующей коррекции методических подходов, особенно при работе с мелкими гидробионтами. Нами разработаны дополнительные методические приемы, позволяющие использовать существующие биохимические методы определения каталазной активности крови (метод А.Н. Баха); [Травина, 1955] и SH-групп сыворотки крови (спектрофотометрический метод Р.Д. Воуеча в модификации Х.М. Рубиной и Л.М. Романчук [1961]) применительно к гомогенатам тканей ряда гидробионтов (моллюсков, олигохет, пиявок).

Для приготовления гомогенатов брали навески предварительно измельченных тканей гидробионтов. Навески гомогенизировали в гомогенизаторе с тифлоновым лестиком и разводили в дистиллированной воде (все операции проводили на холоде). Испытаны гомогенаты различных концентраций (0,25, 0,5 и 1%) и отобраны оптимальные концентрации для изучения активности каталазы и SH-групп применительно к перечисленным гидробионтам. Наиболее удобным для изучения обоих показателей оказался 0,5%-ный гомогенат. При анализе каталазной активности лучшие результаты получены при титровании 2 мл этого гомогената, а при определении SH-групп — при спектрофотометрировании 0,2 мл гомогената. Разработан-

ние дополнительные методические приемы позволяют с достаточной надежностью определять активность каталазы и SH-групп в гомогенатах гидробиионтов. Оба теста, как показали наши исследования, могут быть использованы для решения ряда вопросов водной токсикологии, в том числе и проблемы привыкания.

Известно, что привыкание тесно взаимосвязано с таким явлением хронической интоксикации, как кумуляция. Факт привыкания сам по себе говорит о наличии кумуляции, так как развивается благодаря следам пребывания яда в организме, приводящим к существенным физиологическим и биохимическим сдвигам, которые включают и защитные механизмы [Люблина и др., 1971; Голубев и др., 1973].

При достаточно длительном токсическом действии ядов неизбежно происходит срыв адаптационных механизмов и наступает выраженная интоксикация. Отсюда с несомненностью вытекает, что информативность методов изучения привыкания будет выше, если они будут органически включать в себя и изучение эффектов кумуляции, так как в опытах, проводимых с целью определения кумуляции, исследователи, как правило, обнаруживают результат взаимодействия сил кумуляции и привыкания [Толоконцев, Филов, 1976].

Методов оценки кумулятивного действия ядов известно довольно много. Большинство из них основано на оценке результатов повторного воздействия яда в дозах, составляющих часть от среднесмертельной LD_{50} [Черкинский и др., 1964; Сидоров, 1967; Голубев и др., 1973]. Однако накопленный за последние годы опыт многих исследователей все более убеждает в том, что отсутствие гибели животных отнюдь не означает отсутствия кумулятивного эффекта, поскольку может иметь место кумулятивное действие на какой-либо орган или систему организма, но не столь сильное, чтобы вызвать смертельный эффект [Каган и др., 1971].

В зависимости от силы и частоты воздействия яда можно под влиянием одного и того же вещества вызвать как адаптационные изменения в организме, так и явление кумуляции. Вследствие чего по результатам определения кумуляции на смертельном уровне нельзя судить о кумулятивном действии на пороговом уровне, несравненно более близком к хроническим отравлениям [Голубев и др., 1973].

Отсюда следует, что для суждения о кумулятивных свойствах вещества необходимы исследования с различными дозами на различных уровнях токсичности.

В последнее время с целью повышения надежности методов изучения кумулятивных эффектов все чаще используются не только интегральные тесты (выживаемость и др.), но и специфические для данного яда тесты, обнаруживающие патогенез интоксикации. Использование специфических тестов не только повышает эффективность изучения кумуляции, но и вскрывает механизмы токсических эффектов яда, в том числе и привыкания.

Нами на примере изучения кумуляции нитрила акриловой кислоты и хлористого лития проведено сравнение эффективности двух наиболее распространенных методических приемов при воздействии на организм животных летальных и пороговых доз соединений по схеме Н.С. Прав-

дина [Сидоров, 1967] и С.Н. Черкинского с соавторами [1964]. Оба метода основаны на оценке действия доз с заранее установленным эффектом на фоне предварительной дачи препарата. Если имеет место остаточное действие от вводимого ранее яда, наблюдается сложение эффекта. В противном случае при введении разрешающей дозы усиление эффекта не происходит. Этот прием позволяет значительно лучше учитывать реальные условия развития хронического отравления. О результатах опыта судили по интегральным (выживаемость, общее состояние и поведение животных) и специфическим тестам (для нитрила акриловой кислоты — определение содержания SH-групп и цитохромоксидазы, для хлористого лития — каталазы и пероксидазы). В итоге оказалось, что изучение кумуляции на смертельном уровне позволило обнаружить у животных развитие привыкания, в то время как при воздействии пороговых доз установлено явление физиологической кумуляции.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что правильное суждение о наличии или отсутствии у яда кумуляции можно сделать, лишь объединив исследования на различных уровнях токсичности (смертельном и пороговом). Результаты апробаций различных методических приемов изучения кумуляции еще раз подтвердили взаимосвязь ее с привыканием. Подводя итог литературным и собственным данным, можно заключить, что исследования проблемы привыкания должны иметь комплексный характер, включать в себя не только методы непосредственного изучения привыкания, но и кумуляции. Наряду с интегральными тестами необходимо включать и специфические для данного яда тесты. Все это значительно повысит надежность и информативность полученных данных, а следовательно, и выводов.

ЛИТЕРАТУРА

- Голубев А.А., Люблина Е.И., Толоконцев Н.А., Филов В.А. Количественная токсикология. Л.: Медицина, 1973.
- Гизатуллина Н.С., Голубев А.А., Дворкин Э.А. и др. О взаимоотношении процессов кумуляции и привыкания при действии промышленных ядов. — В кн.: Научные основы современных методов гигиенического нормирования химических веществ в окружающей среде. М.: Медицина, 1971, с. 130–134.
- Добрынина В.В. К изучению содержания ацетона в крови животных при привыкании к его действию. — В кн.: Материалы 2-й конф. молодых научных работников. Л., 1968, с. 46–49.
- Каган Ю.С., Челинога О.П., Станкевич В.В. и др. Изучение кумулятивного эффекта как основы для прогнозирования патологии химической этиологии. — В кн.: Научные основы современных методов гигиенического нормирования химических веществ в окружающей среде. М.: Медицина, 1971, с. 111–117.
- Крамер Дж.Ф., Камерон Д.К. Руководство по лекарственной зависимости. М.: Медицина, 1975.
- Лазарев Н.В. Общие вопросы промышленной токсикологии. М.: Медицина, 1967.
- Люблина Е.И., Минкина Н.А., Рылова М.Л. Адаптация к промышленным вредным веществам как фаза интоксикации. Л.: Медицина, 1971.
- Рубина Х.М., Романчук Л.М. Спектрофотометрический метод определения количества сульфгидрильных групп в сыворотке крови. — Вopr. мед. химии, 1961, т. 7, вып. 6, с. 652–655.
- Сидоров К.К. Оценка опасности хронического отравления. — В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. Л., 1967, вып. 9, с. 19–27.
- Толоконцев Н.А., Филов В.А. Основы общей промышленной токсикологии. Л.: Медицина, 1976.

- Торчинский Ю.М. Сера в белках. М.: Наука, 1977.
- Травина О.В. Руководство по биохимическим исследованиям. М.: Медгиз, 1955.
- Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А. Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте. М.: Медицина, 1978.
- Черкинский С.Н., Красовский Г.Н., Тугаринова В.Н. Методические вопросы санитарно-токсикологических исследований по гигиеническому нормированию. – В кн.: Санитарная охрана водоемов от загрязнений промышленными сточными водами. М.: Медицина, 1964, с. 290–300.

УДК 591.597

ИЗМЕНЕНИЕ НОРМЫ РЕАКЦИИ ПРИ АДАПТАЦИИ РЫБ К НОВЫМ УСЛОВИЯМ СУЩЕСТВОВАНИЯ

Б.В. КОШЕЛЕВ

*Институт эволюционной морфологии и экологии животных
им. А.Н. Северцова АН СССР*

В связи с существенными изменениями, которые происходят во внутренних водоемах в результате все возрастающей деятельности человека, изменяются исторически сложившиеся условия существования многих видов рыб, происходят серьезные изменения в онтогенезе, популяциях и фауне рыб. Поэтому выяснение широты отношений организма со средой и степени действия различных экологических факторов на онтогенез, популяции и экосистему – это путь познания их эволюционных преобразований и способов управления развитием в нужную для человека сторону.

В данной статье мне хотелось бы остановиться на некоторых особенностях при выяснении нормы реакции рыб на действие разнообразных экологических факторов среды: в течение всего онтогенеза у особей различных видов; в процессе адаптивных преобразований популяций, при изменении ихтиоценозов в целом.

Наши многолетние эколого-морфологические исследования [Кошелев, 1977–1980] особенностей размножения и развития особей многих видов рыб (карповые, окуневые, сиговые, бычковые, осетровые и др.) в разнообразных водоемах (естественные в различных частях ареала и реконструированные с существенно измененным гидрологическим режимом – водохранилища, водоемы-охладители энергетических объектов и т.п.) показали, что необходимо не только комплексный и детальный анализ закономерностей изменений на всех уровнях организации (клетка, органы, организм, популяция и ихтиоценоз), но и моделирование процессов развития на клеточном, органном, организменном, популяционном уровнях и на уровне ихтиоценоза в целом, т.е. настала необходимость перейти от чистого описания протекающих процессов к способам управления гаметогенезом, органогенезом, онтогенезом, управляемым популяциям и ихтиоценозам с целью получения необходимой и максимальной продукции.

Адаптивные изменения онтогенеза у разных видов рыб. В течение длительного времени происходили приспособительные изменения онтогенеза у рыб с различной биологией к условиям существования. Наши многолетние наблюдения и анализ экспериментальных данных в реконструирован-

ных водоемах показали, что оптимальных условий для развития особей в природе не существует. В процессе развития происходят разного рода изменения в степени действия различных экологических факторов на весь онтогенез. Это и суточные, и сезонные и более продолжительные ритмы колебаний градиентов, изменяющихся в пределах от минимальных до максимальных величин, которые оказывают существенное влияние на особенности онтогенеза различных видов рыб (рис. 1). Поэтому весь процесс развития в течение всей жизни особи протекает в пределах данной популяции на фоне исторически сложившихся связей между организмом и средой обитания в каком-либо естественном природном водоеме, и их онтогенез адаптирован к "средним многолетним" колебаниям экологических факторов. Очень близки к выводам, сделанным на основании наших многолетних наблюдений, высказывания С.С. Шварца [1980]. Он пишет, что закрепленная филогенезом реакция организма при любых условиях соответствует лишь "средним многолетним", отклонения от которых не только возможны, но и необходимы. Поэтому в каждом конкретном случае развития отдельных животных находится в определенном противоречии с закрепленной в процессе филогенеза нормой, которая наилучшим образом соответствует "средним" условиям жизни вида, но никогда не может предвидеть всех возможных отклонений от этой нормы.

Однако в связи с существенными изменениями естественных водоемов в результате разносторонней хозяйственной деятельности человека значительно меняется степень действия различных экологических факторов на развитие и в первую очередь на воспроизводство обитающих в них видов рыб. Эти изменения уже носят не временный характер, а они длительны и необратимы и зачастую выходят за рамки исторически сложившихся связей между организмом и средой, за рамки приспособительных возможностей особей данной популяции (см. рис. 1, в). В этом случае у каждого вида рыб, и притом в различной степени, проявляются резервные потенциальные приспособительные возможности в характере прохождения онтогенеза. Наши многолетние эколого-морфологические исследования особенностей размножения многих видов рыб показывают, что нельзя ограничиваться анализом нормы реакции при действии отдельных экологических факторов (естественных и антропогенных) на особенности прохождения отдельных отрезков онтогенеза и на основании этого делать определенные заключения о норме и патологии в развитии особей того или иного вида рыб.

Наши наблюдения показали, что степень действия различных экологических факторов меняется как в различные периоды онтогенеза, так и в течение различных сезонных жизненных циклов (рис. 2). Причем широта отношений развивающегося организма со средой в течение всей жизни особей у различных видов рыб еще крайне мало изучена. Примечательно, что академик С.С. Шварц [1980] — один из ведущих специалистов в области эволюционной экологии животных, отмечает, что, как это ни парадоксально, законы онтогенеза познаны в меньшей степени, чем законы филогенеза. Наши данные и результаты лаборатории морфологии низших позвоночных свидетельствуют о видоспецифичности температурного режима при инкубации икры в эмбриональный период, который у каждого вида рыб протекает в определенном диапазоне температур. Например, эмбриональное

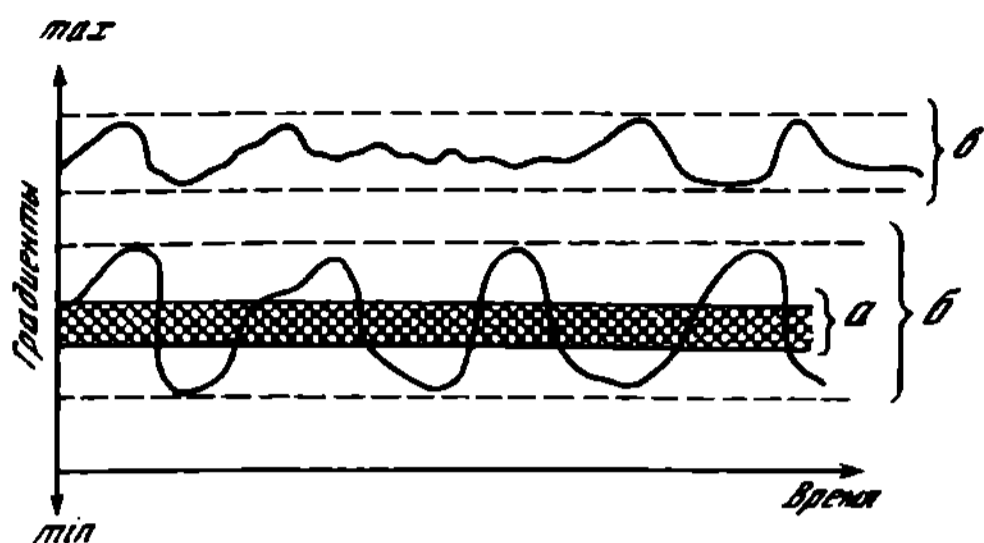


Рис. 1. Различная степень действия экологических факторов на развитие в течение всей жизни особей

а – условия, близкие к оптимальным для развития особей; б – естественные водоемы; в – реконструированные водоемы, например, водоемы-охладители энергетических объектов

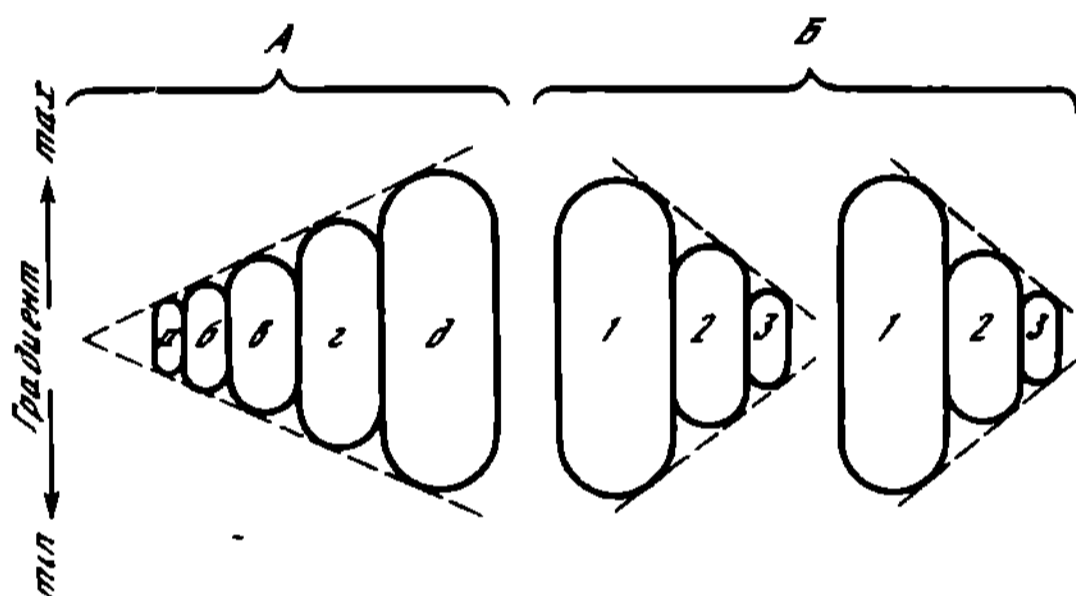


Рис. 2. Изменение нормы реакции на действие различных экологических факторов у видов рыб в различные периоды онтогенеза и сезонные жизненные циклы

А – периоды онтогенеза: а – эмбриональный; б – личиночный; в – мальковый; г – неполовозрелый (созревающий) и д – взрослый (половозрелый) организм; Б – сезонные циклы: 1 – нагульный период; 2 – зимовка; 3 – размножение

развитие леща осуществляется как в природе на естественных нерестилищах этого вида, так и в лабораторных термостатных установках в диапазоне температур от 12 до 22°C. Оптимальные границы температурного режима инкубации леща лежат также в пределах от 12 до 22°C [Резниченко, Гулидов, 1978]. Дальнейший рост как молоди, так и взрослого леща, по данным Ю.Ю. Дгебуадзе [1979], также тесно связан с температурным режимом водоема: период нагула леща ограничивается временем, когда температура воды в водоеме не опускается ниже 14°, хотя питание и рост малой интенсивности возможны и при более низкой температуре.

Степень действия различных экологических факторов также меняется в течение сезонных жизненных циклов у рыб. Особенно они узки в период размножения. Мы полностью согласны с высказыванием Одума [1975], который пишет, что период размножения является обычно критическим:

в этот период многие факторы среды часто становятся лимитирующими. Пределы толерантности, по его мнению, для размножающихся особей, эмбрионов и личинок уже, чем для неразмножающихся взрослых животных.

Хорошо известно, что разные виды рыб начинают размножаться при достижении определенных температур на нерестилищах [Строганов, 1962; Кошелев, 1971, 1978, 1980; и др.]. Наблюдения нашего аспиранта М.М. Шихшабекова показали, что у производителей воблы, которые подошли во время хода к местам для икрометания к плотине, массовая резорбция икры наступает только после достижения пороговой температуры для икрометания этого вида (около $12-14^{\circ}\text{C}$). До этого момента производители воблы могут значительное время находиться в приплотинном участке без патологических изменений в половых железах самок.

Следующий пример относится к взрослому организму, когда у половозрелых особей после нагульного периода наступает процесс интенсивного накопления питательных веществ в половых клетках. У рыб, как правило, развивается довольно много икры, коэффициент зрелости достигает 20–50%, и самки теряют в массе после выметывания икры $1/5$ или $1/2$ по отношению к весу особи. Этот процесс интенсивного вителлогенеза требует больших энергетических затрат со стороны материнского организма и наступает у большинства видов рыб средних широт при понижении температуры воды в водоеме ниже 12°C . Именно в это время наряду с преобладанием жирового обмена над белковым происходит включение генеративного обмена, обеспечивающего процесс накопления большого количества питательных веществ в развивающихся половых клетках [Кирсипуу, Лаугасте, 1975; Шатуновский, 1980 а, б].

Сравнение длительности летнего периода, когда температура воды выше 12°C , с зимним периодом, когда температура воды ниже 12°C , в водоемах разных широт (рис. 3, а, б) и в водоемах-охладителях энергетических объектов (рис. 3, в) свидетельствует о значительных изменениях температурного режима в течение года, что оказывает существенное влияние не только на особенности развития особей и их онтогенез, но и на характер развития половых клеток. Процесс интенсивного вителлогенеза в водоемах с высокими температурами воды, когда летний период значительно преобладает над зимним, не только задерживается, но и может не наступать вовсе. Скорость роста самок в таких водоемах довольно значительна, а половые железы находятся на второй стадии зрелости. Следовательно, в водоемах с измененным температурным режимом, в водоемах-охладителях энергетических объектов у ряда видов рыб может наблюдаться хороший рост, но воспроизводство их в данных водоемах нарушено, т.е. данный водоем может быть использован в качестве нагульного, выростного водоема, при зарыблении его молодью тех или иных видов рыб.

Таким образом, зная закономерности онтогенеза особей различных видов рыб, степень действия разнообразных экологических факторов на особенности развития в течение всей жизни особи, мы сможем оптимизировать технологию протекающих процессов при искусственном разведении ценных видов рыб. Это относится и к нерестовому, и к эмбриональному, и к личиночному периоду [Кошелев, 1980]. Причем биотехника в процессе получения посадочного материала и при выращивании товарной рыбы должна быть совершенно иной, так же как и при создании ремонт-

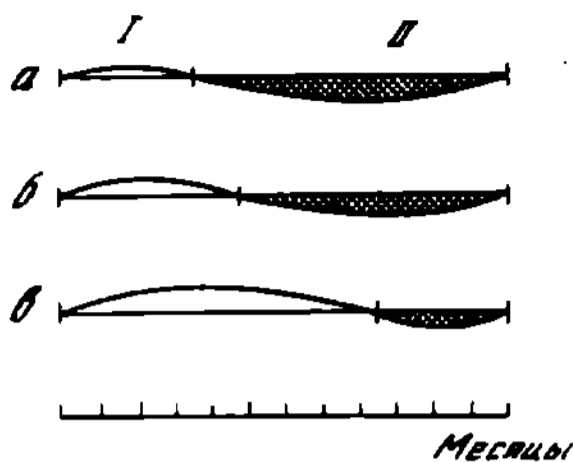


Рис. 3. Особенности температурного режима в течение года в водоемах разных широт

I – летний период. T выше 12°C ; II – зимний период. T ниже 12°C . Широты: а – высокие, б – средние, в – низкие

ного стада, в рыбоводном процессе которого отклонение от нормы реакции при изменении экологических факторов среды, исторически сложившихся для данного вида, может оказать отрицательное влияние как на развитие икры и молок, так и на качество получаемого потомства.

Следовательно, на уровне выяснения закономерности изменения онтогенезов мы сможем оптимизировать технологию протекающих процессов при искусственном разведении рыб.

Адаптивные преобразования популяций у разных видов рыб. Выяснение особенностей размножения и развития особей в различных популяциях в пределах всего ареала разных видов рыб и особенно в его центре и на границах показало, что для наиболее полного выяснения имеющегося многообразия отношений развивающегося организма со средой обитания особей в различных популяциях необходимо исследования проводить по линии особь–популяция–вид. В этих эколого-морфологических исследованиях по выяснению особенностей размножения и развития рыб у особей в разнообразных популяциях выявлялись особенности развития в течение всей жизни особей в связи с различными условиями их существования в естественных природных и исторически сложившихся для каждого вида ареалах. Совершенно естественно, что особи живут не в одиночестве, а составляют совокупность особей данного вида, т.е. экологические популяции. Популяция—это внутривидовая группировка, которая возникла исторически и обладает специфической реакцией на действие факторов среды и определенной гомеостатической реакцией, обеспечивающей ее существование в течение длительного времени [Новиков, 1979].

Сравнение особенностей размножения и развития, например, леща в водоемах разных широт [Кошелев, 1978, 1980], показало, что на северной границе лещи созревают поздно, продолжительность жизни особей велика, нерестовое стадо состоит из большого ряда старших возрастных групп. С одной стороны, такого рода популяция относительно устойчива к действию неблагоприятных условий существования, а с другой – скорость ее воспроизводства значительно ниже, чем у популяций леща, обитающих в южных водоемах. Они представлены младшими возрастными группами с быстрым темпом созревания особей, характеризуются простым возрастным составом нерестового стада, непродолжительной жизнью особей и обладают высокой скоростью воспроизводства, т.е. довольно быстро при разного рода неблагоприятных условиях их воспроизводства могут восстанавливать свою численность.

В связи с существенными и необратимыми изменениями условий су-

существования особей данной популяции, например, в водоемах-охладителях АЭС, ТЭС, или в результате акклиматизационных мероприятий происходят значительные изменения не только в онтогенезе, но и в структуре популяции. Так, по данным М.П. Статовой [1975], особи серебряного карася в водоеме-охладителе Молдавской ГРЭС хорошо растут и развиваются, но у этих особей не созревают половые клетки, т.е. в данных условиях популяция серебряного карася неустойчива и, по-видимому, не сможет самостоятельно существовать в течение длительного времени.

Как отмечает С.А. Студенецкий [1979], 15–20-летний опыт эксплуатации водохранилищ¹ показывает, что нет оснований ожидать стабильного установления гидрологического режима в них. В этих условиях, когда на эффективное естественное воспроизводство трудно рассчитывать, следует ориентироваться на использование водохранилищ прежде всего как нагульных водоемов. Если перейти на массовое вселение в водохранилище крупной молодежи ценных рыб для выращивания их на естественной кормовой базе водохранилищ, то их огромная площадь станет крупнейшим источником рыбных ресурсов.

При акклиматизации сибирского осетра в водоемах средних широт он стал расти значительно быстрее, чем на Лене, заметно изменилась и скорость наступления половой зрелости у самок и самцов по сравнению с тем, что было обнаружено в пределах естественного ареала [Акимова и др., 1980].

Таким образом, анализируя лишь популяционные изменения в пределах ареала, мы обнаруживаем имеющееся разнообразие взаимоотношений организмов и популяций в исторической и естественной обстановке сложившегося ареала (рис. 4, А).

В эксперименте (в природной ли обстановке или в лабораторных условиях) мы зачастую обнаруживаем скрытые до сего времени резервные возможности в адаптивных преобразованиях популяций и развитии в течение всей жизни особей разных видов рыб в связи с изменением среды их обитания (см. рис. 4, Б).

Поэтому на уровне выяснения закономерностей изменения популяций в разнообразных условиях их обитания мы сможем управлять популяционными процессами, создавая необходимые условия для их стабильного существования и рациональной эксплуатации с целью получения максимальной продукции.

Изменение водных экосистем (ихтиоценозов в частности). В связи с реконструкцией большинства естественных водоемов и все возрастающей хозяйственной деятельностью человека на наших глазах происходят изменения не только в размножении, развитии рыб и в приспособительных изменениях популяций, но и в ихтиоценозах — меняется их видовой состав с преобладанием, как правило, отдельных видов рыб, в большинстве случаев эврибионтных (рис. 5). Восемнадцатилетние исследования динамики изменения ихтиоценоза в водоеме-охладителе ГРЭС Электрени (ЛитССР) показывают, что в течение этого времени существенно менялся видовой состав: вначале на смену аборигенам пришли виды более теплолюбивые, дающие высокую продуктивность; затем при более продолжительной теп-

¹ Водосмы со значительно измененными исторически сложившимися условиями существования для многих видов рыб.

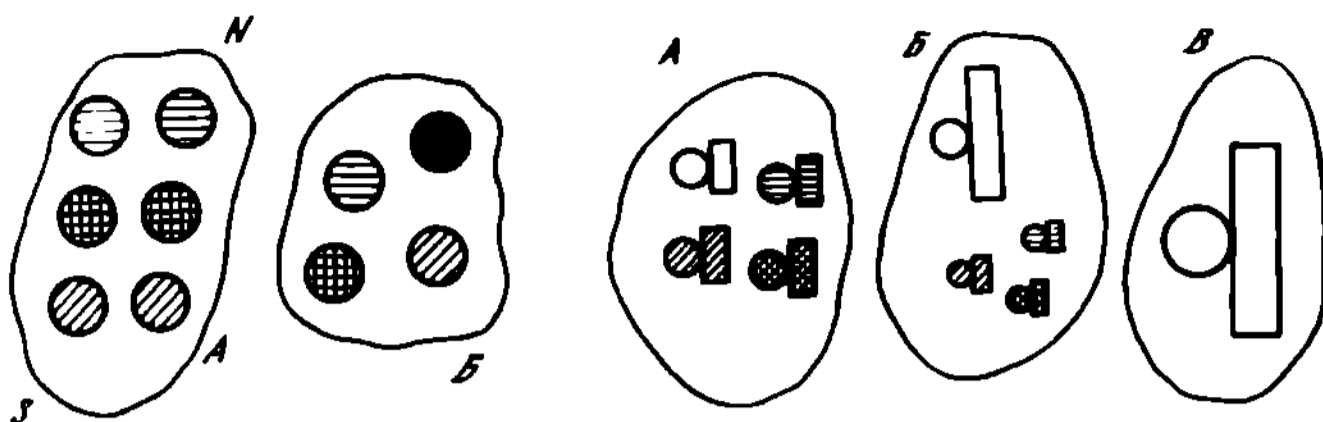


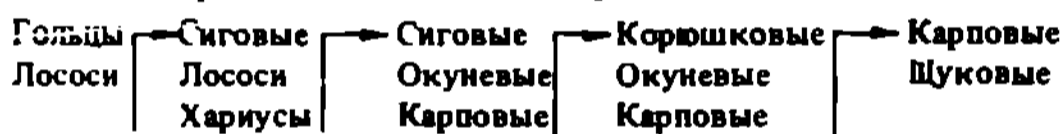
Рис. 4. Изучение адаптивных особенностей развития особей в различных популяциях в пределах естественного ареала (А) и в эксперименте (Б)

Рис. 5. Динамика изменения популяции различных видов рыб в ихтиоценозах в результате хозяйственной деятельности человека

А – исторически сложившийся ихтиоценоз в естественном природном водоеме; Б – частично измененный ихтиоценоз в реконструированном водоеме; В – полностью измененный ихтиоценоз в реконструированном водоеме

ловой нагрузке численность их значительно сократилась, и в уловах стала преобладать плотва, один из немногих видов рыб, выдерживающих повышенные температурные условия в данном водоеме-охладителе.

По мере увеличения трофности водоемов основной путь эволюции пресноводных северных экосистем, по данным Ю.С. Решетникова [1979], может быть представлен в виде следующей схемы:



Однако подобного рода исследования только начинают интенсивно развиваться. Так, отмечено, что 40% исследователей проводит аутоэкологические работы, 43% – популяционные исследования и только 17% – биоценологические. Поэтому совершенно прав Ю.С. Решетников [1979], который подчеркивает, что ихтиологи чаще становятся лишь свидетелями больших экологических сдвигов в водоемах, причем для экологического прогнозирования не хватает не только данных о первых этапах этих изменений, но и характеристики первоначального, исходного состояния системы.

Таким образом, на уровне выяснения закономерностей изменения ихтиоценозов мы сможем искусственно создавать необходимые нам ихтиоценозы и управлять их продуктивностью.

В заключение мне хотелось бы еще раз подчеркнуть, что адаптивным изменениям онтогенеза, популяции и экосистем (ихтиоценозов) присущи свои закономерности. Поэтому при выяснении степени и характера действия тех или иных экологических факторов (естественных и антропогенных, включая токсиканты) необходимо, на наш взгляд, всегда помнить о своеобразии и адаптивных реакциях этих разных биологических систем. Такого рода исследования бывает зачастую довольно трудно осуществить, но необходимо к этому стремиться, так как только в данном случае мы сможем проанализировать процессы адаптации в целом, включая привыкание, сукцессии и регуляцию, к действию комплекса факторов (естественных и антропогенных), к измененной среде обитания у особей, популяций и экосистем (ихтиоценозов) в целом.

ЛИТЕРАТУРА

- Акимов Н.В., Соколов Л.И., Смольянов И.И., Малютин В.С. Сравнительный анализ роста и гаметогенеза сибирского осетра р. Лены в природных и экспериментальных условиях. – В кн.: Внутривидовая изменчивость в онтогенезе животных. М.: Наука, 1980, с. 167–176.
- Дгебуадзе Ю.Ю. Рост леща в водоемах разных широт. – В кн.: Изменчивость рыб пресноводных экосистем. М.: Наука, 1979, с. 74–92.
- Кирсипуу А.Н., Лаугасте К.Э. Некоторые аспекты влияния температуры на обмен веществ рыб. – В кн.: Основы биопродуктивности внутренних водоемов Прибалтики. Вильнюс, 1975, с. 371–374.
- Кошелев Б.В. Изучение широты отношений развивающегося организма со средой на примере костистых рыб. – В кн.: Норма и патология в водной токсикологии: Тез. докл. Байкальск., 1977, с. 21–24.
- Кошелев Б.В. Эколого-морфологическое исследование гаметогенеза, половой цикличности и размножения рыб. – В кн.: Эколого-морфологические и эколого-физиологические исследования развития рыб. М.: Наука, 1978, с. 10–42.
- Кошелев Б.В. Эколого-морфологические исследования размножения и развития рыб. – В кн.: Состояние и перспективы развития морфологии. М.: Наука, 1979, с. 87–88.
- Кошелев Б.В. Выяснение степени эври- и стенобионтности в размножении и развитии рыб. – В кн.: Экология размножения и развития рыб. М.: Наука, 1980, с. 5–16.
- Кошелев Б.В. Изучение закономерностей репродуктивного процесса у рыб. – В кн.: Экологические исследования водоемов-охладителей АЭС. М.: Атомиздат, 1981.
- Новиков Г.А. Основы общей экологии и охраны природы. Л.: Изд-во ЛГУ, 1979.
- Одум Ю. Основы экологии. М.: Мир, 1975.
- Резниченко П.Н., Гулидов М.В. Зависимость выживания зародышей леща *Aburatis brama* (L.) от температуры инкубации. – В кн.: Эколого-морфологические и эколого-физиологические исследования развития рыб. М.: Наука, 1978, с. 108–114.
- Решетников Ю.С. Изменчивость рыб и экологическое прогнозирование. В кн.: Изменчивость рыб пресноводных экосистем. М.: Наука, 1979, с. 5–12.
- Статова М.П. Изменения в процессе овогенеза у некоторых порционно-нерестующих рыб в водоеме-охладителе Молдавской ГРЭС. – В кн.: Основы биопродуктивности внутренних водоемов Прибалтики. Вильнюс, 1975, с. 385–386.
- Строганов Н.С. Экологическая физиология рыб. М.: Изд-во МГУ, 1962.
- Студенецкий С.А. Основы направления развития рыбного хозяйства внутренних водоемов СССР. – В кн.: Биологические ресурсы внутренних водоемов СССР. М.: Наука, 1979, с. 5–15.
- Шатуновский М.И. Экологические закономерности обмена веществ морских рыб. М.: Наука, 1980а.
- Шатуновский М.И. Эколого-физиологические исследования рыб в онтогенезе. – В кн.: Экология размножения и развития рыб. М.: Наука, 1980 б, с. 29–47.
- Шварц С.С. Экологические закономерности эволюции. М.: Наука, 1980.

РЕАГИРОВАНИЕ ЗАРОДЫШЕЙ ОСЕТРОВЫХ РЫБ НА ИЗМЕНЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМА РАЗВИТИЯ

Л.А. СЫТИНА, Н.Г. НИКОЛЬСКАЯ

*Институт эволюционной морфологии и экологии животных
им. А.Н. Северцова АН СССР.*

Адаптация водных пойкилотермных организмов к условиям постоянно-го изменения температуры, освещенности, содержания кислорода, химического состава воды и другим факторам обеспечивается наличием определенного "набора" приспособительных реакций, призванных регулировать сложные взаимоотношения организма со средой.

Реакция организма на изменение условий зависит от ряда моментов: природы самого фактора (химический, физический, антропогенный и др.), характера его действия (резкое или плавное, понижение или повышение и др.), избирательности действия (на организм в целом и на отдельные его органы и микроструктуры), интенсивности и продолжительности действия; ряда опосредованных моментов, включающих сочетание различных условий и состояние исследуемых особей. Для развивающегося организма необходимо учитывать степень развития (стадию), физиологическое состояние особей, условия акклимации, интенсивность перепада факторов и др.

В условиях усиливающегося антропогенного воздействия оценка нормальной реакции на естественный экологический фактор различной интенсивности приобретает значение теста, по которому можно судить о степени загрязнения водоема на основании нарушения развития и изменений нормы реакции.

В настоящей работе на представителях осетровых рыб сделана попытка выяснить, как разнообразны и широки приспособительные реакции организма на изменения температурного режима развития, в чем они выражаются, когда и в каких случаях наблюдается проявление той или иной реакции, как это связано с интенсивностью действия фактора, степенью развития зародыша и его биологическим состоянием.

Исследования проводили на различных семейных группах каждого вида (зародыши от одной самки) в условиях осетрового рыбоводного завода. Были поставлены эксперименты по воздействию температуры различной интенсивности и продолжительности на эмбрионов различных стадий развития (экспозиция 6, 12, 24, 48 и более). Стадии развития осетровых рыб определяли по Т.А. Детлаф и А.С. Гинзбург [1954]. Исследовали реакцию зародышей на стадиях активации яйца и начального дробления (стадии 1, 5, 8), бластулы (стадии 10–12), начала гаструляции (13, 14) средней и поздней гаструлы (15–17), появления глазных выростов (24), смыкания боковых пластинок (26), начала биения сердца (28), появления мышечных движений (30), стадии подвижного зародыша (32, 33). Опыты проводили в аквариумах при постоянной аэрации воды. Более детально методика эксперимента описана в предшествующих работах авторов [Никольская, Сытина, 1978, 1980; Сытина, Никольская, 1980]. В эксперимент были взяты зародыши четырех видов осетровых рыб сем.

Acipenseridae: осетр *Acipenser guldenshtadti* Brandt, белуга *Huso huso* (L.), шип *Ac. nudiventris* Lovetzky, севрюга *Ac. stellatus* Pallas.

Норма реакции в понимании И.И. Шмальгаузена [1968] включает индивидуальные реакции организма, попадающего в различные условия внешней среды, т.е. способность к различным его модификациям. Одним из моментов, характеризующих норму реакции группы, является ширина диапазона изменчивости признаков и свойств, складывающаяся из индивидуальных вариаций составляющих группу особей. Сами реакции могут различаться по своему характеру в зависимости от их природы и эффекта воздействия на организм — понижение или повышение температуры, прекращение действия агента и др. Своеобразие изменения этих реакций определяется также степенью сформированности организма.

РЕАКЦИЯ ЗАРОДЫШЕЙ НА ГИПОТЕРМИЮ

Нерестовые температуры у белуги лежат в диапазоне 7–17°C [Танасийчук, 1963; Гинзбург, Детлаф, 1969, Никольская, Сытина, 1978], у шипа — 10–24°C [Тлеуов, Сагитов, 1973], у осетра — 6–7°C [Резниченко, 1978] или 8–23°C [Алявдина, 1951, 1953, Резниченко, 1969], у севрюги — 15–25(26)°C [Танасийчук, 1963; Гинзбург, Детлаф, 1969, Никольская, Сытина, 1978]. Как видно, температурные границы размножения осетровых разных видов специфичны и лежат для севрюги и белуги в диапазоне температур 10°, для шипа и осетра — 15°C. При развитии в нормальных для вида условиях, как правило, диапазон варьирования признаков невелик. Наши наблюдения за развитием икры осетровых рыб при их искусственном разведении показали, что диапазон варьирования скорости развития в зоне оптимальных температур в норме не превышает 1–2, реже 3 стадии [Никольская, Сытина, 1980]. Как известно, понижение температуры в пределах зоны нормальных нерестовых температур вызывает замедление темпа эмбриогенеза. При этом соблюдается определенная коррелятивная зависимость между показателями скорости развития (продолжительность митотических делений клетки) и температурой [Детлаф, 1953, 1977, Т. Детлаф, А. Детлаф, 1960; Игумнова, 1975], т.е. наблюдается адекватная реакция организма на изменение температуры.

Понижение температуры до пороговой сублетальной (пограничной) оказывало на зародышей резкое подавляющее действие. Восстановление функций организма наступало через определенный период времени. Так, действие температуры до 4°C во время оплодотворения яйцеклетки осетра (стадия 1) привело к задержке процесса дробления более чем на 12 ч (табл. 1). Подобная реакция организма является лишь торможением развития, а не полным его подавлением, так как это изменение обратимо; эффект резкого торможения развития наблюдался также при понижении температуры инкубации икры до 4°C (с 18°) на стадиях средней бластулы (11) и появления зачатков глазных бокалов (стадия 24) (рис. 1, А).

При понижении температуры на стадии 32–64-го бластомера (стадия 8) резкое торможение развития наблюдалось лишь у 30% особей, тогда как 70% зародышей в группе перешли на следующую стадию развития уже после изменения температуры и только затем резко замедлили темп эмбриогенеза. Произошла как бы опосредованная предшествующим процессом

Таблица 1

Реакция зародышей осетра на понижение температуры с 18° до 4° С

Исходная стадия	n	Экспозиция, ч	Гибель, %	Уродства, %	Стадия в конце опыта
1-я	42	6	0,0	0,0	1/100*
	34	12	0,0	0,0	1/100
	34	24	0,0	0,0	1/100
	34	48	100	0,0	
11-я	20	12	20,0	0,0	11/100
	84	24	3,6	0,0	13/28,6; 11/67,8
	17	48	0,0	0,0	14/29,5; 12/70,5
	12	96	0,0	0,0	17/33,3; 16/16,7; 15/50,0
14-я	55	6	3,6	0,0	15/94,6; 14/1,8
	55	24	3,6	0,0	15/96,4
	55	48	3,6	0,0	16**
	15	96	0,0	0,0	17/26,7; 16/33,3; 15/40,0
	20	120	0,0	100	
24-я	60	12	0,0	0,0	24/100
	60	24	1,7	0,0	25/24,6; 24/73,7
	33	48	0,0	0,0	26/87,9; 25/12,1
	14	96	0,0	0,0	28**
	5	192	0,0	0,0	30/60,0; 29/40,0
	5	336	0,0	0,0	30/100
	5	384	100		
30-я	39	24	2,6	0,0	32/20,5; 31-30/76,9
	53	48	3,8	0,0	33/26,4; 32/58,5; 31/9,4; 30/1,9
	33	120	9,1	0,0	34/6,1; 33/54,5; 32/30,3

* Числитель — стадия; знаменатель — % от общего числа.

** Стадия, достигнутая передовыми особями.

развития задержка торможения. Еще более четко это явление было выражено при воздействии гипотермии на зародышей на стадии начала гаструляции (стадия 14), где у 98,1% особей торможение наступило на следующей 15-й стадии развития. Различия в сроках проявления реакции торможения обусловлены, по-видимому, разнокачественностью особей, составляющих группу, и соответственно различиями их состояния и устойчивости к действию агента.

Торможение развития зародышей осетра вызывалось перепадом температуры в 13–15° С (с 17–19° до 4° С). Реакция зародышей того же вида на стадиях мелкоклеточной бластулы и старше на перепад температуры в 10° С (с 17 до 7° С) носила характер не торможения, а только значительного замедления развития (см. рис. 1, Б).

Вслед за реакцией торможения развития, которую можно рассматривать как шоковую, при продолжающемся воздействии экстремального фактора наступает "привыкание" — выход из торможения и возобновления развития. В группе у разных особей "привыкание" наступает в разное время, т.е. наблюдается дифференциация группы по скорости развития. Так, при воздействии гипотермии на зародышей на стадии средней бластулы (стадия 11) у части особей привыкание наступало через 12–15 ч. Через сутки эти

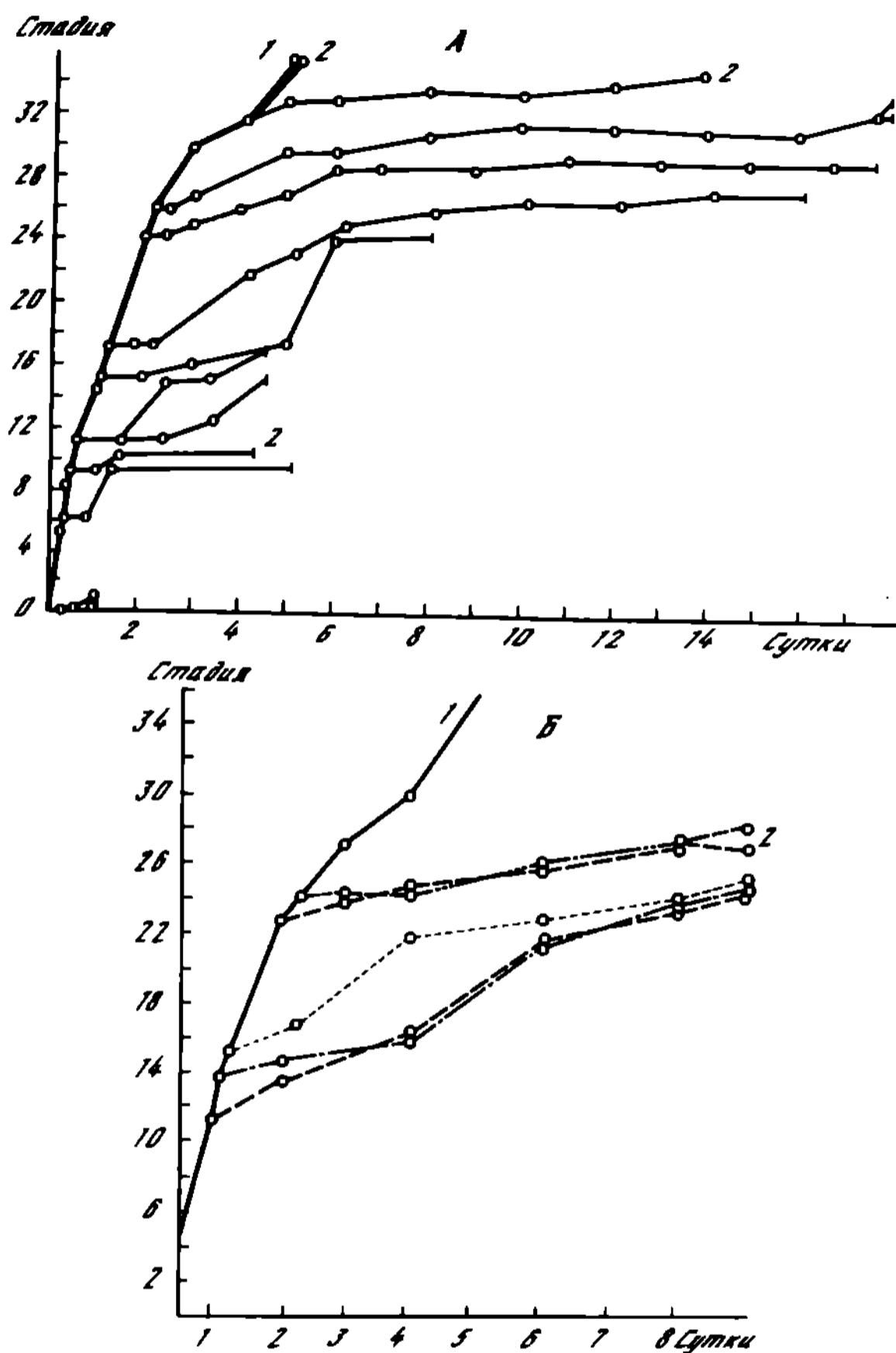


рис. 1. Изменение скорости развития зародышей осетра при понижении температуры инкубации с 17-18° до 4° С (А) и с 17 до 7° С (Б)
1 - контроль; 2 - опыт

зародыши переходили на 13-ю стадию развития, когда как основная масса особей (70,4%) находилась на стадии 11. Привыкание у этой части зародышей наступало лишь через 2 суток (рис. 1, А). В опыте, поставленном на зародышах на стадии начала гаструляции (стадия 14), привыкание передовых зародышей наблюдалось через сутки, а отставшая группа особей оста-

ввалась на 15-й стадии развития в течение четырех суток. При воздействии на зародышей 24-й стадии привыкание передовых особей (24,4%) также наблюдалось через сутки после начала гипотермии, но отставание было кратковременным. У зародышей на стадии появления мышечных движений (стадия 30) длительное замедление развития наблюдалось у небольшой части экземпляров. Выклев личинок начинался одновременно с контролем, но на более ранней стадии (рис. 1, А). Дифференциация по скорости развития на ранних стадиях развития во время бластуляции и гастрюляции приводила к вариациям по скорости развития в 2–3 стадии, на более поздних этапах эмбриогенеза — до четырех стадий. Это более широкий диапазон, чем при развитии в нормальных условиях.

Возобновление процесса развития, связанное с "привыканием" организма к предложенным экстремальным условиям, бывает непродолжительным. Так, при воздействии гипотермии на стадиях активации яйца возобновление развития, продолжавшееся 6–12 ч, наблюдалось после 12-часового торможения. Зародыши достигали начальных стадий дробления и погибали. Столь же кратковременно было восстановление функции развития у зародышей на стадиях раннего дробления (стадия 5 и 8), но гибели зародышей здесь предшествовал период повторного торможения или подавления функции развития, длившийся несколько суток (см. рис. 1, А). Повторное подавление развития, предвещающее гибель эмбрионов, наблюдалось также при воздействии экстремально низкой температуры на зародышей на стадиях начала и завершения гастрюляции (стадии 14 и 17), появления глазных зачатков (стадия 24) и др. В ряде случаев на поздних стадиях эмбриогенеза подобное подавление функции развития отмечалось лишь у части зародышей, тогда как гибель другой части наступала сразу (см. табл. 1).

По мере усложнения организации зародыша способности его к сопротивлению экстремальным воздействиям увеличиваются. Если в первые часы развития действие экстремального агента вызывало гибель уже через 12 ч, то воздействие на стадии начала гастрюляции приводило к гибели зародышей через 8 суток, при завершении гастрюляции (стадия 17) — через 17 суток.

Восстановление нормальных для развивающегося организма температурных условий жизнедеятельности после гипотермии еще не определяет благополучия дальнейшего развития, так как повреждения, вызванные экстремальным воздействием у различных особей в группе, не одинаковы и могут восстанавливаться в разные сроки и в различное время [Насонов, Александров, 1940, Александров, 1965, 1975, 1977; Городилов, 1969, 1970]. Прежде всего это определяется величиной повреждающего воздействия, с одной стороны, и репараторными возможностями организма — с другой.

Восстановление нормальной температуры после гипотермического воздействия на начальных стадиях развития, являющихся наиболее чувствительными [Андронников, 1964, 1965, 1967], приводит прежде всего к значительному расхождению по скорости развития зародышей в течение первых суток после прекращения действия экстремального фактора. Как уже отмечалось, при действии гипотермии на стадиях раннего дробления независимо от длительности воздействия разброс по скорости развития

Т а б л и ц а 2

Эффект последствия низкой температуры (4° С) в ходе последующего развития зародышей осетра

Стадия воздействия	Экспозиция, ч	n	Характеристика развития после снятия воздействия			
			Время, сутки	Гибель, %	Уроды, %	Стадии
1-я	6	42	2	45,2	14,3	24/4,8; 23/9,5; 21/2,4; 19/14,3
			3	78,6	21,4	
	12	34	1	14,7	0,0	17/17,6; 16/50,0; 15/17,5
			2	91,2	8,8	
11-я	12	20	1	100		
			2	80,0	0,0	32/15,0; 31/5,0
11-13-я общая	24	41	3	80,0	0,0	36/15,0; 35/5,0
			0,5	0,0	0,0	23/7,3; 22/19,5; 17/9,8; 16/29,3
						15/34,1
			1,5	9,8	29,3	26/26,8; 24/12,2; 23/21,9
11-я от- ставшие	24	30	3	51,2	14,7	36/2,4; 35/24,4; 31/2,4; 30/4,9
			4	62,0	2,4	36/36,6
			0,5	0,0	0,0	17/13,3; 16/40,0; 15/46,7
			1,5	13,3	40,0	24/16,7; 23/30,0
11-13-я, пе- редовые	24	11	3	70,0	20,0	31/3,3; 30/6,7
			4	80,0	0,0	36/20,0
			0,5	0,0	0,0	23/27,3; 22/72,7
			1,5	0,0	0,0	26/100
14-15-я	6	29	3	0,0	0,0	36/9,1; 35-34/90,9
			4	9,1	9,1	36/81,8
			1	6,9	0,0	26/55,2; 25/37,9
			3	18,2	0,0	33/22,7; 32/27,3; 31/27,3; 30/4,5
	48	8	4	22,7	0,0	36/27,3; 35-34/50,0
			1	25,0	0,0	27/25,0; 26/37,5; 25/12,5
	120	4	2	87,5	0,0	31/12,5
			1	50,0	50,0	

зародышей не превышал двух стадий. Через сутки после восстановления нормальной температуры расхождение в скорости развития зародышей достигало 3-4 стадий, т.е. выходило за рамки нормы. В первые сутки процент гибели и уродливых зародышей был невелик (табл. 2).

Варьирование по скорости развития зародышей как ответная реакция на восстановление нормальных условий жизнедеятельности свидетельствует о различной степени угнетения зародышей низкой температурой, т.е. об их разнокачественности. Подтверждение этому можно видеть на примере зародышей 11-й стадии развития. После 24-часового воздействия температуры 4° С произошла дифференциация группы зародышей исходной стадии на (+) варианты - 13-я стадия и на (-) варианты - 11-я стадия. Возврат в условия нормальной температуры вызвал радиацию по скорости развития зародышей в группе в целом на десять стадий - с 13-й по 23-ю. При этом скорость развития передовых особей варьировала в пределах двух стадий: 22-23-й, а отставших - в пределах трех стадий: 15-17-й.

Эффект последствия гипотермии проявляется далее в увеличении ко-

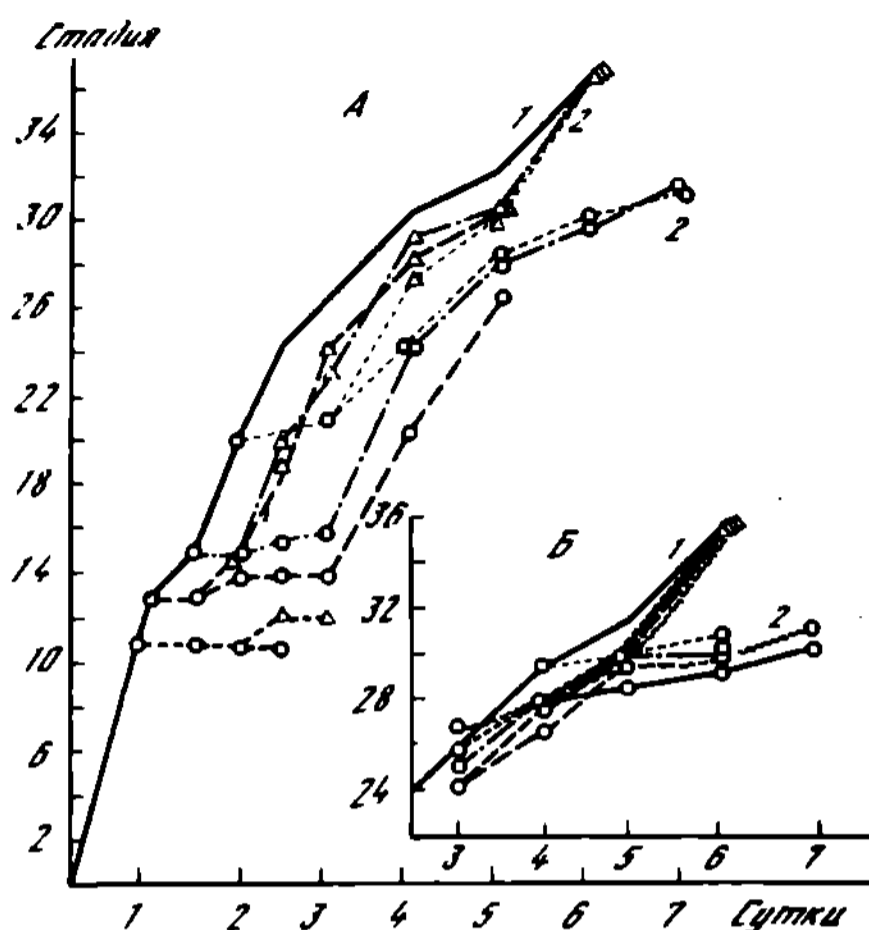


Рис. 2. Изменение скорости развития зародышей белуги при понижении (с 14 до 5°) и последующем повышении (до 14° С) температуры инкубации икры на стадиях дробления, гаструляции и нейруляции (А) и более поздних стадиях развития (Б)

1 – контроль; 2 – опыт

личества погибающих и уродливых особей. 6-часовое воздействие температуры 4° С во время оплодотворения и активации яйцеклетки ко времени завершения нейруляции (2 суток) вызвало гибель 39,4% зародышей, к началу биения сердца (3 суток) – 75,8%, на стадиях подвижного зародыша гибель достигала 94,6% (4 суток), к началу выклева – 100%. В другом варианте опыта выклев зародышей составил 9,5%, и все особи были уродливыми. Выклев в контроле составил 85,4% нормальных зародышей. Увеличение гибели происходило за счет уродливых особей.

Повреждающее действие низкой температуры вызывает появление разнообразных уродств, характер которых определяется как интенсивность и длительность действия агента, так и стадией развития организма.

Как эффект последствия гипотермии на различные стадии эмбриогенеза может наблюдаться компенсаторное ускорение развития зародышей на более поздних стадиях онтогенеза, стимулированное предшествующим воздействием низкой температуры. Наблюдения за развитием зародышей белуги, подвергшихся гипотермии на различных стадиях эмбриогенеза, показали, что в первые 3 суток после нормализации режима инкубации икры скорость эмбриогенеза подопытных и контрольных зародышей различалась на отрезок развития, пройденный контрольными зародышами за время опыта – кривые шли параллельно (рис. 2). Однако после появления у зародышей мышечных движений на поздних стадиях эмбрио-

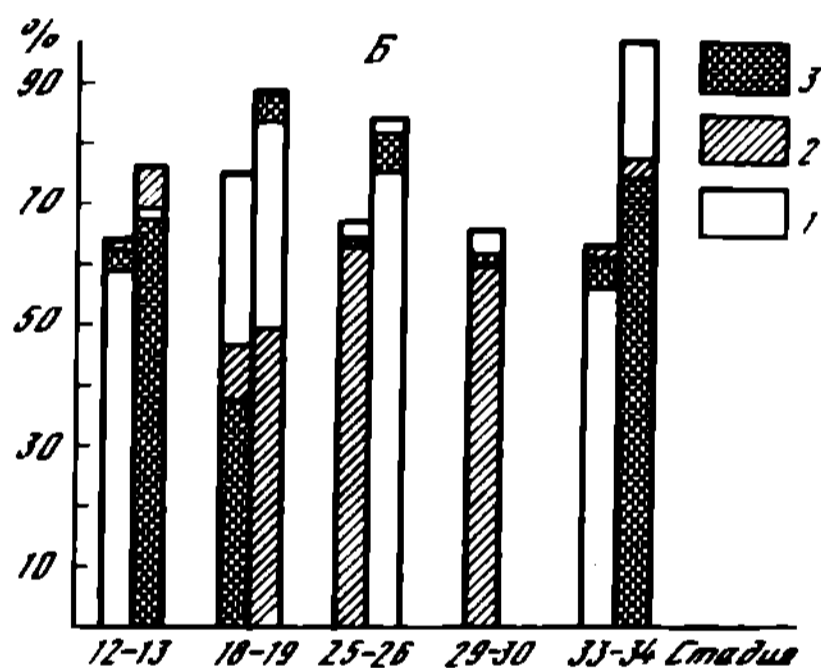
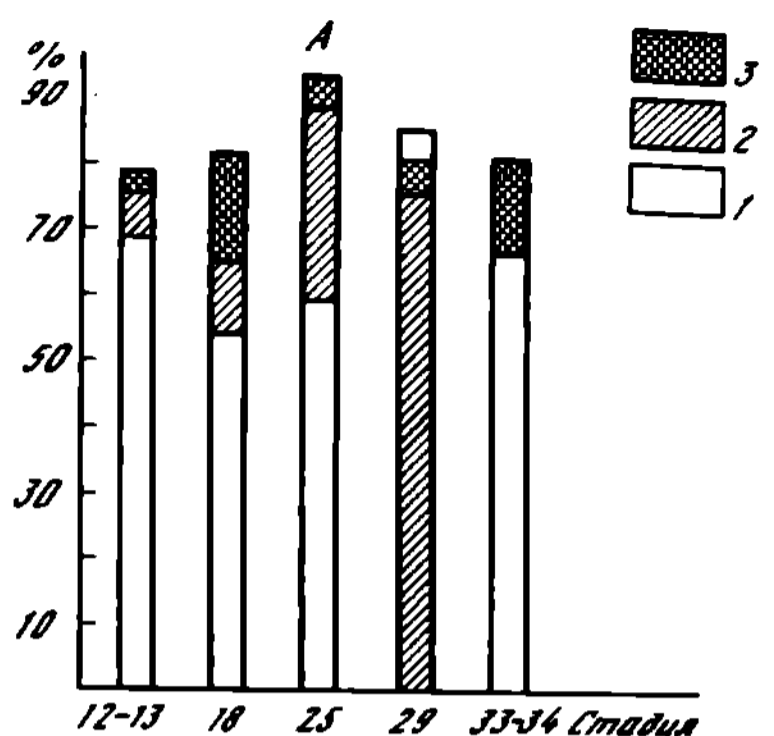


Рис. 3. Выживаемость зародышей шипа после воздействия низкой (А) и высокой (Б) температуры различной интенсивности на различных стадиях развития
 1 – 10 и 20,5°; 2 – 7 и 23,5° С; 3 – 5 и 26°

генеза скорость развития подопытных зародышей значительно увеличилась. В результате компенсаторного ускорения развития подопытные и контрольные зародыши белуги пришли к началу выклева одновременно. Следовательно, компенсаторное ускорение можно рассматривать как отдаленное последствие действия гипотермии. У белуги оно наблюдалось на последних стадиях эмбриогенеза как результат воздействия на стадиях начала и середины гастрюляции, середины нейруляции, образования зачатков органов чувств, хвостовой почки, сердца (см. рис. 2, А, Б). Наблюдалось это явление и у личинок осетра. При воздействии гипотермии на стадии начала выклева в течение трех суток наблюдавшееся отставание подопытных за-

родышей от контрольных нивелировалось к началу активного питания благодаря компенсаторному ускорению развития.

Последствие низкой температуры проявляется также в "стимуляции" развития. Эффект его заключается в избирательной реакции организма на действие факторов различной интенсивности. При этом более интенсивное воздействие может оказывать не угнетающее, а стимулирующее действие на последующий рост и развитие зародышей. Эксперименты были проведены на эмбрионах шипа различных стадий. Зародыши подвергались действию температуры 10°, 7° и 5°С. Температура в контроле была 14°С, экспозиция – 24 ч. Последующая инкубация икры проходила в сходных для всех серий опыта условиях. Оценка результатов эксперимента была проведена на стадии начала выклева. В период экстремального воздействия не наблюдалось гибели зародышей ни в одной из серий опыта. Оказалось, что наибольшая выживаемость наблюдалась после действия температурой 5°, а наименьшая – при 10°С (рис. 3, А). Температура 7° также оказывала стимулирующее действие по сравнению с 10°. Стимулирующий эффект действия низкой температуры проявлялся и в ускорении развития зародышей.

РЕАКЦИЯ ЗАРОДЫШЕЙ НА ГИПЕРТЕРМИЮ

Повышение температурных условий в пределах зоны температурных адаптаций зародышей данного вида вызывает ускорение развития, которое находится в определенной коррелятивной зависимости от температуры.

Действие экстремальной температуры, не являющейся летальной, также вызывает ускорение развития. Шоковой реакции торможения, подобной той, которая наблюдается при действии гипотермии, не прослеживалось.

После 6-часового воздействия высокой температуры (25°С) на зародышей осетра различных стадий эмбриогенеза не наблюдалось расширения диапазона изменчивости по скорости развития зародышей. Варьирование не превышало двух стадий (табл. 3). Реакция синхронного ускорения темпа развития в первые часы воздействия гипертермии отмечалась и у зародышей белуги при повышении температуры инкубации икры на стадии мелко-клеточной бластулы (стадия 10) на 3°, 4°, 6°С (с 14°С) и на стадии появления мышечных движений при повышении температуры на 4°, 6°, 8°С. У зародышей шипа эта реакция проявлялась при повышении температуры на 7°, 10°, 13°С (с 15°С) на стадии появления пигментной полоски (стадия 13) и на 3°, 6°, 9°С на стадии мелкоклеточной бластулы [Никольская, Сытина, 1980].

При 12-часовой экспозиции увеличение диапазона варьирования наблюдалось лишь у зародышей, подвергшихся действию гипертермии на стадии средней бластулы (стадия 11). Здесь варьирование по скорости достигает четырех стадий и приходится на период гастрულიи. При воздействии на другие стадии развития реакция синхронизации темпа развития зародышей в группе наблюдается и после 12-часового воздействия агента.

При воздействии высокой температуры в течение суток и более наблюдается дифференциация группы по скорости развития на передовых и отстающих. У зародышей осетра в условиях постоянной аэрации воды независимо от длительности воздействия расхождение по скорости развития

Таблица 3

Реакция зародышей осетра на повышение температуры с 18 до 25°С

Исходная стадия	n	Экспозиция, ч	Гибель, %	Уроды, %	Стадии в конце опыта
1-я	32	6	12,5	0,0	9/87,5
	53	12	1,9	7,6	11/90,5
	27	24	14,8	0,0	16/37,0; 15/44,4; 14/3,7
	23	48	100		
8-я	23	6	0,0	0,0	12/100
	23	24	8,7	4,3	23/34,8; 22/52,2
	23	48	100		
11-я	77	12	0,0	0,0	18/1,3; 17/68,8; 16/24,7; 15/5,2
	49	48	28,6	0,0	32/16,3; 31/42,9; 30/12,2
	49	96	100		
14-я	30	6	0,0	0,0	17/96,7; 16/3,3
	68	24	2,9	0,0	29
	46	48	28,3	0,0	33/8,7; 32/43,5; 31/19,5
	37	72	45,9	4,2	36/10,9; 35-33/44,5
17-я	33	6	0,0	0,0	22/100
	22	24	9,1	0,0	30/40,9; 29/50,0
	40	72	47,5	7,5	36/27,5; 35-33/17,5
24-я	60	12	0,0	0,0	29/100
	40	24	5,0	0,0	32/27,5; 31/52,5; 30/15,0
	32	48	6,3	0,0	36/50,0; 35/43,7
26-я	45	48	8,9	0,0	36/37,8; 35/13,3; 34/40,0
	45	72	24,4	0,0	36/64,5; 35/11,1
30-я	72	24	6,9	5,6	36/52,8; 35/34,7
	72	48	6,9	5,6	36/87,5

достигает четырех стадий. При ухудшении условий развития диапазон варьирования скорости развития зародышей может расширяться [Никольская, Сытина, 1980].

Дифференциация по скорости, как правило, сопровождается увеличением процента гибели зародышей, которая, вероятно, осуществляется за счет отставших в развитии зародышей. При этом обнаруживалась определенная зависимость между стадией развития зародыша, продолжительностью действия гипертермии и процентом гибели особей.

У зародышей, подвергшихся воздействию гипертермии на стадиях дробления и гаструляции, вслед за ускорением развития, реакцией синхронизации и дифференциации по скорости развития зародышей наступало резкое замедление темпа развития, предшествующее элиминации особей (рис. 4). Температура 25°С оказывала на зародышей осетра при длительной экспозиции элиминирующее действие.

Угнетающее действие высокой температуры проявляется в первую очередь в нарушении коррелятивных зависимостей между скоростью развития и температурой. Этот феномен также является реакцией организма на экстремальное воздействие. Эксперименты по воздействию температуры различной интенсивности (17°, 18°, 19°, 5°С) на зародышей белуги на 4-й и 10-й стадиях мелкоклеточной бластулы (стадия 10) показали, что в первые

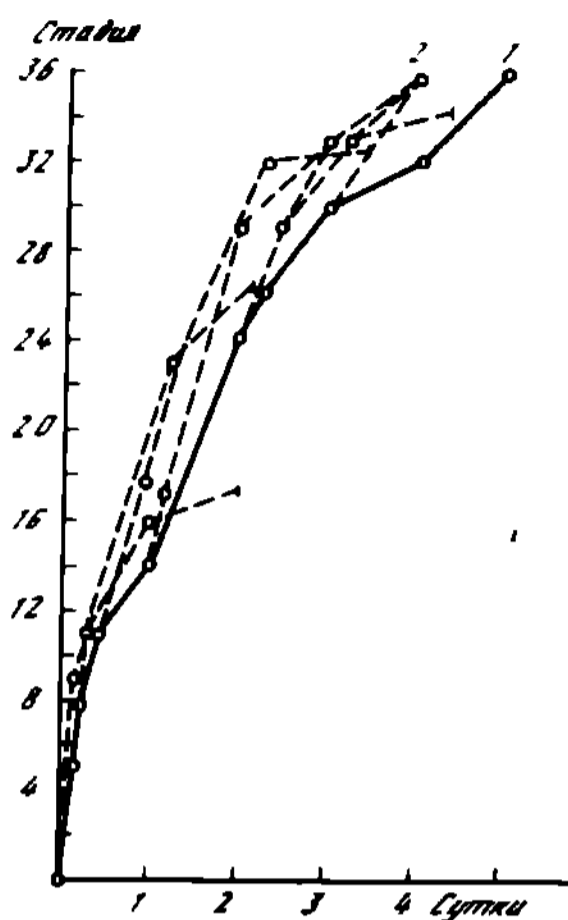
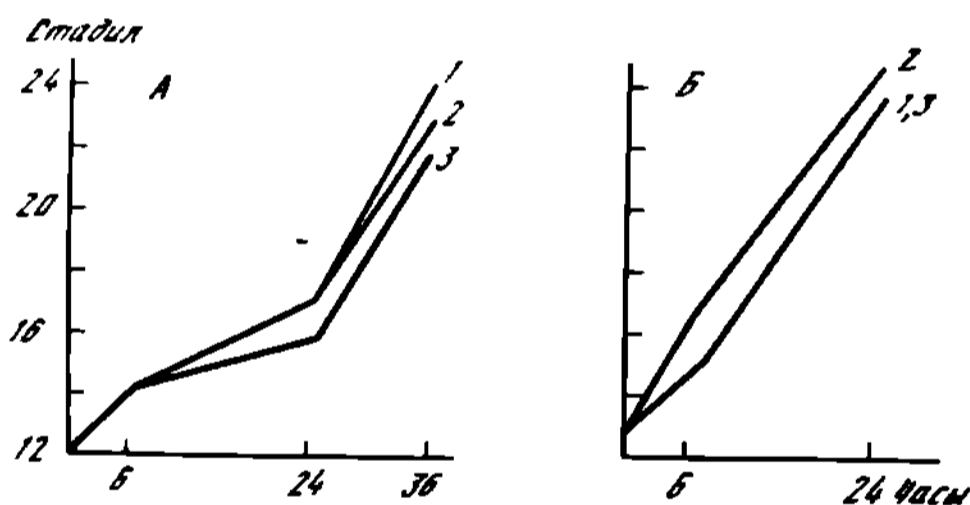


Рис. 4. Изменение скорости развития зародышей осетра при изменении температуры инкубации с 18 до 25°С на различных стадиях эмбриогенеза
1 – контроль; 2 – опыт

Рис. 5. Изменение скорости развития зародышей белуги (А) при воздействии температуры 17° (1), 18° (2) и 19,5°С (3) и шипа (Б) при воздействии температуры 21° (1), 23,5° (2) и 26°С (3)



6 ч воздействия, как и у осетра, наблюдалось синхронное ускорение развития зародышей в группе. Оно было одинаковым при действии всех трех температур (рис. 5, А). Замедление скорости развития передовых особей и появление группы оставших зародышей наблюдалось у зародышей, перенесенных в температуру 19,5° уже после 12-часового воздействия. Угнетающее действие температуры 19,5° более четко выявляется через 24 часа: снижается скорость развития передовых особей, отставшие зародыши достигают всего 14-й стадии, а не 15-й, как в других группах (рис. 6, А). Различия в развитии зародышей при температуре 17° и 18° обнаруживались лишь после 36-часового воздействия (см. рис. 5, А). Они выражались в замедлении скорости развития передовых особей при 18°С, значительной дифференциации зародышей по скорости развития, в обособлении значительной по объему группы отставших особей, находившихся всего на 15-й стадии развития (см. рис. 6, Б).

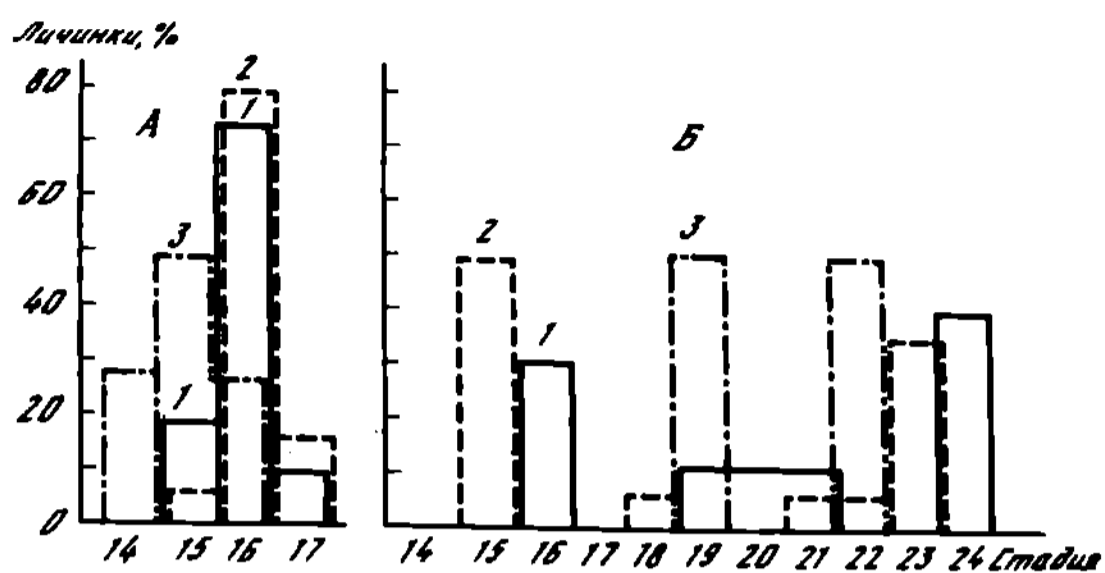


Рис. 6. Характер распределения по стадиям зародышей белуги после 24- (А) и 36-часового (Б) воздействия температуры 17° (1), 18° (2) и 19,5° С (3)

Элиминирующее действие высокой температуры раньше всего проявляется в группе зародышей, перенесенных в температуру 19,5°. Через 36 ч гибель здесь достигала 33,3% в основном за счет отставших в развитии особей. Это послужило причиной того, что распределение по скорости развития охватывает всего две стадии — 19-ю и 22-ю. В отличие от двух других подопытных групп отставшие в развитии зародыши здесь отсутствуют (см. рис. 6, Б). Аналогичные результаты получены и по шипу (см. рис. 5, Б).

Таким образом, угнетающее действие высокой температуры проявляется в относительном замедлении скорости развития зародышей. Длительное действие экстремально высокой температуры влияет на характер распределения зародышей по скорости развития, приводя сначала к дифференциации на передовых и отставших особей, т.е. к двугорбности кривой распределения с заниженной средней частью, а затем к элиминации отставших особей. Такой характер распределения и наблюдаемое при этом явление распада модальной группы под влиянием неблагоприятных факторов на передовых и отставших было отмечено для молоди карпа при ухудшении условий питания [Поляков, 1962; 1975].

Нормализация условий развития после гипертермического воздействия в первое время не вызывала изменений в характере распределения зародышей по скорости развития — они оставались столь же широкими, как и в ходе эксперимента. Сужение диапазона варьирования и синхронизация темпа развития наблюдались на 2–4-й день после нормализации температурного режима. Процесс синхронизации темпа развития у ранних зародышей осуществлялся за счет элиминации отстававших в развитии и уродливых зародышей (табл. 4). При действии высокой температуры во время гаструляции (стадии 11–17, 14–17) увеличенный диапазон изменчивости скорости развития зародышей после снятия воздействия сохранялся вплоть до завершения выклева. При этом после 6-часовой экспозиции гибель была постепенной и небольшой. При более длительной экспозиции гипертермии (24 ч на стадии 14–17) широкий диапазон изменчивости по скорости развития наблюдался лишь в первые сутки после снятия воздействия, а затем происходила синхронизация скорости эмбриогенеза за счет уско-

Таблица 4

Эффект последствия высокой температуры (25°С) в ходе последующего развития зародышей осетра

Стадия воздействия	Экспозиция, ч	n	Характеристики развития после снятия воздействия			
			Время, сутки	Гибель, %	Уроды, %	Стадии
I 9-я	6	32	1	15,6	40,6	20/25,0; 19/15,6; 18/3,2
			2	56,2	3,2	28/21,9; 27/12,5; 26/6,2
			4	65,2	9,4	36/3,1; 35-34/21,9
I-11-я	12	25	0,5	40,0	60,0	
			1,5	96,0	4,0	
			4,5	100		
I-11-я	24	24	1	100		
8-12-я	6	29	1	0,0	6,9	24/6,9; 23/79,3; 22/6,9
			34	29,4	2,9	30/58,8; 29/5,9
			5	61,8	5,9	36/23,5; 35/8,8
8-23-я	24	20	1	40,0	0,0	30/20,0; 29/40,0
			3	80,0	20,0	
8-26-я	48	20	1	100		
11-17-я	12	25	1	12,0	4,0	28/64,0; 27/20,0
			2	20,0	0,0	33/12,0; 32/32,0; 31/36,0
			3	36,0	0,0	36/20,0; 35/28,0; 34/8,0; 33/8,0
11-31-я	48	7	1	100		
14-17-я	6	30	1	6,6	0,0	30/6,7; 29/76,7; 28/10,0
			3	13,3	0,0	36/26,7; 35/26,7; 34/30,0; 33/3,3
14-29-я	24	20	1	0,0	0,0	35/10; 34/15,0; 33/65,0; 32/10,0
			2	10,0	10,0	36/70,0; 35/10,0
14-33-я	48	10	1	10,0	0,0	36/40,0; 35/50,0
			2	10,0	30,0	36/60,0
17-30-я	24	20	2	15,0	5,0	36/50,0; 35/30,0
			3	15,0	10,0	36/75,0
24-29-я	12	20	2	5,0	0,0	36/95
24-32-я	24	6	1	16,7	0,0	36/16,7; 35/66,6

рения темпа развития отстававших особей, напоминающая компенсаторное ускорение развития, так как число погибших зародышей составляло всего 10%. Подобное явление следует рассматривать скорее всего как особенность данного отрезка развития. В норме в период гаструляции также может наблюдаться увеличение изменчивости зародышей по скорости развития [Рыжков, 1975].

Гипертермическое воздействие на зародышей поздних стадий не оказывало сильного действия (см. табл. 3, 4).

Опыты по воздействию высокой температуры различной интенсивности на зародышей двух самок шипа показали, что, как правило, выживаемость была ниже после воздействия наиболее высокой температуры. Стимуляции развития, наблюдавшейся после воздействия низкой температуры, здесь не обнаружено (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изменение температуры развития за пределы нормальных нерестовых вызывает подавление отдельных функций организма, которое, видимо, складывается из нарушения деятельности отдельных клеточных структур и клеток, составляющих ткани, органы, органнне системы. Некоторые функции клеток, слагающих организм, подавляются при слабом действии агента, другие — при более сильном. Таким образом, выключение отдельных клеточных функций при нагреве или охлаждении организма достигается в определенной последовательности при существенно различной степени повреждения клеточной системы [Александров, 1977, Landridge, 1963].

С другой стороны, при повреждении клеточных структур, даже самых незначительных, мобилизуются какие-то клеточные механизмы, способные восстанавливать повреждение, т.е. клетки обладают определенной репараторно-восстановительной способностью [Александров, 1977; Засухина, 1979]. Способность к репарации повреждений проявляется как во время действия агента, так и после прекращения его действия [Александров, 1975, 1977]. В организме репараторные способности усиливаются наличием определенных регуляторных механизмов, призванных поддерживать целостность системы. К числу таких механизмов следует отнести нервную и гуморальную регуляцию, наличие системы ферментативных связей, коррелятивных зависимостей отдельных структур и др. Все это делает процесс репарации, как и процесс повреждения организма, более сложным и многогранным. С усложнением организации связано повышение в ходе развития зародышей их устойчивости к действию экстремального фактора.

Все рассмотренные в работе реакции организма на изменение условий развития и составляют ту основу, которая в своей совокупности обеспечивает переживание видом разнообразных колебаний абиотических условий. Важен не только сам факт наличия этих реакций, но и особенности их проявления у отдельных особей, групп, видов, как подтверждение определенного глубокого биологического смысла разнокачественности зародышей в раннем онтогенезе.

В ответ на понижение температурного режима развития зародыши реагируют замедлением темпа развития. Если понижение невелико и лежит в диапазоне границ нормальной нерестовой температуры, то регуляция процесса развития происходит в соответствии с изменением скорости клеточного деления [Детлаф, 1953, Детлаф Т., Детлаф А., 1960]. При резкой гипотермии с перепадом температуры в 10° (шип, белуга) или 15° (осетр) проявляются специфические реакции, обеспечивающие переживание неблагоприятных условий. Эти реакции можно расположить в определенной последовательности по времени их проявления: торможение развития → процесс привыкания → возобновление развития в замедленном темпе → повторное подавление развития → гибель.

После нормализации температурного режима проявляется эффект последствия гипотермии, выражающийся в дифференциации зародышей по скорости развития, в появлении уродств, вызванных действием гипотермии на предшествующих стадиях, постепенном увеличении процента гибели, компенсаторном ускорении развития и явлении стимуляции.

Реакция организмов на повышение температуры инкубации несколько отличается от таковой на гипотермию и выражается прежде всего в синх-

роном для всех зародышей в группе ускорении развития, затем в дифференциации зародышей по скорости и замедлению темпа развития, предшествующих их гибели. Патогенное действие высокой температуры выражается в появлении различного рода уродств, элиминации особей, нарушении закономерного ускорения развития. Эффект последствия высокой температуры в первое время проявляется в сохранении установившегося диапазона варьирования зародышей по скорости развития, а затем — в его сужении как за счет элиминации, так и возникновения компенсаторного ускорения у оставшихся особей.

В зависимости от геномных особенностей и морфофизиологического состояния особей в группе, а также степени сформированности организма и репараторных систем наблюдаются различные вариации проявления этих реакций.

Компенсаторное ускорение развития характерно как для беспозвоночных, так для низших и высших позвоночных [Ибраимова, Щукина, 1976; Ибраимова, 1980]. Это важное биологическое явление, под которым понимают количественное замещение физиологических функций в процессе воздействия фактора среды или изменения физиологического состояния как одного из важнейших путей поддержания гомеостаза. В настоящее время выделяют следующие основные проявления компенсации: межсистемная, внутрисистемная, внутритканевая и внутриклеточная [Слоним, 1980].

Как частный случай проявления компенсации можно рассматривать и реакцию "стимуляции". Это явление также обнаружено при действии больших доз токсикантов и микроэлементов [Строганов, 1973; Берман и др., 1976; Долохан и др., 1976; Gillespie, 1972; Kruzynski, Ledue, 1972].

Некоторые реакции, которые проявляются при действии низкой и высокой температуры, являются как бы универсальными. К их числу следует отнести прежде всего дифференциацию по скорости развития, являющуюся отражением разнокачественности состава зародышей в группе; появление уродств как результат нарушения формообразовательных процессов; гибель зародышей, вызываемая тяжкими нарушениями целостности организма; повышение терморезистентности в ходе развития зародышей и др.

Ряд реакций, выявленных при воздействии экстремальной температуры, отражает ее патогенное действие.

Часть из рассмотренных нами реакций имеет широкий адаптивный смысл, как, например, синхронизация темпа развития зародышей в группе при кратковременном воздействии высокой температуры, призванная обеспечить нормальную жизнедеятельность особей; дифференциация по скорости, выявляющая различия в степени соответствия условий потребностям организма и являющаяся важным приспособительным свойством вида в условиях меняющегося температурного режима. К полезным приспособительным реакциям следует отнести и компенсаторное ускорение развития, и реакцию стимуляции.

Наконец, есть реакции, проявляющиеся как результат репараторно-восстановительной деятельности организма и ее усиления: 1) восстановление развития после торможения при продолжающемся воздействии агента; 2) синхронизация скорости развития зародышей после прекраще-

ния воздействия за счет ускорения развития отстававших особей; 3) изменение термочувствительности зародышей в ходе развития и др.

Как видно, отдельные реакции выступают как универсальные, отражая процессы быстрой адаптации или привыкания, восстановительно-репараторной деятельности, угнетения развития и др. Это заставляет предположить, что в основе реакции зародышей осетровых рыб на изменение температуры лежат механизмы, обеспечивающие пластичность и призванные поддерживать и сохранять целостность организма на всех уровнях его организации, а также механизмы, свойственные не только представителям осетровых рыб, но и других классов позвоночных.

ЛИТЕРАТУРА

- Александров В.Я. Проблема авторегуляции в цитологии. III. Реактивное повышение устойчивости клеток к действию повреждающих агентов (адаптация). – Цитология, 1965, т. 7, № 4, с. 447–466.
- Александров В.Я. Клетки, макромолекулы и температура. Л.: Наука, 1975. 330 с.
- Александров В.Я. Репарация теплового повреждения клеток. – В кн.: Проблема экспериментальной эмбриологии. М.: Наука, 1977, с. 257–268.
- Алявдина Л.А. Состояние и распределение нерестилищ осетра и севрюги на участке р. Волги Саратов–Камышин. – Тр. Саратов. отд. Касп. фил. ВНИРО, 1951, т. 1, с. 14–32.
- Алявдина Л.А. Об экологии размножения осетра р. Волги. – Там же, 1953, т. 2, с. 3–21.
- Андронников В.Б. Теплоустойчивость половых клеток пойкилотермных животных. – В кн.: Клетка и температура среды. М.; Л.: Наука, 1964, с. 265–268.
- Андронников В.Б. Теплоустойчивость половых клеток и эмбрионов пойкилотермных животных. – В кн.: Теплоустойчивость клеток животных. М.; Л.: Наука, 1965, с. 125–139.
- Андронников В.Б. О характере изменения теплоустойчивости эмбрионов пойкилотермных животных на ранних стадиях онтогенеза. – В кн.: Изменчивость теплоустойчивости клеток животных в онто- и филогенезе. М.; Л.: Наука, 1967, с. 4–12.
- Берман Ш.А., Вытрищак Л.Н., Скуяне М.Х. и др. Сдвиги физиологических показателей у рыб при дефиците и избытке меди и цинка. – В кн.: Экологическая физиология рыб. Наук. думка, 1976, ч. 1, с. 75–76.
- Гинзбург А.С., Детлаф Т.А. Развитие осетровых рыб: Созревание яиц, оплодотворение и эмбриогенез. М.: Наука, 1969.
- Городилов Ю.Н. Исследование чувствительности рыб к действию высокой температуры в период их эмбриогенеза. 2. Характер изменения чувствительности развивающейся икры при оценке ее различными способами и возможное экологическое значение этих изменений. – Цитология, 1969, т. 11, № 3, с. 366–374.
- Городилов Ю.Н. Изучение механизмов теплового повреждения зародышей рыб на различных стадиях развития: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1970.
- Детлаф Т.А. Зависимость темпа дробления икры осетровых рыб от температуры. – Докл. АН СССР, 1953, т. 91, № 3, с. 695–698.
- Детлаф Т.А. Некоторые температурно-временные закономерности эмбрионального развития пойкилотермных животных. – В кн.: Проблемы экспериментальной биологии. М.: Наука, 1977, с. 269–287.
- Детлаф Т.А., Гинзбург А.С. Зародышевое развитие осетровых рыб (севрюга, осетр и белуга) в связи с вопросами их разведения. М.: Изд-во АН СССР, 1954.
- Детлаф Т.А., Детлаф А.А. О безразмерных характеристиках продолжительности развития в эмбриологии. – Докл. АН СССР, 1960, т. 134, № 1, с. 199–202.
- Долохян В.К., Шлейфер Г.С., Ахмедова Г.П. Влияние загрязнения водной среды на физиолого-биохимические показатели рыб. – В кн.: Экологическая физиология рыб. Киев: Наук. думка, 1976, ч. 1, с. 69–70.
- Засухина Г.Д. Репаративные механизмы клеток и проблемы окружающей среды. М.: Наука, 1979.

- Ибраимова Г.И., Щукина М.Я. Потребление кислорода у озерной лягушки (*Rana lessonae*) и у степной черепахи (*Testudo horsfieldi*) при адаптации к холоду и гипоксии. – В кн.: Перекрестные адаптации к природным факторам среды. Фрунзе, 1976, с. 65–74.
- Исумнова Л.В. Временные закономерности зародышевого развития белуги. – Онтогенез, 1975, т. 6, № 1, с. 47–54.
- Насонов Д.Н., Александров В.Я. Реакция живого вещества на внешнее воздействие. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1940.
- Никольская Н.Г., Сытина Л.А. Сравнительный анализ действия постоянных температур на эмбриональное развитие разных видов осетровых. – Вопр. ихтиологии, 1978, т. 18, вып. 1 (108), с. 101–116.
- Никольская Н.Г., Сытина Л.А. Изменчивость потомства осетровых рыб под влиянием температуры. – В кн.: Внутривидовая изменчивость в онтогенезе животных. М.: Наука, 1980, с. 96–114.
- Поляков Г.Д. Приспособительная взаимосвязь изменчивости популяций рыб с условиями питания. – Тр. Ин-та морфол. животных АН СССР, 1962, вып. 42, с. 5–63.
- Поляков Г.Д. Экологические закономерности популяционной изменчивости рыб. М.: Наука, 1975.
- Резниченко П.Н. К характеристике температурных условий развития икры волжского осетра. – В кн.: Материалы научной сессии ЦНИОРХ. Астрахань, 1969, с. 164–165.
- Резниченко П.Н. К характеристике температурных условий развития икры русского осетра (*Acipenser gürdenstädti* Brandt) р. Волги. – В кн.: Эколого-морфологические и эколого-физиологические исследования развития рыб. М.: Наука, 1978, с. 115–125.
- Рыжков Л.П. Вариабельность размеров икры лососевых рыб и причины, ее обуславливающие. – В кн.: Основы биопродуктивности внутренних водоемов Прибалтики. Вильнюс: 1975, с. 266–268.
- Слоним А.Д. Вместо предисловия. – В кн.: Температурная компенсация и поведение животных. Л.: Наука, 1980, с. 3–9.
- Строганов Н.С. Теоретические аспекты действия пестицидов на водные организмы. – В кн.: Экспериментальная водная токсикология. Рига: Зинатне, 1973, вып. 5, с. 11–37.
- Сытина Л.А., Никольская Н.Г. Изменчивость некоторых температурных реакций в эмбриогенезе осетровых рыб и бесхвостых амфибий. – В кн.: Морфологические аспекты эволюции. М.: Наука, 1980, с. 87–102.
- Танасийчук В.С. Нерест осетровых в условиях зарегулированного стока Волги. – В кн.: Осетровое хозяйство в водоемах СССР. М.: Изд-во АН СССР, 1963, с. 138–142.
- Тлеуов Р., Сагитов Н.И. Осетровые рыбы Амударьи. Ташкент: Фан. 215 с.
- Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. М.: Наука, 1968, 451 с.
- Gillespie D.C. Mobilization of mercury from sediments into guppies (*Poecilia reticulata*). – J. Fish. Res. Board Can., 1972, vol. 29, N 7, p. 1035–1041.
- Kruzynski G.M., Ledue G. Methoxychlor a new threat to the Atlantic salmon. – Atlantic salmon J., 1972, N 1, p. 11–15.
- Landridge J. Biochemical aspects of temperature response. – Annual Rev. Plant Physiol., 1963, vol. 14, p. 441–462.

О ПРИСПОСОБИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЯХ РЫБ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПЕСТИЦИДОВ

Г.В. ПОПОВА

ВНИИ природа МСХ СССР

Огромные масштабы производства и использования пестицидов в различных отраслях народного хозяйства приводят к хроническому загрязнению водных экосистем, что делает необходимым исследование адаптации или привыкания рыб к пестицидам и выявление процессов приспособления к новым экологическим факторам среды.

Наше понимание адаптации связано со способностью особей приспосабливаться к среде обитания, в основе которой лежит выживание и увеличение численности вида, единство организма со средой и целостность организма как единой биологической системы. Эти принципы, основанные на биологических законах, безусловно не охватывают всех возможных подходов к оценке данного понятия, но, как нам кажется, являются его основой.

Некоторыми авторами адаптация рассматривается как привыкание организма к стрессовым факторам и таким образом ставится равенство между этими двумя понятиями. Мы же склонны рассматривать "привыкание" как частный случай адаптации. С нашей точки зрения, "привыкание" означает значительное ослабление реакции организма или полное прекращение реагирования на продолжающееся воздействие токсиканта, если последний оказывал влияние ранее. Состояние "привыкания" — приспособление организма к воздействию токсиканта без развития патологических нарушений и без напряжения компенсаторно-приспособительных механизмов.

Однако нам представляется, что использование термина "привыкание" требует определенной осторожности. Прежде всего возникает необходимость четкого формулирования различий между реакциями физиологического приспособления и реакциями компенсации возникшего патологического процесса.

Логично ожидать, что воздействие малых концентраций токсических веществ, сдвигая процессы от оси физиологического равновесия, прежде всего будет вызывать компенсаторные реакции. Если же комплекс компенсаторно-приспособительных сдвигов в организме окажется достаточным, чтобы обеспечить в данных условиях сохранение стабильности важнейших для жизни констант, то, по-видимому, может развиваться привыкание к воздействию данного токсического агента.

Критерием истинного приспособления к измененной среде можно считать: снижение чувствительности к действующему началу, возникновение более близкой к исходной резистентности организма и увеличение сопротивляемости по отношению к повышенным концентрациям токсиканта, а также полную обратимость отклонений в случае прекращения воздействия агента и возвращение организма к исходному состоянию. Пределы возможностей организма в процессе приспособления можно считать исчерпанными при возникновении повреждений, носящих необратимый характер.

В процессе приспособления организма к меняющимся условиям окружающей среды принимают участие многие органы и системы, в том числе система крови, которая является связующей средой и через которую осуществляется гуморальная регуляция и координация отдельных функций организма. Система крови непосредственно участвует в одной из основных жизненных функций – метаболической функции, которая обеспечивает тканевое дыхание.

Своеобразие реакции системы крови, так же как своеобразие реакции других органов и систем, определяется особенностями, присущими именно этой системе. Кроветворение, как известно, отличаются высокая степень регенерации и широкий диапазон физиологических колебаний показателей. Так как при воздействии целого ряда факторов, не говоря уже о пестицидном влиянии, происходит повреждение кроветворных клеток, в ответ на которое возникают компенсаторные реакции, направленные на регенерацию дефекта, процессы компенсации и приспособления в системе крови между собой неразрывно связаны и их не всегда удается четко разграничить. Часто начальные гематологические реакции, возникающие при воздействии токсических веществ малой интенсивности, отличаются слабой выраженностью, в связи с чем их трудно уловить при периодических исследованиях. В этих случаях наблюдаемые компенсаторные сдвиги являются единственным показателем имевшего место поражения, в то время как признаки повреждающего фактора не выявляются.

При острых интоксикациях обычно удается установить, что наряду со специфическими изменениями наблюдаются сдвиги морфологического состава крови, общие для всей интоксикации. Эти неспецифические изменения крови, по-видимому, можно рассматривать как одно из проявлений приспособительных реакций. Такие явления, как активация клеточной пролиферации, ускорение морфологической и химической дифференциации клеток, быстрое поступление последних в кровеносное русло, свидетельствуют о компенсаторном напряжении регенерации. При увеличении интенсивности и длительности токсического воздействия химических агентов возможно перенапряжение регенерации, которое приводит к срыву компенсаторно-защитных механизмов и развитию явления декомпенсации.

Если рассматривать гематологические сдвиги и нарушения, возникающие под влиянием пестицидов в динамике, то проявляется универсальная особенность, присущая любой реакции организма на токсическое воздействие [Строганов, 1941, 1973]. Первичная реакция на воздействие пестицида сменяется усилением функциональной активности системы крови, испытывающей на себе действие тропного по отношению к ней токсиканта. Но развивающаяся во времени интоксикация формирует вначале скрытое патологическое состояние этой системы, а после истощения компенсаторных возможностей развивается явный патологический процесс. Чем меньше способна система крови компенсировать повреждения, вызванные пестицидом, тем значительнее выражена патология. Однако иногда в ответ на неблагоприятное длительное химическое воздействие клеточная популяция порождает формы, среди которых появляются клетки, обладающие повышенной резистентностью.

Многочисленны примеры временного функционального благополучия при серьезных структурных повреждениях, которые заставляют полагать

что истинное физиологическое приспособление, или "привыкание", является в большинстве случаев стадией компенсации патологического процесса. Так, например, при норме количественных показателей при воздействии на рыб диурона, пропанида и других пестицидов развивается морфологическая патология, свидетельствующая о функциональной деградции крови.

Вопрос о границах области истинного приспособления и временной компенсации на клеточном уровне требует дополнительных экспериментальных исследований. По нашему мнению, физиологическое "привыкание", если оно и существует на эффективных уровнях воздействия вещества, — явление, быстро проходящее. Соприкосновение организма с химическим загрязнением среды на более низких уровнях после возможных ориентировочных реакций может заканчиваться истинным приспособлением организма.

Наименее изученной в водной токсикологии является проблема интермитирующего действия ядов на организм: проблема, которая тесно соприкасается с общебиологической проблемой адаптации. Между тем известно, что концентрации вредных веществ в водных экосистемах постоянно изменяются во времени и прерывистость действия химических элементов на рыб может проявляться в резких колебаниях концентраций — от минимальных до значительно превышающих ПДК, в чередовании с промежутками, когда совсем отсутствуют токсиканты.

Поскольку в условиях эксперимента трудно воспроизвести картину вариабельности концентраций веществ, загрязняющих водную среду, для оценки возможности привыкания весьма важно установить общие закономерности при воздействии относительно постоянных концентраций, постепенно повышающихся и резко колеблющихся; определить также чувствительность к воздействию высоких концентраций адаптированных рыб к малым концентрациям токсиканта.

Состояние привыкания, когда повышается устойчивость организма и вредное воздействие токсиканта до некоторого времени не проявляется, изучено относительно мало, во всяком случае, несравненно меньше, чем состояние выраженной интоксикации.

Наши опыты показали, что воздействие некоторых пестицидов в постоянных концентрациях приводит к развитию привыкания, в то же время при режимах воздействия постепенно повышающихся и резко меняющихся концентраций привыкание практически отсутствует. Характер и степень изменений при действии постоянных и меняющихся концентраций пестицидов зависят от физико-химических и кумулятивных свойств.

Так, при действии пестицидов, обладающих материальной кумуляцией (например, метатион), не отмечается заметных различий между действием постоянной и меняющихся концентраций. При действии резко меняющихся концентраций токсикантов, медленно выводящихся из тканей и органов рыб, создается как бы постоянный уровень их в организме и происходит перестройка функций соответственно этому уровню.

Пестициды, которые быстро насыщают кровь и затем быстро элиминируют из организма, т.е. не обладающие материальной кумуляцией (такие, как абат, прометрин), при действии меняющихся концентраций вызывают более сильный эффект, чем при действии постоянных концентраций, что, по-видимому, связано с усилением сенсibilизации организма. Так, воздействие на карпов постепенно повышающихся концентраций прометрина

(от 0,1 до 5 мг/л) привело к гибели рыб, в то время как воздействие 5 мг/л гербицида при той же экспозиции не вызывало подобного эффекта.

Продолжительный контакт рыб с малыми концентрациями прометрина заметно повышал устойчивость их к остротоксичным концентрациям гербицида. В первой серии опытов было выявлено, что пребывание карпов в течение 60 дней в концентрации прометрина 0,1 мг/л повышает чувствительность последних к 15 мг/л прометрина (критерием токсического действия служили поведенческие реакции и гематологические показатели), но существенно снижает процент гибели и увеличивает период жизни по сравнению с рыбами, не имевшими предварительного контакта с прометрином. Карпы, помещенные в раствор прометрина концентрацией 15 мг/л, погибали через 24 ч, в то время как особи, имевшие предварительный контакт с гербицидом в концентрации 0,1 мг/л, не выявляли гибели за этот промежуток времени. Однако, как показали гематологические исследования, физиологической адаптации у выживших особей при этом не происходило.

Во второй серии опытов в раствор прометрина 20 мг/л помещали карпов, которые предварительно в течение 60 дней содержались в растворе прометрина 0,1 мг/л и питались, содержались в чистой воде и питались, содержались в чистой воде и голодали. Было установлено, что самые устойчивые карпы (к концентрации 20 мг/л прометрина) — это голодавшие в течение двух месяцев особи, имевшие контакт с прометрином, обладали меньшей устойчивостью и менее резистентные — интактные и питавшиеся весь период опыта. По-видимому, длительное воздействие неблагоприятных факторов среды способствует мобилизации защитных механизмов организма, что и определяет повышенную устойчивость рыб к яду.

Исследования, проведенные с абатом, показали, что наблюдаемый благоприятный эффект, характеризующийся временным повышением устойчивости карпов к токсиканту, является кажущимся и кратковременным. В данных экспериментах привыкание носило своеобразную форму развития отравления, характеризующуюся глубокими изменениями физиологических показателей на фоне резкого ослабления внешних проявлений интоксикации. Но затем происходил срыв защитных компенсаторных механизмов, вследствие чего наблюдалось более интенсивное развитие процесса интоксикации с нарастанием ее проявлений.

Таким образом, привыкание, характеризующееся временным повышением устойчивости организма к токсиканту, сменяется фазой истощения, наступающей вследствие нарушения компенсаторно-приспособительных механизмов, обусловленной длительным влиянием раздражителя чрезвычайной важности [Лукьяненко, 1967]. Следует отметить, что важную роль в приобретении организмов некоторой устойчивости к высоким концентрациям вещества играет время и концентрация предварительного контакта рыб.

Полученные нами предварительные данные об особенностях действия некоторых пестицидов свидетельствуют, во-первых, о неблагоприятном влиянии колебаний концентраций; во-вторых, о сложности протекающих в организме реакций при действии меняющихся концентраций в зависимости от их физико-химических и кумулятивных свойств, механизма действия токсикантов; в-третьих, о необходимости глубоких исследований в этом направлении.

Перед токсикологами стоит задача изучить характер и особенности постоянного и интермиттирующего действия пестицидов вообще и в первую очередь широко используемых биологически активных веществ II генерации, которые в ближайшие 20–30 лет по-прежнему будут важным фактором интенсификации сельскохозяйственного производства в стране.

ЛИТЕРАТУРА

- Лукьяненко В.И. Токсикология рыб. М.: Пищ. пром-сть, 1967. 215 с.
Строганов Н.С. Новые пути решения проблемы действия сточных промышленных вод на водные организмы. – Учен. зап. МГУ. Биол. сер. 1941, вып. 60. с. 5–24.
Строганов Н.С. Теоретические аспекты действия пестицидов на водные организмы. – Эксперим. вод. токсикология, 1973, вып. 5, с. 11–37.

УДК 591.525:628.394

ПРОЦЕССЫ ПРИСПОСОБЛЕНИЯ И РЕГУЛЯЦИИ У МОЛЛЮСКОВ И ЭМБРИОНОВ РЫБ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ СРЕДЫ

О.П. ДАНИЛЬЧЕНКО

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Отдельные особи и группы особей приспособительно реагируют на действие внешних факторов. В основе приспособительных реакций лежат регуляторные механизмы, о работе которых в токсикологическом эксперименте мы судили по протеканию биологических процессов у подопытных особей по сравнению с контрольными. В качестве контроля обычно используется тот же тест-объект, но находящийся в чистой воде. Наличие контроля обязательно, так как норма реакции каждого вида гидробионтов на колеблющиеся факторы внешней среды (температура, гидрохимический режим, атмосферное давление и т.д.) довольно широка. Однако ее проявление в конкретных условиях проведения опыта и у группы особей, взятых в опыт, будет уже нормы реакции вида. Именно такая реакция токсикологами принимается в качестве контрольной, т.е. нормальной реакции изучаемого тест-объекта в конкретных условиях проведения токсикологического эксперимента.

Чтобы разобраться в вопросе о том, могут ли гидробионты приспособиться к действию токсикантов и как срабатывают их регуляторные механизмы в условиях химического загрязнения воды, мы использовали два контроля. Во-первых, общепринятый – наблюдение за теми же процессами, но в чистой воде. Кроме того, мы изучали реакции гидробионтов на необычное содержание (интенсивность) факторов внешней среды – повышенное содержание в воде биогенных солей (KNO_3 , $MgCl_2$, $MgSO_4$, $Co(NO_3)_2$, $MnSO_4$), повышенную и пониженную температуру воды, изменение солености воды. Нами выбраны эти факторы в связи с тем, что синтезированные человеком химические вещества, попадающие в водоемы и изучаемые нами как токсиканты, гидробионты в любом количестве будут воспринимать в повышенном содержании, поскольку раньше этих соединений в воде водоемов не было. Эту реакцию мы рассматриваем в качестве второго контроля.

Объектами в наших исследованиях служили эмбрионы рыб и моллюск большой прудовик. Реакцию эмбрионов рыб изучали, анализируя ход эмбрионального развития от момента оплодотворения икры до рассасывания желточного мешка. Развитие рыб исследовали при разной температуре (у осетровых рыб), разной солености (у морской формы трехиглой колюшки) и при повышенном содержании в воде биогенных солей (у вьюна). Оценку действия исследуемого вещества на моллюсков анализировали по нескольким показателям: выживаемость и размножение взрослых особей, эмбриональное развитие, выживаемость молоди. Опыты проводили при разном содержании в воде биогенных солей. В качестве токсикантов во всех опытах использованы оловоорганические соединения (ООС), а в опытах с эмбрионами рыб, кроме того, — пестициды и антисептики.

Из внешних факторов действия на эмбрионов рыб наиболее подробно изучен температурный фактор. Исследователи выделяют ряд температурных зон: летальные температуры, сублетальные, оптимальные и субоптимальные [Коровина, 1953; Андронников, 1967; Никольская, Сытина, 1978]. Эта классификация, составленная применительно к действию температур, очевидно, отражает реакции эмбрионов рыб и на другие внешние факторы. Она прослеживается по отношению к кислороду [Гулидов, 1969а,б; Гулидов, Попова, 1978; и др.], к углекислоте [Билько, 1973]: мы наблюдали ее по отношению к разным концентрациям солей магния и марганца. В приведенных примерах наблюдалось отсутствие развития при определенной высокой и низкой концентрации соединения в воде; низкий процент развития в субоптимальной зоне и высокий — в некотором диапазоне концентраций, который, видимо, следует считать оптимальным. Такую реакцию эмбрионов рыб на разную интенсивность внешних факторов следует считать нормой реакции, отражающей приспособление данного вида (популяции) к определенным условиям существования. В зоне оптимума хорошо срабатывают регуляторные механизмы организма, обеспечивая однотипную реакцию основной части особей. В зоне субоптимума выживает та часть зародышей, которая может выдержать (отрегулировать) это воздействие, что является отражением гетерогенности популяции (группы особей). Наличие зоны сублетали говорит о возможности части особей некоторое время выдержать даже высокую интенсивность фактора, что нередко имеет место и в природе. Все эти реакции приспособительные.

Изучение действия разных групп токсических веществ (ООС, пестициды, антисептики) на эмбрионы 13 видов рыб показало, что в реакции эмбрионов на разные токсиканты, как и на разные экологические факторы, есть общие моменты и вместе с тем эта реакция существенно отличается от реакции на экологические факторы.

Общим при сравнении действия экологических факторов и токсикантов на эмбрионов рыб является наличие концентраций, при которых невозможно развитие ранних зародышей, и концентраций, при которых к моменту окончания наблюдений (рассасывание желточного мешка) подопытные особи внешне не отличаются от контрольных. Это может указывать на то, что как бы выделяются зоны летали и оптимума. Но при более детальном анализе выявляются различия в реагировании.

Для летальной зоны действия экологических факторов характерна высокая обратимость. Так, в растворе хлористого марганца при концентрации

катиона 1000 мг/л развитие вьюна не начинается. Если икру, оплодотворенную и содержащуюся в этих условиях, через определенные промежутки времени переносить для дальнейшего развития в чистую воду, то даже после 100-минутного пребывания в летальном растворе возможно нормальное развитие в чистой воде (в контроле первая борозда дробления появилась через 90 мин после оплодотворения икры). Это указывает на то, что вплоть до начала развития (и даже дольше) под действием летального раствора в зиготе не произошло нарушения, а имело место лишь торможение развития. При действии летальных концентраций токсических веществ, в которых невозможно развитие ранних зародышей, обратимыми для вьюна являются или первые 1–3 мин (ООС) или 50–70 мин (антисептики). Видимо, в обоих случаях до начала дробления в зиготе происходят необратимые изменения. Следовательно, если летальные концентрации обычных солей хорошо обратимы, то соответствующие по действию концентрации токсикантов плохо обратимы или практически необратимы. Поэтому, если торможение развития в случае действия биогенных солей можно рассматривать как приспособительное реагирование, то при действии токсикантов, очевидно, имеет место нарушение живой системы зиготы.

В оптимальной зоне действия обычных факторов отмечен не только высокий процент выживаемости зародышей, но и их полноценное развитие на последующих стадиях, так как с возрастом границы зоны адаптации расширяются. Если в растворе токсического вещества отмечается высокий процент выживания эмбрионов, как это имеет место в оптимальной зоне действия обычных факторов, и вылупляются предличинки, внешне не отличающиеся от контрольных, они могут погибнуть по мере развития или вообще не развиваться и погибнуть к моменту рассасывания желточного мешка у контрольных особей. Такое явление мы наблюдали во многих случаях, в частности, оно отмечено для ерша в растворе 1 мг/л триэтилового хлорида (ТЭОХ), для вьюна в растворах 5 мг/л триметиллового хлорида (ТМОХ) и 10^{-2} мг/л триамиллового хлорида (ТАОХ), для окуня в растворе 10^{-1} мг/л ТАОХ. Если опыт удастся провести до мальковой стадии, то оказывается, что внешне нормально развившиеся личинки (после рассасывания желточного мешка) при дальнейшем нахождении в растворе токсиканта через некоторое время тоже могут выявить сильную патологию и погибнуть. Так было у нас в опыте с вьюном в растворе ПХФ концентрацией 1 мг/л.

Личинки рыб, развившиеся в малых концентрациях токсических веществ и визуально не отличающиеся от контрольных, в большом диапазоне концентраций (4–6 порядков) выявляют отличие от контроля по морфофизиологическим показателям [Строганов, Данильченко, 1973; Данильченко, 1975; Данильченко, Строганов, 1975; Данильченко, 1977]. При этом морфометрические показатели личинок проявляют в ряду концентраций токсиканта типичную фазность реагирования.

Приведенные факты говорят о том, что диапазон концентраций токсических веществ, в котором наблюдается высокий процент выживания эмбрионов и личинок рыб, вряд ли можно принимать за зону оптимума. Скорее это проявление временной терпимости (толерантности) к нелетальной для данной стадии развития концентрации вещества. Фазность реагирования говорит о том, что эти концентрации воспринимаются организ-

мом как повышенные. Следовательно, и по этому признаку их нельзя рассматривать в качестве оптимальных.

Итак, летальные концентрации токсических веществ по реакции на них эмбрионов рыб нельзя полностью отождествить с летальными концентрациями обычных солей и других экологических факторов, а зону оптимума не удастся выделить или она будет лежать на уровне ультранизких концентраций, в пределах действия которых не удастся обнаружить отличия подопытных особей от контрольных.

Не лучше обстоит дело и с зонами действия сублетали и субоптимума. В зоне сублетального действия экологических факторов может происходить оплодотворение и нормальное развитие икры рыб, если продолжительность их воздействия невелика, т.е. развитие в этих условиях идет до одной из стадий и действие таких концентраций полностью обратимо. На Куринском экспериментальном осетровом заводе мы одновременно изучали действие на эмбрионов осетровых рыб разных температур и разных концентраций ТЭОХ [Данильченко, Сытина, 1976]. Для севрюги сублетальными оказались температуры 9–10 и 26°. В этих условиях развитие шло соответственно до стадий крупноклеточной морулы, начала гаструляции и бластулы. Перед наступлением этих стадий развитие икры замедлялось, после чего наступала гибель. Замедление темпа развития в ответ на действие температурного фактора носило адаптивный характер – перенесение икры в более благоприятные условия обеспечивало нормальное завершение эмбриогенеза.

Среди растворов ТЭОХ тоже выделились концентрации, при которых развитие севрюги шло до одной из стадий (при 10 мг/л – до стадии 2 бластомеров, при 5 мг/л – до 4 бластомеров, при 1 мг/л – до начала биения сердца), на которой наступала гибель зародышей. Этому предшествовал период, характеризующийся резким торможением (приостановкой) развития. При перенесении эмбрионов в такой период в чистую воду нормальная жизнедеятельность организма не восстанавливалась. Вероятно, при действии этих концентраций ТЭОХ на зародышей севрюги резкое замедление развития является не адаптивной реакцией, как это было в случае с температурным фактором, а служит показателем повреждающего действия.

Для всех исследованных нами токсикантов были установлены концентрации, полностью не предотвращающие развития, но приводящие к гибели всей икры на одной из стадий. Диапазон таких концентраций для одного вещества мог составлять несколько порядков. На рис. 1 представлены данные времени гибели эмбрионов и предличинок вьюна, развивавшихся в растворах ООС с момента оплодотворения икры. (Напомним, что при температуре 17–20°С выклев у вьюна происходит на 6–5-е сутки, а рассасывание желточного мешка – на 12–10-е сутки). Видно, что каждое из исследованных ООС имеет ряд концентраций, в пределах которых возможно начало развития, но завершается оно гибелью. Этот ряд концентраций включает от 2 до 5 порядков. Кривые на рис. 1 являются типичными линиями регрессии, отражающими зависимость доза–эффект; наклон кривой к оси абсцисс характеризует изменение токсичности раствора с разведением. Такие кривые невозможно получить для экологических факторов. Правда, для них тоже имеется зона, в пределах которой начавшееся развитие заканчивается гибелью на одной из стадий (зона сублетали), но ее протяженность

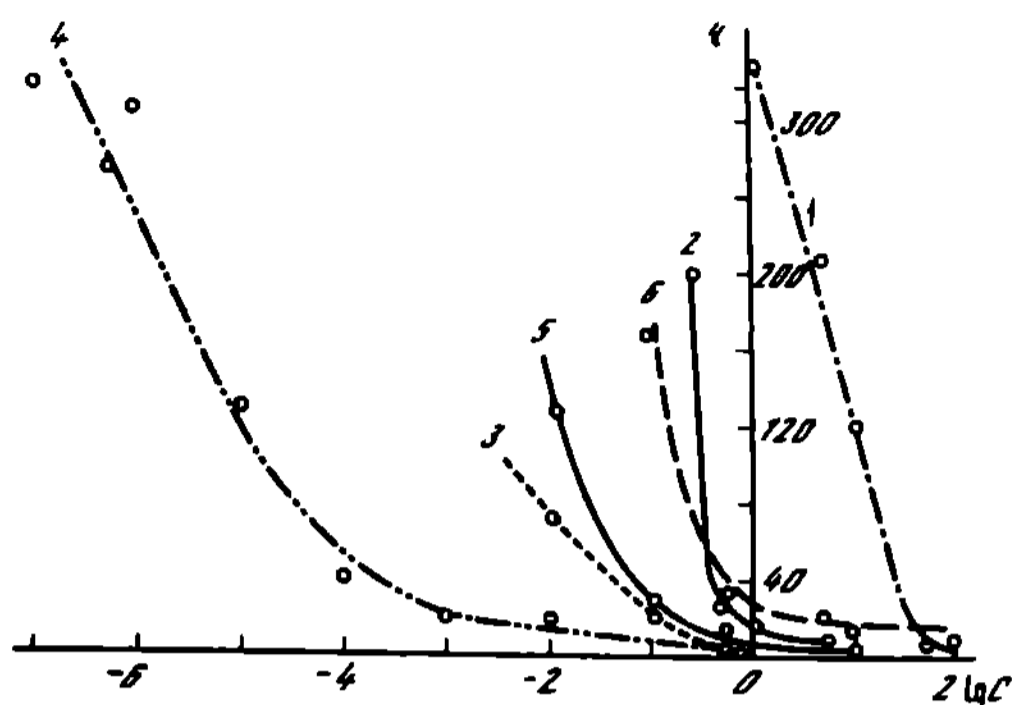


Рис. 1. Время жизни эмбрионов и предличиннок вьюна в растворах оловоорганических соединений

1 — триметилловохлорид; 2 — триэтилловохлорид; 3 — трипропилловохлорид; 4 — трибутилловохлорид; 5 — триамилловохлорид; 6 — тригексилловохлорид

очень небольшая — она занимает несколько единиц в пределах одного порядка интенсивности фактора.

Для ООС, представленных на рис. 1, изучена обратимость действия концентраций, вызывающих гибель эмбрионов вьюна на стадиях крупноклеточной морулы и начала гастрюляции (через 8–20 ч после оплодотворения икры). Время обратимого действия их составило от 2 до 40 мин. Можно ли точки на кривых рис. 1 рассматривать как зсну сублетали, но с большим диапазоном действия? В зоне сублетали при действии экологических факторов эмбрионы некоторое время развиваются, потом развитие тормозится. Если в это время икру переместить в оптимальные условия, то развитие будет продолжаться нормально, т.е. действие сублетальных концентраций (интенсивностей) в данном случае обратимо вплоть до остановки развития и даже через некоторое время после нее. В этом приспособительность реагирования — организм в течение всего периода развития в этих условиях регулирует сильное воздействие. Действие летальных концентраций токсических веществ, гибель в которых происходит через 8–20 ч после оплодотворения, обратимо только в течение первых минут или первого часа. Поэтому концентрации токсических веществ, при которых развитие начинается, а потом заканчивается гибелью, не идентичны сублетальным концентрациям экологических факторов. Эти концентрации токсических веществ не предотвращают развития, поэтому развитие начинается. Но уже в первые минуты (или десятки минут) наступают необратимые изменения в развитии, приводящие к гибели на одной из последующих стадий. Такая реакция эмбрионов не может рассматриваться как приспособительная; ее нельзя назвать и устойчивостью, скорее это толерантность — организм переносит эти условия до момента гибели.

В растворах токсических веществ мы ни разу не наблюдали, чтобы при максимально возможной для развития концентрации хотя бы неболь-

шая часть особей нормально развивалась до вылупления, что могло бы соответствовать зоне субоптима при действии экологических факторов. Если даже небольшая часть особей выживала до перехода на активное питание, то исследование ее морфофизиологического состояния показывало, что она развилась неполноценной (у подопытных личинок размер тела меньше, чем у контрольных; слабее выражена пигментация, хуже регуляция работы сердца и т.д.). Однако чаще в нелетальных растворах токсиканта наблюдается иная картина. При концентрациях веществ, близких к летальным, выживает не малая часть особей (как это имеет место в зоне субоптима), а, напротив, имеет место увеличение выживаемости по сравнению с контролем. Это выявляется в тех случаях, когда выживаемость в контроле менее 100%. Например, раствор ТЭОХ для эмбрионов ерша летален в концентрации 5 мг/л; в растворе концентрацией 1 мг/л выклев составил 75% при 65% в контроле. Для пескаря лательной концентрацией этого соединения в наших опытах был 1 мг/л; при 0,1 мг/л выклев составил 78%, в то время как в контроле он был равен только 60%. Различие не всегда большое, но так как это явление наблюдается часто, его следует считать объективно существующим. В токсикологии для такого случая (который отмечен не только на эмбрионах рыб, но и на многих других объектах) введен специальный термин — неспецифически повышенная сопротивляемость.

Следовательно, для токсических веществ мы не можем выделить зону субоптимального действия по отношению к эмбрионам рыб. Сравнение реакции эмбрионов рыб на токсические вещества с установленными ихтиологами закономерностями реагирования на экологические факторы показало отсутствие приспособительного реагирования у них на действие токсикантов. Это подтвердилось в опыте, проведенном нами на трехиглой колюшке.

Трехиглая колюшка является уникальным эвригалинным видом, обладающим весьма совершенной осморегуляторной системой [Хлабович, 1968]. На примере морской формы этого вида мы сравнили отношение его к опреснению воды, к малым концентрациям ТЭОХ и к совместному действию опреснения и ТЭОХ. О реакции на эти воздействия мы судили по морфометрическим показателям развившихся личинок (общая длина тела, его высота, длина головы, тушки, хвостового стебля, диаметр глаза).

Опыт показал, что морская форма трехиглой колюшки не только развивается и хорошо выживает в пресной воде, но по росту и соотношению частей тела практически не отличается от особей, развившихся при солености 25‰ (различие составляет 1–3%). В растворах с малыми концентрациями ТЭОХ, находящимися на уровне ПДК и менее (10^{-6} – 10^{-2} мг/л), развиваются личинки мельче контрольных на 15–20%. Все морфометрические показатели выявили фазность реагирования на исследованные концентрации ТЭОХ. Совместное действие опреснения и ТЭОХ в малых концентрациях еще больше усугубляет этот процесс — личинки становятся еще мельче, сохраняя фазность реагирования. Таким образом, морская форма трехиглой колюшки успешно справляется с экологическим фактором в экстремальной интенсивности и не выдерживает действия токсиканта в концентрации, соответствующей его ПДК для рыбохозяйственных водоемов и даже его концентраций в 10 000 раз ниже. Реакцию на опреснение можно рассматривать как адаптивную, а реакцию на ТЭОХ — как токсическую (см. статью А.Ф. Карпевич в настоящем сборнике).

У моллюсков мы имели возможность одновременно наблюдать за несколькими интегральными показателями — выживаемостью, размножением и эмбриональным развитием. Для проведения экспериментов использовали моллюсков естественной популяции одного из подмосковных водоемов. Опыты начинали после 2-недельной адаптации в лаборатории. Если метеорологические условия года были стабильными, то даже в течение 70–90 дней в контроле сохранялась высокая выживаемость прудовиков. На фоне резкого колебания температуры или появления каких-либо других неблагоприятных факторов часть особей погибала. Интенсивность размножения моллюсков в чистой воде зависела от сезона года и от температуры воды. В лабораторных условиях прудовики начинали размножаться через 10–12 дней и хорошо плодились при температуре 20–22°С. При резком повышении или понижении температуры воды размножение ослаблялось или прекращалось. Температура воды влияла на ход эмбрионального развития моллюсков. Так, в лабораторных условиях мы наблюдали, что не все кладки, отложенные в чистой воде, начинают развиваться, а в развивающихся кладках не все особи завершают развитие вылуплением. В результате количество молоди, появившейся в чистой воде в лабораторных условиях, могло составлять небольшой процент от количества отложения яиц. Таковы реакции контрольных особей большого прудовика на лабораторные условия содержания в кристаллизаторах при плотности посадки один моллюск на 500 мл воды [Мещеряков, 1975]. Они отражают приспособительное реагирование этого вида на изменение внешних условий. Как известно, в водоеме в естественных условиях большой прудовик ведет подвижный образ жизни и может уходить из зоны неблагоприятных условий. Температура воды в водоеме более стабильна, чем в лаборатории в кристаллизаторах. Что касается эмбрионального развития, то большая естественная плодовитость этого вида говорит о высокой смертности в ходе эмбрионального развития и на стадии молоди.

Состояние моллюсков в нелетальных растворах ООС отличалось от контроля и было идентичным состоянию моллюсков, находящихся в воде с повышенным содержанием биогенных солей. Во-первых, в нелетальных растворах ООС и при повышенном содержании в воде биогенных солей выживаемость моллюсков была лучше, чем в чистой воде (рис. 2, I), так как гибель в ходе опыта в этих условиях была меньше, чем в контроле. Во-вторых, в этих растворах наблюдалась, как принято говорить в водной токсикологии, стимуляция размножения по сравнению с контролем (см. рис. 2, II). Больше число отложенных яиц было связано с двумя факторами. На фоне повышенной выживаемости по сравнению с контролем мы констатировали большее число отложенных яиц даже при одинаковой интенсивности размножения отдельных особей. Но в большинстве случаев происходила "стимуляция" и самого процесса размножения — увеличение числа яиц, отложенных одним моллюском по сравнению с таким же показателем в контроле. Особенно следует подчеркнуть следующий момент. Кладки в растворах появлялись и в то время, когда в контроле происходило торможение размножения: при низких и высоких температурах воды, при похолодании (в сентябре и даже в октябре). В опытах на модельных водоемах кладки появлялись даже при температуре воды 4° на фоне ночных заморозков.

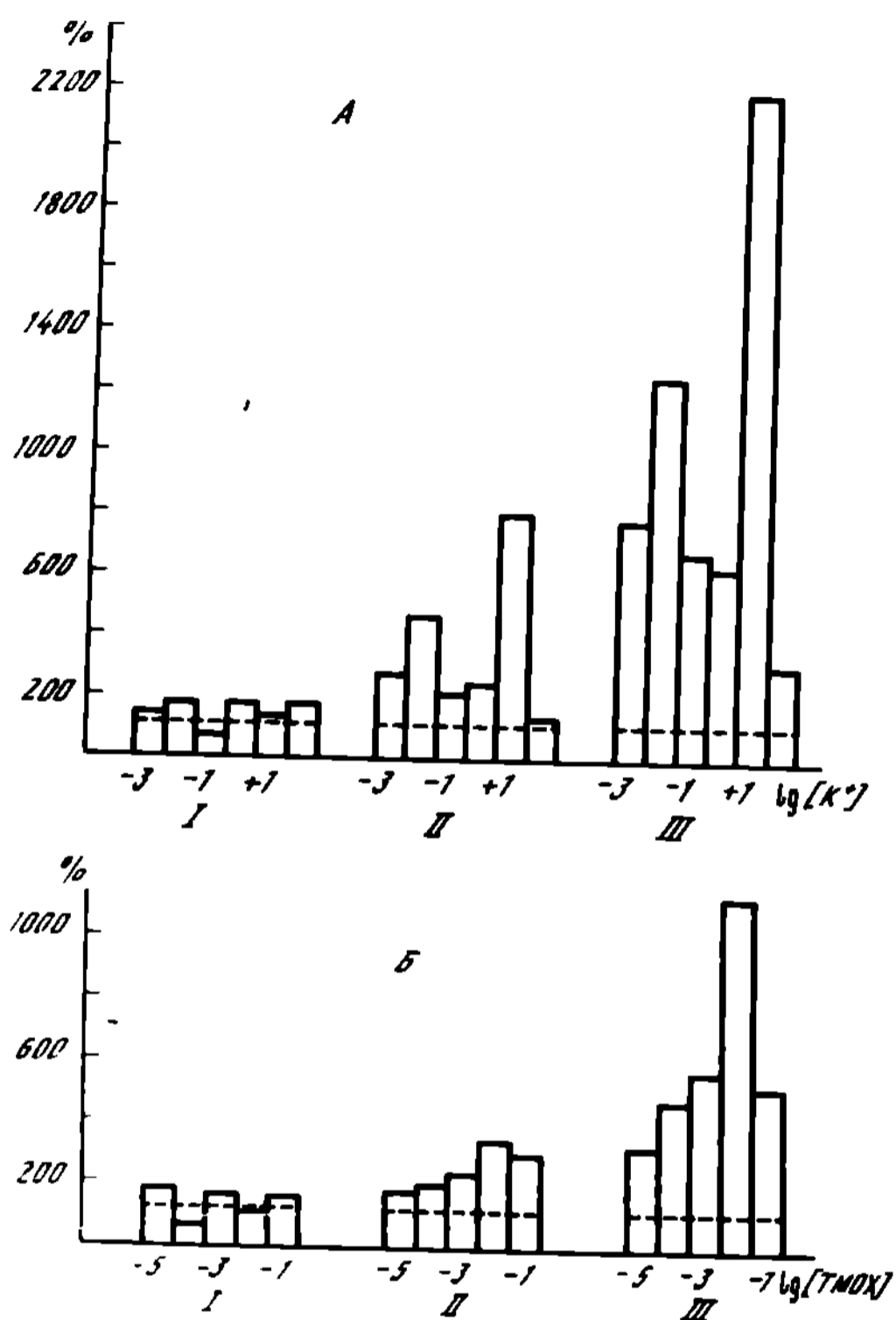


Рис. 2. Выживаемость, размножение и эмбриональное развитие большого прудовика в растворах KNO_3 (А) и ТМОХ (Б)
 I – выживаемость; II – общее число отложенных яиц; III – количество вылупившейся молоди

Следующий этап "стимуляции" имел место в ходе эмбрионального развития. Как уже отмечалось, в контроле развивались не все отложенные кладки и не из всех яиц происходило вылупление молоди. В результате среднее число вылупления в опытах 1977 и 1978 гг. соответственно составило 24 и 30%. В растворах вылупление было более полным – 80–100%. Это было связано с тем, что на фоне резкого понижения и повышения температуры воды эмбриональное развитие не тормозилось, а шло своим ходом, как будто во внешней среде ничего не произошло.

Суммация этих трех процессов – повышенной выживаемости взрослых особей, стимуляции их размножения и более полное эмбриональное разви-

тис — привела к резкому возрастанию количества вылупившейся молоди, которое в разных растворах составило от 200 до 2000% по сравнению с контролем (см. рис. 2, III).

Процесс стимуляции отдельных биологических показателей под действием нелетальных растворов токсических веществ — явление, известное в токсикологии; повышенная выживаемость тоже не впервые отмечается нами. Но анализ этих явлений на фоне естественной реакции моллюсков на экологические факторы дает возможность высказать некоторые соображения.

На резкое изменение внешних условий, в частности температуры воды, моллюски, находящиеся в лаборатории в чистой воде (контроль), отвечали приспособительными реакциями — элиминацией взрослых особей, торможением размножения и развития. Это естественные, приспособительные реакции — организм активно функционирует лишь в пределах своей зоны адаптации. Эти реакции отобраны в ходе естественного отбора и лежат в основе регуляции численности каждого вида в водоеме, обеспечивая устойчивость данной водной системы. Под действием повышенного содержания в воде обычных соединений и нелетальных концентраций токсических веществ происходит ослабление (или нарушение) этой приспособительной реакции.

Тот факт, что явление "стимуляции", часто наблюдаемое в токсикологических исследованиях, отражает нарушения в организме гидробионтов, подтвердился в опыте при изучении действия ТМОХ в условиях экспериментального водоема, где мы имели возможность в дополнение к исследованным ранее показателям проследить за выживаемостью молоди большого прудовика. В лабораторных опытах это ООС оказывается летальным при концентрациях 1 мг/л и выше; при 10^{-1} и 10^{-2} мг/л отмечены повышенная выживаемость взрослых особей, "стимуляция" размножения и развития. Это подтвердилось и в опыте на экспериментальных водоемах. В течение 4 лет мы изучали действие двух концентраций ТМОХ: 10^{-1} и 10^{-2} мг/л. В лабораторных условиях обе эти концентрации вызывали повышение выживаемости исходных особей, "стимуляцию" размножения и развития по сравнению с контролем. В экспериментальных водоемах при концентрации ТМОХ 10^{-1} мг/л в благоприятные для моллюсков годы выживаемость и размножение исходных особей тоже были лучше, чем в контроле, но эмбриональное развитие шло хуже: число пустых кладок при снятии опыта было меньше, чем в контроле; и общее количество молоди в конце сезона во все годы составило 9–60% от контроля. При концентрации 10^{-2} мг/л в баках в благоприятные для моллюсков годы выживаемость взрослых, размножение и количество молоди были лучше, чем в контроле (как и в лабораторных опытах). Однако на фоне резких перепадов температуры и при высокой температуре воды в 1982 г. все эти показатели были ниже контрольного уровня.

Сравнивая реакцию моллюсков на действие ООС и влияние биогенных солей, следует подчеркнуть, что реакция на концентрации ООС, лежащие на уровне ПДК и ниже, соответствует реакции на повышенные концентрации обычных солей. Такие концентрации не могут считаться оптимальными для моллюсков. Учитывая большую стимуляцию ряда биологических процессов и плохую выживаемость молоди в этих условиях, реакцию моллюс-

ков на нелетальные концентрации ООС следует рассматривать не как адаптивную, а как толерантную.

Таким образом, опыты, проведенные на разных объектах при анализе различных биологических показателей, не выявили у рыб и моллюсков приспособительного реагирования на действие токсических веществ.

ЛИТЕРАТУРА

- Андронников В.Б. О характере изменения теплоустойчивости эмбрионов пойкилотермных животных на ранних стадиях онтогенеза. – В кн.: Изменчивость теплоустойчивости клеток животных в онто- и филогенезе. М.: Наука, 1967. с. 4–12.
- Билько В.П. Влияние содержания углекислого газа на выживание рыб в эмбриональный период. – В кн.: Водоемы Сибири и их рыбохозяйственное использование. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1973, с. 68–70.
- Гулидов М.В. Эмбриональное развитие щуки (*Esox lucius* L.) при различных кислородных условиях инкубации. – *Вопр. ихтиологии*, 1969а, т. 9, вып. 6, с. 1046–1058.
- Гулидов М.В. Выживание и некоторые особенности развития зародышей щуки (*Esox lucius* L.) при различных кислородных условиях инкубации. – *Докл. АН СССР*, 1969б, т. 189, № 4, с. 878–881.
- Гулидов М.В., Попова К.С. Влияние повышенных концентраций кислорода на ход вылупления и морфологические особенности зародышей некоторых карповых рыб. – В кн.: Эколого-морфологические и эколого-физиологические исследования развития рыб. М.: Наука, 1978, с. 136–148.
- Данильченко О.П. Действие оловоорганических соединений на раннее развитие рыб. Действие триэтилоловохлорида и трипропилоловохлорида. – В кн.: Оловоорганические соединения и жизненные процессы гидробионтов. М.: Изд-во МГУ, 1975, с. 151–174.
- Данильченко О.П. Чувствительность эмбрионов рыб к действию токсических веществ. – *Вопр. ихтиологии*, 1977, т. 17, вып. 3, с. 518–527.
- Данильченко О.П., Строганов Н.С. Оценка токсичности веществ, спускаемых в водоемы, для раннего онтогенеза рыб. – Там же, 1975, т. 15, вып. 2, с. 346–355.
- Данильченко О.П., Сытина Л.А. Различия в реакциях развивающейся икры и личинок осетровых рыб на воздействие температуры и триэтилоловохлорида. – *Науч. докл. высш. школы. Сер. биол. науки*, 1977, № 4, с. 64–69.
- Коровина В.М. Изменение реакции зародыша низших позвоночных животных в процессе эмбрионального развития на действие внешних факторов: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Л., 1953.
- Мещеряков В.Н. Прудовик *Limnaea stagnalis* L. – В кн.: Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975, с. 53–94.
- Никольская Н.Г., Сытина Л.А. Сравнительный анализ действия постоянных температур на эмбриональное развитие разных видов осетровых рыб. – *Вопр. ихтиологии*, 1978, т. 18, вып. 1, с. 101–116.
- Строганов Н.С., Данильченко О.П. Действие малых концентраций антисептиков на эмбриональное развитие рыб. – *Вестн. МГУ*, 1973, № 4, с. 33–37.
- Хлебович В.В. Осмотическая регуляция трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L. в воде различной солености. – *Зоол. журн.*, 1968, т. 47, вып. 4, с. 291–294.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, РАЗВИВАЮЩИЕСЯ В ОРГАНАХ РЫБ ПРИ ПРИВЫКАНИИ К ТОКСИЧЕСКИМ ВЕЩЕСТВАМ

Ю.А. ШЕРБАКОВ

Саратовский зоотехническо-ветеринарный институт

При длительном поступлении токсических веществ в организм животных возможно ослабление или полное отсутствие симптомов токсического действия вещества, т.е. развивается привыкание [Лазарев, 1961]. Последнее рассматривается как ответная приспособительная реакция организма на новые условия существования, отражающая общебиологический процесс адаптации клеток и сложных организмов к экзогенным воздействиям. Явление привыкания к ядам известно очень давно. Применение термина "привыкание" в токсикологии подчеркивает различие между адаптацией к условиям существования, встречающимся в течение эволюционного процесса, и адаптацией к факторам, чаще всего вызванным деятельностью человека [Лазарев, 1938].

Привыкание сопровождается значительным изменением некоторых процессов метаболизма, компенсаторно-приспособительными сдвигами функционального состояния клеточных структур, отдельных тканей, систем и органов. Основные стороны сложного механизма привыкания могут быть сведены к следующему: понижение чувствительности клеток к токсическим веществам, повторно поступающим в организм; изменение проницаемости тканевых барьеров для некоторых веществ; ускорение их инактивации в организме (выработка специфических противоядий и активизация механизмов детоксикации); временное блокирование токсических веществ путем депонирования их в тканях животного; ускорение процесса выведения токсических веществ из организма [Люблина и др., 1971].

Явление привыкания приводит к тому, что для развития равного по силе воздействия на организм требуется поступление в него все более высоких доз токсического вещества. Организм животного приобретает к этому токсическому веществу определенную выносливость — толерантность [Толоконцев, Филлов, 1976]. Однако привыкание развивается не у всех животных и не ко всем токсическим веществам. Большое значение имеет вид животного, свойство самого токсического вещества и ряд других факторов. Некоторые исследователи [Люблина и др., 1971] считают, что привыкание в основном развивается при хроническом действии токсического вещества, но может быть при острых и подострых отравлениях. При этом указывается на фазовую реакцию физиологических систем.

Схематически реакцию организма на хроническое воздействие химического фактора при привыкании к нему разделяют на три фазы: фазу первичных реакций, фазу развития привыкания, фазу срыва привыкания и выраженной интоксикации [Толоконцев, Филлов, 1976]. Авторы считают третью фазу не обязательной.

Фаза первичных реакций — это период поисков путей адаптации организма к изменившимся условиям внешней среды. В этой фазе происходит

функциональная активация систем, осуществляющих биотрансформацию яда, повышается активность симпатического отдела нервной системы, вместе с тем наблюдается снижение резистентности организма по отношению к экзогенным воздействиям [Курляндский, 1970]. В экспериментальных условиях эта фаза длится относительно недолго.

Клинические признаки проявления отравления при этом отсутствуют, но наблюдается повышенная возбудимость нервной системы и неустойчивость нейрорегуляторных механизмов [Спивак, 1964]. У рыб в этот период развиваются выраженные сосудистые расстройства в виде полнокровия всех отделов головного мозга и других органов. В некоторых случаях проявляются периваскулярный и перицеллюлярный отеки, видны мелкие и более крупные кровоизлияния, обнаруживается острое набухание протоплазмы нервных клеток головного мозга.

Вторая фаза развития привыкания характеризуется уменьшением реакции организма на воздействие. Внешне это — фаза благополучия организма. Длительность ее может быть весьма различной. Наиболее короткой она бывает в случае острых и подострых отравлений. При хронических отравлениях состояние привыкания обычно длится годами [Толоконцев, Филов, 1976]. Признаками привыкания к хроническому отравлению ядами со стороны отдельных органов ряд исследователей считают уменьшение функциональных и морфологических изменений, имеющих место в начальный период отравления, а также меньшие сдвиги после острой интоксикации этим же агентом. Так, например, ингаляция трифторхлорпропана вызывала жировую и белковую дистрофию печени. Однако у крыс, убитых в более поздние сроки опыта, дистрофические изменения печени отсутствовали. Дегенеративные изменения в печени (после острого отравления анилином) и в семенниках (после острой интоксикации кадмием) были меньшими у тех животных, которым предварительно вводили малые дозы соответствующих агентов.

У рыб клиническая картина отравления в данной фазе, как правило, отсутствует. Рыбы держатся в толще воды, активны, хорошо поедают корм. Дыхание жаберное. При гистологическом исследовании органов рыб наряду с сосудистыми расстройствами (венозное полнокровие, стаз, мелкоочаговые кровоизлияния) в отдельных клетках головного мозга (преимущественно коры) наблюдаются слабо выраженные дистрофические изменения (хромотолиз, набухание ядра). Иногда в нервных клетках головного мозга отмечаются кариолиз, реже — кариоцитоллиз, а также мутное набухание с пикнозом ядер групп клеток (печени, эпителия канальцев почек, мышечных волокон сердца и туловища).

Отсутствие клинических проявлений отравления у рыб при наличии морфологических изменений в клетках нервной системы можно объяснить компенсаторной деятельностью сохранившихся клеток. Для клинического проявления изменений в нервных клетках, как считают некоторые исследователи [Маковская, 1967], эти изменения должны достигнуть известной интенсивности и распространенности. Если изменения не очень интенсивны и захватывают только часть клеточных элементов, то представляется возможность компенсаторной деятельности. В таких случаях симптомы поражения могут отсутствовать и экспериментальные животные кажутся клинически здоровыми.

При ослаблении компенсаторно-защитных механизмов или вследствие действия дополнительного фактора (заболевание, изменение температуры, снижение содержания кислорода и др.) фаза привыкания прерывается периодами проявления интоксикации. Если указанные выше причины сохраняются, то происходит полный переход в третью фазу – фазу выраженной интоксикации [Толоконцев, Филов, 1976]. Эта фаза не является обязательной. Она связана со срывом привыкания. Срыв привыкания ведет к явной патологии, а пониженная чувствительность к основному агенту, вызвавшему привыкание, переходит в повышенную чувствительность к нему. Фаза выраженной интоксикации характеризуется наличием симптомов, специфичных для действующего яда [Толоконцев, Филов, 1976], и преимущественной локализацией патологических процессов [Саноцкий, 1970]. ✓

Так, при отравлении рыб ядами локального действия (органические и неорганические кислоты, формальдегид, соли тяжелых металлов, детергенты и другие соединения) развивается клиническая картина удушья. Рыбы принимают вертикальное "свечеобразное" положение и захватывают воздух.

Отравление рыб нервно-паралитическими ядами (фосфор, нефть и нефтепродукты, фенолы, терпены, алкалоиды, хлор- и фосфорорганические пестициды, некоторые гербициды и др.) вызывает потерю рефлекса равновесия, спиралеобразное плавание, стремление выпрыгнуть из воды. При внешнем раздражении развиваются судороги мускулатуры. Иногда у рыб наблюдаются вялость, угнетение и паралич без стадии возбуждения.

Гемолитические яды (аммиак и соли аммония, свинец, цианиды, некоторые фосфорорганические соединения, токсины синезеленых водорослей и др.) действуют на эритроциты, разрушая их. Плазма крови окрашивается в бледно-красный цвет.

Энзиматические, или ферментативные, яды угнетают активность ацетилхолинэстеразы. В организме рыб накапливается ацетилхолин, который вначале возбуждает организм, а затем вызывает полный блок холинергических систем. К этим ядам относятся пестициды из группы ФОС, производные карбаминовой кислоты, гербициды и альгициды, фториды и некоторые другие. Кроме указанных групп ядов имеются яды наркотического действия, вызывающие у рыб наркоз; яды протоплазматические, приводящие к нарушению обмена веществ, и яды комбинированного действия.

При срыве привыкания у рыб наблюдается бурное развитие клинической картины отравления. В первые сутки опыта почти во всех органах развивается полнокровие, стаз, периваскулярные отеки, очаговые кровоизлияния. В более поздние сроки – в головном мозге наряду с признаками бывших ранее кровоизлияний встречаются и свежие геморрагии, что можно рассматривать как следствие деструкции сосудов. В стенках кровеносных сосудов развиваются дистрофические изменения, в частности, набухание и десквамация эндотелия. В нервных клетках возникают явления дистрофии в виде набухания ядра, хромотолиза, пикноза и сморщивания. Иногда имеет место пролиферация клеток глии, явление нейронофагии. В печени, почках, жабрах, сердце, селезенке, желудочно-кишечном тракте наряду с явлениями нарушения кровообращения встречаются очаги некробиоза и некроза, реже – воспалительные изменения. Степень выраженности крово-

излишней, дистрофических и воспалительных изменений, поражении нервных клеток, бывает различной в зависимости от тяжести интоксикации, химической структуры агента, быстроты наступления смерти и т.д.

В заключение следует отметить, что у рыб при концентрациях токсических веществ, не вызывающих видимых явлений интоксикации, развиваются определенные морфологические изменения. На первом месте в начальной стадии преобладают расстройства кровообращения и дистрофические изменения в нервных клетках головного мозга, печени, почках, жабрах, сердце, желудочно-кишечном тракте, мышцах туловища. Отсутствие клинических признаков отравления при этом можно объяснить явлениями приспособления, компенсации функции организма. Следовательно, обнаруженные в органах рыб изменения при интоксикациях токсическими веществами подчеркивают значение морфологических исследований в диагностике отравления рыб.

Необходимо отметить, что разделение на фазность реакции организма при привыкании к химическому агенту следует считать условным, так как в эксперименте и особенно при натурных исследованиях граница между ними сглажена и очень трудно определяема.

ЛИТЕРАТУРА

- Кураядский Б.А. О некоторых закономерностях развития хронических интоксикаций промышленными органическими веществами: Автореф дис. . . . д-ра. биол. наук. М., 1970.
- Лазарев Н.В. Общие основы промышленной токсикологии. М.; Л.: Медицина, 1938.
 - Лазарев Н.В. Руководство по фармакологии. Л.: Медицина, 1961.
 - Люблина Е.И., Милкина Н.А., Рылова М.Д. Адаптация к промышленным ядам как фаза интоксикации. Л.: Медицина, 1971.
 - Макальская Е.И. Патологические явления отравления адохимикатами. М.: Медицина, 1967.
 - Методы определения токсичности и опасности химических веществ/ Ред. И.В. Саноцкий. М.: Медицина, 1970.
 - Сиваев Л.И. Компенсаторная приспособляемость при хронической интоксикации тетраэтилсвинцом. Л.: Медицина, 1964.
 - Толоконцев Н.А., Филос В.А. Основы общей промышленной токсикологии. Л.: Медицина, 1976.

АДАПТАЦИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ГИДРОБИОНТОВ К СТОЧНЫМ ВОДАМ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Р.А. ШАХМАТОВА

Горьковский государственный университет

Исследования проводились на участке реки, находящемся под непосредственным воздействием выпуска сточных вод предприятий химической промышленности. Состав сточных вод очень сложный, включает около 50 различных компонентов, среди которых преобладают хлорорганические соединения. Влияние стока на речные биоценозы по гидробиологическим показателям отчетливо прослеживается на расстоянии более 50 км.

Исследование донной фауны в зоне действия стока показало, что непосредственно у выпуска сточных вод, где сток еще не разбавляется речной водой, поскольку на месте его сброса образовался небольшой заливчик на берегу реки, обитают олигохеты *Tubifex tubifex*, *Limnodrilus hoffmeieri* и *Isochaetides newaensis*, численность которых достигает 120 экз/м² при биомассе 0,3 г/м². На расстоянии 150 м ниже стока были обнаружены те же виды олигохет, численность которых оказалась несколько ниже, но увеличилось количество *I. newaensis*, поэтому общая биомасса возросла до 1,8 г/м².

На расстоянии 500 м ниже выпуска сточных вод в составе донной фауны были обнаружены, кроме указанных видов олигохет, личинки хирономид родов *Cryptochironomus* и *Limnochironomus*, а на расстоянии 1 км ниже выпуска зообентос был представлен также единичными экземплярами моллюсков семейства *Pisidiidae* и пиявок.

Для выяснения степени биологической активности сточных вод была поставлена серия лабораторных экспериментов с различными видами гидробионтов. Оказалось, что в неразбавленной сточной воде продолжительность жизни подопытных гидробионтов — моллюсков из семейств *Pisidiidae*, *Limnaeidae*, *Planorbidae*, *Viviparidae*, *Unionidae* — измерялась часами и колебалась в пределах от 6 до 70 ч. Олигохеты, личинки хирономид и пиявки также выживали от нескольких часов до 3 суток. Даже при 10-кратном разбавлении сточной воды выживаемость тех же видов гидробионтов при прочих равных условиях эксперимента, хотя и увеличилась от 2 до 11 раз, но и эта концентрация оказалась высоко токсичной для подопытных организмов.

Поскольку в лабораторных опытах была установлена высокая биологическая активность сточных вод для различных представителей донной фауны, а в речных условиях некоторые виды олигохет жили в зоне действия неразбавленного стока, было решено изменить методику экспериментов и поставить серию опытов непосредственно в речных условиях. Для экспериментов были взяты небольшие металлические садки (22 × 12 см), обшитые достаточно плотным капроновым ситом (№ 36), в которые помещали подопытных гидробионтов. Садки закрепляли на грунте на различном расстоянии от выпуска сточных вод. Контролем служили садки с теми же

видами гидробионтов, установленные в реке на расстоянии 100 м выше стока. Осмотр садков производили сначала каждые 6 ч, но оказалось, что эта экспозиция слишком велика и осмотр садков стали проводить каждый час с целью уточнения результатов эксперимента.

Выяснилось, что в первые же часы опыта у гидробионтов наблюдалось резкое угнетение жизнедеятельности: двустворчатые моллюски плотно закрывали створки раковин, легочные моллюски максимально втягивали тело внутрь раковин, дрейссена отделялась от субстрата, у личинок хирономид и пиявок наблюдалось изменение окраски тела, у олигохет — побеление, а затем разбухание заднего конца тела. Животные в опытах не питались, хотя в садках находился корм.

Продолжительность жизни гидробионтов в садках, находившихся непосредственно в месте выпуска сточных вод, не превышала 2 суток. Олигохеты *Limnodrilus hoffmeisteri* и *Isochaetides newaensis* погибали в течение 3–8 ч, тело погибших олигохет очень быстро распадалось. Кладки, отложенные легочными моллюсками, темнели, сморщивались и разлагались также через несколько часов. При помещении в садки рыбок группы (*Lebistes reticulata*) у них наблюдалось абортывание эмбрионов, сами рыбки вскоре погибали.

Токсическое действие стока на гидробионтов, находившихся в садках на расстоянии 200 и 500 м от выпуска сточных вод, проявлялось не в такой острой форме, но все же достаточно резко — продолжительность жизни подопытных гидробионтов исчислялась днями.

В то же время в контрольных садках, расположенных выше выпуска сточных вод, отклонений в жизнедеятельности гидробионтов не наблюдалось: они активно поедали корм, отложенные моллюсками яйцекладки вылупившаяся молодежь развивались, личинки хирономид окукливались.

При постановке экспериментов в садки помещали гидробионтов, отловленных в различных водоемах, не связанных с рекой и не подвергающихся загрязнению сточными водами. Опыты показали, что они совершенно не обладают устойчивостью к промышленным стокам: помещенные в садки олигохеты из чистых водоемов погибали в сточной воде в течение нескольких часов, в то время как на этом же участке в грунте рядом с садками обитали те же виды олигохет.

Для исключения возможности неблагоприятного влияния на гидробионтов самих условий содержания в садках были отловлены и помещены в садки олигохеты, личинки хирономид и моллюски рода *Pisidium*, обитающие в зоне действия химического стока. Садки располагались на грунте в тех же участках реки, где были отловлены соответствующие виды гидробионтов, т.е. непосредственно у выпуска сточных вод (три вида олигохет), на расстоянии 200 м (олигохеты и личинки хирономид), на расстоянии 500 м (олигохеты, личинки хирономид и моллюски пизидии). В течение недели наблюдений существенных отклонений в жизнедеятельности гидробионтов, помещенных в садки, отмечено не было. Это свидетельствовало об очень высокой адаптации гидробионтов к действию сложного по своему составу и токсичного стока.

Для выяснения степени адаптации организмов донной фауны, обитающих в различных участках реки и в целом подвергающихся интенсивному антропогенному влиянию, были поставлены эксперименты в таких вариан-

тах, когда в садки помещали те же виды гидробионтов, которые обитают в зоне действия сточных вод, но отловленные на участке реки, где вода по гидрохимическим показателям является в целом более чистой. Оказалось, что адаптация к сточным водам гидробионтов одних и тех же видов, взятых из различных участков реки, отличается. Наибольшей степенью адаптации обладали особи, обитавшие в левобережье реки, в целом более подверженном загрязнению сточными водами промышленных предприятий и населенных пунктов. Значительно ниже была степень адаптации у гидробионтов, обитавших по правому берегу, менее подверженному влиянию сточных вод. И совершенно не обладали устойчивостью к действию сточных вод особи, отловленные в водоемах, не связанных с рекой.

Наблюдения за видовым составом донной фауны на этом участке реки проводились нами в течение ряда лет; имеются также литературные данные, относящиеся к еще более раннему периоду. Это дало возможность проследить многолетнюю динамику видового состава донной фауны, связанную с возрастающим загрязнением реки и постепенной адаптацией гидробионтов к токсическому действию сточных вод.

Еще в 1923–1924 гг. экспедицией под руководством В.И. Жадина было отмечено небольшое локальное загрязнение в приустьевом участке реки, где проводились наши исследования, но в целом река по своей фауне и флоре характеризовалась им как практически чистая. В составе донной фауны Жадиным описано 275 видов и форм. Через 35 лет под руководством Жадина вновь было проведено обследование этого участка реки и установлено возросшее загрязнение в связи с ростом промышленности и крупных населенных пунктов, что отрицательно сказалось на представителях донной фауны, из состава которых выпало 34 вида (в частности, полностью вымер речной рак).

Мы провели первое обследование донной фауны через 10 лет после второй экспедиции В.И. Жадина. За это время общий объем сточных вод, поступающих в приустьевой участок реки, увеличился с 500 тыс. м³ до 3 млн. м³ в сутки. Из состава донной фауны выпал еще ряд видов гидробионтов: в приустьевом участке, наиболее интенсивно подвергающемся антропогенному воздействию, полностью исчезли гаммариды, а в левобережье — и моллюск *Dreissena polymorpha*. Детальное обследование участка реки, находящегося в зоне выпуска сточных вод химических предприятий, показало тогда полное отсутствие донной фауны непосредственно у выпуска сточных вод, в зоне действия неразбавленного стока. Единичные экземпляры олигохет были обнаружены нами только на расстоянии 100 м ниже выпуска сточных вод. Это были *Tubifex tubifex*, *Limnodrilus hoffmeisteri* и *Isochaetides newaensis*. На расстоянии 500 м были обнаружены моллюски — пизидииды и пиявки.

Исследования донной фауны этого же участка реки, проведенные еще через 10 лет, показали, что гидробионты продвинулись к месту выпуска сточных вод, некоторые виды олигохет стали жить под самым стоком, обладающим, как показали проведенные нами эксперименты, высокой биологической активностью. И среди этих видов олигохет оказался *Isochaetides newaensis*, отнесенный в свое время Кольквитцем и Марссоном (1908–1909 гг.) к олигосапробам и до сих пор относимый некоторыми авторами к числу олигосапробных организмов [Качанова, 1972].

Таким образом, на протяжении сравнительно небольшого отрезка времени произошло существенное изменение требований организмов, предъявляемых к условиям окружающей среды. Биологическая норма гидробионтов одного систематического вида оказалась настолько разной, что особи, помещенные в условия жизни, к которым успешно адаптировались другие особи их вида, не могли прожить в них и нескольких часов. Каких-либо патологических морфологических изменений у особей, обитающих в зоне действия сточных вод, нами не было обнаружено.

В.В. Громов [1971] в среднем течении Камы наблюдал гибель, перестройку биологии, физиологии и даже морфологии отдельных гидробионтов. Так, у речной чашечки (*Ancylus*) произошло удлинение и истончение стенок раковины. Живородки по мере роста загрязнения реки количественно уменьшались вплоть до полного исчезновения. Затем вновь появились. Эти новые популяции уцелевших vivipar дали массовое развитие, во много раз превысившее их численность до загрязнения. Аналогичные изменения численности в течение 40-летнего периода наблюдений отмечаются Громовым также для некоторых видов хирономид.

Интересно отметить, что высокой адаптационной способностью обладают не только олигохеты, некоторые виды хирономид и моллюсков, но и ракообразные.

В 1959 г. при возросшем загрязнении реки В.И. Жадиным было констатировано исчезновение из состава донной фауны левобережья устьевого участка гаммарид. На протяжении 17 лет после этого мы также не обнаружили их в составе зообентоса. Усилившееся загрязнение привело к полной гибели их в приустьевом участке. Только летом 1976 г. впервые мы нашли бокоплава *Pontogammarus* в приустьевом участке реки, сначала лишь в сравнительно чистом правобережье, а через год единичные экземпляры были найдены и по левому берегу всего на расстоянии 1,5–2 км ниже выпуска сточных вод. Бокоплавы вновь проникли в приустьевой участок из среднего течения реки, правда, численность их пока остается невысокой и локализуются они в основном на относительно менее загрязняемых участках.

Рассматривая адаптацию отдельных гидробионтов к увеличивающемуся загрязнению, В.В. Громов [1971] отмечает, что на средней Каме она привела даже к значительному увеличению численности одного из представителей ракообразных – водяного ослика.

На обследованном нами участке реки в левобережье выше выпуска сточных вод дрейссена образует мощные обрастания различных подводных субстратов и является существенной помехой в эксплуатации водозаборных сооружений, на борьбу с которой затрачивается немало сил и средств. В период размножения дрейссены в планктоне присутствует огромное количество велигеров, которые сносятся вниз по течению, попадая в зону действия сточных вод, и погибают. Гидротехнические сооружения, находящиеся в левобережье реки даже на расстоянии 20 км ниже выпуска сточных вод, полностью свободны от обрастания дрейссеной. Взрослые моллюски дрейссены также постоянно имеют возможность быть занесенными в зону действия сточных вод курсирующими на этом участке судами, лодками и другими способами, но тем не менее мы неоднократно находили в этом районе только пустые раковины дрейссены разных размеров. За 60 лет сущест-

воания промышленного стока адаптации дрейссены к нему не произошло, несмотря на постоянный контакт со сточными водами.

Проведенные исследования показали, что высокой адаптационной способностью обладают не только гидробионты, но и некоторые виды рыб. Так, непосредственно в зоне действия сточных вод обитают стерлядь и лещ, численность которых за последние годы несколько сократилась. Тем не менее в контрольных уловах стерляди большой процент составляет молодь. Существенных морфологических изменений у леща, обитающего в районе промстока, не обнаружено. У стерляди примерно 30% особей имеют спирально закрученные плавники, наблюдается искривление позвоночника, патологически темный цвет жабр и печени и другие нарушения. Рыба, обитающая в районе действия сточных вод, приобрела специфический запах.

Учитывая, что сток существует уже около 60 лет, а стерлядь начинает икрометание в среднем в возрасте 6–8 лет, а лещ – в возрасте 4–5 лет, можно считать, что стерлядь обитает в зоне действия сточных вод уже на протяжении 9–10 поколений, а лещ – 12–13 поколений. Адаптация рыб к условиям сильного загрязнения привела к выработке новой биологической нормы и практически к утрате хозяйственной ценности.

Исследования, проведенные Мединститутом, показали, что как рыбы, так и гидробионты накапливают отдельные компоненты, входящие в состав сточных вод, в частности бенз(а)пирен. Содержание его в обследованных моллюсках и рыбах в сотни и тысячи раз превышало концентрацию в водной среде [Лембик, 1976].

Таким образом, способность гидробионтов и рыб адаптироваться к условиям обитания при повышенном загрязнении промышленными сточными водами, очевидно, нельзя рассматривать как целиком положительное явление. Если с позиций интенсификации процессов самоочищения в водоемах, увеличения видового разнообразия и численности гидробионтов оно играет определенную положительную роль, то утрата хозяйственной ценности промысловыми видами рыб, непосредственно связанная с адаптацией, повышенная кумуляция компонентов промышленных стоков в теле гидробионтов, циркулируя по трофическим цепям остротоксичных компонентов сточных вод создают прямую угрозу для здоровья человека, и явление адаптации приобретает другой, нежелательный смысл.

Высокую адаптационную способность многих видов гидробионтов следует учитывать, очевидно, при разработке вопросов, связанных с биотестированием. На примере *Isochaetides newaensis* мы сталкиваемся с такой широкой экологической валентностью, в рамках которой организмы этого вида могут жить как в олигосапробных условиях, которые В.И. Жадин [1964] предложил называть политоксобными.

ЛИТЕРАТУРА

- Громов В.В. Выступление. – В кн.: Критерий токсичности и принципы методик по водной токсикологии. – ГосНИОРХ, 1971, т. 78, с. 274–278.
- Жадин В.И. Донные биоценозы реки Оки и их изменения за 35 лет. – Тр. ЗИН, 1964, т. 32, с. 226–287.
- Качанова О.Л. Моллюски и олягохеты как показатели сапробности рек Латвийской ССР. – В кн.: Теория и практика биологического самоочищения загрязненных вод. М.: Наука, 1972, с. 169–172.
- Лембик Ж.Л. О содержании бенз(а)пирена в некоторых объектах водной среды. – В кн.: Канцерогенные углеводороды в промышленности и окружающей человека среде. Горький, 1976, с. 96–99.

О ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ СИНЕЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ К ДИСПЕРСАНТАМ

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Л.Д. ГАПОЧКА

Проблема адаптации водных экосистем, отдельных видов и их популяций к токсическому фактору в наши дни приобретает не только теоретическое, но и большое практическое значение в связи с увеличением масштабов и разнообразием форм производственной деятельности человека. Это объясняется тем, что живые организмы далеко не всегда располагают механизмами, позволяющими им приспособливаться к современному, быстро изменяющемуся в качественном и количественном отношении химическому составу окружающей среды.

Адаптация к условиям окружающей среды является одним из фундаментальных свойств живой системы и проявляется она на всех уровнях организации жизни. Однако в понятие адаптации разные исследователи вкладывают разное содержание. Так, одни из них полагают, что она ограничена только физиологической адаптацией, т.е. реакцией популяции в измененных условиях в пределах норм реакции [Nielsen, Irgensen, 1968], другие [Yensch, Lee, 1966] вообще не применяют термин "адаптация" в случае физиологической адаптации и называют такую адаптацию физиологическим регулированием, а слово "адаптация" употребляют только тогда, когда говорят о "классической" генетической адаптации. Другие исследователи адаптацией считают преадаптацию, т.е. готовность популяции к адекватной реакции на изменение окружающей среды [Иорданский, 1973; Кулагин, 1974]. Существует также точка зрения, согласно которой при изменении внешних условий для популяции организмов следует говорить не об адаптации популяции, а просто об отборе наиболее резистентных форм [Флеров, 1975].

Мы будем понимать под адаптацией любые полезные изменения организма как генотипические, так и фенотипические, которые помогают его выживанию при изменении условий окружающей среды. В таком случае адаптация популяции может происходить как на основе уже имеющегося генофонда (фенотипическая адаптация), так и за счет количественного и качественного изменения генофонда (генотипическая адаптация), причем механизмы гено- и фенотипической адаптации могут действовать как совместно, так и раздельно. Следует отметить также, что любая адаптация есть адаптация к конкретным факторам среды, т.е. является экологической.

Уместно, по-видимому, вспомнить и о том, что синонимами фенотипической адаптации, довольно часто встречающимися в современной литературе, являются — модификации, негенетические, индивидуальные и физиологические адаптации, экологическая приспособляемость.

Основная задача настоящей работы заключалась в том, чтобы показать фенотипическую (физиологическую) адаптацию популяции синезеленых водорослей к присутствию токсических доз дисперсантов. Задача эта

непростая, так как при работе с генетически гетерогенной популяцией действующих клеток одноклеточных организмов возникают большие трудности при попытке отличить физиологические приспособления от генотипических. Дело в том, что увеличение устойчивости популяции к изменению какого-либо фактора среды может быть следствием элиминации особей, неспособных жить в изменившихся условиях, и последующего размножения клеток с повышенной устойчивостью к данным изменениям. В этом случае имеет место генотипическая адаптация популяции, которая осуществляется за счет умножения клеток с геномом, обуславливающим более высокую резистентность популяции к данному фактору. Внешне сходный эффект — повышение устойчивости популяции в целом к данному фактору — может быть получен и тогда, когда почти каждая отдельная клетка увеличивает свою устойчивость благодаря изменениям метаболических реакций. В этом случае имеет место физиологическая адаптация. В реакции популяции возможно сочетание гено- и фенотипических приспособлений. Но расчленить их в эксперименте не всегда представляется возможным.

И тем не менее мы попытались установить наличие физиологической адаптации у популяций синезеленых водорослей *Synechocystis aquatilis* и *Anacystis nidulans* при их культивировании в присутствии дисперсантов ДН-75 и ЭПН-5, применяемых для борьбы с нефтяной пленкой. Эта задача интересна еще и потому, что механизмы физиологической адаптации у синезеленых водорослей, обладающих низким уровнем организации, развиты достаточно слабо.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Альгологически и бактериологически чистые культуры синезеленых водорослей *S. aquatilis* Sanv. 428 и *Anacystis nidulans* выращивали в конических колбах емкостью 250 мл на модифицированной среде "С" Кратца—Майерса [Карауш, Гапочка, 1970] в люминостате при круглосуточном освещении лампами дневного света ЛДЦ-40 (освещенность 1000–1500 лк) и температуре 33–35°С. Начальный pH среды 7,5–7,8. Посевной материал (6–7-дневную культуру) вносили из расчета $2 \cdot 10^6$ клеток на 1 мл среды. Опыты ставили в трех повторностях длительностью от 3 до 35 дней.

Культуры синезеленых водорослей, адаптированные к сублетальным и летальным концентрациям дисперсантов ДН-75 и ЭПН-5, получали методом пересевов водорослей в среды с сублетальными и летальными концентрациями исследуемых веществ после предварительного выращивания их в присутствии нетоксических и малотоксических концентраций токси-кантов.

Основной критерий внешнего проявления адаптации — это появление или заметное ускорение роста водорослей в условиях, ранее вызывавших торможение роста или гибель культуры. Поэтому об адаптации водорослей судили по изменению общей численности клеток, количеству живых и мертвых клеток в культуре. Общее число клеток определяли нефелометрически и подсчетом их в камере Горяева. Количество живых и мертвых клеток определяли с помощью люминесцентного микроскопа. Результаты определений численности клеток выражены в логарифмах и обработаны статистически.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании адаптации *S. aquatilis* к ДН-75 культуру предварительно выращивали в среде с концентрациями 0,02; 0,04; 0,08 и 0,1 г/л дисперсанта, варьируя время контакта с ним от 3 до 35 суток, а затем пересаживали в среды с такими же и с летальной концентрациями дисперсанта.

Адаптацию *S. aquatilis* к летальной концентрации дисперсанта 0,2 г/л (рис. 1, А) получили только после предварительного роста водорослей в среде с малотоксической концентрацией ДН-75 (0,04 г/л) в течение не менее 12 суток. Как видно из рисунка, рост *S. aquatilis* достоверно не отличался от роста культуры в чистой среде. А после выдерживания водорослей в большей концентрации 0,08 г/л ДН-75 адаптация носила лишь временный характер (см. рис. 1, Б).

Изучая адаптацию *A. nidulans* к ДН-75, водоросли предварительно выращивали в средах с нетоксическими 0,1 и 0,7 г/л и токсической 1 г/л концентрациями, а затем пересаживали в среды с такими же (0,1; 0,7 и 1 г/л) и сублетальной (1,5 г/л) концентрациями дисперсанта.

Эффект адаптации наблюдали лишь у культуры *A. nidulans*, выдержанной в течение не менее 15 суток с концентрацией 0,7 г/л дисперсанта и пересаживавшей в среду с сублетальной дозой ДН-75 (1,5 г/л). При этом численность водорослей после пересева падала на 2-е сутки, но начиная с 5-х суток опыта восстанавливалась и заметно опережала численность контрольной культуры (см. рис. 1, В). Контролем служила культура, растущая в средах с такой же концентрацией ДН-75, что и в опыте, но предварительно не адаптированная к токсиканту. Следует отметить, что чем ближе была нетоксическая концентрация к минимально действующей (1 г/л), в присутствии которой культуру выдерживали, тем больше был выражен эффект адаптации. Предварительное культивирование водорослей при наименьшей достоверно токсичной концентрации (1 г/л) адаптации *A. nidulans* к сублетальной дозе дисперсанта не выявило.

Таким образом, эффект адаптации синезеленых водорослей *S. aquatilis* и *A. nidulans* к сублетальным и летальным концентрациям дисперсанта ДН-75 зависит от того, какова доза токсиканта в период предварительного культивирования и какова продолжительность самого этого периода.

Дальнейшие эксперименты позволили установить, что устойчивость к токсическому действию дисперсанта, приобретенная водорослями в процессе адаптации, теряется культурами *A. nidulans* и *S. aquatilis* через 2–4 дня после их переноса в чистую среду. Этот факт, на наш взгляд, является тем главным моментом, который свидетельствует о наличии именно физиологической адаптации и который принципиально отличает ее от адаптации генотипической. Эти же водоросли при адаптации к нефти и нефтепродуктам сохраняли приобретенные адаптивные свойства в течение четырех месяцев [Артюхова, Галочка, 1978].

О наличии физиологической адаптации может свидетельствовать и зависимость эффекта адаптации от концентрации токсиканта при предварительном культивировании: чем ближе она к минимально действующей (но не больше), тем больше устойчивость к токсической дозе вещества. Этот феномен характерен именно для физиологической адаптации. Дело в том, что для получения эффекта физиологической адаптации к токсическому

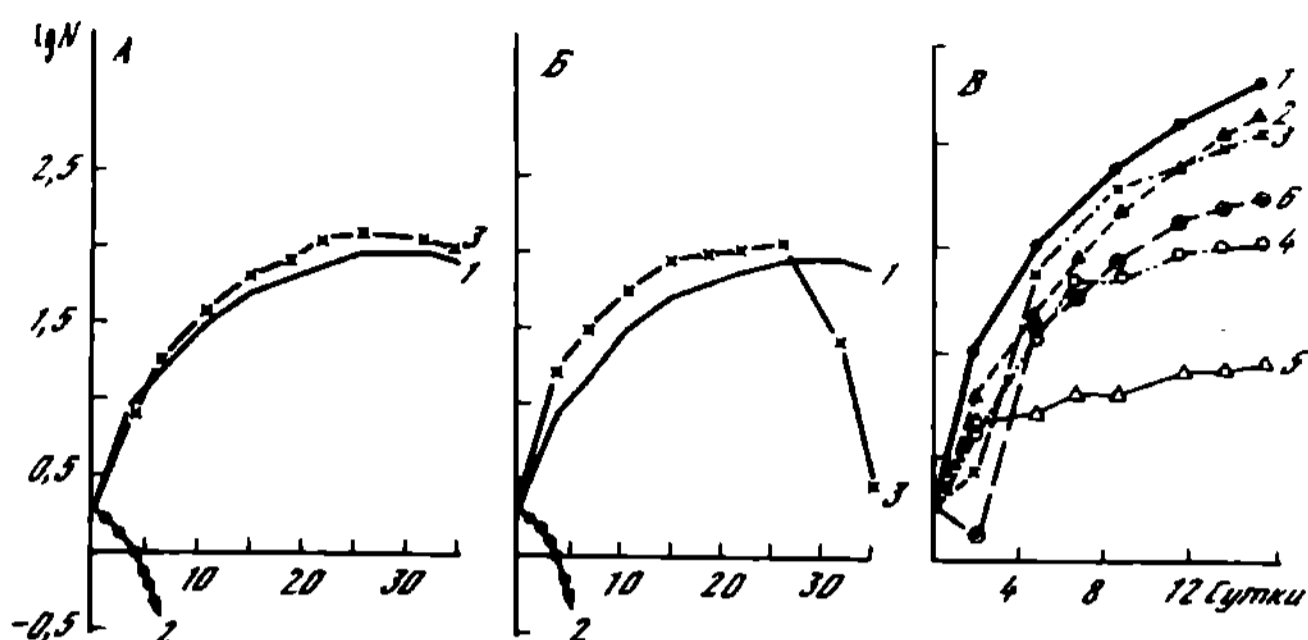


Рис. 1. Изменение численности живых клеток культур *Synecocystis aquatilis* (А, Б) и *Anacystis nidulans* (В) в среде с дисперсантом ДН-75 после предварительной адаптации к нему водорослей в течение 8, 15 и 23 суток

А: 1 — культура без токсиканта; 2 — 0,2 г/л; 3 — 0,2 г/л после пересева из 0,04 г/л (23 сут); Б: 1 — культура без токсиканта; 2 — 0,2 г/л; 3 — 0,2 г/л после пересева из 0,08 г/л (23 сут); В: 1 — 0,7 г/л; 2 — 0,7 г/л после пересева из 0,7 г/л (8 сут); 3 — 0,7 после пересева из 0,7 г/л (15 сут); 4 — 1,5 г/л; 5 — 1,5 г/л после пересева из 0,7 г/л (8 сут); 6 — 1,5 г/л после пересева из 0,7 г/л (15 сут); N — численность живых клеток, млн. кл/мл

действию необходимо, чтобы токсикант в среде был представлен в количестве, достаточном для вызова ответной приспособительной реакции, но не слишком большим, чтобы не вызвать повреждения организма. Другими словами, возникновение адаптации невозможно без более или менее длительного воздействия небольшого количества токсиканта.

И наконец, в пользу физиологической адаптации свидетельствует зависимость эффекта адаптации к токсическим концентрациям от времени выращивания водорослей (не менее 12–15 суток) в средах с нетоксическим содержанием дисперсанта. Почему же водорослям нужен именно такой срок? Ответить на этот вопрос пока трудно: нет соответствующих данных. Однако результаты, полученные при исследовании адаптации моллюсков к изменениям солености, на наш взгляд, проливают свет на процессы, происходящие в этот период. Было показано [Хлебович, 1976], что акклимация моллюсков к новым условиям завершается в срок не менее 1–2 недель и что механизмы акклимации связаны с изменением биосинтетической деятельности клеток и в первую очередь с активизацией синтеза РНК и белка. Предварительная обработка моллюсков ингибиторами синтеза РНК и белка подавляет их способность приспосабливаться к изменениям солености среды.

На основании этих данных можно предположить, что и водорослям для физиологической адаптации, или акклимации к токсическим веществам, 2-недельный срок необходим прежде всего для ускорения синтеза белка. Это хорошо согласуется и с выводом о том, что именно от степени повреждения процесса синтеза белка зависит реакция водорослей *Euglena gracilis* на внешние воздействия [Shanz, 1972].

При адаптации синезеленой водоросли *A. nidulans* к другому дисперсан-

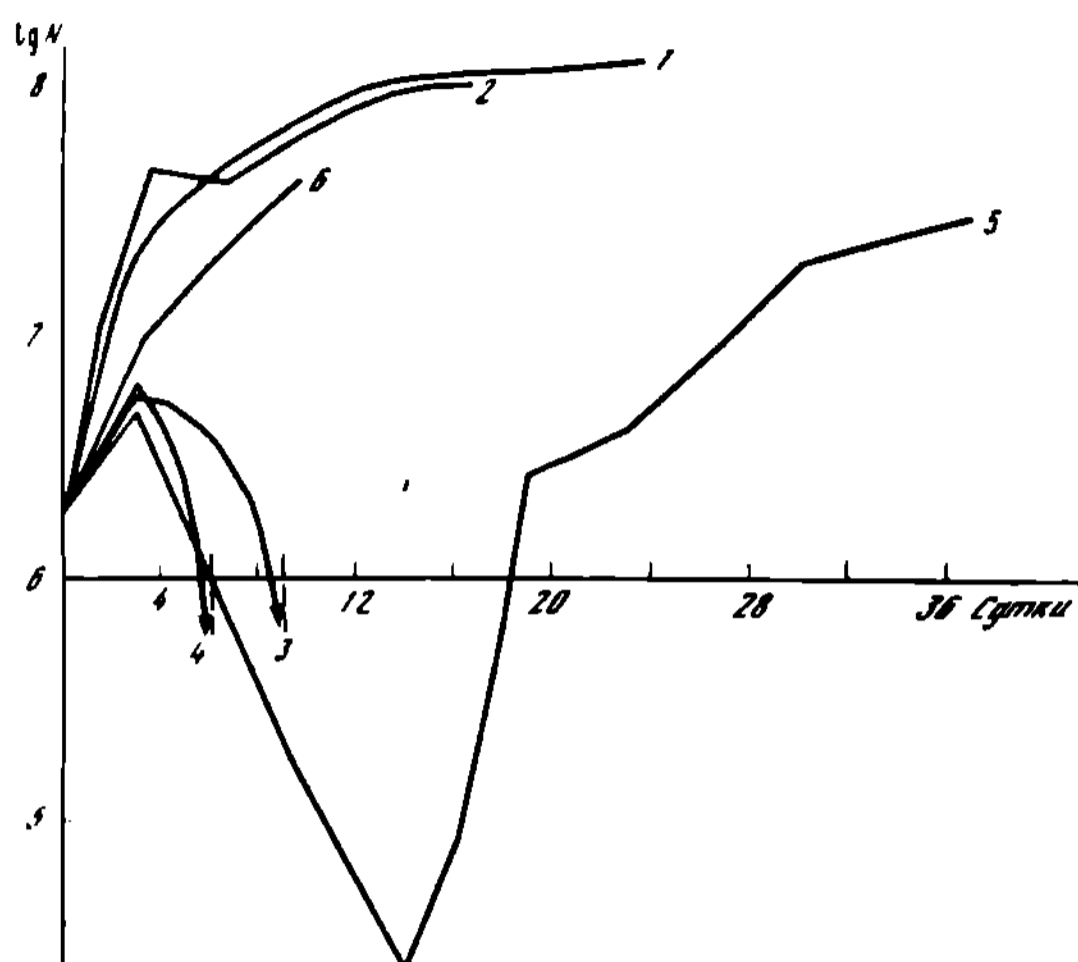


Рис. 2. Изменение общей численности клеток культуры *Anacystis nidulans* в среде с дисперсанта ЭПН-5 после предварительной адаптации к нему водорослей в течение 3, 6, 9 и 14 суток

1 — культура без токсиканта; 2 — 0,001 г/л; 3 — 0,4 г/л после пересева из 0,001 г/л (3 сут); 4 — 0,4 г/л после пересева из 0,001 г/л (6 сут); 5 — 0,4 г/л после пересева из 0,001 г/л (9 сут); 6 — 0,4 г/л после пересева из 0,4 г/л (14 сут)

ту ЭПН-5 удалось получить не только сам эффект физиологической адаптации, но и, как нам кажется, проследить процесс ее становления. Для этого клетки *A. nidulans*, растущие в среде с нетоксическим содержанием дисперсанта ЭПН-5 (0,001 г/л), пересевали на 3-, 6- и 9-й день в среду с летальной его дозой (0,04 г/л). Оказалось, что водоросли, пересейные на 3-й и 6-е сутки, погибали в присутствии летальной концентрации дисперсанта соответственно на 9-й и 6-й день (рис. 2), а культура, пересейная на 9-й день в среду с летальной концентрацией дисперсанта, уже приобрела способность расти в ней, правда, после 2-недельной лаг-фазы. При последующем пересеве эта культура водорослей росла с нормальной лаг-фазой. Приводя эти данные, нам бы хотелось обратить внимание не столько на сам факт адаптации к ЭПН-5, сколько на то, что водоросли, пересейные на 3-й день в среду с летальной концентрацией, погибают на 9-е сутки, а водоросли, пересейные на 6-е сутки, погибают раньше — на 6-й день. Казалось бы, должно быть все наоборот: чем больше времени водоросли растут в присутствии нетоксической концентрации дисперсанта, тем легче им адаптироваться к летальной концентрации. Мы попытались объяснить это явление и нарисовать картину физиологической адаптации, учитывая, что действие дисперсанта направлено на разрушение липидной компоненты клеточной мембраны, и поэтому если и происходит адаптация к дис-

персанту, то она должна быть связана с появлением механизмов защиты мембраны от разрушения ее дисперсантами.

Предположим, что сведения о веществах, вызывающих нарушение целостности мембраны, входят в информационный диапазон вида *A. nidulans* и у клеток этой водоросли уже эволюционно сложился механизм защиты к действию подобных веществ (но встречались они, конечно, в меньших концентрациях). При этом сам механизм защиты, скорее всего, неспецифический и заключается в простом восстановлении нарушенной мембраны. Имеющегося в клетке запаса структур для репарации мембраны на какое-то время хватает, чтобы противостоять действию детергента. Но для того чтобы бороться с эффектами больших концентраций токсиканта, необходимо перейти на новый темп продуцирования этих структур, а это требует времени для перестройки метаболизма. Поэтому клетки, израсходовавшие свой "неприкосновенный запас", в больших концентрациях дисперсанта гибнут.

Если принять эту точку зрения, то можно объяснить, почему водоросли, предварительно выдержанные в нетоксической концентрации ЭПН-5 и пересеянные на 6-й день в летальную концентрацию, гибнут раньше (на 6-й день), чем водоросли, пересеянные на 3-й день (гибель наступает на 9-й день). Если повышенный синтез структур, необходимых для восстановления мембран, удовлетворяет потребность клеток начиная с 8-х суток, то до этого времени происходит лишь использование и истощение старых запасов без должного пополнения их. Поэтому на отрезке времени от 1 до 8 суток культура с каждым днем становится все менее способной адаптироваться к летальной концентрации дисперсанта.

Подобный эффект мы наблюдали и при адаптации синезеленых водорослей *S. aquatilis* к дисперсанту ДН-75 [Гапочка и др., 1980].

Доказательства способности *A. nidulans* адаптироваться к токсикантам путем физиологической адаптации были получены и в фармакологических опытах Кумара [Kumar, 1965].

Физиологическая приспособляемость свойственна в известной степени всем организмам, что мы и попытались доказать в настоящей работе на примере синезеленых водорослей. Однако при этом следует помнить, что фенотипическая адаптация обеспечивает приспособление и выживание водорослей только в условиях, несколько отличных от обычных. Когда же встает вопрос о существовании популяции водорослей в условиях, существенно отличных от нормальных, то его решают механизмы не фено-, а генотипической адаптации.

ЛИТЕРАТУРА

- Артюхова В.И., Гапочка Л.Д. Об адаптации синезеленой водоросли *Synechocystis aquatilis* к нефти и нефтепродукту. — Вестн. МГУ. Сер. биол., 1978, № 1, с. 13–18.
- Гапочка Л.Д., Артюхова В.И., Любачева Г.В., Лебедева Т.Е. Изучение адаптации синезеленых водорослей *Synechocystis aquatilis* Sauv. 428 и *Anacystis nidulans* к дисперсанту ДН-75. — Там же, 1980, № 2, с. 30–38.
- Иорданский Н.Н. Преадаптация и приспособление. — Природа, 1973, № 3, с. 30–36.
- Карауш Г.А., Гапочка Л.Д. Изменение физиологической активности развивающихся культур некоторых синезеленых водорослей. — Докл. АН СССР, 1970, т. 195, № 1, с. 234–237.

- Кузнецов Ю.З. Преадаптация и экономический прогноз. — Журн. общ. биологии, 1974, т. 35, с. 223–227.
- Флеров Б.А. К вопросу о приспособлении гидробионтов к токсическому фактору. Гидробиол. журн., 1971, т. 7, № 6, с. 61–66.
- Хлебников В.В. Основные моменты теории акклимации и ее роль в исследовании биологии моря. — В кн.: Экспериментальная экология морских беспозвоночных. Владивосток, 1976, с. 182–185.
- Kumar H.D. Effect of certain toxic chemicals and mutagens of the growth of the blue-green alga *Anacystis nidulans*. — Can. J. Bot., 1965, vol. 43, p. 1523–1532.
- Nielsen E.S., Jørgensen E.G. The adaptation of plankton alga. III. With special consideration of the importance in nature. — Physiol. Plantarum, 1968, vol. 21, p. 647–654.
- Shanz R. Etude des variations metabolique plantes attentes de deficiences Chlorophylliennes et cher *Euglena gracilis* au cours de la morphogenese du chloroplaste. — These doct. sci. Univ. Louis Pasteur, Strasbourg, 1972, p. 112.
- Yensch C.S., Lee R. W. A study of photosynthetic light reactions and a new interpretation of sun and shade phytoplankton. — J. Mar. Res., 1966, vol. 24, p. 319–337.

УДК 577.472 : 591.145.3

ЭФФЕКТ КУМУЛЯЦИИ И ЕГО СВЯЗЬ С ПРИСПОСОБИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИЕЙ ОРГАНИЗМА

Л.В. КОЛОСОВА, В.Н. НОСОВ

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Элементоорганические соединения (ЭОС) находят все более широкое применение в различных отраслях хозяйства как пленкообразующие и биощидные добавки к различным полимерным и лакокрасочным композициям [Ингам и др., 1962; Харвуд, 1970]. Вместе с тем большинство ЭОС обладают не только остро токсическими, но и кумулятивными свойствами. Учитывая это, в первую очередь следует выяснить степень опасности химических веществ при их нормировании в водной среде.

В зависимости от физико-химических свойств токсиканта может преобладать либо материальная, либо функциональная кумуляция. В последнем случае при воздействии токсиканта организм не в состоянии компенсировать повреждения, так как кумуляция — это нарастание отрицательных сдвигов в организме, в то время как адаптация — уменьшение этих сдвигов. В связи с этим функциональную кумуляцию не следует рассматривать в отрыве от остальных процессов, протекающих в присутствии токсиканта, в частности, от адаптации.

Учитывая, что разработанные на кафедре общей экологии и гидробиологии МГУ методы по изучению токсического воздействия химических веществ ориентированы на эксперименты с пойкилотермными животными [Строганов, Колосова, 1971], нами была сделана попытка определить роль и место кумуляции в исследованиях подобного рода. С этой целью был изучен широкий ряд токсикантов, содержащих органические соединения олова, свинца, кремния и германия. В результате оказалось, что одновременно с показателем острой токсичности соединений ($ЛК_{50}$) значительно изменению подвержен и "угол наклона" кривой "концентрация — время наступления гибели половины животных".

Аналогичные попытки связать особенности изменения токсикологической кривой с закономерностями взаимодействия токсиканта с организмом предпринимались и ранее. Так, сравнение диапазонов изменения эффективных концентраций позволяет получить определенную информацию о механизме интоксикации организма [Карасик, 1944]. Компенсаторные свойства организма, проявляющиеся при воздействии токсикантов, оцениваются в работе И.П. Улановой с соавторами [1967]. Ю.С. Каган [1965] особое внимание уделили кумулятивным свойствам пестицидов. Особенности процессов активации и детоксикации ядов рассмотрены Л.Н. Францевичем [1964]. Связь качества покрытий со свойствами фунгицидов исследовалась в работе Хорсфолла [1948]. Несмотря на различие изучаемых явлений во всех выше перечисленных работах в качестве количественной меры используются величины, характеризующие угол наклона токсикологической кривой.

Полученные в настоящей работе результаты свидетельствуют об обоснованности такого подхода применительно и к токсикологическим экспериментам с водными животными.

Нами были исследованы различные растворы ЭОС IV Б группы таблицы Менделеева (46 соединений) с общей формулой R_nMeX_{4-n} , где R — гомологи одновалентных алкильных и арильных радикалов; Me — атом Si, Ge, Sn, Pb; X — различные группы — OH, Cl, $OOCH_3$, $OOCH=CH_2$, $OO(CH_3)C=CH_2$. Для изучения действия этих растворов на выживаемость гидробионтов использована культура дафний *Daphnia magna* Straus, продолжительность опытов не превышала 40 суток. Растворы ЭОС меняли на 3-и сутки с учетом их стабильности. Обработку результатов экспериментального исследования кумулятивных свойств соединений осуществляли с помощью методов многомерной статистики.

Кластерный анализ. Цель метода — выявление путем расчета групп соединений, обладающих сходным изменением токсических свойств в зависимости от их разбавления.

Первоначально для каждого соединения определялась концентрация, вызывающая гибель 50% рачков (LK_{50}) в течение 3 суток, которая в дальнейшем рассматривалась в качестве исходного раствора. Затем по экспериментальным данным определяли время гибели рачков при концентрациях раствора в 10, 100 и 1000 раз меньших, чем найденная средне-летальная концентрация. В процессе расчетов каждое соединение характеризовалось 12 величинами, смысл которых состоял в нахождении времени гибели 25, 50, 75% дафний в исходном растворе и в одном из его разбавлений. С помощью процедуры кластерного анализа были выделены шесть групп соединений [Колосова и др., 1980].

Регрессионный анализ. В отличие от кластерного анализа, регрессионный позволяет количественно оценить зависимость поверхности "концентрация — время — эффект" от структурных параметров ЭОС. Применение метода главных компонент позволило перейти от введенных 12 величин, описывающих поведение токсикологической поверхности, к показателю B , равному среднему геометрическому из отобранных выше 12 параметров:

$$B = \sqrt[12]{t_1 t_2 t_3 \dots t_{12}}$$

где $t_1, t_2, t_3 \dots t_{12}$ — время гибели 25, 50 и 75% рачков в каждом из

четырёх растворов соединения. Меньшая величина B соответствует соединениям с более пологой зависимостью "концентрация — эффект", а следовательно, и более кумулятивным токсикантам.

Для объяснения изменения показателя B были использованы следующие структурные параметры: молекулярный вес радикала (x_1), молекулярный вес функциональной группы (x_2), доля молекулярного веса элемента в молекулярном весе соединения (x_3). Поскольку в числе исследованных соединений имелись соединения с алкильным и арильным радикалами, был введен параметр "тип радикала" (x_4), принимающий значения 1 для алкильного радикала и 0 для арильного. Аналогично были введены 8 бинарных параметров типа функциональной группы в отдельности для каждой из 8 функциональных групп, встречающихся в нашем наборе; галонид (x_{14}), гидроксил (x_{15}), окси-группа (x_{18}), винильная (x_{20}), ацетатная (x_{16}), метакрилатная (x_{17}), водород (x_{21}). Кроме того, четыре бинарных параметра описывали тип элемента — Si (x_{10}), Ge (x_{11}), Sn (x_{12}), Pb (x_{13}), входящего в состав вещества. Для соединений с алкильным радикалом использовали параметры: длина радикала (x_7) и число алкильных радикалов в молекуле (x_5); для соединений с арильным радикалом — только число арильных радикалов (x_6). При этом соединения с бензильным радикалом относились к соединениям с арильным радикалом. Кроме того, был введен особый бинарный параметр наличия бензильного радикала (x_8). Соединения с окси-радикалом относили к соединениям с алкильным радикалом и вводили соответствующий бинарный параметр (x_9). Таким образом, структура соединений полностью описывалась посредством введения 21 параметра. Дальнейшее исследование сводилось к определению по методу наименьших квадратов зависимости показателя B от этих параметров [Носов, Колосова, 1979].

В основу расчетов было положено предположение о том, что изменение любого из параметров x_1 до x_{21} вызывает независимо от типа соединения одно и то же изменение показателя B . Поиск наиболее важных из таких параметров был осуществлен с помощью процедуры шаговой регрессии. Для лучшей адекватности решено было определять линейную зависимость $\ln(B)$ от $x_1, x_2 \dots x_{21}$.

Вычисления по процедуре шаговой регрессии свелись к тому, что на первом шаге из 21 параметра выбирался один параметр, наилучшим способом описывающий изменение B ; на втором шаге к выделенному параметру добавляли из оставшихся 20 еще один; на третьем и последующих шагах включение в уравнение регрессии новых параметров производили аналогичным образом. Условием на выбор включаемого параметра служило требование о наилучшем совместном описании изменений B .

Из построенной иерархии уравнений с помощью коэффициента множественной регрессии, критерия Фишера F , критерия Стьюдента t осуществлялся выбор одного единственного уравнения. Таким образом, число и тип параметров, включенных в результирующее уравнение, заранее не были известны, а определялись только значимостью их влияния на показатель B .

Зависимость кумулятивных свойств соединений от химической структуры по результатам кластерного и регрессионного анализов. Для исследования особенностей каждой из выделенных шести групп по 46

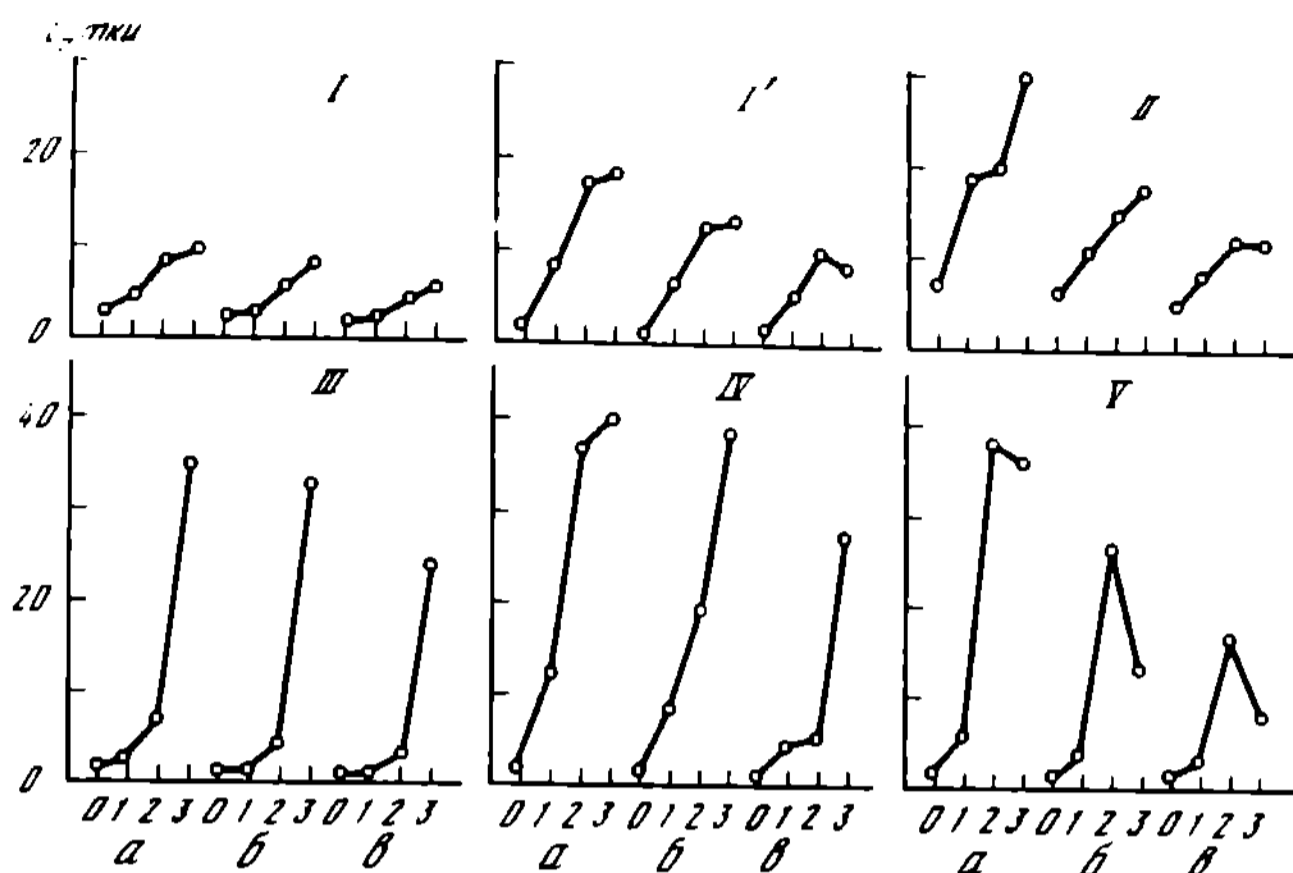


Рис. 1. Время гибели дафний в растворах элементоорганических соединений для выделенных групп

По оси абсцисс – степень разбавления; I–V – группы ЭОС, выделенные кластерным анализом. По оси ординат – время гибели
а – 75%; б – 50%, в – 25%

исследованным ЭОС строились графики (рис. 1). Точки каждого из шести графиков, приведенных на рисунке, соответствуют среднему времени гибели дафний на трех процентных уровнях (LT_{25} , LT_{50} , LT_{75}) в исходном растворе и трех его разбавлениях (точки с одним уровнем гибели соединены линией). При этом точка, соответствующая исходному раствору, на оси разбавлений занимает в каждой четверке крайнее левое положение, а разбавление в 10 раз обозначает переход к точке соседней справа.

Будем считать, что кривые, приведенные на рис. 1, выражают общее и существенное, что имеется в исследуемом отношении у растворов каждой группы. Как видно на рис. 1, выделенные процедурой кластерного анализа группы значительно отличаются между собой по динамике изменения токсичности раствора при его разбавлении. Полученное разделение находится в соответствии с химическим строением исследованных соединений. Так, все без исключения рассмотренные соединения германия входят в группу II (кроме семи германиевых соединений в этой группе находятся еще тетраметилсвинец $(CH_3)_4Pb$ и полидиэтилстаноксан $[(C_2H_5)_2SnO]_x$). Группа V также обращает на себя внимание. Рисунок свидетельствует, что у соединений, вошедших в эту группу, при последнем разбавлении наблюдается "парадоксальный" эффект: вопреки ожиданию продолжительность жизни рачков в последнем разбавлении сокращена по сравнению с предыдущим разбавлением. Химический состав этой группы довольно однороден и представлен соединениями свинца с три- и диметильными радикалами. Что касается соединений олова с этильным, бутильным и

фенильным радикалами, то они также выделились и представлены главным образом в I и III группах. При этом отличие соединений III группы состоит в том, что они по сравнению с соединениями I группы обладают более низкой температурой кипения. Химическая структура остальных групп менее выражена. Несмотря на это, можно считать, что в целом для исследованных соединений существует зависимость между поведением токсикологической поверхности в диапазоне летальных концентраций и их химическим строением. Эти выводы подтверждаются регрессионным анализом.

Расчеты для показателя Б выявили, что для всех соединений имеется уравнение:

$$\ln(B) = 3,66 - 0,0032x_1' - 1,12x_4 + 0,61x_9 - 0,65x_8 - 0,69x_{12} - 0,51x_{13}; \quad (1)$$

$$K = 46; r = 0,733; F = 7,536 (0,001),$$

где K — число соединений, использованных при построении данного уравнения регрессии; r — коэффициент корреляции; F — критерий адекватности Фишера (указан с имеющимся уровнем значимости).

Рассматривая уравнение, приходим к выводу, что растворы соединений с алкильным радикалом имеют меньшую величину среднего времени гибели дафний, чем растворы соединений с арильным радикалом (параметр x_4).

В зависимости от типа элемента соединения в порядке возрастания величины показателя Б располагаются следующим образом: оловоорганические (x_{12}), свинецорганические (x_{13}), германийорганические (x_{11}). Замыкают этот ряд кремнийорганические соединения. Отрицательный коэффициент при параметре x_8 показывает, что замена алкильного радикала бензильным способствует увеличению показателя Б в меньшей мере, чем замена арильным радикалом.

Оставшийся нерассмотренным член уравнения с параметром x_1 представляет наибольший интерес, поскольку описывает зависимость показателя Б от молекулярного веса радикала. Так, при возрастании молекулярного веса радикала показатель Б уменьшается. Вывод является следствием более фундаментальной зависимости, отражающей связь токсических свойств и длины алкильного радикала (в нашем случае соединения с алкильным радикалом преобладают). Положение подтверждается уравнением, построенным для соединений с алкильным радикалом:

$$\ln(B) = 2,22 - 0,27x_7 + 0,92x_9 + 0,38x_{11}; \quad (2)$$

$$K = 37; r = 0,784; F = 17,881 (0,001).$$

Та же зависимость прослеживается и в уравнении, рассчитанном только для олово- и свинецорганических соединений с алкильным радикалом:

$$\ln(B) = 2,18 - 0,26x_7; \quad K = 26, r = 0,618; F = 14,816 (0,001). \quad (3)$$

Таким образом, при замене радикала с большим числом углеродных атомов в ряду от метила к бутилу следует ожидать уменьшения показателя Б. Этот вывод остается верным и для оловоорганических соединений в отдельности:

$$\ln(B) = 2,24 - 0,31x_7 + 0,51x_{14}; \quad K = 16; r = 0,748; F = 8,32 (0,01). \quad (4)$$

Введение в молекулу оловоорганического соединения галлоида способствует увеличению показателя Б.

Рассмотренные в кластерном и регрессионном анализе особенности поверхности "концентрация — время — эффект" в первую очередь характеризуют кумулятивные свойства токсикантов, поскольку описывают различия между рассматриваемыми соединениями по величине угла наклона токсикологической кривой. В результате оказывается, что кумулятивные свойства ЭОС тесно связаны с их химическим строением. Так, опасность соединений, обусловленная функциональной кумуляцией, уменьшается в ряду соединений олова — свинца — германия — кремния слева направо.

Оловоорганические соединения обладают большими кумулятивными свойствами при увеличении длины алкильного радикала. Кроме того, соединения с галоидом в качестве функциональной группы, как правило, имеют менее выраженные кумулятивные свойства по сравнению с другими из исследованных функциональных групп.

Подавляющее число исследованных веществ, для которых соответствующие кривые изменяются более полого, оказались оловоорганическими соединениями, признанными в гигиенической практике наиболее кумулятивными токсикантами. Сопоставление вывода с данными по накоплению оловоорганических соединений в тканях и органах рыб [Парина, 1979] подтвердило предположение о наличии значительных кумулятивных свойств химических соединений этого класса и в случае с водными беспозвоночными.

Сказанное позволило ввести коэффициент кумуляции ($K_{\text{кум}}$). В экспериментах, когда организм на протяжении нескольких недель находится в среде, содержащей токсикант, кумулятивные свойства последнего проявляются при уменьшении концентрации раствора, как замедление роста показателя $ЛТ_{50}$. Нами установлено, что средняя геометрическая $\sqrt[4]{t_0 \cdot t_{10} \cdot t_{100} \cdot t_{1000}}$ из времен гибели 50% животных ($ЛТ_{50}$) в указанных концентрациях характеризует кумулятивные свойства соединений. Для количественного изучения этого свойства была использована нормированная величина $K_{\text{кум}} = D \cdot \sqrt[4]{t_0 \cdot t_{10} \cdot t_{100} \cdot t_{1000}} - L_1$, названная нами коэффициентом функциональной кумуляции. Величины коэффициентов D и L_1 подбираются такими, чтобы коэффициент принимал значения от 0 до 1. Одновременно может быть введен и показатель функциональной кумуляции, находящийся в обратном пропорциональном соответствии с коэффициентом кумуляции.

Кумуляция и приспособительные реакции организма. Во время длительного токсикологического эксперимента наряду с накоплением в организме негативных изменений основную роль играют и приспособительные реакции организма. Невозможно провести грань между двумя этими явлениями, ибо они существуют в диалектическом единстве: способность организма к накоплению токсического воздействия может активизировать приспособительные реакции, и, наоборот, недостаточные адаптационные возможности могут приводить к тому, что эффект накопления поломок разовьется вплоть до наступления гибели организма.

Выше была изложена экспериментальная методика оценки вычисления показателя функциональной кумуляции. В соответствии с методикой

эксперименты проводятся на животных, предварительно находившихся в оптимальных для тест-объекта условиях среды. Но можно поступить так, как это обычно делается в токсикологии при изучении адаптационных возможностей организма — предварительно выдержать животных в малых концентрациях исследуемого токсиканта в течение определенного времени, а затем на подготовленных таким образом гидробионтах оценить эффект функциональной кумуляции по описанной схеме. На основании полученной информации может быть выявлено соотношение между процессом кумуляции и адаптации и найдены пороговые концентрации, начиная с которых один процесс начинает преобладать над другим.

ЛИТЕРАТУРА

- Ингам Р., Розенберг С., Гильман Г., Рикенс Ф. Оловоорганические и германийорганические соединения. М.: ИЛ, 1962.
- Каган Ю.С. О количественных критериях вредности химических веществ. — В кн.: Гигиена и токсикология пестицидов и клиника отравлений. Киев: Медицина, 1965, с. 45–59.
- Карасик В.М. Кривые индивидуальной чувствительности в фармакологическом анализе. — Успехи соврем. биологии, 1944, т.17, вып. 1, с. 71–86.
- Колосова Л.В., Носов В.Н., Добровольский И.П. Связь строения элементарорганических соединений с их токсическим действием на дафний. — В кн.: Самоочищение и биоиндикация загрязненных вод. М.: Наука, 1980, с. 184–193.
- Носов В.Н., Колосова Л.В. Особенности токсикологической кривой в зависимости от химической структуры элементарорганических соединений. — Науч. докл. высш. школы. Сер. биол. науки, 1979, № 2, с. 97–101.
- Парина О.В. Накопление и выведение оловоорганических соединений карпом в связи с химическим загрязнением водоемов: Автореф. ... канд. биол. наук. М., 1979.
- Строганов Н.С., Колосова Л.В. Введение лабораторной культуры и определение плодовитости дафний в ряде поколений. — В кн.: Методики биологических исследований по водной токсикологии. М.: Наука, 1971, с. 210–216.
- Уланова И.П., Сидоров К.К., Халепю А.И. Современное состояние проблемы оценки опасности промышленных ядов. — В кн.: Общие вопросы промышленной токсикологии. М.: Медицина, 1967, с. 49–55.
- Францевич Л.И. Зависимость между дозой инсектицида и временем ее полуплетального действия. — Фармакология и токсикология, 1964, т. 27, № 5, с. 615–619.
- Харвуд Дж. Промышленное применение металлоорганических соединений. Л.: Химия, 1970.
- Хорсфолл Дж.Г. Фунгициды и их действие. М.: ИЛ, 1948.

КОМПЕНСАТОРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОТВЕТЕ ДАФИЙ НА ЛЕТАЛЬНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

О.Ф. ФИЛЕНКО, Е.Ф. ИСАКОВА

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Динамика реагирования организмов на токсическое воздействие определяется особенностями поступления вещества в ткани (материальная кумуляция) и накопления повреждений, вызываемых этим веществом (функциональная кумуляция). Водные организмы в токсикологических опытах постоянно находятся в растворе токсического вещества. Количество поглощенного вещества и форма, в которой действующее начало токсического вещества проявится в организме, зависят от его растворимости, физико-химического состояния в воде, способности корма адсорбировать это вещество и способности вещества проникать в организм через жабры, кишечник, поверхность тела.

Неблагоприятное воздействие токсического вещества вызывает ответную реакцию организма, активизируя его защитные системы. Появление повреждений и их элиминация организмом являются процессами динамичными, и соотношение скоростей этих двух основных процессов — воздействие токсиканта и противодействие организма, очевидно, и определяет результирующий биологический эффект.

Величина воздействия определяется рядом действующих факторов, среди которых важнейшие — концентрация вещества в растворе и длительность его действия. В зависимости от интенсивности или длительности токсического воздействия возможны следующие варианты последствий. Малое воздействие может быть полностью перекрыто компенсационным ответом организма, и эффект в этом случае не выходит за статистическое значение нормы. При достаточно сильном воздействии (действие повышенной концентрации или длительное воздействие) величина его может быть сопоставима с пределом компенсационного потенциала организма. Эффект в этом случае может выражаться в биохимических или физиологических изменениях, хотя выживаемость при этом может и не снижаться. Следует оговорить, что мы не принимаем во внимание таких специфических отдаленных эффектов, как мутагенез и канцерогенез. Третий случай, наиболее популярный в токсикологии, когда воздействие превышает компенсационный потенциал организма. В этом случае нарушения систем организма могут приводить к его гибели. С увеличением степени нарушения систем возрастает вероятность гибели организма. В результате смертность является отражением объема нарушения биологических систем при токсическом воздействии. В тех случаях, когда организм не в состоянии полностью компенсировать воздействие, происходит постоянное нарастание эффекта за счет длительного контакта гидробионта с раствором токсиканта.

Следствием этого для особей может быть увеличение нарушений и возрастание вероятности гибели организма. В популяции же будет отмечаться не только возрастание числа погибших особей, но и увеличение числа погибших особей на единицу времени, т.е. возрастание скорости гибели. Кривая

смертности во времени должна при этом иметь все нарастающую крутизну. Как показывает опыт, в определенном диапазоне остродействующих концентраций токсических веществ наблюдается именно эта картина (рис. 1). В логарифмической системе координат эта кривая может превращаться в прямую.

Помимо компенсации, мы допускаем существование такой защитной адаптации организмов при токсическом воздействии, которая выходит за рамки простой компенсации. Под адаптацией мы подразумеваем функциональные или структурные перестройки в организме, направленные на уменьшение вредного действия токсического вещества, в том числе, например, и ускорение выведения его из организма [Филенко, Исакова, 1979]. Механизмы адаптации могут быть как универсальными, так и специфическими, но возрастание интенсивности защитных реакций организма запаздывает во времени по отношению к токсическому воздействию в связи с тем, что для активизации той или иной адаптационной системы организма необходимо достижение некоторого порога повреждений. Эта активизация должна оказать влияние на динамику биологического эффекта во времени. В большинстве опытов это влияние проявляется в деформации кривой динамики гибели водных организмов во времени при токсическом воздействии. Кривая приобретает ступенчатый характер. В некоторой степени эта "ступенчатость" проявляется даже при воздействии остролетальных концентраций (рис. 2). Пологая часть этих ступеней соответствует внезапному снижению скорости гибели организмов при продолжающемся токсическом воздействии. В логарифмической системе координат при этом наблюдается излом прямой гибели.

Наблюдаемая кинетика гибели может представлять собой суперпозицию двух процессов: гибель под воздействием токсического вещества и нарастание компенсаторных процессов в организме, приводящее к результирующему замедлению гибели. Наглядно это представлено на рис. 3.

Еще предстоит выяснить, что же является активатором формирования этих адаптационных процессов: уровень ли вещества или результатов поражения в тканях, скорость или ускорение накопления их. Однако независимо от этого отмечается временное снижение скорости или полное прекращение гибели организмов при воздействии данной концентрации токсического вещества. Естественно, что адаптационные возможности организма имеют определенный предел, который может быть достигнут при продолжающемся токсикологическом воздействии. После достижения максимального уровня адаптационного потенциала итоговый поражающий эффект опять будет нарастать, если сохраняется токсическое воздействие, и опять будет отмечаться ускоряющаяся гибель. Во многих случаях гибель продолжается даже после переноса организмов из раствора токсиканта в чистую воду. Это может быть вызвано как внутренним перераспределением уже накопленного вещества, так и вторичным эффектом повреждений, уже вызванных веществом в организме (рис. 4).

Таким образом, кривая гибели гидробионтов во времени при токсическом воздействии может быть наглядно представлена как простая суперпозиция кривых неограниченно нарастающего воздействия и ограниченного по уровню противодействия защитных систем организма. В некоторых условиях адаптационный потенциал организма не успевает достигнуть пре-

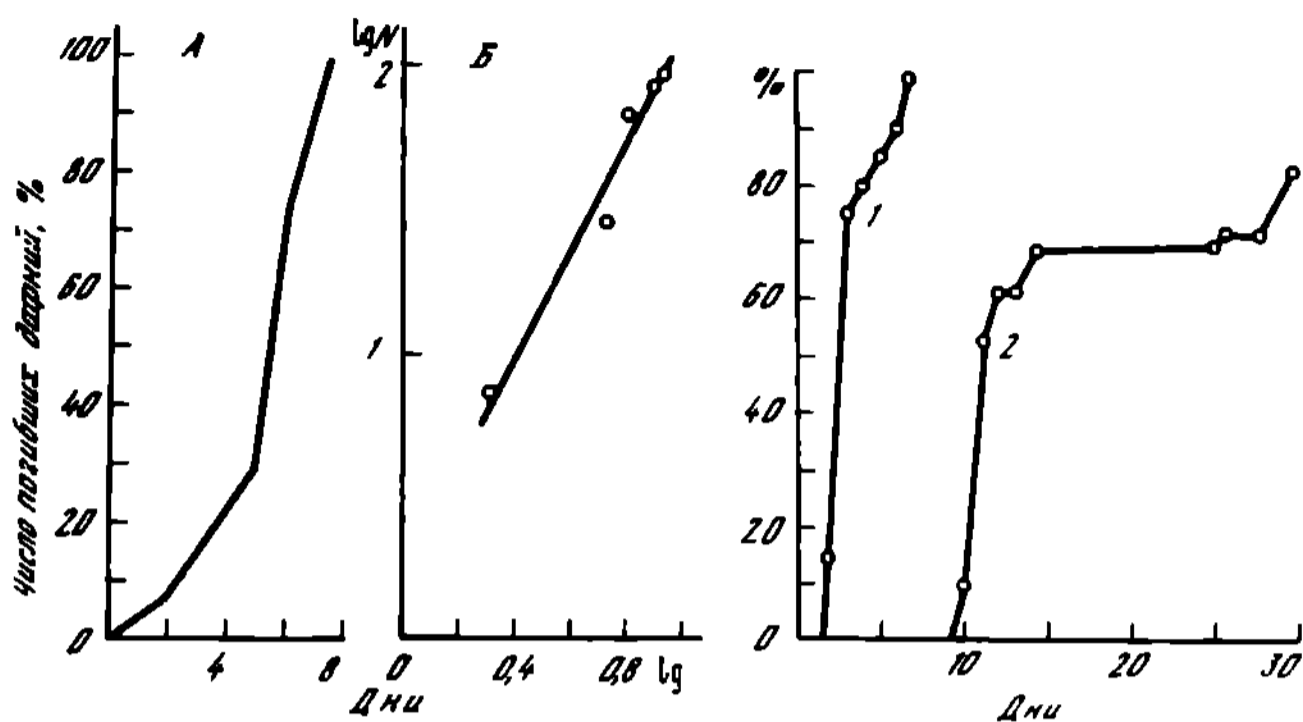


Рис. 1. Динамика гибели дафний при воздействии 0,1 мг/л триметилловохлорида в обычных (А) и логарифмических (Б) координатах

Рис. 2. Динамика гибели дафний при воздействии 10^{-4} трибутилловохлорида (1) и $3 \cdot 10^{-3}$ мг/л трифенилловохлорида (2)

По оси абсцисс – время; по оси ординат – число погибших дафний

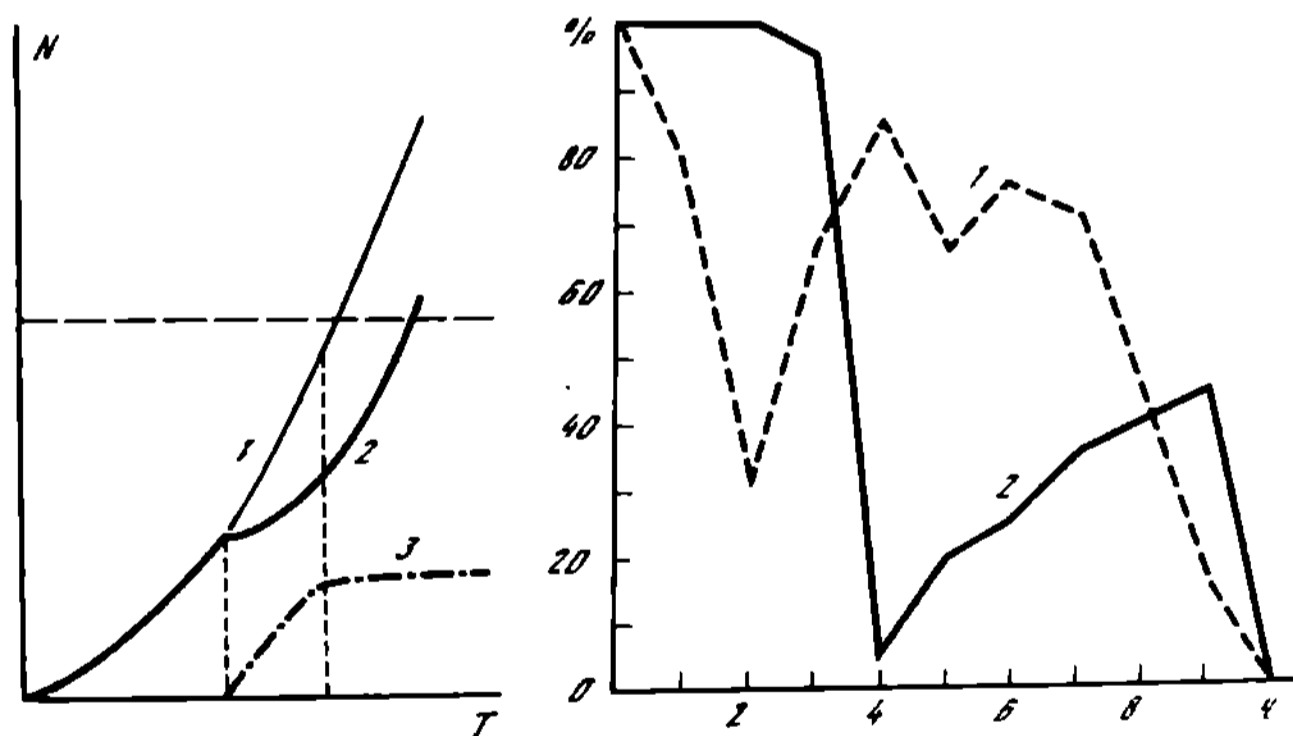


Рис. 3. Динамика гибели гидробионтов при токсическом воздействии и компоненты, ее определяющие

1 – рост объема поражения; 2 – динамика гибели гидробионтов; 3 – рост активности адаптационных процессов

Рис. 4. Выживаемость на 30-е сутки дафний, отсаженных через разные сроки из растворов 1 мг/л триэтилловохлорида (1) и 0,1 мг/л трипропилловохлорида (2)

По оси абсцисс – срок отсадки; по оси ординат – число выживших особей, в % от отсаженных

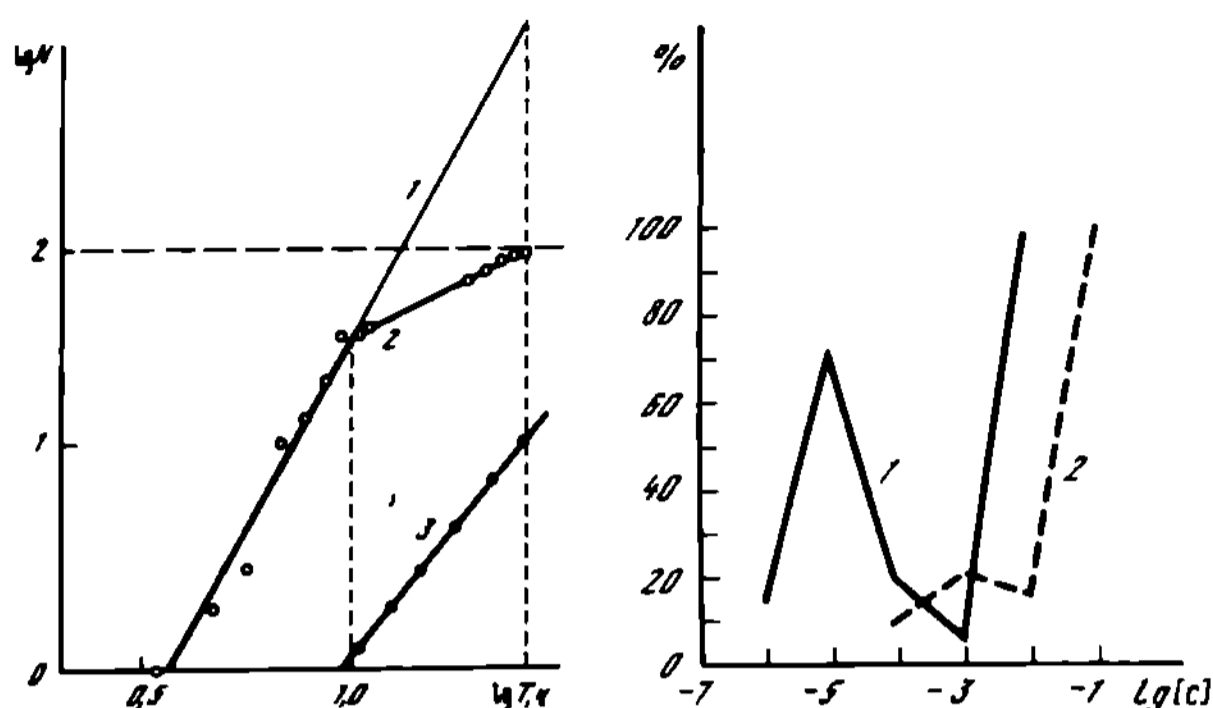


Рис. 5. Компоненты, определяющие динамику гибели дафний при действии 1 мг/л трифенилового хлорида

1 — рост объема поражений: $\lg N_1 = 3,477 \lg T_1 - 1,942$; 2 — динамика гибели дафний: $\lg N_2 = 3,477 \lg T_1 - 2,4921 \lg T_2 + 0,587$; 3 — рост активности адаптационных процессов: $\lg N_3 = 2,4921 \lg T_2 - 2,531$. По оси абсцисс — логарифм времени, по оси ординат — логарифм числа погибших дафний

Рис. 6. Токсичность трипропилового хлорида (1) и триэтилового хлорида (2) для дафний при различных концентрациях

По оси абсцисс — логарифм концентрации ООС в мг/л; по оси ординат — выживаемость дафний на 30-е сутки в %

дела до конца наблюдения, и часть особей доживает до конца опыта. В период, когда гибель временно прекращается, устойчивость оставшихся особей может оказаться повышенной или повышается активность ранее угнетенных функций. Промежуток времени, когда компенсационные процессы перекрывают уровень поражения, может являться периодом неспецифической повышенной устойчивости организма и стимуляции различных функций. Это трудно показать в условиях острого токсического эксперимента, взяв в качестве показателя гибель, но достаточно наглядно в хронических опытах или при оценке по другим показателям, например биохимическим [Путинцев, 1980]. При некоторых воздействиях стимуляция может быть настолько эффективна, что даже вызывает увеличение естественной продолжительности жизни.

Исходя из приведенных рассуждений и на основании полученных кривых гибели организмов можно графически ориентировочно оценить срок наступления временного равновесия между поражающим эффектом и уровнем активности защитных систем организма, а также приблизительный предельный уровень этой активности (рис. 5). Для этого кривая гибели организмов продолжается без учета временного замедления гибели. Разность между этой линией и реальной кинетикой гибели и определит активность замедления гибели за счет адаптационных процессов. В некоторых случаях даже может быть дано описание хода кривой и составляющих с помощью уравнений регрессии [Филенко, Исакова, 1982] (см. рис. 5). При различных концентрациях и соответственно интенсивностях воздей-

вия, а также в зависимости от физиологического состояния организма срок проявления адаптации различен и различна степень влияния адаптации на общую кинетику гибели организмов при воздействии токсических веществ.

Наложение адаптационных процессов отражается и на форме кривой "концентрация – эффект". Эта кривая строится на основании данных по эффекту за один и тот же срок, полученных в опытах с разными концентрациями. Но, как мы уже показали, гибель объектов во времени происходит неравномерно, и, возможно, что при более сильном воздействии раньше проявятся адаптационные механизмы организма. При большей концентрации они и раньше будут перекрыты кумулирующим поражением. В зависимости от того, какое временное сечение будет взято для построения зависимости "концентрация – эффект", характер кривой, отражающей эту зависимость, будет разным. Может даже быть получена такая аномальная картина, где меньшая концентрация вызовет больший эффект, чем более высокая (парадоксальный эффект) (рис. 6).

Описываемые аномалии довольно часто наблюдаются в опытах токсикологов, но экспериментаторы не уделяют им должного внимания, относя за счет неточностей опыта. Однако роль их в развитии токсикологического процесса крайне велика, так как именно эти своеобразия реагирования могут доказывать существование специфической и неспецифической устойчивости организмов к токсическим воздействиям. Фазность, формируемая сочетанием процессов поражения и адаптации, затрудняет определение пределов нормы и патологии в токсикологии.

Предлагаемый нами подход к рассмотрению процессов, влияющих на форму кривых гибели гидробионтов при токсическом воздействии в зависимости от длительности действия или концентрации, позволяет более наглядно при анализе результатов токсикологических опытов представлять себе общие взаимодействия, имеющие место в пораженном организме.

ЛИТЕРАТУРА

- Путинцев А.И. Ранние изменения у гидробионтов в связи с химическим загрязнением водоемов: Автореф. . . канд. биол. наук. М., 1980.
- Филенко О.Ф., Исакова Е.Ф. Динамика накопления трифениловохлорида дафниями. – Биол. науки, 1979, № 3, с. 46–49.
- Филенко О.Ф., Исакова Е.Ф. Предсказание токсического эффекта загрязнителей на гидробионтов в отдаленный период на основе данных острых опытов. – В кн.: Теоретические вопросы водной токсикологии. Л.: Наука, 1982, с. 121–137.

ХАРАКТЕР РЕГУЛЯЦИИ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЛАСТИЧЕСКОГО ОБМЕНА У РЫБ ПОД ВЛИЯНИЕМ ТОКСИКАНТОВ

Н.С. БУЗИНОВА

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Настоящая работа посвящена выяснению действия токсических агентов водной среды на метаболизм рыб, а именно на характер регуляции таких показателей пластического обмена, как содержание сухого вещества, минеральных и органических веществ в тканях исследуемого гидробионта, а также на изменения морфофизиологических показателей; размеров рыбы и ее пищеварительного тракта, активности пищеварительных ферментов (на примере амилазы гепатопанкреаса и кишечной стенки).

Состояние этих показателей у рыб неоднократно изучалось как в норме, так и при воздействии экстремальных факторов [Строганов, 1962; Мальяревская, 1979; и др.]. Однако полученные ранее факты нельзя перенести на исследуемые нами объекты, подвергнутые влиянию различных концентраций оловоорганических соединений, относящихся к ядам нервно-паралитического действия.

Сопоставление действия ряда оловоорганических соединений (триметилоловохлорида (ТМОХ), триэтилоловохлорида (ТЭОХ), триамилоловохлорида (ТАОХ) и дибутилоловодихлорида (ДБОДХ) на биохимические и морфофизиологические показатели дало возможность обнаружить характер приспособления (возможно, и временный) путем регуляции рыбой этих показателей в исследуемый период.

Опыты проводили на кафедре общей экологии и гидробиологии МГУ в 1977–1979 гг. Объектом служил карп в возрасте 1+. Действия оловоорганических соединений изучали в следующих концентрациях (мг/л):

ТМОХ	5,0	1,0	0,1		
ТЭОХ	0,5	0,1	0,01	0,003	0,006
ТАОХ	1,0	0,1	0,01		
ДБОДХ	1,0	0,1	0,01		

Каждую из указанных концентраций возобновляли в течение эксперимента путем ежедневной смены растворов.

При действии на организм рыбы ТМОХ оказалось, что к концу опыта (70 суток) содержание сухого вещества в теле уменьшилось, т.е. увеличилось количество воды в тканях. Это увеличение, как видно из рис. 1, различно и зависит от величины концентрации вещества. Обводнение, обнаруженное при действии концентрации 5 мг/л, было наибольшим, а количество сухого вещества снизилось по сравнению с контролем более чем на 20%. Однако на 30-е сутки опыта наблюдалось увеличение сухого вещества относительно контроля, а затем на 70-е сутки – его заметное уменьшение. Это объясняется, вероятно, мобилизацией соответствующих жизненных ресурсов на первоначальной фазе интоксикации, направленной на преодоление вредного влияния вещества на организм. Прирост веса (на 10–15% относительно контроля) рыб, находившихся в воде с кон-

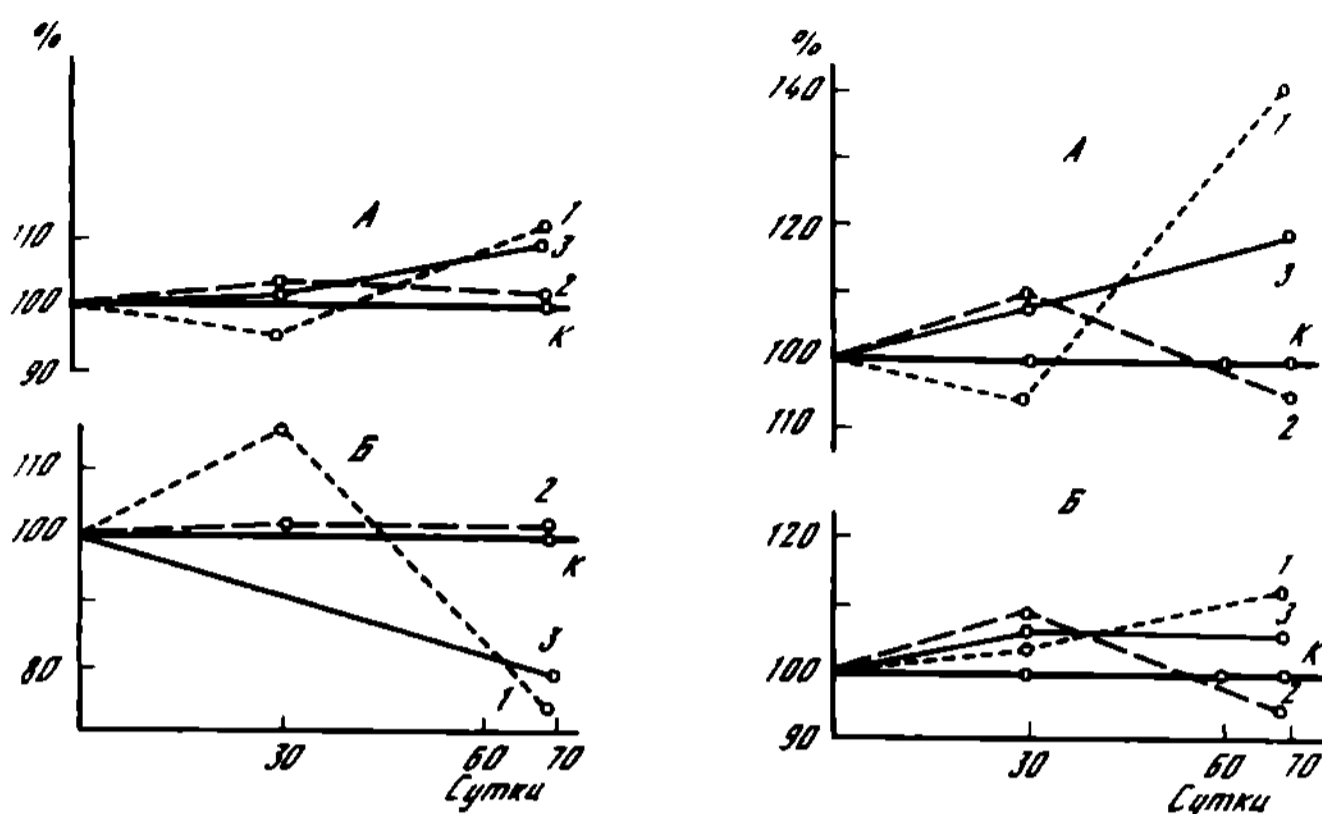


Рис. 1. Изменение веса рыбы (А) и содержания сухого вещества ее тканей (Б) под воздействием различных концентраций ТМОХ

К – контроль; 1 – 5 мг/л; 2 – 1 мг/л; 3 – 0,1 мг/л

Рис. 2. Изменение веса печени (А) и кишечника (Б) под воздействием различных концентраций ТМОХ

К – контроль; 1 – 5 мг/л; 2 – 1 мг/л; 3 – 0,1 мг/л

центрацией ТМОХ 5 и 0,1 мг/л, в основном произошел, по-видимому, за счет обводнения тканей. Промежуточная концентрация (1,0 мг/л) ТМОХ не влияла в течение всего опыта на изменение веса и содержание сухого вещества тела рыбы.

В ходе интоксикации (на 70-е сутки) ТМОХ в концентрации 5 мг/л (рис. 2) отмечено прибавление в весе гепатопанкреаса на 40%, кишечника – на 10%. Очевидно, возрастание веса этих органов произошло в основном также за счет обводнения их тканей. Значительные различия в изменении веса обусловлены функциональными особенностями этих органов. Снижение содержания сухого вещества (обводнение) тканей, особенно заметное у карпов, подвергнутых действию ТМОХ в концентрации 5 мг/л, свидетельствует о значительных изменениях в метаболизме рыб (вес рыбы увеличивался за время опыта на 10% относительно контрольных рыб). Следует отметить, что карпы, находящиеся в токсиканте, заметных на глаз изменений в поведении и внешнем облике не обнаруживали.

Если обратиться к другому представителю триалкилстаннанов – ТЭОХ, то к концу эксперимента (60-е сутки) также наблюдалось заметное снижение содержания сухого вещества в теле карпа. При действии летальной концентрации ТЭОХ 0,5 мг/л у рыб через 3 суток содержание сухого вещества значительно возросло (на 10% относительно контроля), а вес уменьшился. В остальных растворах вес рыб также уменьшался и тем больше, чем выше была концентрация вещества. То же можно отметить и в отношении весовых изменений гепатопанкреаса и кишечника (рис. 3 и 4).

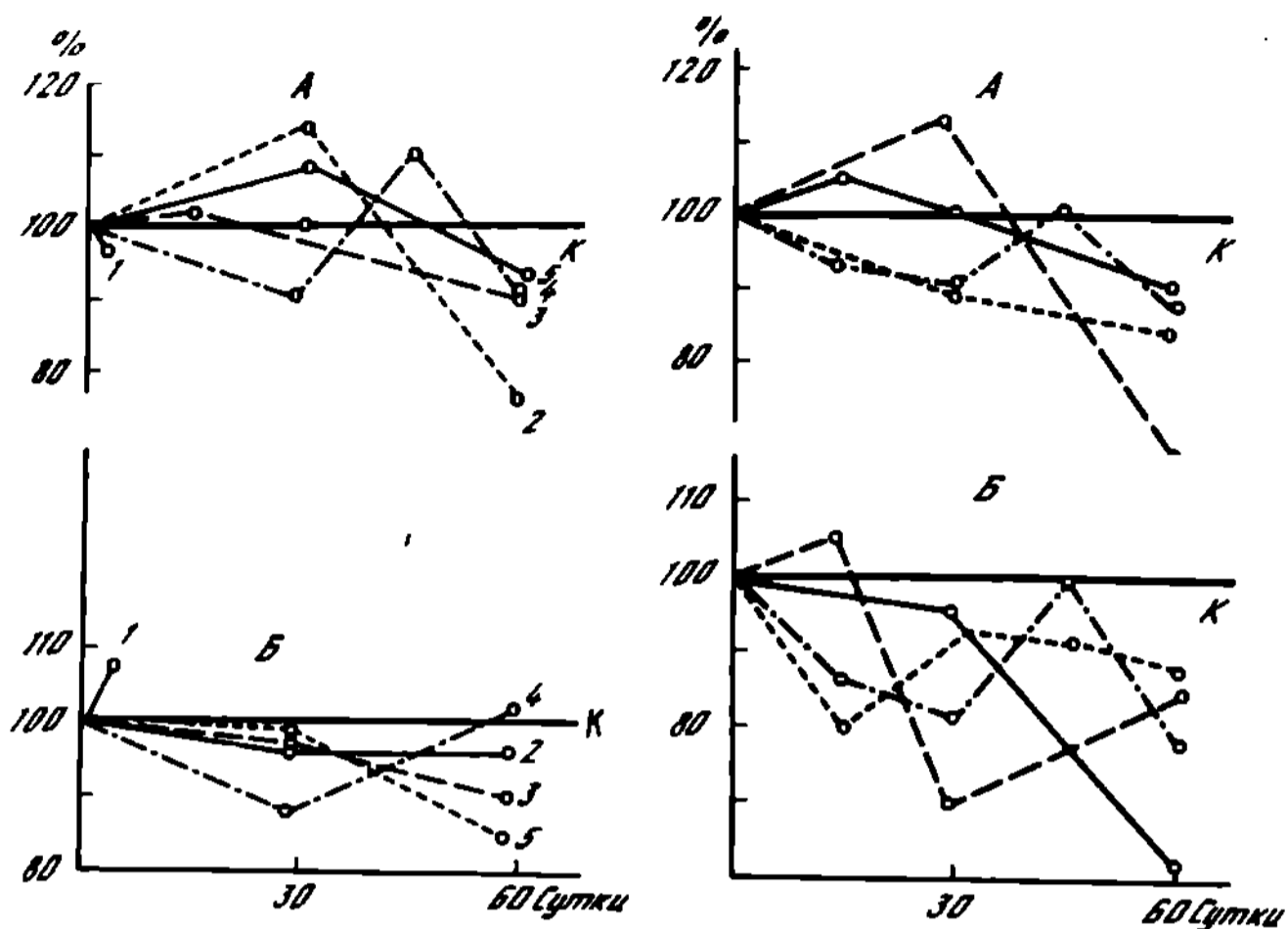


Рис. 3. Изменение веса рыбы (А) и содержания сухого вещества ее тканей (Б) под влиянием различных концентраций ТЭОХ

К – контроль; 1 – 0,5 мг/л; 2 – 0,1 мг/л; 3 – 0,01 мг/л; 4 – 0,003 мг/л; 5 – концентрация 0,003 мг/л ТЭОХ (в среде обитания + концентрация 0,003 мг/л в корме)

Рис. 4. Изменения веса печени (А) и кишечника (Б) карпов под влиянием различных концентраций ТЭОХ

Обозначения те же, что и на рис. 3

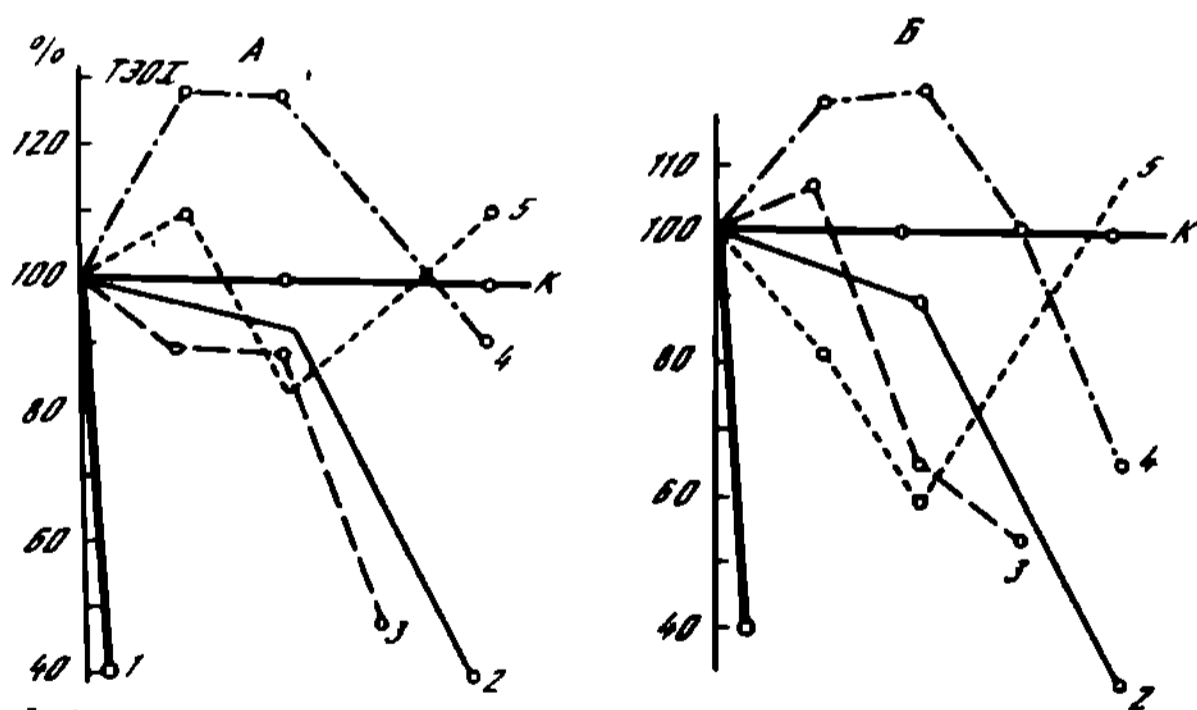


Рис. 5. Активность амилазы печени (А) и кишечника (Б) под влиянием различных концентраций ТМОХ и ТЭОХ

А: К – контроль; 1 – концентрация ТМОХ 5 мг/л; 2 – 1 мг/л; 3 – 0,1 мг/л; Б: 1 – концентрация ТЭОХ 0,5 мг/л; 2 – 0,1 мг/л; 3 – 0,001 мг/л; 4 – 0,003 мг/л в среде обитания + концентрация ТЭОХ 0,003 мг/л в корме

На рис. 5 показано изменение активности панкреатической и кишечной амилазы пищеварительного аппарата карпов под воздействием токсикантов. Отмечена специфичность в проявлении ответной реакции ферментативной активности на действие ТМОХ и ТЭОХ. Заметна фазность реагирования фермента при содержании рыб в воде с введенными туда концентрациями ТМОХ: на 30-е сутки опыта наблюдалась стимуляция активности, а на 60-е сутки — снижение ее относительно контроля на 10–15% (см. рис. 5, А). Более резкие изменения в понижении активности отмечены при действиях ТЭОХ в концентрациях 0,5 и 0,01 мг/л, что указывает на заметные нарушения в характере ответной реакции фермента. Снижение секреторной деятельности гепатопанкреаса и кишечной стенки пищеварительного тракта может зависеть от торможения нервной регуляции секреции в связи с тем, что триалкилстаннаны, являясь высоко токсичными соединениями, относятся к числу резорбтивных нервно-паралитических ядов.

О благополучии рыб при действии малых концентраций вещества мы судили также по степени угнетения пищеварительной активности как при действии токсиканта через среду обитания (жабры, кожные покровы), так и в случае, когда токсикант ежедневно давали с кормом рыбам, не исключая его влияния через среду обитания [Строганов, Бузинова, 1973]. В том и другом варианте мы использовали ТЭОХ в концентрации 0,003 мг/л. Уже на 15-е сутки была зафиксирована стимуляция амилалитической активности гепатопанкреаса в обоих случаях (при двойном действии вещества — меньше, при действии его только через среду обитания — больше). Во второй половине эксперимента активность фермента в том и другом случае приближалась к контрольным величинам. Однако, как видно из рис. 5, характер регуляции динамики амилалитической активности гепатопанкреаса и кишечника в малых концентрациях ТЭОХ несколько различается.

Исходя из изложенного следует отметить, что организм, по-видимому, "старается" приспособиться, хотя бы временно, к иной, не свойственной ему среде путем включения соответствующих регуляторных механизмов.

Сравнивая влияние на организм ТМОХ и ТЭОХ в больших концентрациях, мы наблюдаем как сходство, так и различие динамики содержания сухого вещества в тканях карпа. Сходство состоит в том, что, судя по изменению веса карпа, организм в целом стремится обводнить себя, как бы разбавить концентрацию вещества в теле (при больших, вероятно, энергетических тратах). В зимний период (в случае с ТМОХ), когда интенсивность пищеварительных процессов ничтожна, наблюдалось заметное обводнение гепатопанкреаса и кишечника (см. рис. 2). В летний период (в случае с ТЭОХ), когда обменные и пищеварительные процессы в организме карпов высоки, заметное обводнение органов пищеварения наблюдалось только в первой половине опыта (см. рис. 4).

Известно, что живые организмы обладают множеством сложных приспособлений, противодействующих изменениям и поддерживающих постоянство внутренней среды. В нашем случае организм карпа "пытается" нейтрализовать вредное влияние токсикантов, тормозящих регуляторные процессы, путем мобилизации механизмов, действие которых направлено на восстановление (хотя бы на новом уровне) нарушающихся функций и систем организма

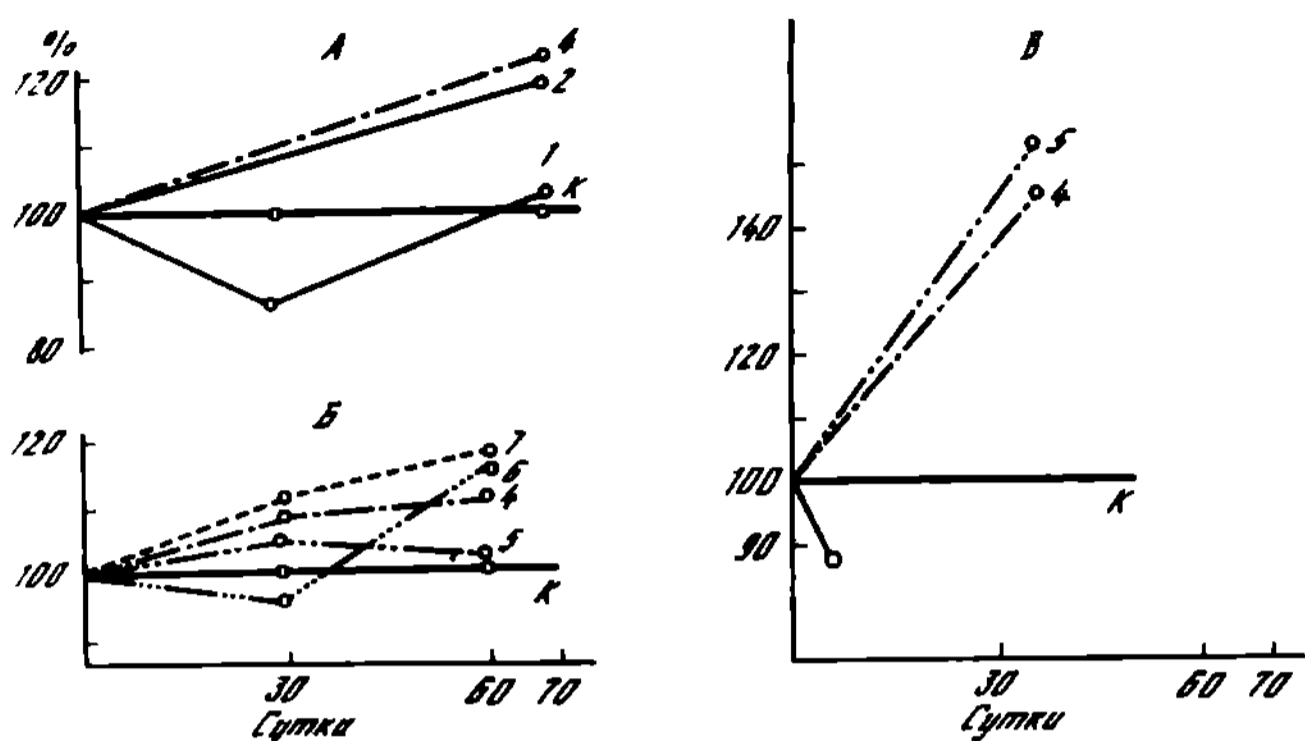


Рис. 6. Содержание зольных элементов в тканях карпа под воздействием различных концентраций ТМОХ (А), ТЗОХ (Б) и ДБОДХ (В)

К — контроль; 1 — 5 мг/л; 2 — 1 мг/л; 3 — 0,1 мг/л; 4 — 0,01 мг/л; 5 — 0,003 мг/л; 6 — 0,003 мг/л в среде обитания + 0,003 мг/л в корме

(регуляцию гомеостаза). В тех случаях, когда регуляторные и компенсаторно-защитные механизмы в организме рыб не срабатывают, относительно быстро развиваются и обнаруживаются сдвиги функций ряда систем и органов, а при летальных концентрациях токсиканта наступает гибель рыб.

Более резкие изменения в содержании сухого вещества наблюдались у карпов, содержащихся в воде с ДБОДХ. Обводнение тканей в этом случае было еще более заметным. При концентрациях токсиканта 0,1 и 0,01 мг/л содержание сухого вещества у рыб уменьшалось на 40–50% относительно контроля. Однако рыбы, противодействуя влиянию токсиканта, жили в течение 45 суток опыта, при этом их вес значительно уменьшается (худеют на 30% относительно контрольных рыб). В присутствии летальной концентрации ДБОДХ 1,0 мг/л у карпов происходит снижение содержания сухого вещества на 10–20% относительно этого же показателя у контрольных рыб; хотя в этом случае вес карпов увеличивался примерно на 10%.

Если при действии нелетальных концентраций ТМОХ и ТЗОХ содержание сухого вещества уменьшалось относительно контроля на 10–20%, то в случае с ДБОДХ — на 40–50%, хотя длительность воздействия последнего на организм была меньшей, что указывает на специфичность действия токсикантов. Вес рыбы и ее пищеварительного аппарата (гепатопанкреаса и кишечника) при содержании карпов в воде с ДБОДХ в концентрации 0,1 и 0,01 мг/л также значительно уменьшался (на 30% и более). Характер и динамика этих показателей, очевидно, зависят как от специфичности токсиканта, так и от дополнительной нагрузки на организм в виде отсутствия вдоволь корма, повышения температуры воды.

Другими показателями, характеризующими метаболизм карпа, являются минеральные (зола) и органические (белки, жиры и углеводы)

компоненты. Они также подвержены изменениям при действии токсикантов на рыбу. Оказалось, что при действии исследованных концентраций ТМОХ на карпа количество золы к концу опыта возрастало и тем больше (на 20%), чем меньшей была концентрация токсиканта (рис. 6, А). Так же как и для сухого вещества, изменение содержания золы в тканях карпа при концентрации 5 мг/л ТМОХ носит фазовый характер, т.е. к 30-м суткам количество минеральных элементов уменьшалось на 15%, а на 70-е сутки достигало контрольной величины и даже имело тенденцию к его повышению и далее, если опыт был бы продлен. Это указывает на то, что снижение сухого вещества в тканях шло главным образом за счет уменьшения органических компонентов, т.е. значительных энергетических трат в присутствии токсиканта.

Содержание золы в тканях карпов, находившихся в воде с ТЭОХ и ДБОДХ в концентрации, при которой они не погибали до конца эксперимента, также возрастало относительно контрольных величин (см. рис. 6, Б, В). В случае с ДБОДХ энергетические траты были настолько велики, что к концу опыта карпы значительно худели (более чем на 30%).

Сравнив полученные данные, можно отметить, что при увеличении воды в тканях карпов повышалось содержание и зольных элементов. Подобную закономерность наблюдали в естественных условиях у пресноводных рыб (карпа, камбалы, сазана и др.), но в зависимости от сезона года, условий зимовки и пр. [Шатуновский, 1963; Баженова, 1974 и др.]. Однако в нашем случае эти соотношения настолько выражены, что вполне могут свидетельствовать о нарушении обменных процессов в организме исследованных рыб.

Таким образом, нами выявлены следующие закономерности: 1) интоксикация приводит к нарушению соотношения пластического и энергетического процессов в теле рыб, о чем свидетельствует изменение содержания воды и минеральных элементов в тканях; 2) значительное обводнение тканей и увеличение количества минеральных веществ указывает на большие энергетические траты в ходе интоксикации; 3) изменение регуляции исследуемых показателей в ходе интоксикации носит фазовый характер.

ЛИТЕРАТУРА

- Баженова К.Я. Химический состав гепатопанкреаса у сеголетков карпа двух весовых и генетических групп в период зимовки. — Тр. ВНИИ прудового рыб. хоз-ва, 1974, вып. 10, с. 225–232.
- Маларевская А.Я. Обмен веществ у рыб в условиях антропогенного эвтрофирования водоемов. Киев: Наук. думка, 1979. 252 с.
- Строганов Н.С. Экологическая физиология рыб. М.: Изд-во МГУ, 1962.
- Строганов Н.С., Бузинова Н.С. Действие триэтилловых хлоридов на пищеварительную систему карпов. — В кн.: Тез. докл. на симпозиум "Биофизические аспекты загрязнения биосферы". М.: Наука, 1973. с. 17–18.
- Шатуновский М.И. Некоторые особенности жирового и водного обмена у речной камбалы Кандалакшского залива Белого моря. — Зоол. журн., 1963, т. 42, вып. 6, с. 870–876.

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ СИСТЕМЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ КИСЛОРОДНОГО РЕЖИМА У ГИДРОБИОНТОВ

Б.И. КОЛУПАЕВ

*Институт экологической токсикологии
(Байкальский филиал ВНИИОБУМПРОМА)*

Одной из наиболее чувствительных к воздействию антропогенных факторов является система обеспечения кислородного режима организма (СОКРО). Она включает в себя звенья доставки кислорода к поверхности газообмена, транспорта газов кровью и поглощение кислорода клетками-потребителями. Изучение влияния токсических веществ на отдельные звенья этой системы дает ограниченную информацию о функциональном состоянии гидробионтов ввиду большой вариабельности получаемых экспериментальных данных. Исследование действия антропогенных факторов на все указанные выше звенья этой системы позволяет более полно анализировать влияние токсикантов на гидробионтов и, в частности, на соотношение активности аппарата внешнего дыхания и органов кровообращения, а также на механизмы регуляции, координирующие перестройки в работе СОКРО. В настоящее время отсутствуют данные о закономерностях регуляции активности разных звеньев СОКРО у гидробионтов как в нормальных физиологических условиях, так и при экстремальных воздействиях, включающих и токсический фактор. Такие данные имеют особо важное значение в плане понимания механизмов привыкания и адаптации животных к антропогенным воздействиям.

Целью нашего исследования явилось изучение активности разных звеньев СОКРО и соответственно ее регуляции у рыб и ракообразных в нормальных условиях обитания и при экстремальных воздействиях. Исследования проводили на голяках *Phoxinus phoxinus*, отловленных в озере Байкал, и на лабораторной культуре рачков *Daphnia magna* Straus. Активность звена доставки кислорода к поверхности газообмена у рыб анализировали по электропневмограмме (ЭПГ), а активность звена транспорта газов кровью — по электрокардиограмме (ЭКГ). ЭПГ и ЭКГ отводили либо посредством пары электродов, вмонтированных в стенки камеры [Rommel, 1973], либо при помощи зажимов, закрепляемых на плавниках рыб. Оба способа отведения ЭПГ и ЭКГ обеспечивали одновременную регистрацию параметров внешнего дыхания и сердечной деятельности без существенного ограничения двигательной активности рыб в течение нескольких суток. В конце опыта у рыб определяли количество гемоглобина и эритроцитов фотометрическим способом [Лукьяненко, 1971; Стенко, 1975], активность пероксидазы и каталазы крови [Метелев, 1971; Березов и др., 1976], а также цитохромоксидазы жабр [Кривченкова, 1977]. Частоту сокращений грудных ножек у дафний (звено транспорта газов кровью) определяли посредством параллельной регистрации их активности на специальной установке [Колупаев и др., 1977]. Об активности звена поглощения кислорода клетками-потребителями косвенно судили по общему потреблению кислорода и выделению углекислого газа рыбами и дафниями.

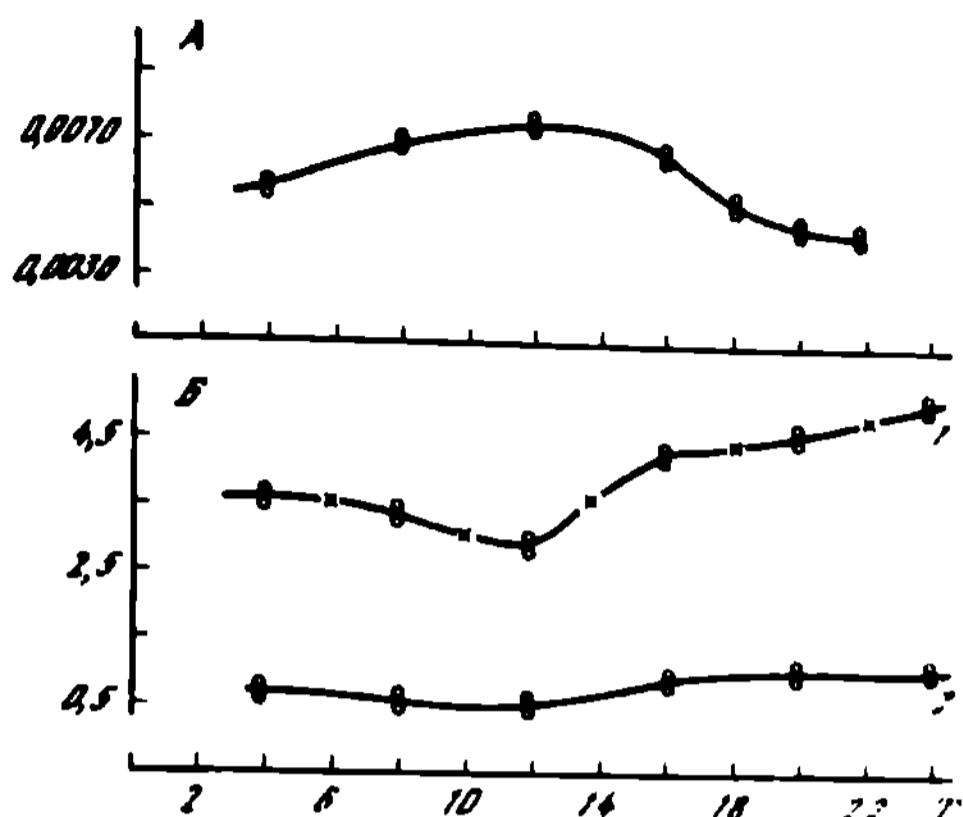


Рис. 1. Влияние повышения температуры воды на активность ферментов у гольяна. По оси абсцисс — температура, °C; по оси ординат: А — цитохромоксидазная активность (на 1 мг белка в минуту); Б — пероксидазная активность (1) (в гинкольных единицах) и катализное число (2).

ми. Исследование проводили при температуре адаптации животных, при повышенной температуре воды и при воздействии компонентов сточных вод сульфатцеллюлозного производства.

Результаты опытов показали, что повышение температуры воды в диапазоне, свойственном для среды обитания исследуемого вида рыб, вызывало у них параллельное нарастание интенсивности общего газообмена, количества гемоглобина и эритроцитов в крови, а также увеличение частоты дыханий и сердцебиений. Отношение дыхательного ритма к сердечному соответствовало в среднем 4,1:1. Peroксидазная активность и катализный показатель крови рыб имели тенденцию к снижению, а цитохромоксидазная активность жабр возрастала (рис. 1).

При повышении температуры воды до значений, не свойственных для естественной среды обитания данных гидробионтов (от 13–14° до 24°C), интенсивность общего газообмена у рыб возрастала. Количество гемоглобина и эритроцитов в крови оставалось на повышенном, но постоянном уровне. Частота дыханий и ритм сердечных сокращений в этих условиях возрастали, однако соотношение дыхательного и сердечного ритмов становилось равным 2,2:1. Peroксидазная и катализная активность в этом температурном диапазоне возрастала, а цитохромоксидазная активность была ниже таковой в норме.

Данные об изменении частоты дыханий и ритма сердечных сокращений, так же как и количества гемоглобина и эритроцитов в крови в диапазоне значений температуры, свойственных для среды обитания исследуемого вида, свидетельствуют о том, что изменяющиеся потребности организма в кислороде удовлетворяются за счет параллельного усиления активности органов доставки и транспорта кислорода. В диапазоне более высоких

значений температуры, с которыми данный вид не встречается в условиях естественного обитания, обеспечение организма кислородом осуществляется при совершенно ином, не свойственном для этого вида соотношении ритмов дыхания и сердцебиений. Сравнительно большее нарастание сердечного ритма по сравнению с дыхательным связано, по-видимому, с тем, что сердечная мышца в связи со своей большой лабильностью легко переходит с одного режима активности на другой. Кроме того, у рыб ударный объем сердца снижается с увеличением частоты сокращений [Shelton, 1970], что и является, вероятно, одной из причин, вызывающих ускорение сердечного ритма. Существенной особенностью активности исследуемых ферментов в данном температурном диапазоне является изменение их направленности на противоположную.

Результаты этих исследований показали, что на основании одних данных об общем газообмене, который возрастает при повышении температуры не только в нормальном, но и в не свойственном для исследуемого вида диапазоне, невозможно сделать вывод о том, какие значения температур являются экстремальными для данного вида рыб. Дополнительные данные в частности, более быстрое возрастание активности звена транспорта газов по сравнению со звеном доставки кислорода (соотношение ритмов дыхания и кровообращения) и смена направленности в активности исследуемых энзимов позволяют более объективно определять значения температуры, являющиеся экстремальными для данного вида рыб. Это дает основание сделать вывод о том, что начальные перестройки в активности исследуемых звеньев, обусловленные деятельностью регуляторных механизмов, свидетельствуют о предпатологическом состоянии, которое при дальнейшем повышении температуры может перерасти в патологический процесс. Последнее, по-видимому, можно использовать в качестве тестов при дифференцировании зоны нормальных и экстремальных температурных воздействий.

Можно полагать, что перестройки в регуляторных процессах, проявляющиеся в отчетливо регистрируемой раскоординации активности взаимосвязанных органов СОКРО, присущи не только рыбам, но и другим гидробионтам, имеющим достаточно развитую систему поддержания кислородного режима организма. Так, результаты наших опытов показали, что повышение температуры воды с 20 (температура адаптации) до 36°С вызывает возрастание интенсивности общего газообмена у дафний. В диапазоне температуры от 20 до 30°С у рачков регистрировали параллельное возрастание как частоты движений грудных ножек, так и ритма сердечных сокращений. При температуре выше 30°С частота дыхательных движений снижалась, а ритм сердечных сокращений возрастал. Это указывает на то, что у дафний, так же как и у рыб, в начальный период экстремальных воздействий регистрируется повышение интенсивности общего газообмена на фоне раскоординированной активности звеньев доставки и транспорта кислорода. На основании этих данных трудно оценить физиологическую значимость усиления активности звена транспорта кислорода к клеткам-потребителям. Однако по аналогии с подобными же перестройками у рыб можно полагать, что учащение ритма сердцебиений связано с восполнением необходимого объема кровотока вследствие снижения ударного объема сердца у этих рачков.

Подобные перестройки в частотных показателях дыхания и кровообращения у исследуемых гидробионтов являются результатом мобилизации имеющихся в организме адаптивных приспособлений, направленных на удовлетворение возрастающих потребностей организма в кислороде. Такой режим работы СОКРО может поддерживать функционирование систем жизнеобеспечения только в определенных временных и силовых пределах. Так, по нашим данным, дальнейшее повышение температуры вызывало у исследуемых гидробионтов угнетение интенсивности общего газообмена и других соматовегетативных функций. Эти факты дают основание считать, что первичные сдвиги в процессах регулирования кислородного режима организации целесообразно использовать в качестве показателей, отражающих такие изменения во внешней среде, которые являются начальным этапом перехода в зону экстремальных температур.

На основании результатов опытов с изучением влияния токсических агентов можно считать, что перестройки в процессах регулирования активности разных звеньев СОКРО являются неспецифическими реакциями организма и регистрируются у гидробионтов не только при адекватных экологических нагрузках, но и при антропогенных воздействиях. Опыты с изучением влияния 0,5 мг/л пирокатехина и 0,1 мг/л гидрохинона показали, что у рыб после 60-суточной экспозиции в растворах этих токсикантов была повышена частота дыханий на фоне неизменного (по сравнению с контролем) сердечного ритма [Карпович, Колупаев, 1979]. При более длительном нахождении рыб в токсиканте (90 суток) частота дыханий и ритм сердечных сокращений у них были равны таковым в контроле (рис. 2). В растворах с другим токсикантом гидрохиноном в концентрации 0,1 мг/л через 90 суток у рыб было зарегистрировано не восстановление нормального соотношения частотных показателей, а углубление сдвигов в активности изучаемых звеньев СОКРО. Последнее проявлялось в значительном возрастании дыхательного ритма на фоне незначительного уменьшения частоты сердечных сокращений и снижения интенсивности общего газообмена.

Нормализация взаимосвязи в активности изучаемых звеньев в процессе длительного контакта рыб с пирокатехином могла бы свидетельствовать о том, что животные способны адаптироваться к данному токсиканту. Однако достоверное изменение пероксидазной активности крови рыб по сравнению с их активностью у контрольных особей дает основание считать, что полного привыкания рыб к данному токсиканту за исследуемый промежуток времени не происходило.

Выявленные в опытах перестройки в регуляторных процессах у рыб, подвергнутых действию сублетальных концентраций токсических веществ, свойственны и другим видам гидробионтов, в частности дафниям. Так, результаты наших опытов показали, что суточное нахождение дафний в растворах пирокатехина в концентрации 0,1 мг/л вызывало у них стимуляцию интенсивности общего газообмена, в то время как ритмы дыхания и сердцебиений изменялись в пределах, не превышающих границ физиологической нормы (рис. 3). Подобная раскоординация в активности взаимосвязанных звеньев СОКРО была зарегистрирована у дафний, находящихся в промышленных сточных водах сульфатцеллюлозного производства. Таким образом, выявленные в опытах закономерности свидетельствуют

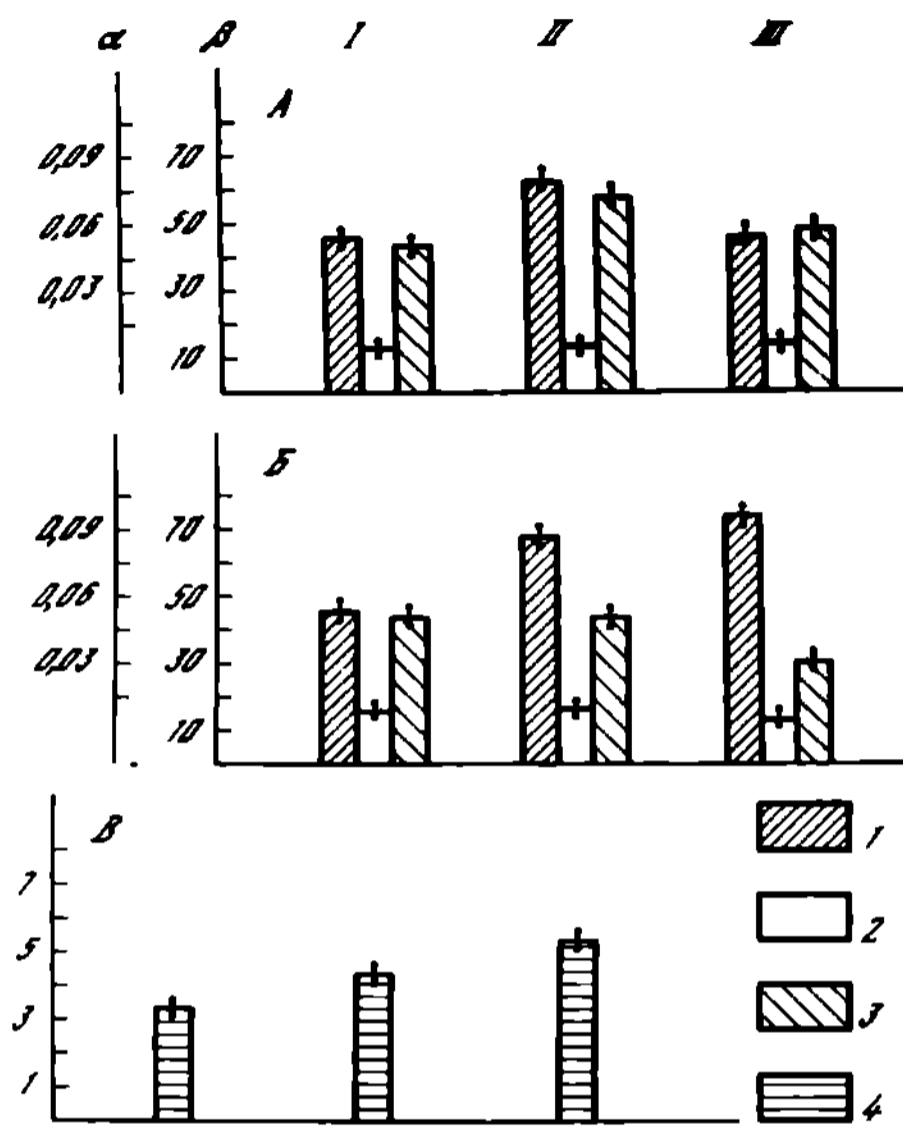


Рис. 2. Влияние пирокатехина и гидрохинона на частоту дыханий, сердцебиения и пероксидазную активность гольяна

А – влияние пирокатехина в концентрации 0,5 мг/л на частоту дыхания и сердцебиений у гольяна; Б – влияние гидрохинона в концентрации 0,2 мг/л на частоту дыханий и сердцебиения у гольяна; В – влияние пирокатехина в концентрации 0,5 мг/л на пероксидазную активность крови гольяна

I – в чистой воде (контроль); II – в растворах токсикантов в течение 60 суток; III – в растворах токсикантов в течение 90 суток. По оси ординат: А, Б: – α – общее потребление кислорода, мг/л/час; β – частота дыханий и сердцебиений в 1 мин; В – пероксидазная активность (в гваякольных единицах); 1 – частота дыханий; 2 – частота сердцебиения; 3 – общее потребление кислорода; 4 – пероксидазная активность крови

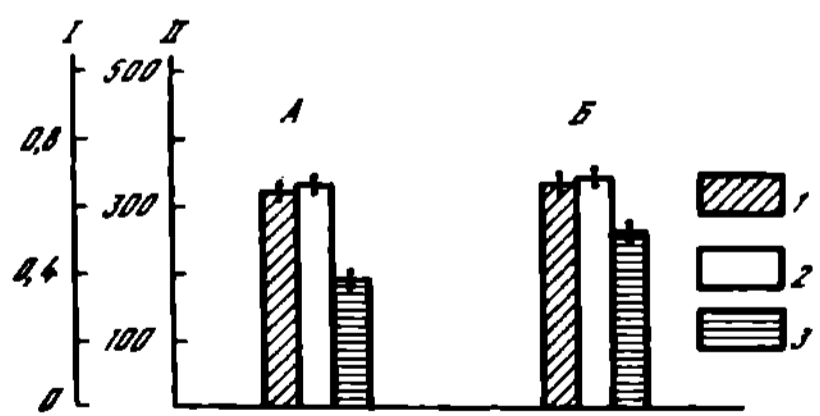


Рис. 3. Влияние пирокатехина в концентрации 0,1 мг/л на частоту дыхания, сердцебиения и общее потребление кислорода дафниями

А – контроль; Б – опыт; 1 – частота дыханий; 2 – частота сердцебиения; 3 – общее потребление кислорода. По оси ординат: I – общее потребление кислорода, мг/л/ч; II – частота дыхания и сердцебиения в 1 мин

о том, что регуляторные механизмы поддерживают соответствие между доставкой, транспортом кислорода и запросами организма гидробионтов в нем только при таких внешних воздействиях на животных, которые свойственны естественной среде обитания исследуемого вида. Изменение в соотношении активности изучаемых звеньев, обусловленные перестройками в регуляторных процессах, указывают на экстремальность внешних, в том числе и антропогенных воздействий. Показатели соотношения в активности звеньев СОКРО целесообразно использовать в качестве критериев нормы и патологии в исследованиях по адаптации водных животных к токсическим агентам.

ЛИТЕРАТУРА

- Березов Т.Т., Буробина С.С., Волкова Л.В. и др. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. М.: Медицина, 1976.
- Карпович Т.А., Колупаев Б.И. Дыхание и сердечная деятельность у рыб, находящихся в растворе двухатомных фенолов. – В кн.: Исследование биологического действия антропогенных факторов, загрязняющих водоемы. Иркутск: Изд-во Иркут. ун-та, 1979, с. 140–143.
- Колупаев Б.И., Андреев А.А., Самойленко Ю.К. Оптический метод регистрации сердечного ритма у дафний. – Гидробиол., журн., 1977, № 3, с. 119–120.
- Кривченкова Р.С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий. – В кн.: Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977, с. 47.
- Лукьяненко В.И. Фотометрическая методика определения токсичности (по содержанию гемоглобина крови и осмотической резистентности эритроцитов рыб). – В кн.: Методики биологических исследований по водной токсикологии. М.: Наука, 1971, с. 84–86.
- Метелев В.В. Методика определения токсикозов по пероксидазной активности крови. – Там же, с. 73–76.
- Стенко Н.М. Эритроциты. – В кн.: Справочник по клиническим и лабораторным методам исследования. М.: Медицина, 1975, с. 14–29.
- Rommel S.A. Jr. A simple method recording fish heart and pericardial beats without use of implanted electrodes. – J. Fish. Res. Can., 1973, vol. 30, p. 693–694.
- Shelton G. The regulation breathing fish physiology. N.Y.; a. L.: Acad. Press, 1970, vol. 4, p. 293–352.

УДК 597+615.917

ОЛОВООРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ И РЕГУЛЯЦИЯ ПОСТУПЛЕНИЯ ФОСФАТА В ОРГАНЫ И ТКАНИ КАРПА

О.Ф. ФИЛЕНКО, О.В. ПАРИНА

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Вопрос о количественной взаимосвязи биологического эффекта токсического вещества с его свойствами и способностью накапливаться в организме вызывает неизменный интерес токсикологов. Особенно важно решение этого вопроса при изучении такой своеобразной группы загрязнителей водоемов, как оловоорганические соединения (ООС). Показателями воздействия этих соединений на организм могут служить как выживаемость, так и изменения, происходящие на клеточном и молекулярных уровнях. При подобном рассмотрении количество поглощенного ве-

щества оказывается фактором, определяющим состояние организма в целом и его воздействие на биохимические процессы и физиологические функции.

Поскольку поглощение и транспорт фосфата является сложным активным процессом, тесно связанным с обменом веществ, нарушение этого процесса надо рассматривать как результат взаимодействия ядов с жизненно важным субстратом клеток и как следствие изменения внутриклеточных процессов и реакций обмена веществ.

В связи с тем, что данные по накоплению и распределению ряда ООС в органах и тканях карпа приведены нами в предыдущих публикациях [Строганов и др., 1973; Парина и др., 1975а, 1979а, б], в задачу настоящей работы входило выяснение влияния некоторых химических свойств ООС на их распределение в организме карпа и на биологический эффект, вызываемый ими в зависимости от количества накопленного соединения. В качестве показателя эффекта мы принимали выживаемость карпов в растворах ООС различной концентрации, а действие на ткани оценивали по активности перехода поглощенного ^{32}P из крови в ткани.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили чешуйчатые карпы (*Cyprinus carpio* L.) весом 40 ± 10 г. В качестве токсикантов использовали триалкилпроизводные соединения олова одного гомологического ряда: три(-метил, -этил, -пропил, -бутил) оловохлориды (ТМОХ, ТЭОХ, ТПОХ, ТБОХ). Действие ООС исследовали в концентрациях 1,0; 0,1; 0,01 мг/л. Продолжительность острых опытов составляла до 18 суток, хронических — до 45 суток.

Было проведено две серии опытов. Постановка опытов по накоплению и распределению ООС, меченных по олову ($^{117\text{m}}\text{Sn}$ или ^{113}Sn), а также с радиоактивным фосфором ($\text{K}_2\text{H}^{32}\text{PO}_4$) описана нами в предыдущих работах [Парина и др., 1975а, б; Парина, Филенко, 1979].

Коэффициент распределения ткань/кровь ($\text{KР}_{\text{т/к}}$) для ООС определяли как отношение содержания в ткани к содержанию в крови (нмоль ООС/г сырого веса). В опытах с радиофосфором вычисляли удельную активность образцов тканей рыб (имп/мин/г сырого веса ткани) и вычисляли процентное отношение удельной активности образцов тканей рыб, подвергнутых воздействию ООС, и значений, полученных в контроле (без воздействия токсикантов). Коэффициенты распределения ООС в системе гексан/вода ($\text{KР}_{\text{г/в}}$) вычисляли как отношение их содержания в гексане к содержанию в воде (мг ООС в 100 мл растворителя) при исследовании растворимости соединений в этих растворителях [Парина и др., 1979в]. Статистическая обработка результатов и расчет уравнений регрессии проводили в соответствии с литературными рекомендациями [Плохинский, 1970].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуемые триалкилоловохлориды принадлежат к одному гомологическому ряду. Судя по симптомам отравления, они действуют в основном на нервную систему рыб. Токсичность ООС возрастает от ТМОХ до ТБОХ (табл. 1). В качестве относительного показателя растворимости ООС нами взяты значения $\text{KР}_{\text{г/в}}$, которые могут характеризовать липо-

Т а б л и ц а 1

Уравнения регрессии содержания ООС в некоторых тканях (С) и в крови (С_к) КР_{г/в} и сроки гибели карпов в растворах ООС концентрацией 1 мг/л

Показатель	ТМОХ	ТЭОХ	ТПОХ	ТБОХ
Печень	$C = 9,73 + 0,087 C_{\text{к}}$, $r = 0,82$, $p < 0,01$	$C = 1,35 + 0,129 C_{\text{к}}$, $r = 0,734$, $p < 0,05$	$C = 0,43 + 0,21 C_{\text{к}}$, $r = 0,38$, $p > 0,05$	$C = 0,53 + 0,764 C_{\text{к}}$, $r = 0,5$, $p < 0,05$
Головной мозг	$C = 2,7 + 0,018 C_{\text{к}}$, $r = 0,783$, $p < 0,01$	$C = 0,65 + 0,186 C_{\text{к}}$, $r = 0,897$, $p < 0,001$	$C = 0,63 + 0,21 C_{\text{к}}$, $r = 0,51$, $p > 0,05$	$C = 0,3 + 0,243 C_{\text{к}}$, $r = 0,5$, $p > 0,05$
Селезенка	$C = 13,74 + 0,074 C_{\text{к}}$, $r = 0,705$, $p < 0,05$	$C = 0,022 + 0,215 C_{\text{к}}$, $r = 0,95$, $p < 0,001$	$C = 0,43 + 0,12 C_{\text{к}}$, $r = 0,37$, $p > 0,05$	$C = 0,006 + 0,79 C_{\text{к}}$, $r = 0,63$, $p > 0,05$
Почки	$C = 13,1 + 0,031 C_{\text{к}}$, $r = 0,535$, $p < 0,05$	$C = 0,456 + 0,263 C_{\text{к}}$, $r = 0,942$, $p < 0,001$	$C = 0,092 + 0,296 C_{\text{к}}$, $r = 0,722$, $p > 0,05$	$C = 0,35 + 0,65 C_{\text{к}}$, $r = 0,76$, $p > 0,05$
КР _{г/в}	0,59	13,9	37,3	101,0
Срок гибели, сутки	18	8	0,42	0,04

фильность соединений. Показана зависимость токсичности исследуемых триалкилоловохлоридов от их КР_{г/в}, которая выражается в том, что с увеличением значений КР_{г/в}, т.е. с уменьшением растворимости ООС в воде, увеличивается степень токсичности ядов и их способность проникать в ткани карпа [Парина и др., 1979 в]. Однако накопление веществ в тканях является результатом динамического распределительного процесса, в котором кровь играет роль промежуточного звена. Величины КР_{г/в} могут характеризовать проницаемость клеточных мембран для этих веществ, а гидрофильные свойства способствуют их растворимости в крови. Учитывая это, мы пришли к заключению, что различная растворимость ООС должна отражаться на их способности к распределению между кровью и тканями.

Как оказалось (см. табл. 1), связь содержания ООС в тканях и крови может быть описана уравнениями прямолинейной регрессии. В этих уравнениях коэффициенты, стоящие при значениях содержания ООС в крови (С_к), представляют собой усредненные КР_{т/к} для соответствующего органа. Сопоставление показывает, что в пределах гомологического ряда значения КР_{т/к} во всех органах возрастают от ТМОХ к ТБОХ. С увеличением КР_{т/к} возрастает токсичность соединений, т.е. сокращается срок гибели рыб, взятых в опыт.

Связь КР_{т/к} со сроком гибели карпов описывается уравнениями прямолинейной регрессии с низкими значениями коэффициентов корреляции для печени, селезенки и почек и более высокими для головного мозга (табл. 2). Это может свидетельствовать о том, что гибель карпов при воз-

Т а б л и ц а 2

Связь между $KP_{т/к}$, $KP_{г/в}$ и сроком гибели карпов ($T_{с\text{ут}}$) при концентрации ООС в воде 1 мг/л ($n = 4$)

Показатель	Печень	Головной мозг	Селезенка	Почки
Регрессия $KP_{т/к}$ с $KP_{г/в}$	$KP_{т/к} = 0,032 + 0,0069 KP_{г/в}$ $r = 0,98$ $p < 0,05$	$KP_{т/к} = 0,1 + 0,00166 KP_{г/в}$ $r = 0,737$ $p < 0,05$	$KP_{т/к} = 0,035 + 0,007 KP_{г/в}$ $r = 0,94$ $p > 0,05$	$KP_{т/к} = 0,081 + 0,0067 KP_{г/в}$ $r = 0,978$ $p < 0,05$
Регрессия $KP_{т/к}$ со сроком гибели карпов (T)	$T = 12,68 - 18,71 KP_{т/к}$ $r = -0,631$ $p < 0,05$	$T = 21,98 - 90,48 KP_{т/к}$ $r = -0,971$ $p > 0,05$	$T = 11,99 - 16,17 KP_{т/к}$ $r = -0,572$ $p < 0,05$	$T = 15,21 - 23,95 KP_{т/к}$ $r = -0,685$ $p > 0,05$

действии триалкилоловохлоридов связана именно с проникновением их из крови в ткань головного мозга, что согласуется с выводами об остром поражении этими соединениями центральной нервной системы [Парина, Филенко, 1979; Парина и др., 1979в]. Ранее подобное влияние ООС обнаружено рядом авторов на млекопитающих [Barnes, Stoner, 1958, 1969]. Из установленной связи $KP_{т/к}$ для ООС с их летальным действием следует, что важную роль в воздействии этих веществ на организм карпа играет градиент вещества на границе раздела двух биосред крови и ткани. Возможно, он и определяет известное нарушение проницаемости клеточных мембран, отмеченное рядом авторов в опытах на млекопитающих [Cremer, 1958; Stoner, Threlfall, 1958].

Чтобы оценить суммарное действие ООС на проницаемость клеточных мембран, мы изучали влияние двух соединений этого ряда — ТЭОХ и ТПОХ на включение неорганического фосфата из воды в органы и ткани карпа, в частности, на его переход из крови в ткани. При сопоставлении величин поглощенного ^{32}P и содержания ООС в тканях (без учета ООС в воде и сроков экспозиции рыб в растворах) видно, что эта связь приобретает криволинейный характер (рис. 1). Значения корреляционных отношений, представленные в табл. 3, свидетельствуют о том, что величина поглощенного ^{32}P , выраженная в процентах от значений, полученных в контроле, действительно имеет тесную связь с уровнем накопления ООС в органах и тканях. Как было отмечено нами, в некотором диапазоне значений содержания ТЭОХ и ТПОХ в тканях наблюдалась стимуляция процесса поглощения ^{32}P [Парина, Филенко, 1979], причем стимулирующий диапазон величин содержания ООС был различен для разных тканей. С увеличением длительности опыта, а следовательно, и большим накоплением ООС в тканях стимуляция процесса поглощения ^{32}P сменялась снижением относительно контрольного уровня.

Если уровень накопления ООС рассматривать как дозу воздействия на ткань, а отклонения во включении ^{32}P от контроля — в качестве реакции ткани на это воздействие, то мы получим обычную зависимость эффекта от дозы с зонами стимуляции и угнетения. Величины включения ^{32}P в различные ткани коррелировали с величинами включения его в кровь на

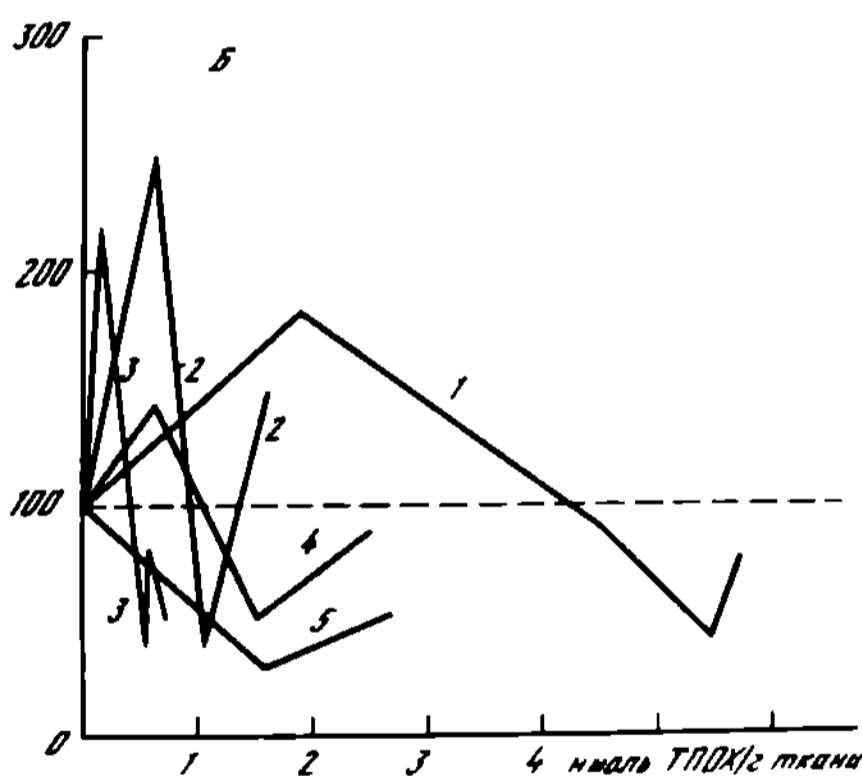
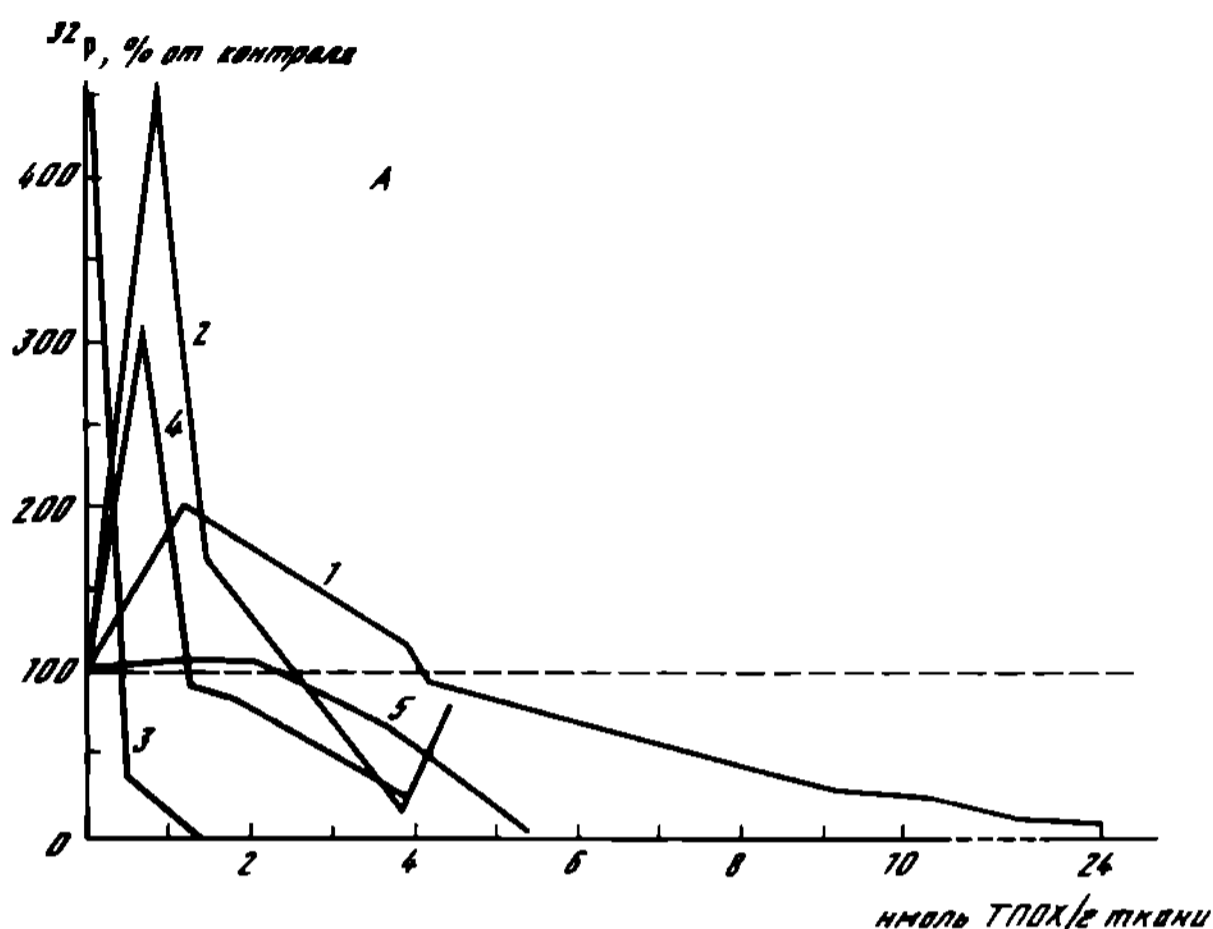


Рис. 1. Зависимость включений ^{32}P от содержания ТЭОХ (А) и ТПОХ (Б) в органах и тканях карпа

1 – кровь; 2 – печень; 3 – мышцы белые; 4 – мышцы красные; 5 – головной мозг

фоне воздействия как ТЭОХ, так и ТПОХ. Эта связь, как и в случае с содержанием ООС в тканях и крови карпа, может быть описана соответствующими уравнениями прямолинейной регрессии (табл. 4).

Коэффициенты при величинах поглощенного ^{32}P кровью в этих уравнениях представляют собой усредненные $\text{КР}_{\text{т/к}}$ для ^{32}P . Эта связь хорошо

Таблица 3

Величины корреляционного отношения и уровни значимости для связи величины поглощенного ^{32}P и содержание ООС в органах и тканях карпа

Орган и ткани	ТЭОХ			ТПОХ		
	n	T	p	n	T	p
Кровь	0,96	13	< 0,001	0,97	12,8	< 0,001
Печень	0,85	4,8	< 0,01	0,854	4,63	< 0,001
Белые мышцы	0,942	7,42	< 0,001	0,876	4,44	< 0,01
Красные мышцы	0,76	3,064	< 0,05	0,724	2,78	< 0,05
Головной мозг	0,887	3,84	< 0,05	0,966	11,15	< 0,001

Таблица 4

Связь между величинами поглощенного ^{32}P тканями и кровью при воздействии ООС на карпов

Орган, ткань	ТЭОХ	ТПОХ
Печень	$P = -46,78 + 2,16 P_K, r = 0,91,$ $p < 0,006$	$P = 12,5 + 1,18 P_K, r = 0,79,$ $p < 0,05$
Белые мышцы	$P = -66,07 + 2,4 P_K, r = 0,93,$ $p < 0,003$	$P = -32,58 + 1,34 P_K, r = 0,95,$ $p < 0,007$
Красные мышцы	$P = -28,75 + 1,43 P_K, r = 0,93,$ $p < 0,004$	$P = 21,26 + 0,69 P_K, r = 0,98,$ $p < 0,002$
Головной мозг	$P = 6,57 + 0,92 P_K, r = 0,92,$ $p < 0,05$	$P = 50 + 0,12 P_K, r = 0,23,$ $p < 0,1$

выражена для тканей мышц. Более низкие коэффициенты корреляции получены для печени и головного мозга, что может свидетельствовать о более сложных механизмах ассимиляции фосфата этими тканями. Снижение значений коэффициентов распределения ООС может отражать более низкую активность перехода ^{32}P из крови в ткани или более активное его выведение из крови. Самый низкий коэффициент отмечен для головного мозга, что может характеризовать высокую чувствительность нервной системы к токсическому действию ТЭОХ и особенно ТПОХ.

Сопоставление значений $KP_{T/K}$ для ООС и ^{32}P показывает, что более высоким значениям для ООС соответствуют более низкие для ^{32}P . Отсюда можно сделать вывод, что, чем больше градиент ООС на границе раздела ткань/кровь, тем ниже уровень ассимиляции ^{32}P этими тканями. На общем графике, отражающем связь $KP_{T/K}$ для ^{32}P и для исследуемых ООС, наблюдается обратно пропорциональная зависимость между этими величинами (рис. 2). Выявление этой общей закономерности позволяет сделать

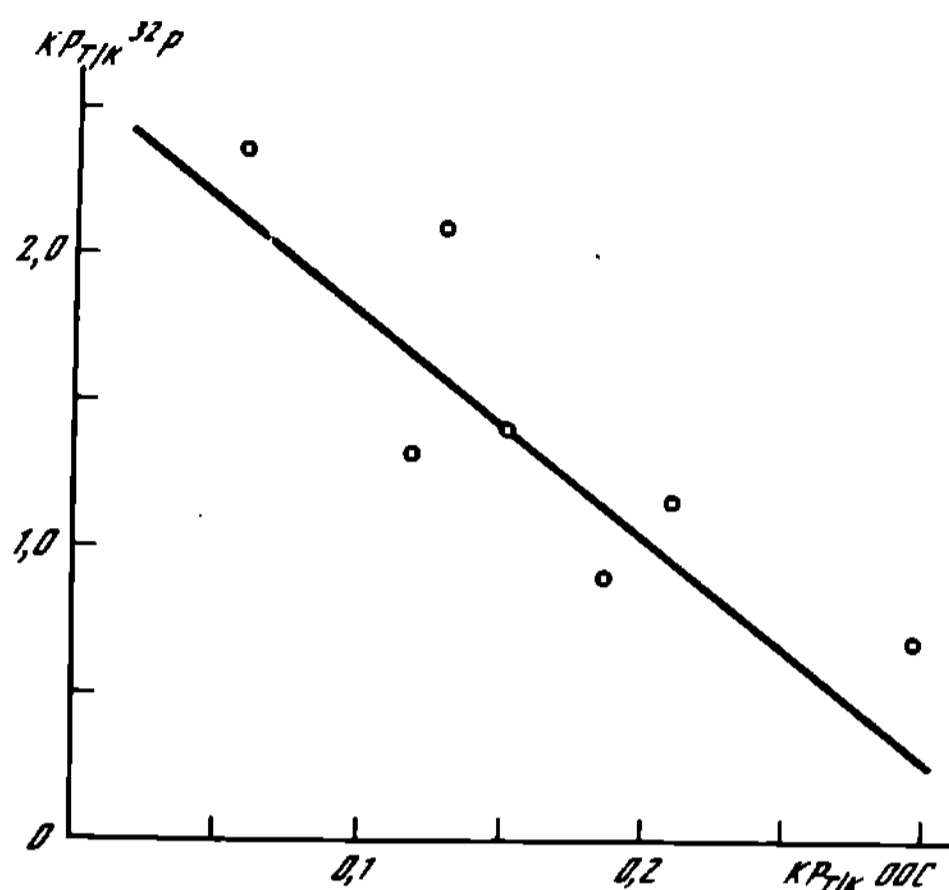


Рис. 2. Зависимость количественного распределения ООС ($KP_{T/K} \text{ ООС}$) от коэффициентов распределения ^{32}P ($KP_{T/K} ^{32}\text{P}$) между тканями и кровью
 $KP_{\text{фосф}} = 2,62 - 7,9 KP_{\text{ООС}}$; $r = -0,784$; $P < 0,01$

предположение о том, что в пределах гомологического ряда токсический эффект ООС в первую очередь определяется их количественным распределением в тканях. Различия химической структуры этих соединений в пределах ряда, вероятно, влияют на их способность к распределению по органам и тканям карпа.

ВЫВОДЫ

1. Установлена зависимость токсичности триалкиловохлоридов для карпа от коэффициентов распределения этих соединений в системе гексан/вода. Различная растворимость этих соединений отражается на их способности к распределению между кровью и тканями.

2. Показана тесная корреляция коэффициентов распределения ООС между головным мозгом и кровью карпов с токсичностью этих веществ, что наряду с симптомами отравления рыб доказывает ведущую роль поражения нервной системы в их гибели при остром отравлении.

3. Величины поглощения ^{32}P тканями, так же как и содержания в них ООС, связаны с величинами, полученными для крови. Эти связи могут быть описаны соответствующими уравнениями прямолинейной регрессии.

4. Установлена обратно пропорциональная зависимость $KP_{T/K}$ для ^{32}P и для ООС. Эта зависимость может свидетельствовать о том, что в пределах гомологического ряда токсический эффект ООС на карпа определяется их количественным распределением в органах и тканях.

ЛИТЕРАТУРА

- Парина О.В., Строганов Н.С., Сорвачев К.Ф. Динамика накопления и распределения триэтилловохлорида в тканях карпа. – В кн.: Оловоорганические соединения и жизненные процессы гидробионтов. М.: Изд-во МГУ, 1975а, с. 178–188.
- Парина О.В., Филенко О.Ф., Строганов Н.С., Сорвачев К.Ф. Влияние ТЭОХ и ТПОХ на фосфорный обмен в тканях карпа. – Там же, с. 188–202.
- Парина О.В., Озрина Р.Д., Строганов Н.С., Сорвачев К.Ф. Накопление и распределение трибутилловохлорида в органах и тканях карпа при поступлении его из раствора и с кормом. – Тез. докл. на IV Всесоюз. конф. по экологической физиологии рыб. Астрахань, 1979а, с. 110–111.
- Парина О.В., Озрина Р.Д., Строганов Н.С., Сорвачев К.Ф. Накопление и распределение по органам и тканям карпа триметилловохлорида при поглощении его из воды и с кормом. – В кн.: Реагирование гидробионтов на оловоорганические соединения. М.: Изд-во МГУ, 1979б, с. 85–106.
- Парина О.В., Филенко О.Ф., Сюткина О.П. Связь токсичности и некоторых физико-химических свойств оловоорганических соединений для карпа. – Там же, 1979а, с. 147–155.
- Парина О.В., Филенко О.Ф. Влияние накопления оловоорганических соединений на ассимиляцию неорганического фосфора тканями карпа. – В кн.: Современные вопросы экологической физиологии рыб. М.: Наука, 1979, с. 249–256.
- Плюхинский Н.А. Биометрия. М.: Изд-во МГУ, 1970.
- Строганов Н.С., Парина О.В., Сорвачев К.Ф. Поглощение из воды и распределение по органам и тканям карпа триэтилловохлорида. – Гидробиол. журн., 1973, т. 9, № 6, с. 59–66.
- Stoner H.B., Threlfall C.J. The biochemistry of organotin compounds. Effect of triethyltin sulphate on tissue phosphates in the rat. – Biochem. J., 1958, vol. 69, N 3, p. 376–381.
- Cremer J.E. The biochemistry of organotin compounds. The conversion of tetraethyltin into triethyltin in mammals. – Biochem. J., 1958, vol. 68, N 4, p. 685–689.
- Barnes K.M., Stoner H.B. Toxic properties of some dialkyl and trialkyl salts. – Brit. Industr. Med., 1958, vol. 15, N 1, p. 118–123.
- Barnes K.M., Stoner H.B. The toxicology of tin compounds. – Pharmacol. Rev., 1959, vol. 11, N 2, p. 211–221.

УДК 591.3:628.394

РЕАГИРОВАНИЕ ЭМБРИОНОВ И ЛИЧИНОК КАРПА НА ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

С.С. ГУСЕВА, О.П. ДАНИЛЬЧЕНКО

*Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства,
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова*

Фосфорорганические соединения (ФОС) – наиболее важный класс современных пестицидов – пришли на смену хлорорганическим соединениям как менее токсичные вещества. Механизм действия и токсичность ФОС в основном изучены на теплокровных. Для некоторых из них (метафос, метилнитрофос, фозалон и др.) установлены санитарно-гигиенические ПДК, разрешающие применение этих препаратов.

Ценные свойства ФОС (высокая инсектицидность и акарицидность, широкий спектр действия, небольшая персистентность и др.) привели к тому, что применение их неуклонно растет во всех странах мира. Однако конечные продукты их разложения не менее стойки, чем хлорорганические

Т а б л и ц а 1

Оплодотворение икры карпа в растворах ФОС, %

ФОС	Контроль	Концентрация ФОС, мг/л				
		0,001	0,01	0,1	1	10
Метафос	93	92	69	60	38	19
Метилнитрофос	92	92	77	69	57	30
Фозалон	93	92	72	60	48	24
Иодофос	93	93	80	73	62	47
Сайфос	95	95	91	81	73	53

соединения, которые могут также привести к загрязнению природной среды.

Влияние ФОС на млекопитающих хорошо известно [Каган, 1963, 1977], однако по гидробионтам имеется всего несколько работ [Метелев, Грищенко, 1970; Метелев, 1971; Грищенко, 1972; Грищенко и др., 1976; Гусева, 1980а, б]. Полностью отсутствуют данные по действию ФОС на эмбриональное развитие.

Нами исследовано влияние пяти наиболее широко применяемых ФОС (метафос, метилнитрофос, фозалон, иодофос, сайфос) в концентрациях от 0,001 до 10 мг/л действующего начала на раннее развитие карпа.

Оплодотворение икры проводили в исследуемом растворе. Предличник, вылупившийся в растворах, выдерживали в соответствующих концентрациях в течение 10 суток. За это время при температуре 19°C контрольные особи развивались до этапа C₁ по В.В. Васнецову [1953] (2-й личиночный этап по С.Г. Крыжановскому [1949]). В ходе опыта учитывали количество оплодотворенной икры, гибель эмбрионов на отдельных стадиях, сроки прохождения отдельных этапов развития, количество уродливых особей, выживаемость предличинки и личинки. О морфофизиологическом состоянии подопытных объектов судили по длине и весу развившихся личинок и пульсации сердца.

Опыты показали, что количество оплодотворенной икры карпа (табл.1.) в контрольных вариантах составило 92–95%. Во всех исследованных растворах концентрацией 0,001 мг/л оплодотворение было на уровне контроля. С возрастанием концентрации ФОС количество оплодотворенной икры уменьшалось. Уменьшение этого показателя было выражено в разной степени в растворах различных соединений. Однако отметим, что при концентрации 10 мг/л в растворах всех исследованных препаратов возможно развитие ранних зародышей (начинается дробление). Это говорит о том, что летальная концентрация ФОС, при которой вообще невозможно развитие, лежит выше 10 мг/л. По этому показателю исследованные соединения можно было бы считать не очень токсичными.

В табл. 2 представлены данные по развитию икры карпа в исследованных растворах ФОС от дробления до вылупления. Как видно, в чистой воде (контроль) в ходе развития отхода икры не было (кроме 1% в опыте с фозалоном); все вылупившиеся предличинки были нормальными. Развитие в растворах исследованных соединений шло по-разному. Однако

Таблица 2

Показатели развития икры карпа в растворах ФОС, %

Концентрация, мг/л	Отход икры по стадиям					Количество вылупившихся предличиннок	
	Дробление	Гастрюляция	Органо-генез	Развитие сосудистой системы	Вылупление	Всего	В том числе уродливых
Метафос							
Контроль	0	0	0	0	0	100	0
0,001	0	3	3	15	21	58	100
0,01	0	7	13	28	3	49	100
0,1	0	14	17	57	0	12	100
1,0	0	15	54	21	10	0	—
10,0	20	25	55	—	—	0	—
Метилнитрофос							
Контроль	0	0	0	0	0	100	0
0,001	0	0	9	24	0	67	100
0,01	0	4	10	19	1	66	100
0,1	0	9	23	48	0	20	100
1,0	0	11	51	20	8	10	100
10,0	13	16	71	—	—	0	—
Фозалон							
Контроль	0	0	0	1	0	99	0
0,001	0	0	12	26	0	62	100
0,01	0	11	11	25	0	53	100
0,1	0	13	25	48	0	14	100
1,0	0	14	52	23	10	1	100
10,0	17	24	59	—	—	0	—
Иодофос							
Контроль	0	0	0	0	0	100	0
0,001	0	0	0	0	13	87	37
0,01	0	0	0	0	17	83	42
0,1	0	0	7	19	5	69	69
1,0	0	0	22	25	0	53	100
10,0	0	23	27	25	7	18	100
Свайфос							
Контроль	0	0	0	0	0	100	0
0,001	0	0	0	0	0	100	0
0,01	0	0	0	0	9	91	0
0,1	0	0	0	0	14	86	0
1,0	0	0	0	22	8	70	2
10,0	0	0	0	48	13	39	10

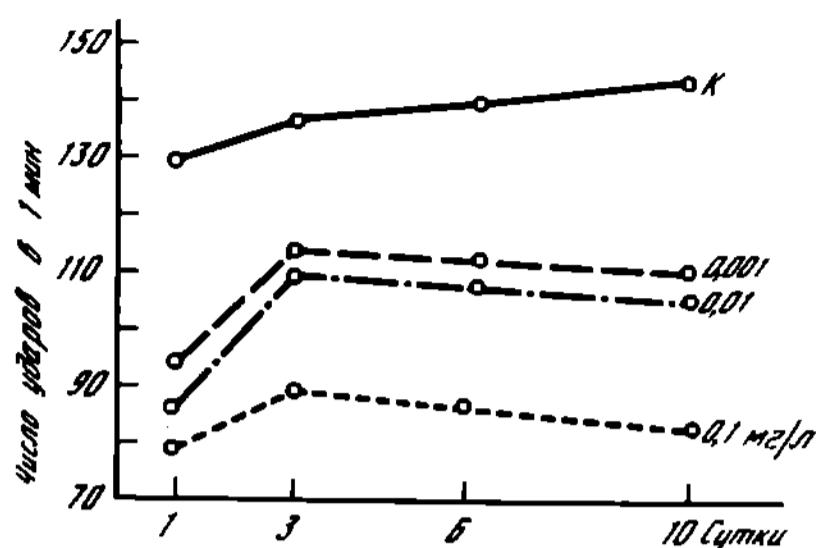


Рис. 1. Пульсации сердца у предличинки и личинки карпа, развивающихся в растворах иодофоса

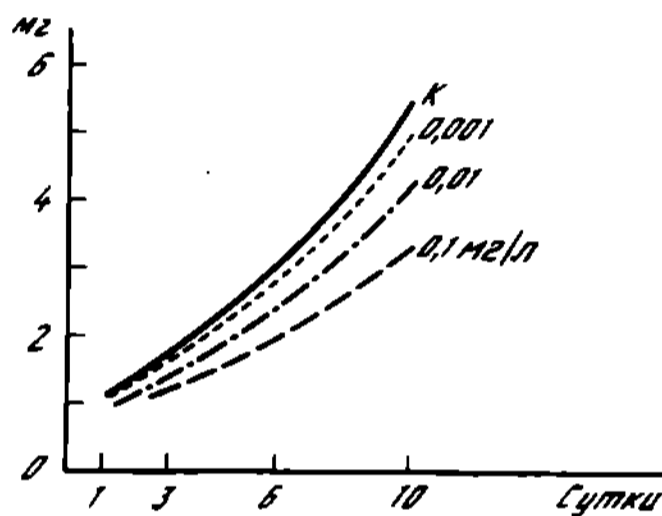


Рис. 2. Изменение веса предличинки и личинки карпа, развивающихся в растворах иодофоса

четко выявляются следующие особенности реагирования, общие для всех препаратов:

1) гибель эмбрионов в растворе одной и той же концентрации происходит не на одной какой-то стадии, а на разных стадиях по мере развития;

2) в более концентрированных растворах гибель происходит на более ранних стадиях, с уменьшением концентрации гибель перемещается на более поздние стадии;

3) в большинстве исследованных растворов развитие карпа идет до вылупления;

4) в растворах трех из изученных препаратов (метафос, метилнитрофос и фозалон) все вылупившиеся предличинки были патологичны; они погибли через 3–5 суток после вылупления. В растворах иодофоса патологичные предличинки развились лишь при максимальных исследованных концентрациях (10 и 1 мг/л).

В растворах иодофоса концентрацией 0,001–0,1 мг/л часть (63–31%) вылупившихся предличинки карпа не имела видимых нарушений в развитии. Однако все личинки, развившиеся в этих условиях, ко времени снятия опыта имели искривленное тело, пульсация сердца у них была слабее, чем у контрольных особей (рис. 1). Вес и длина личинок бы-

ли близки к контрольным показателям только при концентрации 0,001 мг/л (рис. 2). Отмеченные изменения у личинок, развившихся в растворах нодиофоса, указывают на неизбежность их гибели в ближайшее время. Таким образом, все исследованные растворы нодиофоса тоже оказались токсичными для раннего развития карпа. Сайфос, сохраняя общую тенденцию в реагировании, оказался менее токсичным.

Опыты показали, что в растворах исследованных ФОС начало развития карпа возможно при довольно высоких концентрациях (выше 10 мг/л). Однако для четырех из пяти изученных веществ в пределах пяти исследованных порядков разведения растворов сохраняется токсичность, выявляющаяся со временем. Следовательно, по мере развития в растворах, не летальных для ранних зародышей, не только не отмечается привыкания к токсиканту, а, видимо, накапливаются нарушения, приводящие к гибели. Так как начало развития рыб возможно при относительно высоких концентрациях ФОС, вероятно, причиной гибели эмбрионов является не общетоксическое действие этих соединений, а какой-то другой путь поражения.

В основе механизма токсического действия большинства фосфорорганических пестицидов лежит избирательное угнетение фермента нервной ткани ацетилхолинэстеразы. Одно из проявлений этого механизма — взаимодействие фосфорорганических препаратов с холинореактивными системами, приводящее к замедлению сердечной деятельности при введении их в дозах, не вызывающих видимых признаков интоксикации [Каган, 1963, 1967]. Сердечно-сосудистая система развивается у эмбрионов довольно поздно. Гибель зародышей до формирования этой системы, видимо, следует объяснить иными нарушениями в организме зародышей. Наблюдение за развитием карпа в растворах исследованных ФОС выявило замедление развития в токсиканте по сравнению с развитием в контроле. На рис. 3 показано время прохождения отдельных этапов эмбриогенеза карпа в растворах ФОС разной концентрации. Как видно, замедление темпа развития пропорционально концентрации вещества. Оно четко выражено при всех исследованных концентрациях четырех ФОС и при максимальных концентрациях сайфоса. В этих растворах длительность развития по сравнению с контролем составила 104–250% (табл. 3).

Для растворов, вызывающих замедление развития, характерна большая токсичность по сравнению с растворами, не приводящими к замедлению эмбрионального развития. Замедление темпа развития карпа в растворах ФОС сопровождалось патологическими изменениями у эмбрионов и предличинок и их последующей гибелью (см. рис. 1, 2).

Изменение темпа развития эмбрионов рыб — явление, широко известное в ихтиологии. Оно наблюдается при изменении температуры, солевого состава, содержания O_2 в воде и ряда других факторов. Однако в этих случаях не наблюдается повышения гибели эмбрионов и изменение скорости развития эмбрионов является приспособительным реагированием (см. статью Л.А. Сытиной и Н.Г. Никольской в настоящем сборнике).

Токсические вещества обычно не вызывают изменений в темпе развития эмбрионов рыб. Такой вывод можно сделать на основании того, что в работах по действию токсических веществ на эмбриональное развитие рыб нет указаний на большое различие во времени вылупления предличи-

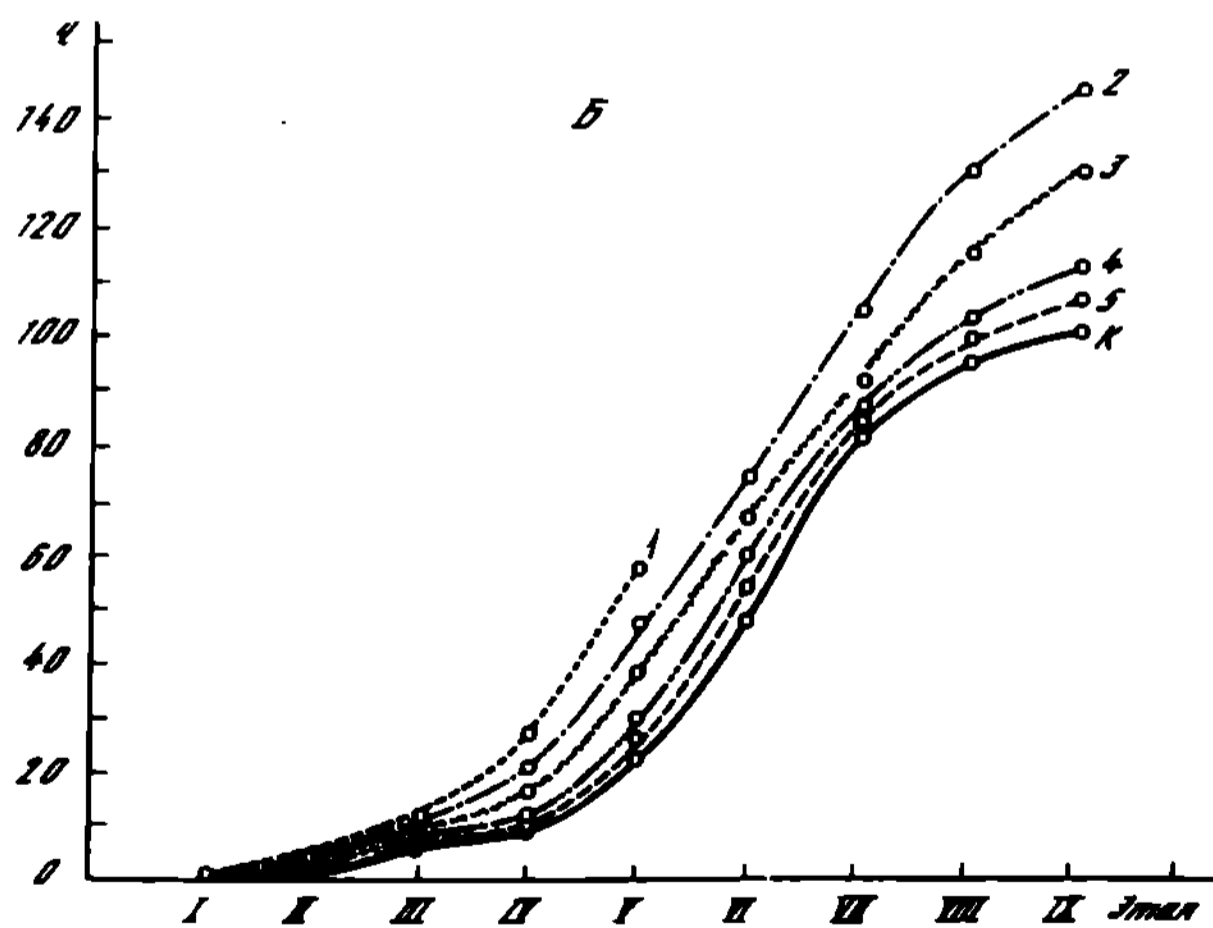
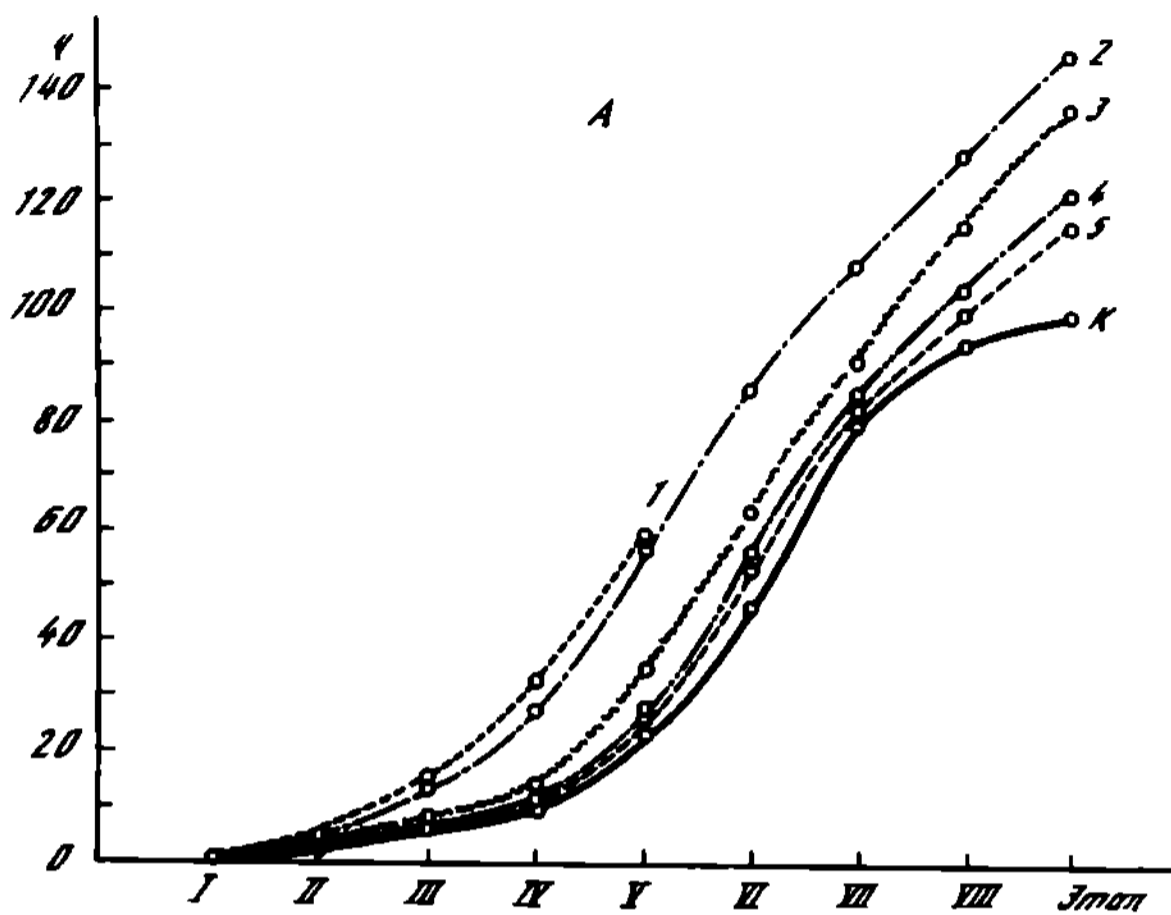


Рис. 3. Время прохождения отдельных этапов эмбриогенеза карпа в растворах ФОС разной концентрации

А — метафос; Б — метилнитрофос; В — фозалон; Г — нодофос; Д — сайфос. К — контроль; 1 — 10; 2 — 1; 3 — 0,1; 4 — 0,01; 5 — 0,001 мг/л

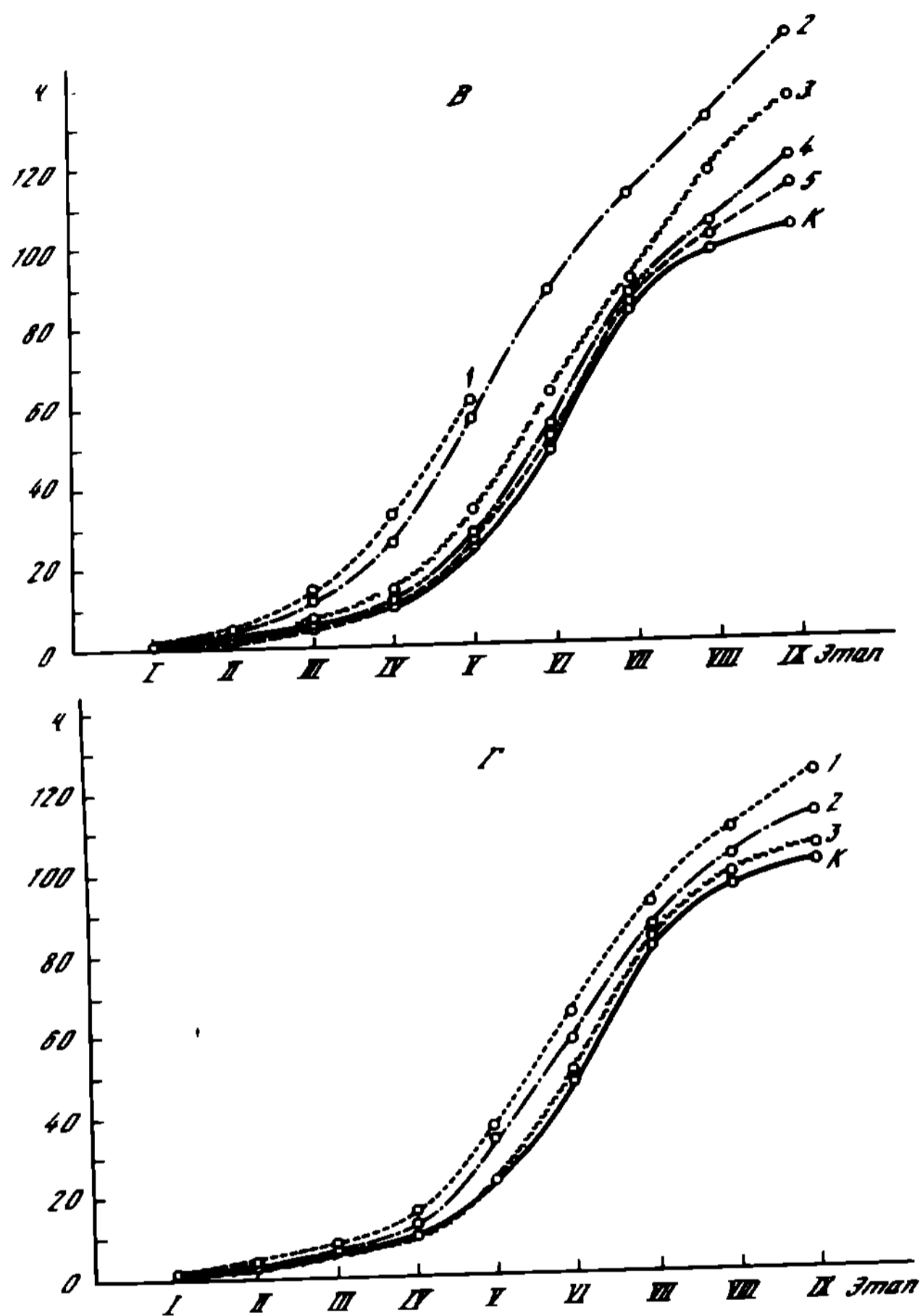


Рис. 3 (продолжение)

нок в растворах исследованных соединений и в контроле. Специально проведенные опыты по влиянию оловоорганических соединений на темп развития выюна и осетровых рыб [Данильченко, 1975; Данильченко, Сытина, 1976] показали, что даже в летальных растворах темп развития икры не отличается от такового в чистой воде (контроле). Видимо, замедление темпа развития карпа в растворах ФОС отражает специфическое действие этих пестицидов.

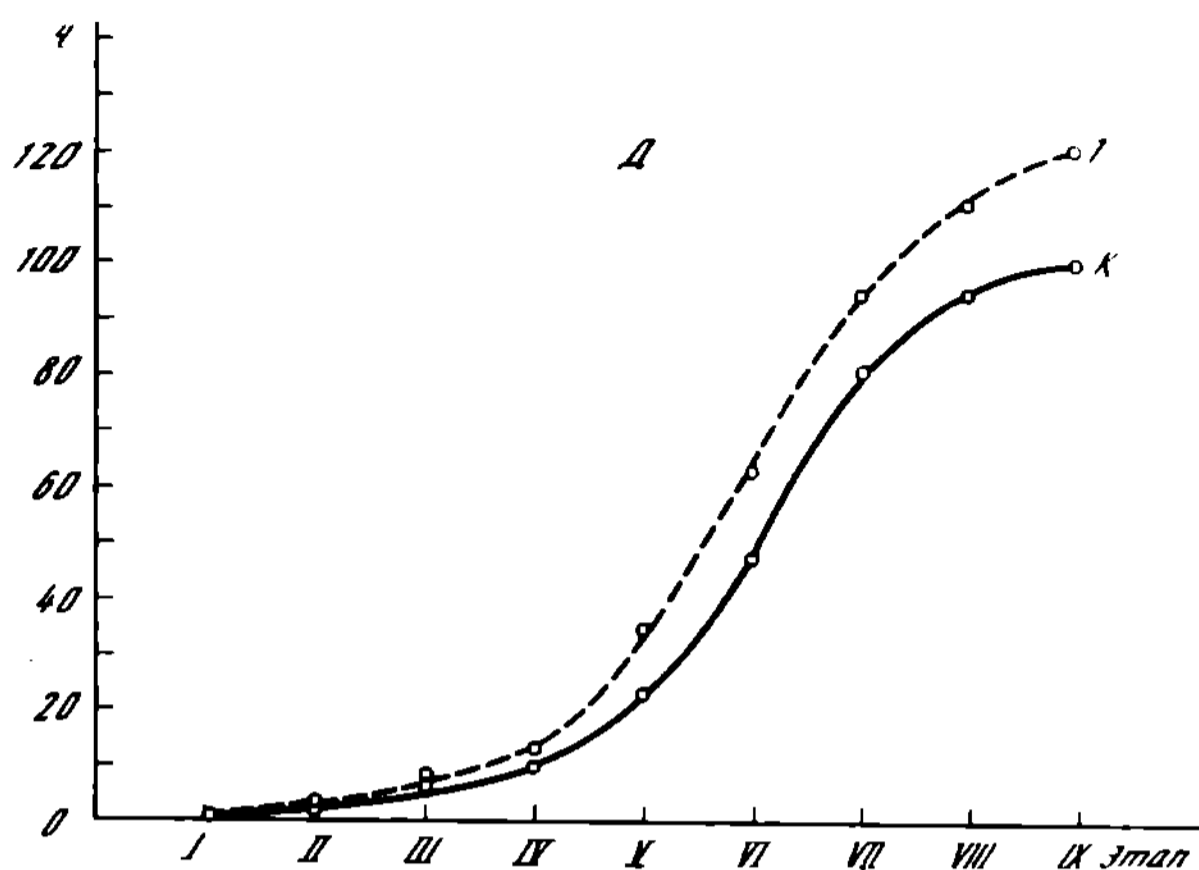


Рис. 3 (окончание)

Г.А. Бузниковым [1967] показано, что на ранних стадиях развития организма регуляторами процесса клеточного деления выступают физиологически активные вещества, в частности ацетилхолин. Так как одним из проявлений действия ФОС является их взаимодействие с холинореактивными системами, вполне возможно, что замедление темпа развития карпа в растворах ФОС является результатом их угнетающего действия на вещества — регуляторы клеточного деления.

Ускорение или замедление развития эмбрионов рыб под действием меняющихся экологических факторов не вызывает их гибели. Это указывает на то, что в данном случае происходит регулируемое изменение обмена в целом соответственно новым условиям. Под влиянием ФОС замедление темпа развития сопровождается развитием патологии и последующей гибелью эмбрионов или предличинок.

Как известно [Анохин, 1977], выживание организма на каждой стадии развития обеспечивается точным по времени созреванию жизненно

Таблица 3

Влияние ФОС на длительность эмбрионального развития карпа, в % к контролю

ФОС	Концентрация ФОС, мг/л				
	10	1	0,1	0,01	0,001
Мегифос	250	147	137	122	116
Метилнитрофос	242	143	128	112	101
Фозалон	250	147	128	117	110
Иодофос	150	112	104	100	100
Сайфос	122	100	100	100	100

Таблица 4

ФОС	Санитарно-гигиенические ПДК	Концентрации, переносимые взрослыми рыбами	Концентрации, допустимые для раннего развития карпа
Метафос	0,02	1,0	< 0,001
Метилнитрофос	0,25	1,5	< 0,001
Фозалон	0,001	0,04	< 0,001

важных структур и функций, необходимых для прохождения данного этапа. Всякий даже небольшой дефект в функциональных системах ведет к элиминации особи через естественный отбор. Под влиянием ФОС, видимо, происходит одностороннее угнетающее действие на вещества — регуляторы клеточного деления. В результате нарушается темп развития формирующихся в данное время систем и органов на фоне не изменившегося темпа (уровня) обмена в целом.

Таким нам представляется механизм действия ФОС на эмбриональное развитие карпа. Его можно рассматривать как эмбриотоксическое свойство препарата, а выявление такого эффекта со временем представляет собой функциональную кумуляцию.

Итак, изучение реагирования эмбрионов карпа на действие ФОС выявило их эмбриотоксические свойства, которые трудно было предвидеть, основываясь на известных данных по действию этих веществ на теплокровных и данных по выживаемости взрослых рыб. В результате оказалось, что эмбрионы рыб гораздо чувствительней к ФОС, чем теплокровные животные и взрослые рыбы (табл. 4), а препараты этого класса, разрешаемые гигиенистами к применению, должны отсутствовать в воде рыбохозяйственных водоемов, так как их ПДК ниже 0,001 мг/л.

ЛИТЕРАТУРА

- Анохин П.К. Теория функциональной системы и ее место в построении теоретической биологии. — В кн.: Эволюция темпов индивидуального развития животных. М.: Наука, 1977, с. 9—18.
- Бузников Г.А. Низкомолекулярные регуляторы зародышевого развития. М.: Наука, 1967.
- Данильченко О.П. Действие оловоорганических соединений на раннее развитие рыб. Действие триэтилловых хлоридов. — В кн.: Оловоорганические соединения и жизненные процессы гидробионтов. М.: Изд-во МГУ, 1975, с. 151—174.
- Данильченко О.П., Сытина Л.А. Различия в реакциях развивающейся икры и личинок осетровых рыб на воздействие температуры и триэтилловых хлоридов. — Науч. докл. высш. школы. Сер. биол. науки, 1976, № 4, с. 64—69.
- Васнецов В.В. Этапы развития костистых рыб. — В кн.: Очерки по общим вопросам ихтиологии. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1953, с. 207—217.
- Грищенко Л.И. Клинические признаки и патоморфологические изменения при экспериментальном отравлении карпов пестицидами. — В кн.: Экспериментальная водная токсикология. Рига: Зинтне, 1972, вып. 3, с. 25—83.
- Грищенко Л.И., Верховский А.П., Трондина Г.А. Механизм действия берзофосфата (фозалона) на организм рыб. — Там же, 1976, вып. 6, с. 195—203.
- Гусева С.С. Влияние некоторых фосфорорганических соединений на личинок и мальков карпа. М., № 2733—80. Деп.
- Гусева С.С. Гонадотропное действие метафоса на карпа. М., № 2732—80. Деп.

- Каган Ю.С. Токсикология фосфорорганических инсектицидов и гигиена труда при их применении. М.: Медгиз, 1963.
- Каган Ю.С. Токсикология фосфорорганических пестицидов. М.: Медицина, 1977.
- Крыжиновский С.Г. Эколого-морфологические закономерности развития карповых, выюновых и сомовых рыб. — Тр. Ин-та морфологии животных АН СССР, 1949, вып. 1, с. 5–332.
- Метелев В.В. Токсичность пестицидов для рыб, механизм действия и методы индикации. — В кн.: Экспериментальная водная токсикология. Рига: Зинатне, 1971, вып. 2, с. 104–122.
- Метелев В.В., Грищенко Л.И. Токсикология, клиника, патогенез и диагностика отравления рыб пестицидами группы ФОС (ГХМ-3, фосфомид, МНФ) и производными карбоминовой кислоты (севин). — Там же, 1970, вып. 1, с. 36–38.

УДК 591.1 (28) : 574.24

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСНОВНЫХ ФУНКЦИЙ ЖАБР РЕЧНОГО РАКА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СОЛЕЙ АММОНИЯ И ЗАКИСЛЕНИИ СРЕДЫ

Г.А. ВИНОГРАДОВ, Е.С. ДАЛЬ, В.Т. КОМОВ

Институт биологии внутренних вод АН СССР

В водных растворах аммоний представлен неионизированной (NH_3) и ионизированной (NH_4^+) формами: $\text{NH}_4^+ \rightleftharpoons \text{NH}_3 + \text{H}^+$. Отношение NH_3 и NH_4^+ описывается уравнением $[\text{NH}_3]/[\text{NH}_4^+] = K_a/[\text{H}^+]$, из которого следует, что соотношение концентрации NH_3 и NH_4^+ в значительной степени зависит от величины pH и температуры. В настоящее время составлены сводные таблицы, позволяющие точно определять соотношение ионизированной и неионизированной форм аммония в широком диапазоне изменений pH и температуры [Thurston et al., 1979].

Источником повышенного содержания аммония в воде может быть загрязнение водоемов органическими веществами и промышленными стоками, смыв с полей азотных удобрений. В определенные периоды общая концентрация аммония ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) в воде достигает 5 кЭкв/л [Метелев и др., 1971].

Влияние аммония на водных животных исследовалось многими авторами. По вопросу о токсичности аммония опубликован ряд сводок [Liebmann, 1960; EPA, 1977; Willingham et al., 1978]. В ранних работах токсичность аммония связывали исключительно с содержанием формы NH_3 . Однако в последние годы было показано, что токсичность аммония для костистых рыб и ракообразных зависит не только от концентрации NH_3 [Tabata, 1962; Armstrong et al., 1978]. Так, в растворах с различным pH и одинаковой концентрацией NH_3 выживаемость креветок снижалась с увеличением содержания NH_4^+ [Armstrong et al., 1978]. Эти данные представляют собой особый интерес в связи с тем, что в последние десятилетия отмечается закисление пресных водоемов в результате выпадения кислых осадков, обусловленных антропогенным загрязнением атмосферы [Beaumont, Harvey, 1972; Likens et al., 1979]. Отметим, что в кислой среде практически весь растворенный аммоний находится в форме NH_4^+ .

У рыб и водных беспозвоночных конечным продуктом азотистого обмена является аммоний, который выделяется из организма через жабры [Проссер, 1977]. К настоящему времени накопилось достаточно данных, доказывающих взаимосвязь между процессами активного поглощения Na^+ и акскрецией NH_4^+ и H^+ у пресноводных животных. Этот ионообменный механизм был обнаружен у некоторых костистых и хрящевых рыб и высших ракообразных [Shaw, 1960; Payan, Maetz, 1973; Evans, 1975, 1977; Payan, 1978; Requeux, Gilles, 1978]. В пользу сопряженного $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ транспорта свидетельствует угнетение поглощения Na^+ через жабры внешним NH_4^+ и стимуляция этого процесса увеличением внутренней концентрации аммония. Было показано также, что снижение содержания Na^+ в крови у рыб вызывает усиление экскреции NH_4^+ [Maetz, Garcia-Romeu, 1964; Maetz, 1973]. Имеющийся в литературе материал пока не позволяет судить об универсальности и распространенности $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$, H^+/Na^+ и NH_4^+ , H^+/Na^+ обменов у пресноводных животных. Остаются также открытыми вопросы о видоспецифичности того или иного вида обмена, об особенностях функционирования и адаптивных возможностях систем ионной регуляции и других метаболических процессов в условиях резкого колебания концентрации аммония во внешней среде. Особый интерес представляет исследование влияния NH_4^+ на поглощение Ca^{++} и K^+ , поскольку транспорт этих катионов через жабры изучен в значительно меньшей мере, чем транспорт Na^+ .

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проводились на речном раке *Astacus leptodactylus* весом 20–40 г при температуре 16–18°. Аммоний в среду добавляли в виде NH_4Cl и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Концентрацию аммония в гемолимфе повышали путем инъектирования растворенного в физиологическом растворе NH_4Cl (30 мМ/л). Содержание Na^+ , K^+ , Ca^{++} в растворах измеряли методом фотометрии в пламени, концентрацию Cl^- — потенциометрически с использованием хлорсеребряного электрода. Концентрацию NH_4^+ в среде определяли с помощью реактива Несслера и посредством аммонийселективного электрода. Интенсивность дыхания устанавливали полярографическим методом при помощи хлорсеребряного и платинового электрода при напряжении 0,6В. Измерение активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ, сукцинат: оксидоредуктаза 1.3.99.1) проводили методом Кинга в модификации Ю.В. Наточина и др., [1977]. Проницаемость жаберного эпителия для ионов определяли по скорости выхода их в дистиллированной воде. Поглощение Na^+ , K^+ , Ca^{++} находили по разности между потерями этих катионов в дистиллированной воде и растворах солей NaCl , KCl , CaCl_2 . В речной воде pH составлял 7,4, в растворах KCl , NaCl и CaCl_2 — 6,8. В экспериментах по изучению влияния pH на метаболические процессы необходимая концентрация водородных ионов в аквариумах поддерживалась автоматическим титрованием соляной кислотой. Одновременно в каждом опыте использовалось 4–8 животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В кратковременных экспериментах с экспозицией 15–30 мин исследовали влияние солей аммония в концентрациях 1–20 мЭкв/л на параметры ионного обмена у рака, ответственные за поддержание гомеостаза электролитов гемолимфы. Определение скорости общей потери натрия и хлора в дистиллированной воде показало, что соли аммония увеличивают проницаемость жаберного эпителия для этих ионов. Степень нарушения была тем существеннее, чем выше концентрация аммония в наружной среде (рис. 1). Присутствие аммония в воде угнетает поглощение натрия начиная с концентрации 1 мЭкв/л и не влияет на сорбцию хлора. С повышением концентрации NH_4^+ эффект ингибирования транспорта натрия усиливается.

Кроме ионов аммония, возможным противоионом для активного транспорта натрия через жабры могут быть ионы водорода. В этом случае увеличение концентрации водородных ионов (сдвиг pH в кислую сторону) должно угнетать поглощение натрия из воды, что было показано для некоторых пресноводных рыб [Maetz, 1973]. Однако изменение концентрации водородных ионов в широком диапазоне (pH от 8,0 до 4,0) не выявило влияния pH на поглощение и потери натрия у речного рака (см. рис. 1). Из результатов этого эксперимента следует, что ионы аммония действуют на ионную проницаемость жабр неизбирательно, увеличивая ее как для катионов, так и для анионов. С другой стороны, выявляется специфическая взаимосвязь между присутствием иона аммония и активным транспортом Na^+ .

Изучение скорости экскреции аммония в дистиллированной воде и в растворе NaCl, содержащем ионы натрия в концентрации, достаточной для полного насыщения натрий-транспортирующей системы (0,5 мМ/л), показало, что выход аммония стимулируется ионами натрия. При добавлении в дистиллированную воду натрия выход аммония увеличивается в 3 раза, что свидетельствует о наличии Na^+ -зависимой экскреции аммония (табл. 1). Инъектирование раков раствором NH_4Cl , увеличивающее концентрацию NH_4^+ в гемолимфе в 2,5 мЭкв/л, усиливает более чем в 2 раза как транспорт Na^+ , так Na^+ -зависимый выход аммония (см. табл. 1).

Помещение раков в изоионический раствор NaCl (190 мЭкв/л) увеличивает транспорт натрия в 3 раза в первые часы опыта. Через сутки выдерживания в солевом растворе активное поглощение натрия практически прекращается. Na^+ -зависимый выход аммония, рассчитанный по разности величин экскреции у животных с максимальным транспортом натрия и у нетранспортирующих, составляет около 60% от величины общего выделения аммония (табл. 2). Угнетение активного поглощения натрия динитрофенолом ($2,5 \cdot 10^{-4}$ М) на 65% одновременно ингибирует на 60% Na^+ -зависимую экскрецию аммония.

Результаты этих опытов свидетельствуют, что значительная часть аммония, выделяющегося в воду, связана с перемещением натрия в организм против градиента концентрации. Стимуляция и угнетение транспорта натрия через жабры вызывают аналогичные изменения в экскреции аммония.

Исследование влияния солей аммония на динамику поглощения и потерь натрия у раков показало, что при концентрациях аммония, превышающих

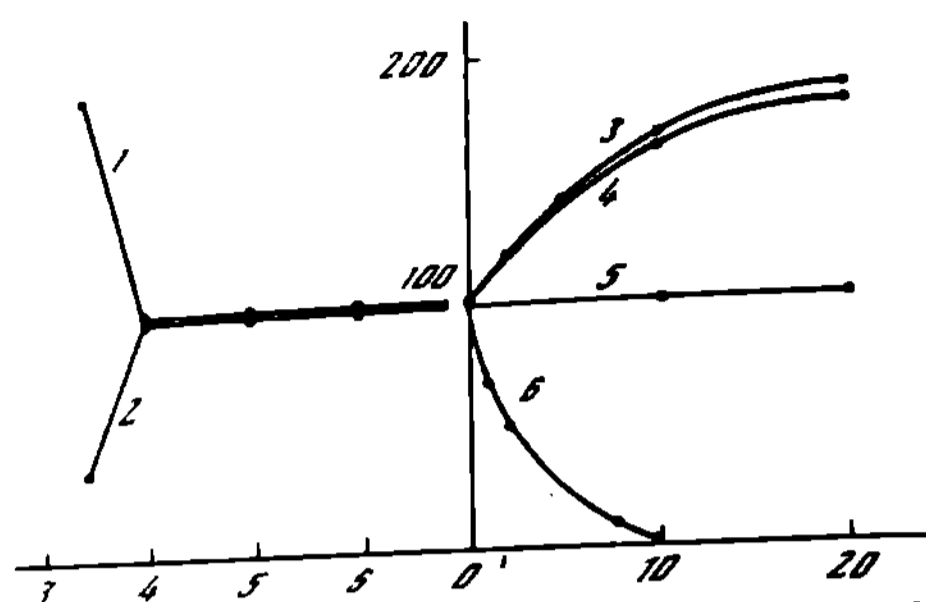


Рис. 1. Влияние наружной концентрации NH_4^+ и H^+ на обмен натрия и хлора в жабрах речного рака

1, 3 – потери натрия; 2, 6 – транспорт натрия; 4 – потери хлора; 5 – транспорт хлора. По оси абсцисс рН среды (слева) и концентрация NH_4^+ в среде (справа), % от контроля; по оси ординат – обмен натрия и хлора, % от контроля

1 мЭкв/л (18 мг/л), происходит нарушение равновесия между утечкой и поступлением натрия. Первоначально в течение 2–3 ч наблюдаются угнетение поглощения натрия и увеличение выхода его в наружную среду. Степень отклонения от сбалансированного состояния зависит от концентрации аммония. В дальнейшем происходит постепенное восстановление интенсивности транспорта натрия и скорости утечки его в наружную среду (рис. 2, а). Через 24–36 ч оба процесса стабилизируются, однако поглощение натрия происходит менее интенсивно, чем в нормальных условиях, а проницаемость эпителия остается увеличенной. Потери натрия превышают его поступление в организм.

Потребление кислорода раками в растворе аммония 2,5 мЭкв/л снижается в первые часы опыта на 50% и затем полностью восстанавливается

Таблица 1

Влияние являющийся аммония на его экскрецию и активный транспорт натрия у речного рака, мкЭкв/г · час

Время	Экскреция NH_4^+			Транспорт Na^+
	Дистиллированная вода ($\bar{x}_1 \pm 10,5 S_{\bar{x}_1}$)	30 мг/л NaCl ($\bar{x}_2 \pm 10,5 S_{\bar{x}_2}$)	Na^+ -зависимая ($\bar{x}_2 - \bar{x}_1$)	
До инъекции, 0–10 мин	0,153±0,047	0,309±0,102	0,156	0,210±0,021
После инъекции, 0–10 мин	0,745±0,212	1,252±0,382	0,507	0,592±0,132
После инъекции, 10–40 мин	0,521±0,164	0,837±0,244	0,312	0,386±0,086

Таблица 2

Влияние функциональной активности Na^+ -транспортирующей системы на экскрецию аммония у речного рака, мкЭкв/г · час

Время пребывания в изолионическом растворе	Наружная среда	Транспорт Na^+ , ($\bar{x} \pm 0,5 S_{\bar{x}}$)	Экскреция NH_4^+ , ($\bar{x} \pm 0,5 S_{\bar{x}}$)	Na^+ -зависимая экскреция NH_4^+
Контроль	0,2 мЭкв/л NaCl	0,185 \pm 0,022	0,267 \pm 0,027	0,110
	Дистиллированная вода	0	0,157 \pm 0,036	0
30 мин	190 мЭкв/л NaCl	0,540 \pm 0,030	0,384 \pm 0,039	0,229
	190 мЭкв/л NaCl + + динитрофенол	0,188 \pm 0,027	0,232 \pm 0,056	0,229
24 ч	190 мЭкв/л NaCl	0	0,155 \pm 0,042	0
	190 мЭкв/л NaCl + + динитрофенол	0	0,140 \pm 0,051	0

в течение суток. Активность сукцинатдегидрогеназы — одного из основных ферментов энергетического обмена — коррелирует с потреблением кислорода в процессе адаптации к аммонии (рис. 2, б). Возможно, дефицит кислорода и снижение энергетического обмена в жабрах служат причиной усиленного угнетения транспорта натрия в первые часы опыта. Через сутки акклимации наблюдается процесс восстановления интенсивности дыхания и активности сукцинатдегидрогеназы. Скорость поглощения натрия восстанавливается лишь частично.

Результаты экспериментов по изучению поглощения K^+ и Ca^{++} показали, что и калиевый, и кальциевый обмен чувствителен к аммонии во внешней среде. В растворах, содержащих NH_4^+ в концентрациях 0,25–2,0 мЭкв/л, уже в течение первых 30 мин наблюдаются угнетение поглощения калия из среды и увеличение его выхода из организма. Аналогичные, но более выраженные изменения происходят в обмене кальция. Добавление в среду 2 мЭкв/л аммония вызывает увеличение потерь кальция более чем в 3 раза, а его поглощение при этом почти полностью подавляется (рис. 3, а). При выдерживании раков в растворе аммония (2 мЭкв/л) в течение 7 суток отмечается более низкое по сравнению с контролем поглощение Ca^{++} из воды, которое составляет через 4, 36, 96, 168 ч соответственно 33, 39, 39 и 43% от контроля.

С целью выявления обмена NH_4^+/K^+ и $\text{NH}_4^+/\text{Ca}^{++}$ были поставлены эксперименты, в которых изучалась зависимость скорости активного транспорта калия, кальция и натрия от их концентрации в наружной среде (кинетика насыщения транспортных систем). Одновременно в этих опытах определяли интенсивность выведения аммония из организма. Проведенные эксперименты выявили значительные различия кинетических характеристик систем поглощения натрия, калия и кальция. Наибольшим сродством обладает система, транспортирующая калий ($K_m = 10$ мкМ), наименьшим — система поглощения натрия ($K_m = 100$ –120 мкМ). Максимальная скорость поглощения (V_m) натриевой системы в 2 раза выше, чем

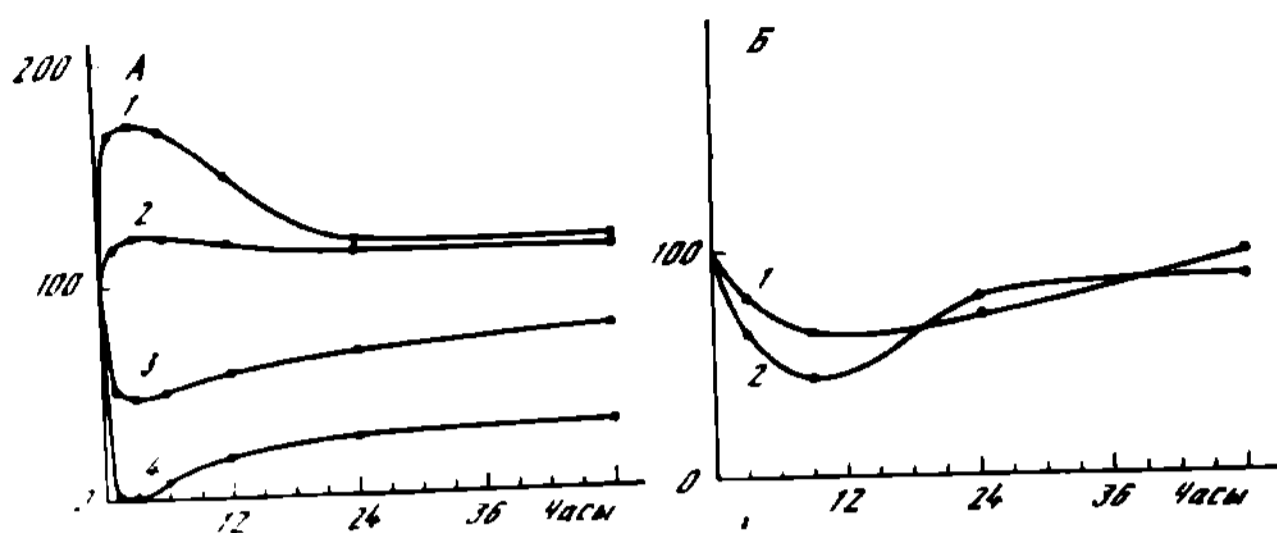


Рис. 2. Влияние аммония на метаболические процессы у речного рака
 А – на общую потерю и поглощение натрия: 1 – скорость потери натрия, 10 мЭкв/л NH_4^+ ; 2 – то же, 2 мЭкв/л NH_4^+ ; 3 – скорость поглощения натрия, 10 мЭкв/л NH_4^+ ; 4 – то же, 2 мЭкв/л NH_4^+ . Б – на потребление кислорода и активность сукцинатдегидрогеназы: 1 – активность сукцинатдегидрогеназы, 2,5 мЭкв/л NH_4^+ ; 2 – потребление кислорода, 2,5 мЭкв/л NH_4^+ .
 По оси абсцисс – время; по оси ординат – функциональная активность, % от контроля

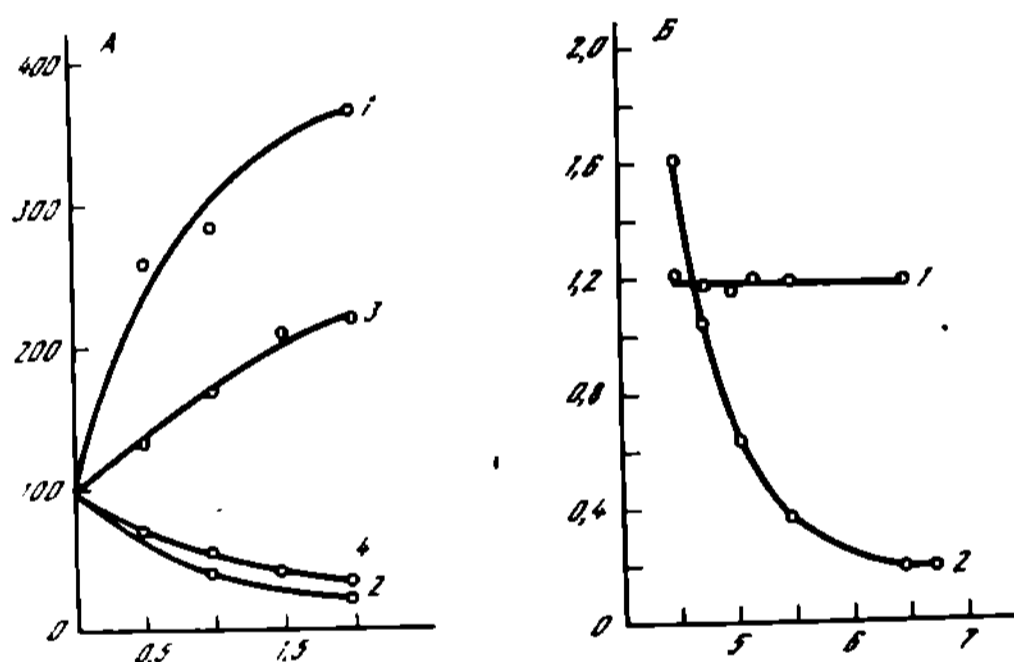


Рис. 3. Влияние аммония и низких pH на скорость обмена калия и кальция
 А – влияние NH_4^+ на обмен K^+ и Ca^{++} : 1 – потери Ca^{++} ; 2 – поглощение Ca^{++} ; 3 – потери K^+ ; 4 – поглощение K^+ . Б – влияние низких pH на обмен Ca^{++} : 1 – поглощение Ca^{++} ; 2 – потери Ca^{++} . По оси абсцисс: а – концентрация NH_4^+ в наружной среде, мкМ/л; б – концентрация катионов в среде, мкМ/л; по оси ординат: а – поглощение и потери K^+ и Ca^{++} , % от контроля; б – поглощение и потери Ca^{++} , мкМ/г/ч

кальциевой, и почти в 10 раз больше, чем калиевой. Интенсивность выведения аммония зависит от концентрации кальция и натрия в наружной среде и коррелирует со скоростью поглощения последних, что доказывает существование у речного рака механизма экскреции аммония, сопряженного с транспортом кальция (рис. 4). Сопоставление величин скорости поглощения натрия и кальция и выведения аммония показывает, что кальций обменивается на аммоний в отношении 2:1, тогда как натрий – 1:1.

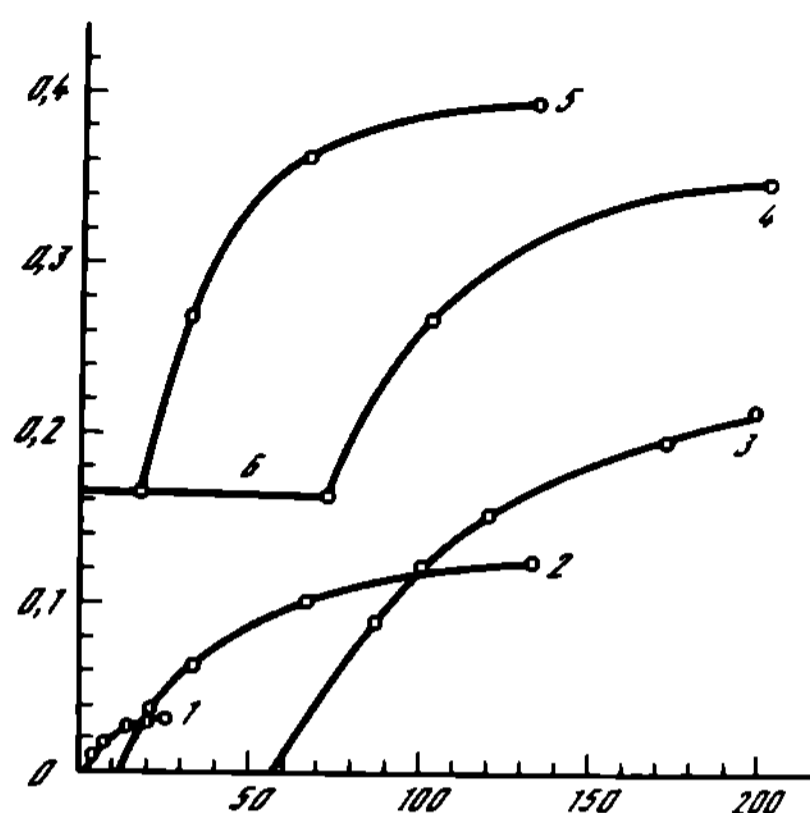


Рис. 4. Поглощение калия, кальция, натрия и экскреция аммония в зависимости от концентрации солей во внешней среде

1 — скорость поглощения K^+ ; 2 — то же Ca^{++} ; 3 — то же Na^+ ; 4 — Na^+ -зависимая экскреция NH_4^+ ; 5 — Ca^{++} -зависимая экскреция NH_4^+ ; 6 — экскреция NH_4^+ в дистиллированной воде. По оси абсцисс — концентрация катионов в среде, мкМ/л, по оси ординат — скорость поглощения катионов и выведения NH_4^+ , мкМ/г/ч

Другим противоионом в транспорте катионов, помимо аммония, может служить ион водорода, как это обнаружено у некоторых ракообразных для натрия [Ehrenfeld, 1974]. В этом случае увеличение наружной концентрации водородных ионов должно вызывать угнетение поглощения калия и кальция. В наших опытах снижение рН воды в диапазоне значений от 6,5 до 4,0 не приводило к изменениям в транспорте и утечке калия, поглощению кальция. Пассивная потеря кальция при закислении среды резко увеличивается (см. рис. 3,б). Этот эффект связан, вероятно, с увеличением растворимости в низких рН карбоната кальция, входящего в состав экзоскелета. У раков, помещенных в воду с рН 4,5, величина скорости общей потери кальция возрастала в 8–9 раз по сравнению с контролем и сохранялась неизменной на протяжении всего опыта (7 суток). Критическое значение рН, при котором транспорт кальция не в состоянии компенсировать его потери, составляет 4,6–4,7. Следует подчеркнуть, что в нормальных условиях потеря кальция составляет лишь 1/7–1/8 часть величины его поглощения (рис. 3,б). Благодаря этой особенности обмена кальция, вероятно, и обеспечивается постоянное накопление его в организме.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в кратковременных экспериментах соли аммония вызывают нарушения в обмене Na^+ , Ca^{++} , K^+ , подавляют дыхание и снижают активность СДГ. В результате акклимации речного рака к сублетальным концентрациям NH_4^+ (экспозиция 96 ч) происходит восстановление интенсивности потребления O_2 и активности СДГ. Уровень скорости поглощения натрия в процессе акклимации к аммонiu не возвращается до нормальных значений. Равновесие между

утечкой натрия и его поглощением достигается в основном за счет снижения скорости потери этого иона (уменьшение проницаемости для натрия).

Проведенное исследование показало, что у речного рака осуществляется экскреция NH_4^+ , сопряженная с транспортом Na^+ . Об этом свидетельствует угнетение выделения NH_4^+ при ингибировании транспорта Na^+ динитрофенолом и высокими концентрациями NaCl , а также стимуляция Na^+ увеличением концентрации NH_4^+ в гемолимфе.

Эренфельд [Ehrenfeld, 1974], исследуя ионный обмен в жабрах речного рака *Astacus leptodactylus*, пришел к выводу, что транспорт Na^+ не связан с экскрецией NH_4^+ . Лишь в одном случае ему удалось обнаружить обмен $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$, который составлял около 20% от уровня поглощения Na^+ . По его мнению, транспорт Na^+ происходит в результате обмена на эндогенный H^+ . Эти данные в основном получены на животных, адаптированных к дистиллированной воде. Шоу [Shaw, 1960], впервые исследовавший транспорт Na^+ в жабрах рака (*Astacus pallipes*), высказал предположение, что раки поглощают натрий из внешней среды в обмен на NH_4^+ или H^+ в соответствии с их уровнем экскреции и метаболической активностью.

Наши эксперименты показали, что экскреция аммония сопряжена не только с переносом натрия, но и с поглощением кальция и калия. Причем основная роль в выделении аммония принадлежит обмену не $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$, а $\text{Ca}^{++}/\text{NH}_4^+$. Длительное выдерживание раков в дистиллированной воде, т.е. в отсутствии поступления Na^+ , Ca^{++} , K^+ , должно, по-видимому, приводить к накоплению аммония и каким-то образом стимулировать экскрецию аммония, не зависящую от содержания Na^+ , K^+ , Ca^{++} во внешней среде. В наших опытах по обессоливанию раков в дистиллированной воде обнаружено постепенное снижение уровня Na^+ , Ca^{++} -зависимой экскреции аммония. На 5-е сутки она составляла около 25% от начальных значений, а через 7 дней обессоливания выход аммония практически не зависел от присутствия NaCl и CaCl_2 во внешней среде. Эти факты подтверждают, что при обессоливании в организме происходят глубокие изменения метаболических процессов [Наточин, 1965; Турстон, 1979б].

Известно, что у рыб с H^+/Na^+ -обменом увеличение внешней концентрации водородных ионов угнетает транспорт Na^+ в жабрах [Виноградов, 1979; Турстон и др., 1979а; Maetz, 1973]. Относительно существования H^+/Na^+ , $\text{H}^+/\text{Ca}^{++}$ и H^+/K^+ обменов у речного рака нами не было получено доказательств, поскольку снижение pH внешней среды до 4,0 не вызвало изменений в уровне транспорта катионов.

На основании проведенного исследования выявлена высокая чувствительность калий-, натрий-, кальций-транспортных систем жабр к аммонийному загрязнению. Показано, что соли аммония и закисление среды подавляют процесс накопления резервов кальция, которые необходимы в период линьки. Известно, что молодь речного рака в течение первого лета жизни линяет 5–6 раз и интенсивно абсорбирует кальций, начиная с момента выклева [Мацкявичене, 1979]. Принимая во внимание, что основное поступление аммония в водоемы и их закисление отмечается в весенне-летние месяцы, приведенные факты дают дополнительные сведения для решения проблемы сохранения популяций речного рака в районах с развитой промышленностью и интенсивным хозяйством.

ЛИТЕРАТУРА

- Виноградов Г.А. Адаптация водных животных с различными типами осморегуляции к понижению pH внешней среды. — В кн.: Физиология и паразитология пресноводных животных. Л.: Наука, 1979, с. 17–25.
- Мацкявичене Г.И. Изменение уровня водно-солевого и белкового обменов в период постэмбрионального развития широкополого рака. — В кн.: Биология речных раков водоемов Литвы. Вильнюс, 1979, с. 53–66.
- Метелев В.В., Каняев А.И., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология. М.: Колос, 1971, с. 79–84.
- Наточин Ю.В. Адаптация к обессоливанню животных с различным типом осморегуляции. — Журн. эволюц. биохимии и физиологии, 1965, т. 1, № 6, с. 523–530.
- Наточин Ю.В., Резник П.В., Шахматова Е.И., Лаврова Б.А. Адаптивные изменения активности сукцинатдегидрогеназы при различных функциональных состояниях почки крысы. — Докл. АН СССР, т. 237, № 2, с. 487–489.
- Проссер Л. Сравнительная физиология животных. М.: Мир, 1977, т. 1.
- Турстон Р.В., Виноградов Г.А., Комов В.Т., Матей В.Е. Влияние низких значений pH, солей аммония и обессоливания на активность ферментов, обмен натрия в жабрах у ультраструктуры хлоридных клеток у пресноводных рыб. Сообщение 1. — Информ. бюл. Биол. внутренних вод, 1979а, № 43, с. 75–81.
- Турстон Р.В., Виноградов Г.А., Комов В.Т., Матей В.Е. Влияние низких значений pH, солей аммония и обессоливания на активность ферментов, обмен Na в жабрах и ультраструктуру хлоридных клеток у пресноводных рыб. Сообщение 2. — Информ. бюл. Биол. внутренних вод, 1979б, № 44, с. 75–79.
- Armstrong D.A., Chilpendale D., Knight A.W., Colt J.E. Interaction of ionized and unionized ammonia on short-term survival and growth of prawn larvae, *Macrobrachium rosenbergii*. — Biol. Bull., 1978, vol. 154, p. 15–31.
- Beamish R.J., Harvey H.H. Acidification of the La Cloche Mountain Lakes, Ontario and resulting fish mortalities. — J. Fish. Res. Board Canada, 1972, vol. 29, p. 1131–1143.
- EPA. Ammonia. EPA-600/1-77-054. Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency, North Carolina 27711. 1977.
- Ehrenfeld J. Aspects of ionic transport mechanisms in crayfish *Astacus leptodactylus*. — J. Exp. Biol., 1974, vol. 61, p. 57–70.
- Evans D.H. Ionic exchange mechanisms in fish gills. — Comp. Biochem. Physiol., 1975, vol. 51A, p. 491–495.
- Evans D.H. Further evidence for $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ exchange in marine teleost fish. — J. Exp. Biol., 1977, vol. 70, p. 213–220.
- Liebmann H. Toxikologie des Abwassers. Sauerstoffmangel und anorganische Gifte. Gasformige Gifte. Ammoniak und Ammonium (NH_3 , NH_4). — In: Handbuch der Fischwasser- und Abwasser-Biologie. Jena, 1960, Bd. 2, L. 5, S. 641–800.
- Likens G.E., Wright R.F., Galloway J.N., Butler T.J. Acid Rain. — Scientific American, 1979, vol. 241, N 4, p. 39–47.
- Maetz J. $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$, Na^+/H^+ exchanges and NH_3 movement across the gill of *Carassius auratus*. — J. Exp. Biol., 1973, vol. 58, p. 255–275.
- Maetz J., Garcia Romeu F. The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of a fresh-water fish, *Carassius auratus*. II. Evidence for $\text{NH}_4^+/\text{Na}^+$ and $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ exchanges. — J. Gen. Physiol., 1964, vol. 47, p. 1209–1227.
- Payan P. A study of the $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ exchange across the gill of the perfused head of the trout (*Salmo gairdneri*). — J. Comp. Physiol., 1978, vol. 124, N 2, p. 181–188.
- Payan P., Maetz J. Branchial sodium transport mechanisms in *Scyllorhinus canicula*: evidence for $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ and Na^+/H^+ exchanges and for a role of carbonic anhydrase. — J. Exp. Biol., 1973, vol. 58, p. 487–502.
- Pequeux A., Gilles R. $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ co-transport in isolated perfused gills of the Chinese crab *Eriocheir sinensis* acclimated to fresh water. — Experientia, 1978, vol. 34, N 12, p. 1593–1594.
- Shaw J. The absorption of sodium ions by the crayfish *Astacus pallipes* (Lereboullet). II. The effect of the external anion. — J. Exp. Biol., 1960, vol. 37, p. 534–547.
- Tahata K. Suiken dobutsu ni oyobosu ammonia no dokusei to pH, tansan to no kankai (Toxicity of ammonia to aquatic animals with reference to the effect of pH and carbonic

- acid). — Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab., 1962, N 34, p. 67–74 (In English translation).
- Thurston R.V., Russo R.C., Emerson K. Aqueous ammonia equilibrium-tabulation of percent un-ionized ammonia. EPA-600/3-79-091. Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency. Duluth, Minnesota 55804. 1979.
- Williamham W.T., Colt J.E., Fava J.A. et al. Ammonia. — In: A review of the EPA Red Book: quality criteria for water. American fisheries society. Bethesda, Maryland, 1979.

УДК 591.428.4 : 578.086.3

РЕАКЦИЯ ХЛОРИДНЫХ КЛЕТОК ЖАБЕРНОГО ЭПИТЕЛИЯ КАРАСЯ НА ИЗМЕНЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ И ИОННОГО СОСТАВА ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

В.Е. МАТЕЙ, В.Т. КОМОВ

Институт биологии внутренних вод АН СССР

Хлоридные клетки жаберного эпителия рыб являются важным звеном осморегуляторной системы и осуществляют функции поддержания водно-минерального и кислотно-щелочного равновесия в организме [Berridge, Oschman, 1972; Evans, 1975]. Локализация их в жабрах такова, что они через систему капилляров сообщаются как с внешней, так и с внутренней средой организма. Это делает возможным транспорт солей из внешней среды в клетку и из клетки в кровь. Через хлоридные клетки происходит основной обмен Na^+ на H^+ и NH_4^+ и Cl^- — на HCO_3^- .

Хлоридные клетки жабр обладают основными чертами, свойственными нонтранспортирующим клеткам. Для них характерны асимметрия наружных цитоплазматических мембран, вызванная присутствием при- и подмембранных комплексов в апикальной цитомембране [Матей, 1980; Kikuchi, 1977], и наличие апикальной ямки, наиболее выраженной у морских и эвригалинных рыб и заполненной аморфным полианионным содержимым [Petrik, Boucher, 1969; Karnaky et al., 1976a]. Хлоридные клетки в отличие от других типов клеток, формирующих жаберный эпителий, содержат обильно разветвленную сеть агранулярного цитоплазматического ретикулума, являющегося, по современным представлениям, местом локализации "ионных насосов" [Garcia-Romeu, Maetz, 1964; Mizuhira et al., 1970; Motais, Garcia-Romeu, 1972; Karnaky et al., 1976b; Sardet et al., 1979]. Обилие митохондрий в цитоплазме обеспечивает высокий энергетический уровень этих клеток. Сукцинатдегидрогеназа (СДГ, сукцинат: оксидоредуктаза 1.3.99.1) — один из ключевых ферментов цикла Кребса, отличается строгой приуроченностью к митохондриям и используется как их маркер [Kerstetter, Kirschner, 1974; Solomon et al., 1975]. На долю этого фермента приходится значительная часть синтеза АТФ [Иост, 1975], необходимой для работы по переносу ионов против градиента концентрации. Этим объясняется высокая активность СДГ в осморегуляторных органах животных [Наточин, Крестинская, 1961; Наточин и др., 1961; Хлебович, 1963].

Зависимость структуры и функции хлоридных клеток и активности СДГ в жабрах рыб от состава внешней среды изучали в основном на про-

ходных, полупроходных и эвригалинных видах. Было показано, что изменение концентрации электролитов в воде вызывает согласованные сдвиги в работе "ионных насосов", ультраструктуре хлоридных клеток и ферментативной активности жабр [Черницкий, 1979; Матей и др., 1981; Shirai, Utida, 1970; Eddy, 1975; Sargent et al., 1975; Solomon et al., 1975; Karpaky et al., 1976a]. Изменение концентрации двухвалентных ионов, в особенности Ca^{++} и Mg^{++} , нарушает транспорт солей, влияя на пассивную утечку Na^+ и Cl^- и работу "ионных насосов", приводит к перестройке ультраструктуры хлоридных клеток и контролирует проницаемость клеточных мембран в жабрах рыб [Виноградов, 1979; Fleming et al., 1974; Maetz, 1974; Isaia, Masoni, 1976].

Действие pH наружной среды как фактора, влияющего на ионную и осмотическую регуляцию в жабрах рыб [Виноградов, 1979; Evans, 1975], изучено недостаточно. Показано, что закисление среды в толерантном диапазоне у пресноводного карася вызывает развитие адаптивных реакций, приводящих к восстановлению активного транспорта солей и проницаемости клеток для воды и ионов, повышению ферментативной активности жабр и нормализации ультраструктуры хлоридных клеток [Турстон и др., 1979а,б]. У эвригалинной колюшки действие низких pH в пресной воде вызывает деструкцию хлоридных клеток, чего не наблюдается в морской воде при том же значении pH [Матей и др., 1981]. Было высказано предположение, что одним из факторов, обуславливающих ответную реакцию жаберного эпителия в морской воде, является высокая концентрация двухвалентных ионов, в частности Ca^{++} .

Цель настоящей работы — изучение ультраструктуры хлоридных клеток, ответственных за ионообмен, и активности СДГ жабр карася при действии низких значений pH в средах с различным ионным составом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Эксперименты проводили на карасе *Carassius auratus* L. (102 экз., возраст 0^+ , средний вес 9 г). В контроле рыб содержали в речной воде с pH 7,6 и концентрацией солей Ca^{++} 50 мг/л (везде концентрация кальция дается в пересчете на CaCl_2). В экспериментах карасей помещали в аквариумы с водой следующего ионного состава: 1) речная вода, pH 3,8, концентрация Ca^{++} 50 мг/л; 2) речная вода, pH 7,6, концентрация Ca^{++} 210 мг/л; 3) дистиллированная вода, pH 3,8; 4) раствор CaCl_2 (концентрация Ca^{++} 70 мг/л), pH 3,8; 5) раствор CaCl_2 (концентрация Ca^{++} 70 мг/л), pH 6,8. Уровень pH воды в аквариумах поддерживался автоматическим титрованием HCl с точностью $3,8 \pm 0,15$, температура воды во всех аквариумах была 18–20°.

Продолжительность экспериментов составляла 6–8 ч, поскольку предварительно было показано, что к этому сроку происходит гибель 50% животных в речной и дистиллированной воде с pH 3,8.

Материал для электронно-микроскопических исследований фиксировали через 5 мин, 0,5; 1; 3 и 6 ч в 1-й, 3-й и 4-й экспериментальных группах и через 0,5 и 3 ч в контрольной группе рыб. На каждую точку брали по 4–5 рыб. Были исследованы средние участки 2-й и 3-й жаберных пластинок. Фиксацию, проводку и заливку материала осуществляли по стандартным

методикам¹. Ультратонкие срезы контрастировали 2%-ным спиртовым раствором уранилацетата, окрашивали цитратом свинца [Reynolds, 1963] и просматривали под электронным микроскопом JEM = 100С при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Активность СДГ определяли методом Кинга в модификации Ю.В. Наточина и соавторов [1977]. Через 1 и 6 ч с начала эксперимента жабы быстро извлекали, взвешивали и гомогенизировали в 9-кратном объеме 0,25 М раствора сахарозы, приготовленного на 50 мМ Трис-НСl буфере с рН 8,2. Гомогенат центрифугировали 5 мин при 2000 об/мин, осадок отбрасывали. В инкубационную среду, содержащую 1,9 мл 0,2 М фосфатного буфера с рН 8,2, 0,1 мл 0,015 М феррицианида калия, 0,3 мл 1%-ного яичного альбумина, 0,2 мл 0,75 сукцината натрия с рН 8,0–8,2, вносили 0,2 мл супернатанта. В контрольных пробах сукцинат заменяли фосфатным буфером. Инкубационную среду помещали в термостат с температурой 30°. По истечении 30 мин реакцию останавливали добавлением 0,3 мл холодной 50%-ной трихлоруксусной кислоты. После центрифугирования при 6000 об/мин (15 мин) супернатант колориметрировали против контроля на спектрофотометре при длине волны 420 нм. Каждое измерение проводили на 3–4 животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Контроль. Речная вода, рН 7,6. Хлоридные клетки жаберного эпителия карася в норме представлены "светлыми" формами и, как было показано нами ранее [Матей, 1980], содержат большое количество митохондрий с сильноосмирующимся матриксом, содержащим электронно-плотные гранулы, и хорошо развитыми кристами и широко разветвленную сеть агранулярного цитоплазматического ретикулума (рис. 1, а).

Речная вода, рН 3,8. Изменение кислотности воды вызывает развитие быстрых ответных реакций в ультратонкой организации некоторых хлоридных клеток, расположенных на поверхности жаберного эпителия и непосредственно граничащих с внешней средой. Через 5 мин с начала воздействия наиболее серьезным изменениям подвергаются митохондрии и сеть агранулярного цитоплазматического ретикулума. Набухшие митохондрии со слабо осмирующимся матриксом и редуцированными кристами заполняют цитоплазму клетки, сосредоточиваясь в основном в ее апикальной части. В перинуклеарной зоне отмечаются максимальная приближенность и в некоторых случаях взаимодействие митохондрий с наружной ядерной мембраной (см. рис. 1, б). Трубочки, формирующие систему агранулярного ретикулума, встречаются в цитоплазме хлоридных клеток в незначительном количестве и слабо разветвлены. Каналы гранулярного эндоплазматического ретикулума расширены и локализуются не только в околоядерной зоне, но и в апикальной части клетки, наблюдается сближение их с митохондриями, чего не было в контроле (см. рис. 1, б). Свободные рибосомы сосредоточены в основном в перинуклеарной зоне, микровезикулы наблюдаются в цитоплазме повсеместно. Ядра хлоридных клеток, подвергшихся изменениям, смещаются в базальную часть, наружная ядер-

¹ В работе использованы данные, полученные совместно с Г.А. Виноградовым.



Рис. 1. Ультраструктура хлоридных клеток жабер карася в контроле и в закисленной речной воде

а — контроль, pH 7,6; *б* — речная вода, pH 3,8, 5 мин воздействия; *АЯ* — апикальная ямка; *М* — митохондрия; *АР* — агранулярный ретикулум; *ГЭР* — гранулярный ретикулум; *Р* — рибосомы. Увел.: *а*, х 6600; *б*, х 16 000

ная мембрана не всегда сохраняет целостность, расстояние между ядерными мембранами расширено, поры заполнены электронно-плотным веществом (см. рис. 1, б). В части хлоридных клеток, локализованных на поверхности вставочного эпителия, и во всех, лежащих в более глубоких слоях, ультраструктурные изменения ограничиваются незначительным набуханием митохондрий и агранулярного ретикулума и увеличением содержания рибосом в цитоплазме.

Через 30 мин с начала эксперимента картина преобразований в хлоридных клетках полностью сохраняется. Через 1 ч воздействия кислой среды изменения в зрелых хлоридных клетках, отмеченные ранее, прогрессируют и захватывают большую часть клеток. Агранулярный ретикулум редуцируется и представлен лишь отдельными неразветвленными трубочками, содержащими электронно-плотный материал в основном в области ядра (рис. 2, а, в). Параллельно в апикальной части клетки расширяется зона микропузырьков, принимающих участие в транспорте ионов (рис. 2, б). Митохондрии полиморфные, набухшие, с редуцированными или укороченными расширенными кристами, расположены в основном в перинуклеарной и апикальной зонах клетки. В митохондриях отмечается образование миелиноподобных структур — "ламеллярных телец", что свидетельствует о достаточно серьезных деструктивных преобразованиях клетки (см. рис. 2, в). Активность СДГ снижается на 35% по сравнению с контролем (рис. 6, а). Каналы гранулярного ретикулума расширены и сближены с митохондриями, в цитоплазме отмечается значительное содержание рибосом, иногда образующих "розетки".

Через 3 ч, когда часть клеток на поверхности жабр деструктурирована и слущивается, во вставочном эпителии отмечается появление "темных" хлоридных клеток. Они образуются, по-видимому, из малодифференцированных клеток и являются, по некоторым данным, переходной формой к полностью сформированным "светлым" хлоридным клеткам [Shirai, Utida, 1970; Morgan, Tovell, 1973; Coleman et al., 1977; Sardet et al., 1979]. "Темные" клетки характеризуются цитоплазмой большей электронной плотности из-за обилия рибосом, слабым развитием агранулярного цитоплазматического ретикулума и большим количеством митохондрий (рис. 3, а). Последние находятся в различном состоянии: встречаются митохондрии, практически не отличающиеся от контрольных; попадаются набухшие митохондрии с матриксом малой электронной плотности и частично редуцированными кристами, а также немногочисленные митохондрии с "ламеллярными тельцами" (см. рис. 3, а).

Зрелые хлоридные клетки на этом этапе эксперимента подвергаются значительной деструкции. Цитоплазма их очень светлая и содержит небольшое количество рибосом, отдельные трубочки агранулярного ретикулума с электронно-плотным содержимым и микропузырьки (рис. 3, б). Общее количество митохондрий в клетке снижается, часть их лизируется, образуя обширные автофагические вакуоли, содержащие аморфный осмирующийся материал. Лизирующиеся митохондрии окружены трубочками агранулярного ретикулума и их фрагментами, наблюдается непосредственная связь трубочек с мембраной постмитохондриальных вакуолей (см. рис. 3, б). Подобные картины наблюдались нами при разрушении митохондрий в хлоридных клетках колюшки в кислой среде [Матей и др., 1981]. Фрагменты

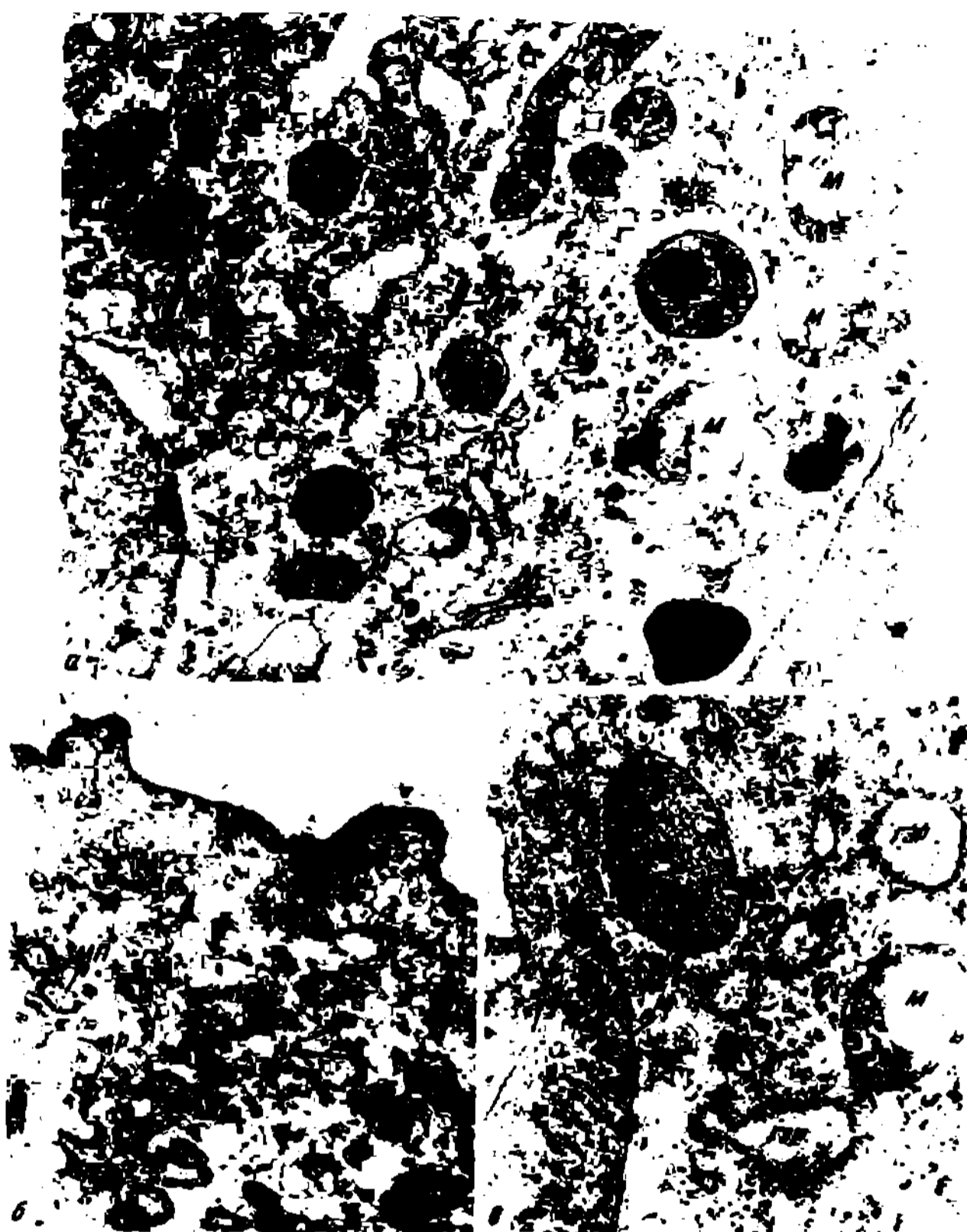


рис. 2. Изменение ультраструктуры хлоридных клеток в закисленной речной воде
а — перинуклеарная зона клетки; *б* — щелочная зона; *в* — группа митохондрий
 П — перинуклеарной зоны клетки; АГ — аппарат Гольджи; ЛЛ — ламеллярное тельце;
 П — микропузырьки. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1. Увел.: *а, б* $\times 1\ 500$;
 $\times 10\ 000$

гранулярного цитоплазматического ретикулума могут сближаться с капиллами гранулярного ретикулума и митохондриями, отмечен интересный акт контакта наружной ядерной мембраны с "ламеллярным тельцем", образованным на месте митохондрии (см. рис. 3, в).

Через 6 ч с начала воздействия, незадолго до гибели рыб, уменьшается общее число клеток, формирующих жаберный эпителий, что связано со

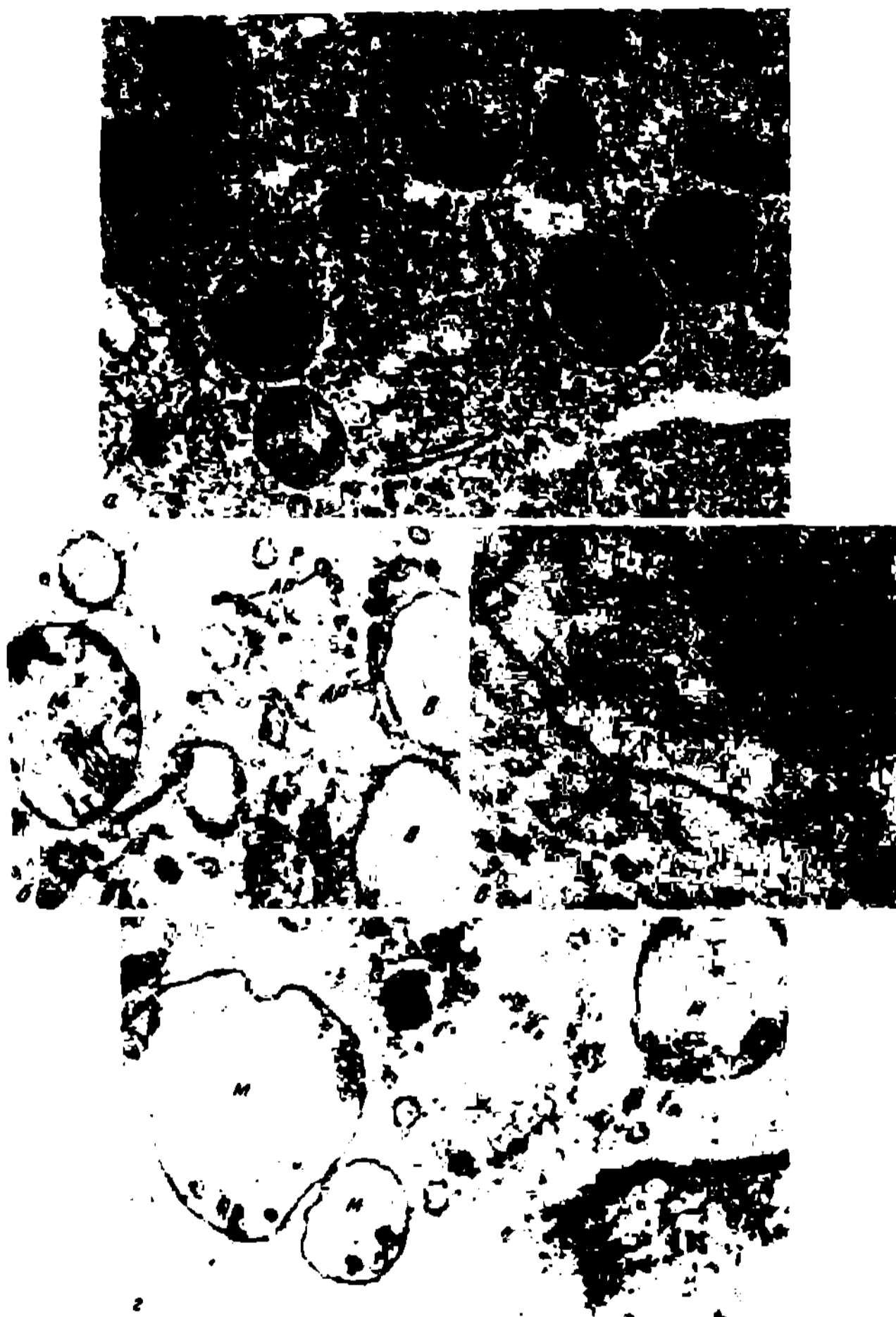


Рис. 3. Изменение ультраструктуры хлоридных клеток в закисленной речной воде
а – "темная" хлоридная клетка, 3 ч воздействия; *б* – митохондрии и постмитохондриальные вакуоли, взаимодействующие с трубочками агранулярного цитоплазматического ретикулума, 3 ч; *в* – контакт наружной ядерной мембраны с ламеллярным телцем, 3; *г* – митохондрии из перинуклеарной зоны хлоридной клетки, 6 ч, *д* – постмитохондриальная вакуоль.

Остальные обозначения те же, что и на рис. 1, 2. Увел. *а, б*, X 15 000, *а, г*, X 16 000

слущиванием его поверхностных слоев. Эпителий отслаивается от переполненных форменными элементами крови капилляров, в результате чего образуются обширные полости, заполненные жидкостью. В зрелых хлоридных клетках деструктивные процессы очень глубоки. Агранулярный ретикулум почти полностью редуцирован, клетки содержат небольшое количество митохондрий, представленных в основном набухшими или лизирующимися формами (см. рис. 3,2). Обилие обширных автофагических вакуолей позволяет предположить, что процессы разрушения митохондрий осуществлялись очень интенсивно. Уменьшение количества и деструкция митохондрий коррелируют со снижением активности СДГ (см. рис. 6,а). В единичных "темных" клетках митохондрии также претерпевают значительные изменения, однако цитоплазма сохраняет большую электронную плотность. Каналы гранулярного ретикулума у обеих форм хлоридных клеток расширены и сближены с митохондриями и наружной ядерной мембраной, агранулярный ретикулум в значительной степени редуцирован.

В дистиллированной воде с pH 3,8 наиболее значительным изменениям подвергаются митохондрии и система агранулярного ретикулума. Ультраструктурные изменения в хлоридных клетках в подкисленной дистиллированной воде сходны с таковыми у рыб из дистиллированной воды, но выражены в большей степени. В процессе эксперимента, начиная с самых ранних сроков, отмечаются прогрессирующее набухание и деструкция митохондрий, редукция трубочек агранулярного ретикулума и уменьшение содержания рибосом в цитоплазме (рис. 4,а,б). Перечисленные изменения наблюдаются как в "светлых", так и в "темных" формах хлоридных клеток. Параллельно прослеживаются нарушения адгезионных свойств наружных цитоплазматических мембран. В этом эксперименте происходит максимальное снижение активности СДГ (см. рис. 6,а). Уже через 1 ч с начала воздействия уровень ее составляет 25% от контроля, а через 6 ч едва превышает 10%.

Раствор кальция (концентрация Ca^{++} 70 мг/л), pH 3,8. При добавлении кальция в подкисленную дистиллированную воду (первоначально 5 мин воздействия) в хлоридных клетках развиваются процессы, свидетельствующие об интенсификации синтеза белка. Увеличивается содержание свободных рибосом в цитоплазме, многочисленные расширенные каналы гранулярного ретикулума локализуются не только в околоядерной, но и в апикальной части клетки (рис. 5,а). Митохондрии полиморфные, с сильно осмирующимся матриксом и электронно-плотными гранулами, в отличие от таковых в подкисленной речной и дистиллированной воде без кальция. Трубочка агранулярного ретикулума контактирует с наружными мембранами митохондрий, с каналами гранулярного ретикулума и наружной ядерной мембраной (см. рис. 5,а).

Через 1 ч воздействия в апикальной части хлоридных клеток, расположенных на поверхности вставочного эпителия, появляются лизосомы, содержащие миелоноподобные мембранные компоненты (см. рис. 5,б). В перинуклеарной и апикальной зонах цитоплазмы наблюдается обилие митохондрий, не отличающихся по структуре от контрольных, система агранулярного ретикулума развита хорошо (см. рис. 5,б). Общее содержание рибосом в клетках снижается, и каналы гранулярного ретикулума, как и в контроле, выявляются преимущественно в перинуклеарной зоне



Рис. 4. Изменение ультраструктуры хлоридных клеток в закисленной дистиллированной воде

a — перинуклеарная зона хлоридной клетки, 5 мин воздействия; *б* — митохондрии из перинуклеарной зоны клетки, 6 ч *Л* — лизосома.

Остальные обозначения те же, что и на рис. 1–3. Увел. *a*, $\times 7\,500$. *б*, $\times 15\,000$

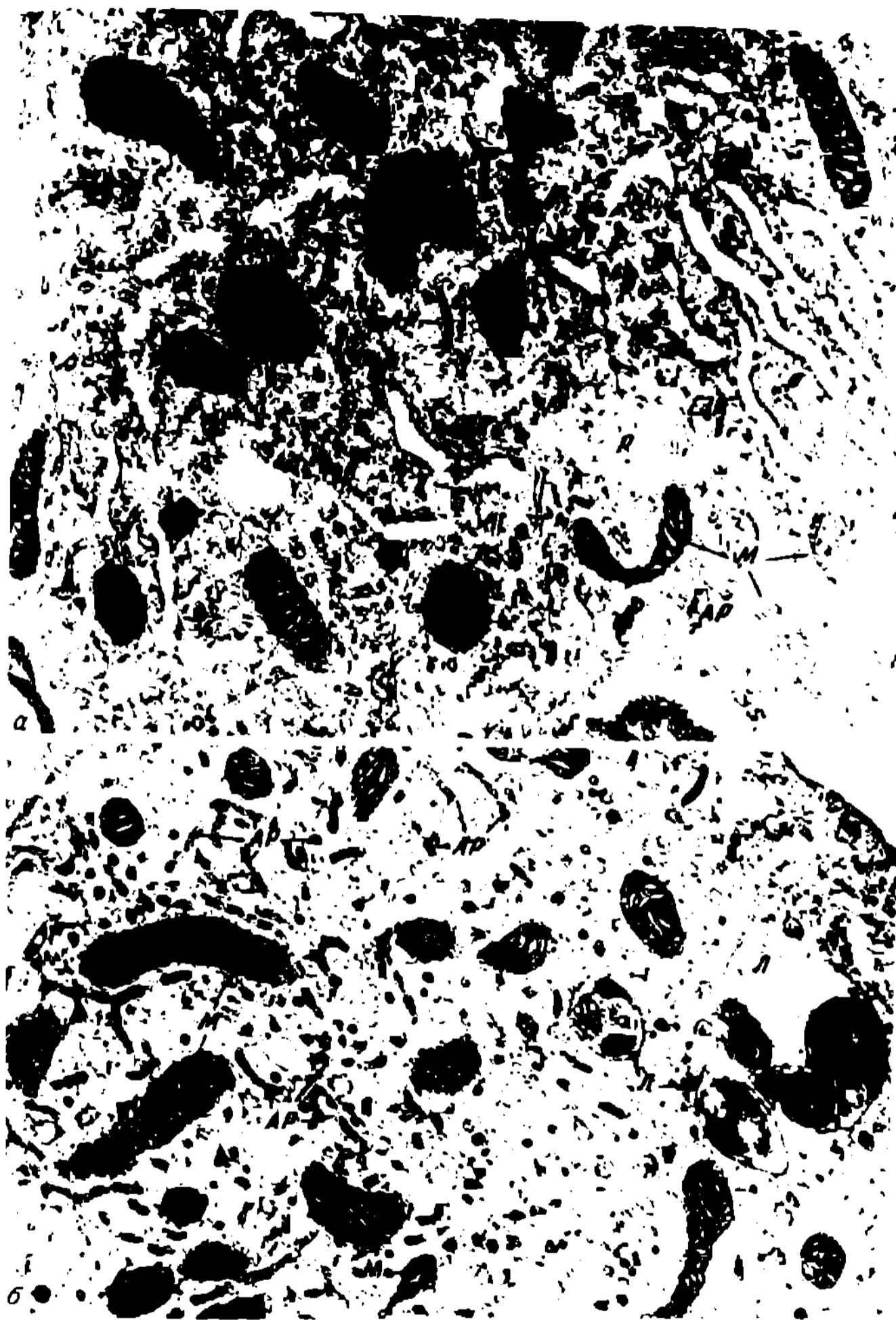


Рис. 5. Ультраструктура хлоридных клеток в закисленном растворе CaCl_2 . а — перинуклеарная зона хлоридной клетки, 5 мин воздействия, $\times 13\,000$; б — апикальная зона хлоридной клетки, 1 ч, $\times 10\,000$; в — группа митохондрий из перинуклеарной зоны клетки, 3 ч $\times 21\,400$; г — средняя часть хлоридной клетки, 6 ч, $\times 13\,000$. Обозначения те же, что и на рис. 1—4

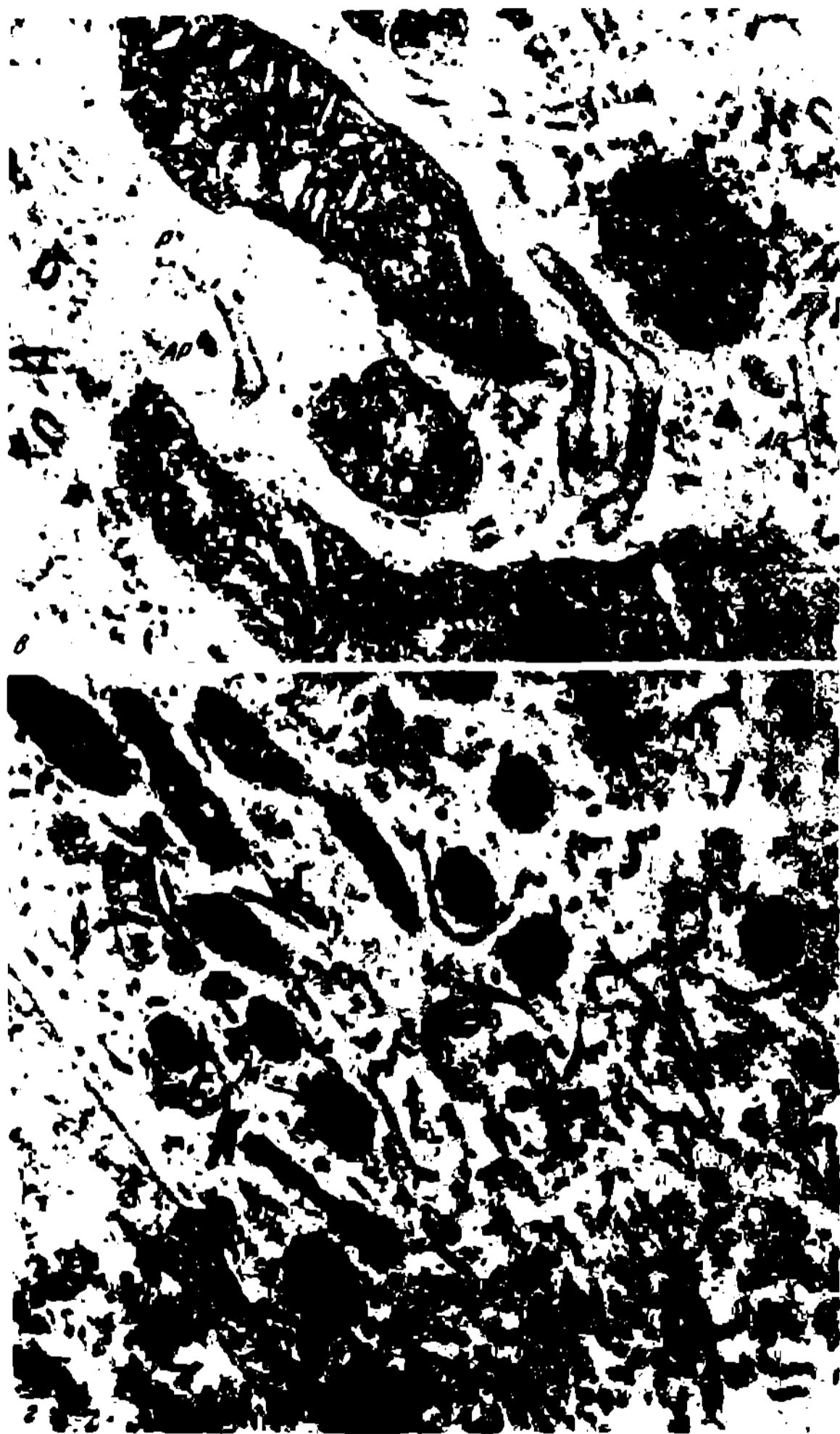


Рис. 5 (окончание)

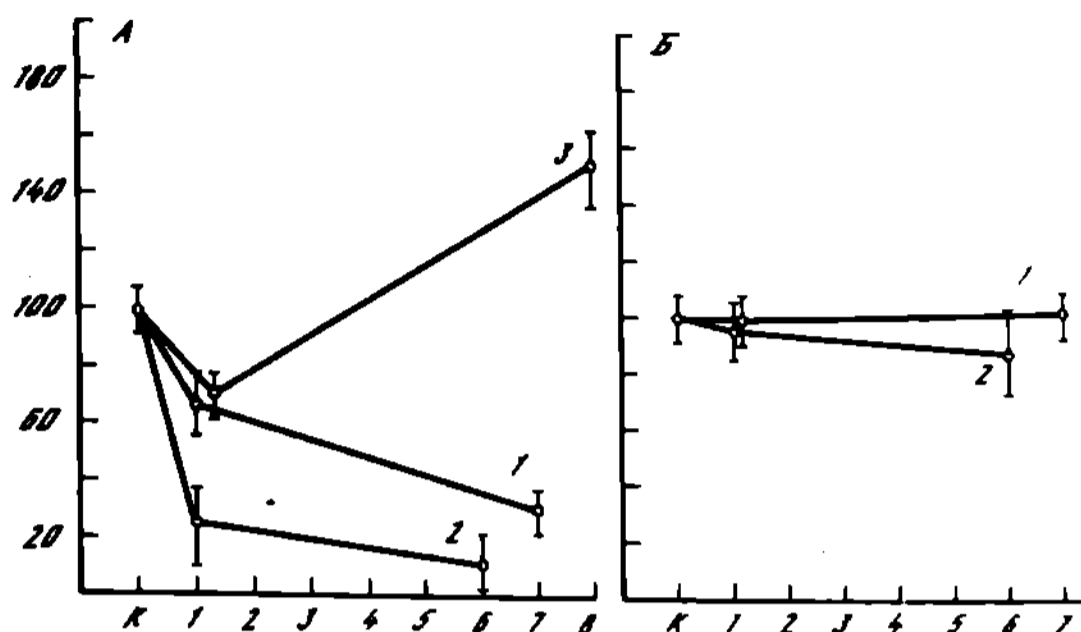


Рис. 6. Влияние закисления и ионного состава среды на активность СДГ в жабрах карася

а — активность СДГ в жабрах при закислении среды; 1 — речная вода, pH 3,8; 2 — дистиллированная вода, pH 3,8; 3 — раствор кальция (концентрация Ca^{++} 70 мг/л), pH 3,8; *б* — активность СДГ в жабрах при изменении концентрации Ca^{++} в среде: 1 — речная вода (концентрация Ca^{++} 210 мг/л); 2 — раствор кальция (концентрация Ca^{++} 70 мг/л) pH 6,8. По оси абсцисс — время, ч; К — контроль; по оси ординат — активность СДГ; %

В хлоридных клетках, не контактирующих непосредственно с наружной средой, существенных отклонений в ультраструктуре от контроля не наблюдается. Строение наружных цитоплазматических мембран не нарушается. Через 3 и 6 ч с начала эксперимента жаберный эпителий с поверхностных слоев не слущивается, как у рыб из кислой речной и дистиллированной воды. По-видимому, это связано с сохранением нормальной структуры клеточных соединений и наружных цитоплазматических мембран. Ультраструктурная организация хлоридных клеток принципиально не отличается от таковой в контроле и на более ранних сроках пребывания в среде с добавлением кальция (см. рис. 5, в, 2). Хлоридные клетки представлены "светлыми" формами, количество "темных" клеток невелико.

Характер изменений активности СДГ в дистиллированной воде с pH 3,8 в присутствии Ca^{++} (70 мг/л) отличается от такового в предыдущих опытах. Через 1 ч имеет место снижение активности фермента, а через 8 ч — увеличение ее до 150% от контроля. Такая реакция вызвала необходимость проведения опытов с целью выяснения влияния ионов Ca^{++} на активность СДГ. Для этого рыб в первом опыте помещали в дистиллированную воду с pH 6,8 и концентрацией Ca^{++} 70 мг/л, т.е. убрали фактор закисления. В этих условиях наблюдается небольшое снижение активности фермента (рис. 6), сходное с реакцией на обессоливание [Турстон и др., 1979б]. Во втором опыте в речной воде содержание Ca^{++} увеличивалось до 210 мг/л. В этом случае активность СДГ в жабрах не отличается от контроля на протяжении всего опыта. Следовательно, ионы Ca^{++} не влияют на активность фермента. Повышение ее уровня при добавлении Ca^{++} во внешнюю среду можно объяснить некоторым увеличением общего числа хлоридных клеток и функциональным состоянием митохондрий.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных свидетельствует о высокой реагентности хлоридных клеток жабр рыб на изменение ионного состава внешней среды. Уже через 5 мин пребывания в закисленных речной и дистиллированной воде в хлоридных клетках отмечаются преобразования митохондрий и агранулярного цитоплазматического ретикулума. В последующие сроки воздействия наблюдается дальнейшее развитие процессов, происходящих на первых минутах воздействия. Эти данные доказывают, что исследование начальных этапов ответных реакций жаберного эпителия, почти не изученных в настоящее время, необходимо для формирования полного и правильного представления об адаптациях организма к повреждающим воздействиям среды и ранней диагностики патоморфологических изменений органов и тканей [Алмагамбетов, 1976, 1978; Матей и др., 1981].

Как было показано ранее [Турстон и др., 1979а,б], в дистиллированной воде первоначально происходят вакуолизация цитоплазмы хлоридных клеток, нарушение нормальной структуры митохондрий и агранулярного ретикулума и снижение активности СДГ. Аналогичные процессы наблюдаются в кислой речной и дистиллированной воде. В хлоридных клетках содержание митохондрий уменьшается за счет их лизиса. Если на первых минутах воздействия митохондрии в основном не отличаются по структуре от контрольных, то в дальнейшем (1–6 ч) они представлены в основном "набухшими" формами. Известно, что для последних характерны низкие показатели обмена и неспособность к регуляции синтеза АТФ [Митюшин, Козырева, 1978]. Резкое снижение активности СДГ, наблюдаемое в обоих экспериментах и наиболее ярко выраженное в дистиллированной воде, объясняется, по-видимому, уменьшением количества и общим состоянием митохондрий.

Повреждение нормальной структуры агранулярного цитоплазматического ретикулума нарушает работу "ионных насосов", что приводит к закислению крови и снижению в ней содержания Na^+ . В кислой дистиллированной воде параллельно с описанными изменениями происходят деструкция наружных цитоплазматических мембран и нарушение клеточных контактов. Этим объясняется увеличение проницаемости жабр и максимальное закисление крови.

Несмотря на то, что закисление среды в сочетании с изменением ее ионного состава является сильным повреждающим фактором, в жаберном эпителии рыб, особенно на первых этапах эксперимента, могут развиваться адаптивные реакции. Расширение зоны микропузырьков в апикальной части хлоридных клеток может в какой-то степени компенсировать редукцию трубочек агранулярного цитоплазматического ретикулума. Наряду с массовым отторжением клеток, формирующих поверхностные слои вставочного эпителия, отмечается появление "темных" хлоридных клеток, также способных осуществлять транспорт ионов. Сближенность клеточных органоидов, отмечаемая нами в экспериментах, характеризует усиление биохимических реакций в клетках [Збарский, 1973]. В "светлых" хлоридных клетках развиваются процессы, свидетельствующие об интенсификации синтеза белка: увеличивается содержание свободных рибосом, расширяется сеть гранулярного ретикулума. При действии кислой среды в

толерантном диапазоне эти реакции способствуют адаптации организма к повреждающему воздействию, нормализуя структуру и функцию жаберного эпителия рыб [Турстон и др., 1979а,б]. Однако действие сильного и длительного закисления среды в сочетании с изменением ее ионного состава препятствует дальнейшему развитию адаптивных реакций в жабрах и является одной из причин гибели рыб.

При добавлении солей кальция в кислую дистиллированную воду в жаберном эпителии подопытных рыб не отмечается деструктивных изменений, ультраструктура клеток не отличается от контроля. Реакция СДГ аналогична таковой при воздействии более мягких значений pH [Турстон и др., 1979б]. Эти данные служат подтверждением того, что кальций в кислой среде стабилизирует состояние жаберного эпителия и способствует нормализации работы "ионных насосов" и проницаемости жабр [Виноградов и др., 1979].

ЛИТЕРАТУРА

- Алмагамбетов Т.Н. Изменение ультраструктуры хлоридных клеток жаберного эпителия рыб на ранних стадиях при засолении. — В кн.: Тез. докл. X Всесоюз. конф. по электронной микроскопии. Ташкент, 1976, т. 2, с. 168–170.
- Алмагамбетов Т.Н. Контроль осмотичности при изучении ранних изменений ультраструктуры эпителиальных клеток. — В кн.: Тез. докл. XI Всесоюз. конф. по электронной микроскопии. Таллин, 1979, т. 2, с. 84.
- Виноградов Г.А. Некоторые аспекты адаптации водных животных с различными типами осморегуляции к понижению pH внешней среды. — В кн.: Физиология и паразитология пресноводных животных. Л.: Наука, 1979, с. 54–69.
- Виноградов Г.А., Гдовский П.А., Матей В.Е. Закисление водоемов и его влияние на метаболизм у пресноводных животных. — В кн.: Физиология и паразитология пресноводных животных. Л.: Наука, 1979, с. 98–116.
- Збарский И.Б. Связь ядерной оболочки со структурами цитоплазмы и механизмы ядерно-цитоплазматических отношений. — Успехи соврем. биологии, 1973, вып. 1, с. 3–25.
- Иост Х. Физиология клетки. М.: Мир, 1975.
- Матей В.Е. Ультраструктура хлоридных клеток жаберного эпителия трехиглой колюшки и карася. — Цитология, 1980, т. 22, № 12, с. 1387–1391.
- Матей В.Е., Харазова А.Д., Виноградов Г.А. Реакция хлоридных клеток жаберного эпителия колюшки на изменение pH и солености среды. — Цитология, 1981, т. 23, № 1, с. 1421–1427.
- Митюшин В.М., Козырева Е.В. Некоторые типы ультраструктуры митохондрий клеток животных и их связь с энергопродукцией. — Цитология, 1978, т. 20, № 4, с. 371–379.
- Наточин Ю.В., Крестинская Т.В. Сукцинатдегидраза и активный транспорт натрия в осморегулирующих органах позвоночных животных. — Физиол. журн., 1961, т. 47, № 10, с. 1306–1313.
- Наточин Ю.В., Хлебович В.В., Крестинская Т.В. Сукцинатдегидраза в транспортирующих натрий органах беспозвоночных животных. — ДАН СССР, 1961, т. 137, № 6, с. 1474–1476.
- Наточин Ю.В., Резник П.В., Шахматова Е.И., Лаврова Е.А. Адаптивные изменения активности сукцинатдегидрогеназы при различных функциональных состояниях почки крысы. — Там же, 1977, т. 237, № 2, с. 487–489.
- Турстон Р.В., Виноградов Г.А., Комов В.Т., Матей В.Е. Влияние низких значений pH, солей аммония и обессоливания на активность ферментов, обмен Na в жабрах и ультраструктуру хлоридных клеток у пресноводных рыб. Сообщение 1. — Информ. бюл. Ин-та биол. внутренних вод, 1979а, № 43, с. 18–23.
- Турстон Р.В., Виноградов Г.А., Комов В.Т., Матей В.Е. Влияние низких значений pH, солей аммония и обессоливания на активность ферментов, обмен Na в жабрах и

- ультраструктуру хлоридных клеток у пресноводных рыб. Сообщение 2. – Информ. бюл. Ин-та биол. внутренних вод, 1979, № 44, с. 75–79.
- Хлебович В.В. Гистохимическое исследование сукцинноксидазной системы некоторых гидробионтов. – ДАН СССР, 1963, т. 148, № 4, с. 966–969.
- Черницкий А.Г. Состояние хлоридных клеток на различных этапах жизненного цикла балтийского лосося. – Вопр. ихтиологии, 1979, т. 19, № 6, с. 1114–1119.
- Berridge M.J., Oschman J.L. Transporting epithelia. N.Y.; London: Acad. Press, 1972. 91 p.
- Coleman R., Yaron Z., Ilan Z. An ultrastructural of the mitochondria-rich "chloridal" cells from the gills of freshwater and seawater adapted *Tilapia aurea* subjected to a pesticide. – J. Fish. Biol., 1977, vol. 11, N 6, p. 589–594.
- Eddy F.B. The effect of calcium on gill potentials and in sodium and chloride fluxes in the goldfish, *Carassius auratus*. – J. Compar. Physiol., 1975, N 96, p. 131–142.
- Evans D.H. Ionic exchange mechanisms in fish gills. – Compar. Biochem., Physiol., 1975, vol. 51 A, N 3, p. 491–495.
- Fleming W.R., Nicols J., Potts W.T.W. The effect of low-calcium sea water and actinomycin-D on the sodium metabolism of *Fundulus kansae*. – J. Exp. Biol., 1974, vol. 60, N 2, p. 267–273.
- Garcia-Romeu D.F., Maetz J. The mechanisms of sodium and chloride uptake by the gills of a fresh water fish, *Carassius auratus*. 1. Evidence for an independent uptake of sodium and chloride ion. – J. Gen. Physiol., 1964, vol. 47, N 6, p. 1195–1227.
- Isala J., Masoni A. The effects of calcium and ionic permeabilities in the sea water adapted eel, *Anguilla anguilla* P. – J. Compar. Physiol., 1976, N 109, p. 221–233.
- Karnaky K.L., Stephen J.A., Philpott C.W. Teleost chloride cell. 1. Response of pupfish *Cyprinodon variegatus* gill Na–K–ATP-ase and chloride cell fine structure to various high salinity environments. – J. Cell. Biol., 1976a, vol. 70, p. 144–156.
- Karnaky K.L., Kinter J.L., Kinter W.R., Stirling C.E. Teleost chloride cell. 2. Autoradiographic localization on gill Na–K–ATP-ase in killifish, *Fundulus heteroclitus* adapted to low and high salinity environments. – J. Cell. Biol., 1976b, vol. 70, p. 157–177.
- Kerstetter T.H., Kirschner L.B. HCO₃-dependent ATP-ase activity in the gills of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). – Compar. Biochem. Physiol., 1974, vol. 48, N 4, p. 581–589.
- Kikuchi S. Mitochondria-rich (chloride) cells in the gill epithelia from four species of stenohaline fresh water teleosts. – Cell. Tiss. Res., 1977, vol. 180, N 1, p. 87–98.
- Maetz J. Origine de la difference de potential electrique transbranchiale chez le poisson rouge *Carassius auratus*. Importance de l'ion Ca⁺⁺. – C.R. Acad. Sci. (Paris), 1974, N 279, p. 1277–1280.
- Mizuhira V., Amakawa T., Yamashina S. et al. Electron microscopic studies on the localization of sodium–potassium–activated adenosinetriphosphatase in chloride cells of eel gills. – Exp. Cell. Res., 1970, vol. 59, N 2, p. 346–348.
- Morgan M., Tovell P.W. The structure of the gill of the trout, *Salmo gairdneri* R. – Z. Zellforsch., 1973, Bd. 142, N 2, S. 147–162.
- Motais R., Garcia-Romeu F. Transport mechanisms in the teleostean gill and amphibian skin. – Amer. Rev. Physiol., 1972, N 34, p. 141–176.
- Petrik P., Boucher O. A propos des "chloride cells" dans l'epithelium des lamelles branchiales du poisson rouge. – Z. Zellforsch., 1969, N 96, S. 66–74.
- Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. – J. Cell. Biol., 1963, N 17, p. 208–212.
- Sardet Ch., Pisam M., Maetz J. The surface epithelium of teleostean fish gills. – J. Cell. Biol., 1979, N 80, p. 96–117.
- Sargent J.R., Thomson A.S., Bornancin M. Activities and localization of succinic dehydrogenase and Na–K-activated adenosinetriphosphatase in the gill of fresh and sea water eels (*Anguilla anguilla*). – Compar. Biochem. Physiol., 1975, 51 B, N 1, p. 65–79.
- Shiral M., Urida S. Development and degeneration of the chloride cell during seawater and freshwater adapted of the Japanese eel. – Z. Zellforsch., 1970, Bd. 103, S. 247–264.
- Solomon R.I., Silva P., Bend J.R., Epstein F.H. Thiocyanate inhibition of ATPase and its relation to anion transport. – Amer. J. Physiol., 1975, vol. 229, N 3, p. 801–806.

ОБРАТИМОСТЬ ИНТОКСИКАЦИИ КАРПА КАРБОФОСОМ

В.И. КОЗЛОВСКАЯ, В.М. СТЕПАНОВА, Г.М. ЧУЙКО

Институт биологии внутренних вод АН СССР

Фосфорорганические пестициды — один из источников загрязнения окружающей среды. Масштабы их производства и применения исчисляются десятками тысяч тонн в год и неуклонно увеличиваются во всем мире [Мельников и др., 1977; Ето, 1976]. Хотя разложение этих соединений до простейших нетоксичных продуктов протекает довольно быстро по сравнению с хлорорганическими соединениями, однако они обнаруживаются в водоемах регионов с интенсивным сельским хозяйством [Коровин и др., 1976; Костовецкий и др., 1976; Bilikova, 1973].

В настоящее время в водной токсикологии наряду с общепринятыми показателями токсичности (летальность, нарушение роста, развития, размножения) рассматривается возможность использования биохимических тестов. Так как токсичность фосфорорганических соединений обусловлена их способностью необратимо ингибировать холинэстеразы, считается, что для фосфорорганических соединений таким показателем может являться степень угнетения этих ферментов и в первую очередь ацетилхолинэстеразы мозга [Weiss, 1961; Williams, Sova, 1966; Holland, Coppage, Batler, 1967; Coppage, Braidech, 1976].

При оценке возможности использования изменений активности ацетилхолинэстеразы как показателя загрязнения окружающей среды фосфорорганическими пестицидами особого внимания заслуживает вопрос восстановления активности фермента после прекращения воздействия токсического фактора.

Цель данной работы — изучение обратимости интоксикации карпа *Cyprinus carpio* карбофосом, широко применяемым фосфорорганическим пестицидом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования проводили на сеголетках (445 экз.), выращенных в прудовом хозяйстве института. Использовался 50%-ный концентрат эмульсии карбофоса. Опыты ставились в стандартных системах с постоянной аэрацией при температуре воды 16°, объем раствора токсиканта в каждом аквариуме составлял 100 л. Изучали сублетальную интоксикацию (концентрация карбофоса 30 мг/л, экспозиция 20 суток), острую интоксикацию (LC_{50} 50 мг/л, экспозиция 48 ч; LC_{100} 100 мг-л, экспозиция 2 ч) и обратимость острой интоксикации (при LC_{50} токсический раствор заменяли чистой водой на стадиях интоксикации, повышенной чувствительности и потери рефлекса равновесия; при LC_{100} — на стадиях интоксикации, потери рефлекса равновесия и потери чувствительности). Проводили наблюдения за состоянием рыб: учитывали двигательную активность, реакцию на звуковые и тактильные раздражения, изменение окраски покровов, число погибших рыб и активность ацетилхолинэстеразы мозга.

Для биохимических исследований извлекали мозг. Пробы мозга замо-

раживали и гомогенизировали на холоду в стеклянном гомогенизаторе, центрифугировали при 3500g и температуре -2°C в течение 10 мин. Гомогенаты готовили на фосфатном буфере (pH 7,5) в разведении 1:1500. Активность ацетилхолинэстеразы определяли методом Элмана в модификации М.Н. Масловой и Н.В. Резника [1976].

Для определения активности фермента в пробирки вносили по 3 см³ суспензии гомогената, 0,5 см³ смеси 0,001 М ДТНБ и 0,0006 М ацетилтиохолинйодида в соотношении 1:1. Использовали коммерческие препараты: ацетилтиохолинйодид фирмы "Sigma" и ДТНБ фирмы "Aldrich" (США). Пробы инкубировали в водяной бане при температуре 30° в течение 30 мин. Гидролиз ацетилтиохолинйодида останавливали прозерином. Пробы фотометрировали на спектрофотометре "Spektromom-204" при длине волны 412 нм. Активность фермента измеряли сразу после приготовления гомогенатов. Молярная экстинкция ДТНБ 14 823. Исследования по каждой точке опыта проводили на 7-16 рыбах, каждую пробу дублировали дважды. Расчет активности ацетилхолинэстеразы проводили по начальной скорости реакции в 1 мкМ ацетилтиохолинйодида на 1 г ткани мозга в 1 ч.

Результаты обрабатывали статистически. Высчитывали среднюю арифметическую (\bar{x}) и ошибку средней ($S_{\bar{x}}$). Достоверность различия средних арифметических оценивали по критерию Стьюдента (t) при уровнях значимости 0,001 или 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Симптомокомплекс интоксикации карпа карбофосом в сублетальной и острой концентрациях почти аналогичны. Различия имеются во времени и в степени проявления идентичных симптомов. В общей картине интоксикации прослеживаются следующие стадии: повышенная возбудимость, нарушение координации движений, потеря рефлекса равновесия, потеря чувствительности, гибель рыб (табл. 1).

Достоверные изменения активности ацетилхолинэстеразы мозга в сублетальной концентрации выявились уже на стадии повышенной возбудимости, когда рыбы принимали вертикальное положение, судорожно заглатывали воздух, мгновенно реагировали на внешние раздражения. Гидролизующая способность фермента к этому времени уменьшилась до 206,5 мкМ АТХ/г/ч (контроль 375,4 мкМ АТХ/г/ч) (рис. 1). По мере проявления симптомов отравления активность фермента снижалась и при потере рефлекса равновесия составила 57,8 мкМ АТХ/г/ч (15,5% от контроля).

В дальнейшем состояние рыб улучшилось. Через 2 суток восстановился рефлекс равновесия. Несколько выше стала и активность ацетилхолинэстеразы, но в целом и через 2 и 5 суток уровень фермента был очень низким — 72,7 и 82,6 мкМ АТХ/г/ч соответственно. На 10-е сутки рыбы внешне не отличались от контрольных особей, однако активность фермента составляла 40,6% контрольного уровня. Полного восстановления активности фермента не наблюдалось и на 20-е сутки.

При более сильном токсическом эффекте (LC_{50} 50 мг/л, экспозиция 48 ч) на стадии повышенной возбудимости гидролизующая способность фермента снизилась до 168,9 мкМ АТХ/г/ч (см. рис. 1). Через 24 ч 30

Таблица 1

Время появления симптомов интоксикации карпа карбофосом

Симптомы интоксикации	Сублетальная кон- центрация	Острая интоксикация	
		С ₅₀ , экспозиция 48 ч	LC ₅₀ , экспози- ция 2 ч
Состояние повышенной воз- будимости	20–45 мин	35 мин	7–10 мин
Нарушение координации движений	1 ч 45 мин	45 мин	10–15 мин
Потеря рефлекса равновесия	9 ч – 1 сутки	1 ч	15–25 мин
Потеря чувствительности	Не наблюдалась	24 ч	1 ч
Гибель рыб	0	24 ч (30%) 48 ч (50%)	2 ч (100%)

Примечание. В скобках приведен процент гибели.

рыб погибло, остальные были в боковом положении на дне аквариума. Рыбы, лежащие на дне аквариума, не реагировали на раздражения, но жаберные крышки двигались. Активность фермента была очень низкой – 29,2 мкМ АТХ/г/ч. У погибших рыб фермент угнетен в меньшей степени, чем у рыб при потере чувствительности. Гидролизующая способность фермента у них сохранилась до 45,3 мкМ АТХ/г/ч.

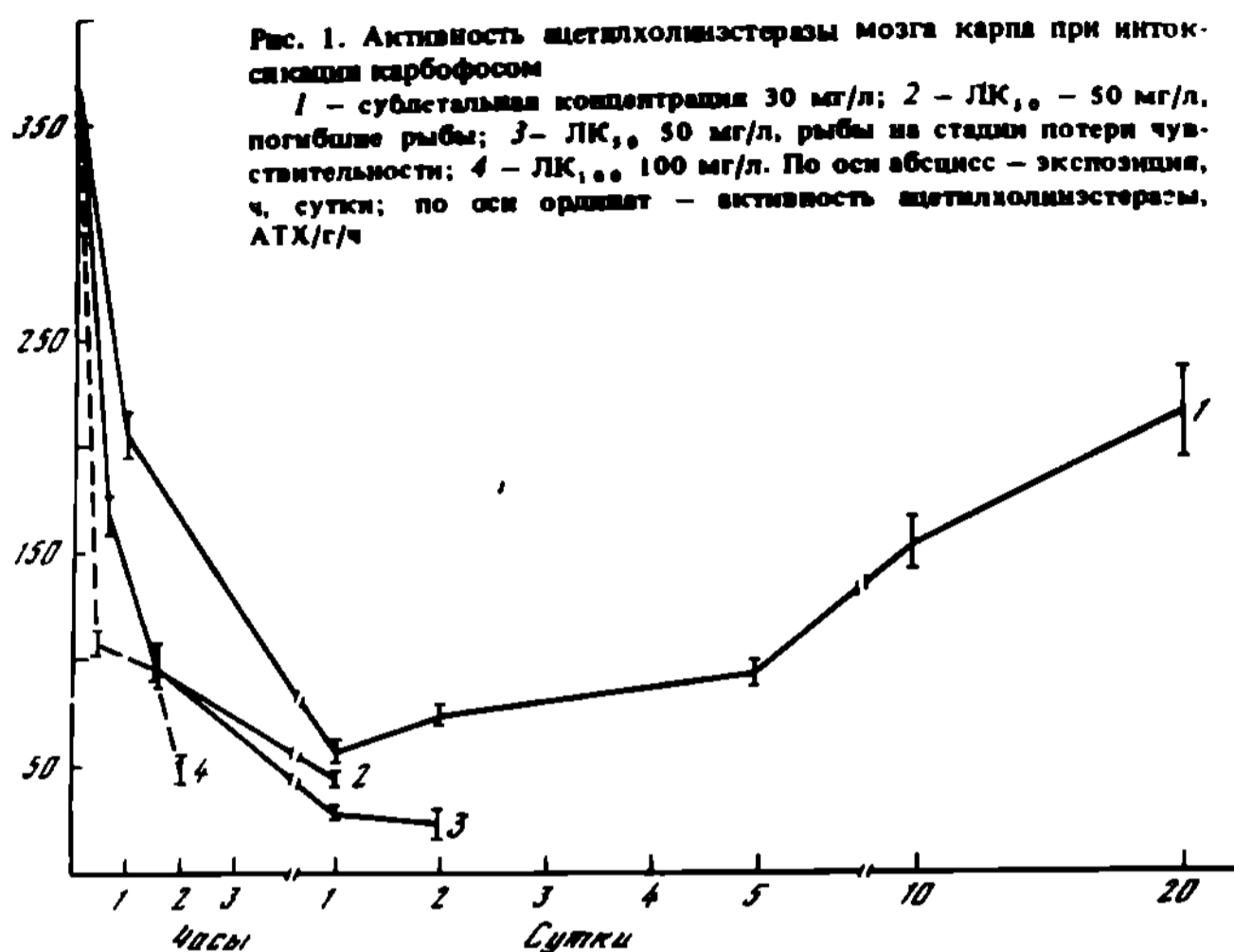
При токсическом эффекте (LC₁₀₀ 100 мг/л, экспозиция 2 ч) процесс отравления рыб протекал очень быстро. Все рыбы погибли через 2 ч опыта. Активность фермента по мере проявления симптомов отравления быстро снижалась, но гибель рыб наступила не при полном угнетении фермента (см. рис. 1). У погибших рыб гидролизующая способность фермента сохранилась до 49,9 мкМ АТХ/г/ч.

Изучая обратимость отравления, рыб пересаживали в чистую воду на разных стадиях интоксикации. При замене раствора карбофоса (LC₅₀) чистой водой на стадии повышенной возбудимости состояние рыб быстро нормализовалось, через 1 ч 30 мин внешне они не отличались от контрольных особей. Активность ацетилхолинэстеразы за это время увеличилась незначительно – на 16,8 мкМ АТХ/г/ч (табл. 2).

При отсаживании рыб на стадии потери рефлекса равновесия также наблюдалась быстрая нормализация состояния. Однако угнетение ацетилхолинэстеразы сохранялось длительное время и через 10 суток достоверно отличалось от контроля (рис. 2, А).

У рыб, перенесенных из раствора карбофоса (LC₁₀₀) при нарушении рефлекса равновесия, в течение первого часа восстановилась способность нормально плавать, однако увеличения активности фермента при этом не отмечено, напротив, она снизилась с 109,9 мкМ АТХ/г/ч до 69,4 мкМ АТХ/г/ч. Через 6 ч 30 мин после замены токсической среды на чистую воду состояние рыб не отличалось от контроля. Активность фермента постепенно увеличивалась, но длительное время была ниже уровня контроля (см. рис. 2, Б).

Стадия потери чувствительности обратима частично. 50% рыб, перенесенных в чистую воду, погибло при уровне активности фермента



52,9 мкМ АТХ/г/ч. У рыб, состояние которых улучшилось, гидролизующая способность фермента увеличилась за сутки почти в 2 раза (с 99,5 до 161,4 мкМ АТХ/г/ч) (табл. 3).

Таким образом, при прекращении контакта с токсикантом на стадиях интоксикации повышенная возбудимость и потеря рефлекса равновесия рыбы через несколько часов внешне не отличались от контрольных особей. Однако активность ацетилхолинэстеразы мозга к этому времени восстано-

Таблица 2

Изменение активности ацетилхолинэстеразы мозга карпа при интоксикации карбофосом (LC₅₀) и последующей замене токсической среды чистой водой на стадии повышенной возбудимости

Время опыта, состояние рыб	Активность ацетилхолинэстеразы	
	мкМ АТХ/г/ч $\bar{x} \pm S\bar{x}$	К контролю, %
LC ₅₀ 50 мг/л		
35 мин, состояние повышенной возбудимости	168,9 ± 9,9	45,3
Токсический раствор заменен чистой водой		
65 мин, рыбы держатся у поверхности воды	187,6 ± 15,8	50,3
1 ч 30 мин, состояние рыб не отличается от контроля	185,7 ± 10,4	49,8

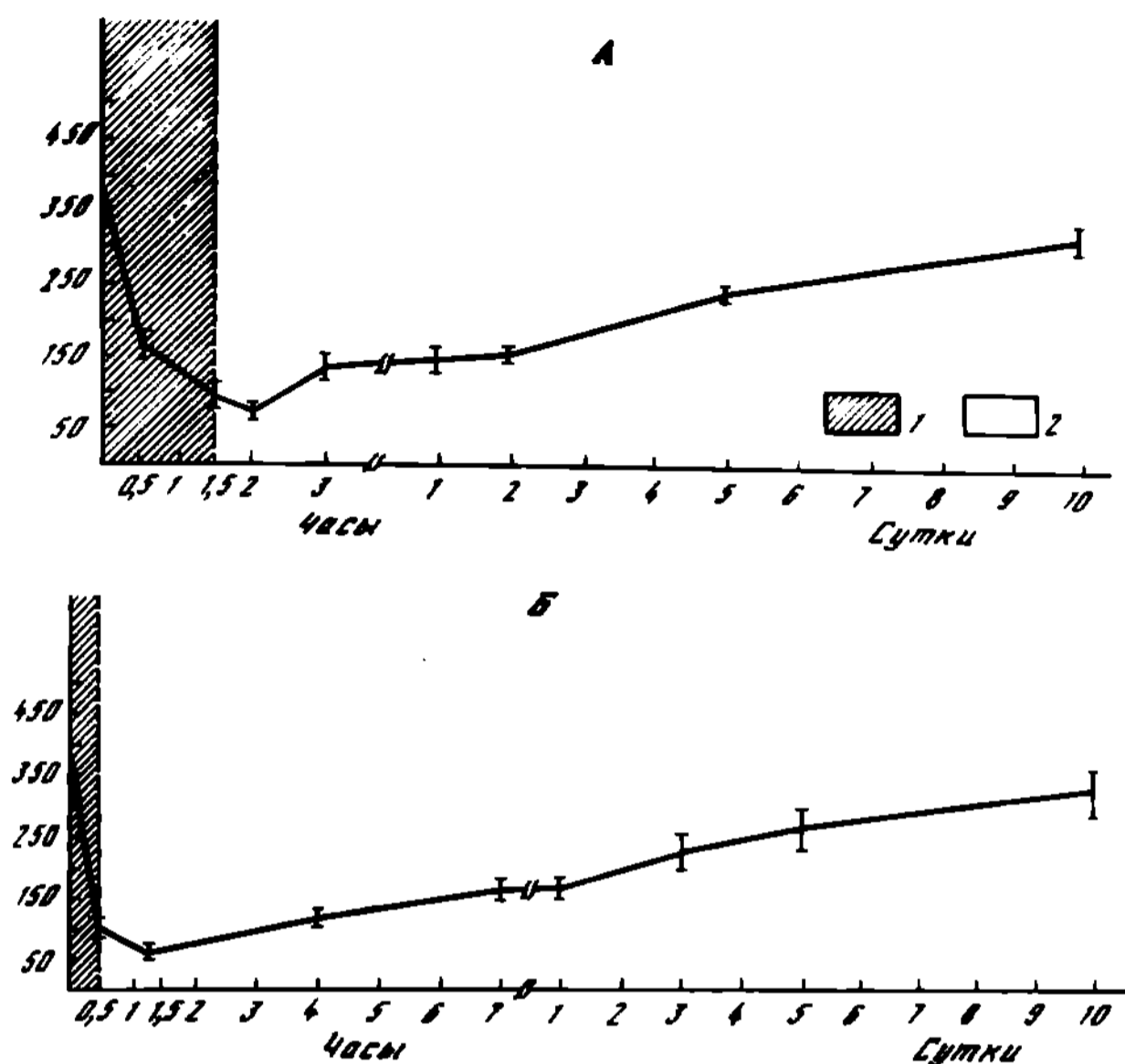


Рис. 2. Активность ацетилхолинэстеразы мозга карпа при интоксикации карбофосом ЛК₅₀ 50 мг/л (А) и ЛК₁₀₀ – 100 мг/л (Б) с последующей заменой токсической среды чистой водой на стадии потери рефлекса равновесия.

1 – карбофос; 2 – чистая вода. По оси абсцисс – экспозиция, ч, сутки; по оси ординат – активность ацетилхолинэстеразы, АТХ/г/ч

ливалась частично, в среднем до 45%. Аналогичные результаты получены на рыбах, перенесенных в чистую воду на стадии потери чувствительности, интоксикация которых не закончилась летальным исходом (табл. 4). Прирост скорости восстановления активности фермента до исчезновения у рыб внешних симптомов отравления был наибольшим. В дальнейшем он снижался в среднем до 0,1% и оставался на таком уровне в течение 10 суток (рис. 3).

Во всех рассмотренных случаях интоксикации карпа карбофосом, несмотря на быстрое восстановление гидролизующей способности фермента до уровня ~45% к контролю в период исчезновения внешних симптомов отравления, полное восстановление его активности продолжалось длительное время (10–20 суток). Сходные результаты получены при исследовании действия карбофоса в сублетальных концентрациях на другие виды рыб. Так, у ручьевой форели *Salvelinus fontinalis*, радужной форели *Salmo gairdnerii*, кишуча *Oncorhynchus kitusch* при 7–10-дневном воздействии карбофосом в концентрации 0,4–3,0 мг/л ацетилхолинэстераза мозга

Т а б л и ц а 3

Изменение активности ацетилхолинэстеразы мозга карпа при интоксикации карбофосом (LC_{100}) и последующей замене токсической среды чистой водой на стадии потери чувствительности

Время опыта, состояние рыб	Активность ацетилхолинэстеразы	
	мкМ АТХ/г/ч $\bar{x} \pm S\bar{x}$	К контролю, %
LC_{100} 100 мг/л		
1 ч 30 мин, потеря чувствительности	99,5 \pm 5,8	25,1
Токсический раствор заменен чистой водой		
24 ч		
Мертвые	52,9 \pm 6,9	14,2
Состояние рыб не отличается от контроля	161,4 \pm 10,5	43,3

Т а б л и ц а 4

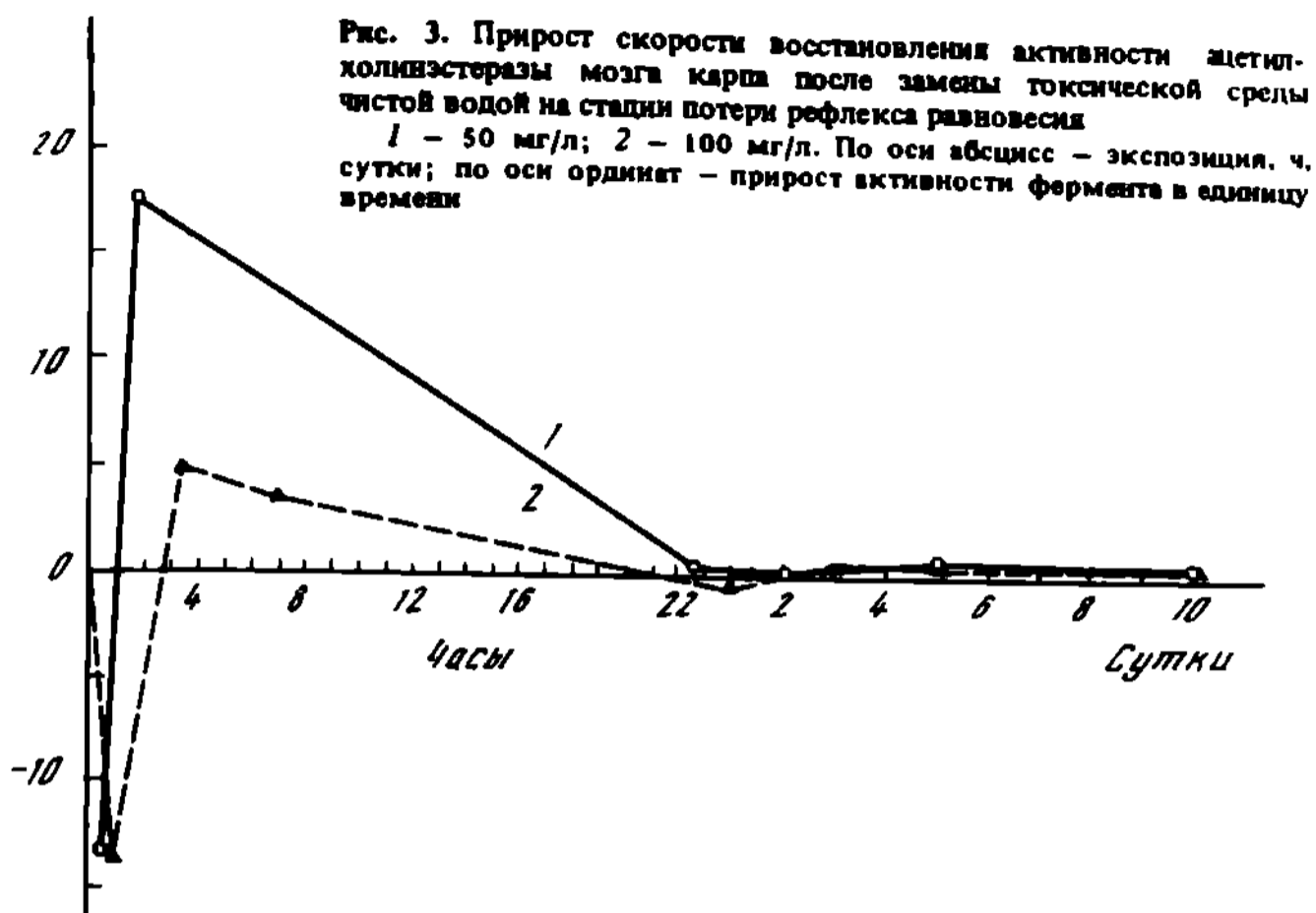
Активность ацетилхолинэстеразы мозга рыб, состояние которых восстановилось до уровня контроля после замены токсической среды чистой водой

Степень интоксикации	Время пребывания рыб в чистой воде, часы	Активность ацетилхолинэстеразы, % к контролю
LC_{50} 50 мг/л		
Состояние повышенной возбудимости	1	49,8
Потеря рефлекса равновесия	1,5*	37,4
LC_{100} 100 мг/л		
Потеря рефлекса равновесия	6,5	45,0
Потеря чувствительности	24	43,3

* Поведение рыб не отличается от контроля, но покровы более темные.

была снижена до 25, 45, 75% от уровня контроля для каждого вида. Исходная активность фермента восстановилась на 25–42-й день в зависимости от вида [Post, Leasure, 1974].

Видовая специфичность в реакции на токсикант и в восстановлении активности фермента после прекращения действия токсического фактора показана при изучении обратимости интоксикации четырех видов рыб карбофосом, паратионом, дельнавом и ДДВФ. У ушастого окуня *Lepomis macrochirus* в растворе карбофоса 0,1 мг/л при экспозиции 12 ч активность фермента снизилась на 82%, а у менее чувствительного вида черноголовой пимефалес *Pimephales promelas* в той же концентрации токсиканта при экспозиции 24 ч — только на 20%. При замене токсической среды на чистую воду у черноголовой пимефалес активность фермента восстановилась за 8 суток, а у ушастого окуня — до 90% через 30 суток. Большее угнетение фермента и более медленное его восстановление наблюдалось



у ушастого окуня также по сравнению с серебряным карасем *Cerassius auratus*, нотемигонусом *Notemigonus crysoleucas* и черноголовой пимефалес при воздействии четырех других пестицидов в той же концентрации [Weiss, 1961].

Пониженный уровень активности ацетилхолинэстеразы сохранялся в течение 8 дней у карпа после 48 ч экспозиции в метамидофосе 20 мг/л [Chin, Sudderuddin, 1979]. У личинок севрюги *Asipenser stellatus*, подвергавшихся воздействию метилнитрофоса в концентрации 0,01 и 0,1 мг/л, активность ацетилхолинэстеразы на 10-е сутки после замены токсических растворов чистой водой приблизилась к уровню контроля, но полностью не восстановилась [Прокопенко и др., 1976].

Таким образом, литературные данные и результаты нашего исследования свидетельствуют, что пониженная активность ацетилхолинэстеразы мозга сохраняется у рыб длительное время после прекращения воздействия фосфорорганических соединений как в острых, так и в сублетальных концентрациях.

ВЫВОДЫ

1. В симптомокомплексе интоксикации карпа карбофосом выявляются следующие стадии: состояние повышенной возбудимости, нарушение координации движений, потеря рефлекса равновесия, потеря чувствительности, гибель рыб. Все стадии интоксикации, кроме стадии потери чувствительности, высокообратимы. После прекращения контакта рыб с токсикантом на стадии потери чувствительности выживает 50% рыб.

2. Интоксикация карпа карбофосом сопровождается угнетением активности ацетилхолинэстеразы мозга, но корреляции между токсическим

эффектом и степенью угнетения фермента не выявлено. У погибших рыб фермент угнетен в меньшей степени, чем у рыб при потере чувствительности.

3. При сублетальном эффекте и при острой интоксикации рыб с последующей заменой токсической среды чистой водой ингибирование фермента сохраняется длительное время. Внешние симптомы отравления исчезают раньше, чем восстанавливается активность фермента. К моменту исчезновения внешних симптомов отравления активность ацетилхолинэстеразы мозга составляет в среднем 45% к контролю. —

ЛИТЕРАТУРА

- Коровин В.И., Секушенко Н.И., Коровин А.В. Фосфор- и хлорорганический сток р. Кубани. — Тез. докл. Всесоюз. науч.-техн. совещ. "Охрана воды от загрязнения ядохимикатами и удобрениями". М.: Наука, 1976, с. 88–91.
- Костовецкий Я.И., Найштейн С.Я., Толстомятова Г.В., Чегринцев Г.Я. Гигиенические аспекты применения пестицидов на водосборных территориях водоемов. — Вод. ресурсы, 1976, № 1, с. 167–172.
- Маслова М.Н., Резник Н.В. Угнетение холинэстеразной активности в мозге крыс фосфорорганическими ингибиторами с различной степенью гидрофобности. — Укр. биохим. журн., 1976, т. 48, № 4, с. 450–454.
- Мельников Н.Н., Волков А.Н., Короткова О.А. Пестициды и окружающая среда. М.: Химия, 1977.
- Прокопенко В.А., Косинова Н.Р., Волинская Э.М. Некоторые особенности токсического действия метилнитрофоса и изопрофа на личинку севрюги *Asipenser stellatus*. — В кн.: Экспериментальная водная токсикология. Рига: Зинатне, 1976, вып. 6, с. 178–186.
- Billkova A. Pestizidy v povrchovych vodach Slovenska. — Vodni Hospodarstvi, 1973, sv. 21, s. 10, s. 261–263.
- Chin Y.N., Sidderuddin K.I. Effect of methamidophos on the growth rate and esterase activity of the common carp *Cyprinus carpio* L. — Environ. Pollut., 1979, vol. 18, p. 231–220.
- Coppage D.L., Braidech T.E. River pollution by anticholinesterase agents. — Water Research, 1976, vol. 10, p. 19–24.
- Eto M. Organophosphorus pesticides. Organic and biological chemistry. Fukuoka, Japan, 1976.
- Holland H.T., Coppage D.L., Butler P.A. Use of fish brain acetylcholinesterase to monitor pollution by organophosphorus pesticides. — Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1967, vol. 2, N 3, p. 156–162.
- Post G., Leasure R.A. Sublethal effect of malathion to three salmonid species. — Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1974, vol. 12, N 3, p. 312–319.
- Weiss C. Physiological effect of organic phosphorus insecticides on several species of fish. — Trans. Amer. Fish. Soc., 1961, vol. 90, p. 143–152.
- Williams A.K., Sova C.R. Acetylcholinesterase levels in brains of fishes from polluted waters. — Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1966, N 1, p. 198–204.

ВЛИЯНИЕ КАЛЬЦИЯ НА МИНЕРАЛЬНЫЙ ОБМЕН И УЛЬТРАСТРУКТУРУ ЖАБР У ПРЕСНОВОДНЫХ РЫБ

Г.А. ВИНОГРАДОВ, В.Е. МАТЕЙ, Е.С. ДАЛЬ

Институт биологии внутренних вод АН СССР

Ионный гомеостаз у пресноводных рыб осуществляется согласованной работой систем абсорбции солей из внешней среды и удаления избыточной воды из организма. Необходимость активного транспорта солей и сопряженных с ним энергетических затрат вызвана постоянной диффузией ионов из организма вследствие сравнительно высокой проницаемости жабр. В последнее время было показано, что проницаемость жаберного эпителия рыб для Na^+ и Cl^- в значительной степени зависит от наружной концентрации ионов кальция [Пирузян и др., 1974; Проссер, 1977; Маленков и Чуич, 1979; Potts, Fleming, 1970, 1971; Maetz, 1974]. Общая проницаемость ткани для вещества определяется ее клеточной (мембранной) и межклеточной составляющими. По современным представлениям, кальций принимает участие в регуляции проницаемости как наружных цитоплазматических мембран, так и межклеточных пространств. Способность кальция ограничивать межклеточную проницаемость объясняется тем, что ионы кальция являются одним из компонентов межклеточного "цемента", обеспечивающего контакты клеток [Пирузян и др., 1974; Комиссарчик и др., 1976, 1978; Маленков, Чуич, 1979].

У пресноводных животных величина проницаемости покровов (в особенности дыхательного эпителия) для неорганических ионов может лимитировать границы ареала распространения и иметь решающее значение для выживания вида при изменении параметров внешней среды [Виноградов, 1976; Shaw, 1961; Sutcliffe, 1968]. Содержание кальция в пресных водоемах колеблется очень существенно (от единиц до сотен мг/л). В связи с этим у одного и того же вида, обитающего в водоемах с различной концентрацией кальция, проницаемость жаберного эпителия и, следовательно, уровень обмена с внешней средой будут неодинаковыми.

Представляет интерес исследование ситуации в водоемах с низкой минерализацией, в которых из-за выпадения кислых осадков, вызванных антропогенным загрязнением атмосферы, происходит прогрессирующее снижение pH [Beamish, Harvey, 1972; Likens et al., 1979].

Один из аспектов токсического действия повышенной кислотности — нарушение минерального обмена у рыб; степень нарушения ионного обмена и повреждения жаберного эпителия зависят от концентрации кальция в наружной среде [Виноградов и др., 1978; Packer, Dunson, 1972]. На основании этого было высказано предположение, что в основе защитного действия кальция для рыб при кислотном отравлении лежит способность этих ионов цементировать межклеточные соединения при воздействиях дезинтегрирующих жаберный эпителий [Виноградов и др., 1979]. Роль кальция в переносе Na^+ и K^+ через дыхательный эпителий, а также собственно кальциевый транспорт практически не изучены, существующие гипотезы не являются достаточно доказательными [Isaia, Masoni, 1976].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проводились на карасях *Carassius carassius* L. весом 8–10 г и окунях *Percu fluviatilis* L. весом 10–12 г. Контрольную группу карасей содержали в аквариуме с речной водой с pH 7,6 и концентрацией Ca^{++} 50 мг/л. В эксперименте карасей помещали в аквариумы с водой при pH 3,8, поддерживаемой автоматическим титрованием разбавленной HCl с точностью $\pm 0,05$. Подкисленную среду применяли в трех вариантах: 1) речная вода, 2) дистиллированная вода, 3) раствор CaCl_2 , содержащий 70 мг/л, Ca^{++} . Температура воды во всех аквариумах составляла 18–20°.

Содержание Na^+ в воде и крови у карася определяли методом фотометрии в пламени, pH крови измеряли миниатюрным электродом фирмы Beckman pH Electrode-39045 (США). Влияние Ca^{++} на проницаемость жабр у окуня и карася по отношению к Na^+ изучали путем определения скорости выхода Na^+ в дистиллированной воде и в растворе CaCl_2 , поскольку практически весь натрий диффундирует наружу через жабры. Их проницаемость рассчитывали из отношения скорости потери Na^+ к его концентрации в крови.

Материалом для электронно-микроскопических исследований служили средние участки 2-й и 3-й жаберных пластинок карасей, которые фиксировали в охлажденном 2,5%-ном глутаральдегиде на 0,1 М фосфатном буфере с pH 7,4, дофиксировали 1%-ным раствором четырехокси осмия с добавлением танина, обезжизивали в восходящем ряду спиртов и окиси пропилен и заливали в аралдит. Ультратонкие срезы контрастировали 2%-ным спиртовым раствором уранилацетата, окрашивали цитратом свинца по стандартной методике [Reynolds, 1963] и просматривали под электронным микроскопом JEM = 100C при ускоряющем напряжении 80 кВ. На каждое измерение в физиологических экспериментах использовали 4–8 рыб, для электронной микроскопии — 4–5.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Эксперименты, в которых изучалось влияние кальция на проницаемость жаберного эпителия карасей для натрия при нейтральной реакции среды (pH 6,8–7,0), показали, что увеличение концентрации Ca^{++} в воде снижает выход Na^+ из организма. Увеличение содержания кальция выше 30 мг/л практически не влияет на утечку Na^+ через жабры, а уменьшение концентрации кальция ниже 10 мг/л вызывает резкое повышение проницаемости жабр у карася. Снижение pH с 6,8 до 3,8 в дистиллированной воде многократно увеличивает скорость выхода Na^+ у рыб (рис. 1, а). Эти данные показывают, что увеличение концентрации кальция в воде оказывает на жаберный эпителий влияние, противоположное снижению pH среды.

Основные изменения в проницаемости жабр для натрия наблюдаются в течение первых 15 мин после добавления кальция как в кислой (pH 3,8), так и в нейтральной (pH 6,8) средах (см. рис. 1, б). Однако в подкисленной дистиллированной воде при добавлении кальция выход Na^+ уменьшается более чем в 5 раз по сравнению с таковым в нейтральной среде. Динамика процесса увеличения проницаемости у карасей, помещенных в дистиллированную воду с pH 3,8, обратно пропорциональна ее изменению при действии кальция. Наиболее значительное увеличение проницаемости

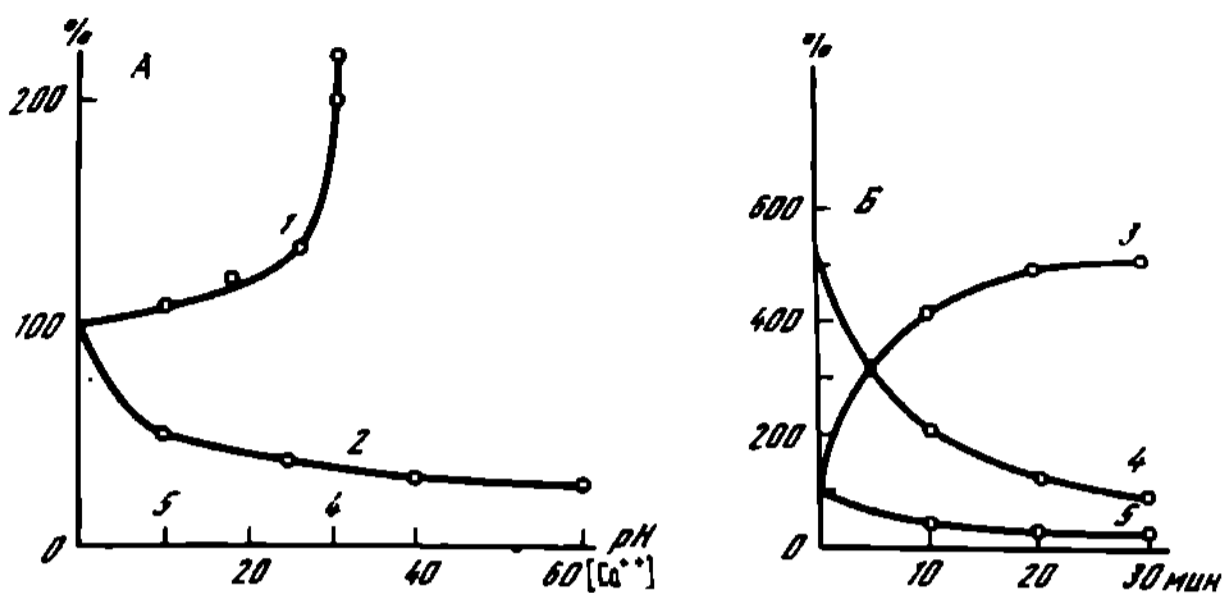


Рис. 1. Влияние наружной концентрации Ca^{++} и H^+ на проницаемость жабр карася для Na^+

А — проницаемость жабр в зависимости от концентрации Ca^{++} и H^+ в среде; Б — изменение проницаемости жабр под воздействием Ca^{++} и закисления среды; 1 — проницаемость при изменении pH среды; 2 — проницаемость при изменении содержания Ca^{++} в среде при pH 6,8 — 7,0; 3 — действие pH 3,8 на проницаемость в дистиллированной воде; 4 — влияние Ca^{++} (70 мг/л) на проницаемость при pH 3,8; 5 — то же при pH 6,8. По оси абсцисс: А — pH, концентрация Ca^{++} , мг/л; Б — время, мин; по оси ординат — проницаемость для Na^+ , % от контроля

отмечается в течение первых минут пребывания рыб в кислой среде (см. рис. 1, б).

Исследования ультраструктуры жабр рыб, помещенных в дистиллированную подкисленную воду, показали, что клетки, формирующие жаберный эпителий, подвергаются в процессе эксперимента глубоким перестройкам. Параллельно с этим были выявлены изменения в структуре клеточных мембран и межклеточных соединений.

В норме клетки, формирующие жаберный эпителий рыб, образуют между собой специализированные соединения; у пресноводных рыб — это чаще всего плотные контакты, обеспечивающие избирательный транспорт веществ через эпителий [Маленков, Чунч, 1979; Гербицкий, 1980; Снигиревская, Комиссарчик, 1980; Armstrong, Jones, 1968], и простые соединения (рис. 2, а), основная функция которых состоит в обеспечении механической связи в области межклеточных контактов [Архипенко и др., 1975; Orci et al., 1971].

Через 30 мин с начала эксперимента нарушается целостность наружных цитоплазматических мембран. Это выражается в появлении перфораций клеточных мембран, лизисе их отдельных участков и образовании обширных полостей, содержащих аморфный осмирующийся материал (см. рис. 2, б, в). Эти изменения сохраняются и через 1 ч воздействия (см. рис. 2, г).

Через 3 ч в зоне простых соединений отмечаются локальные расширения межклеточных пространств, достигающие 50–70 нм по сравнению с 10–20 нм в контроле, и нарушение контактов между клетками (см. рис. 2, д, е). Участки сближения мембран имеют большую электронную плотность, чем области локальных расширений, зоны плотных соединений не повреждены.

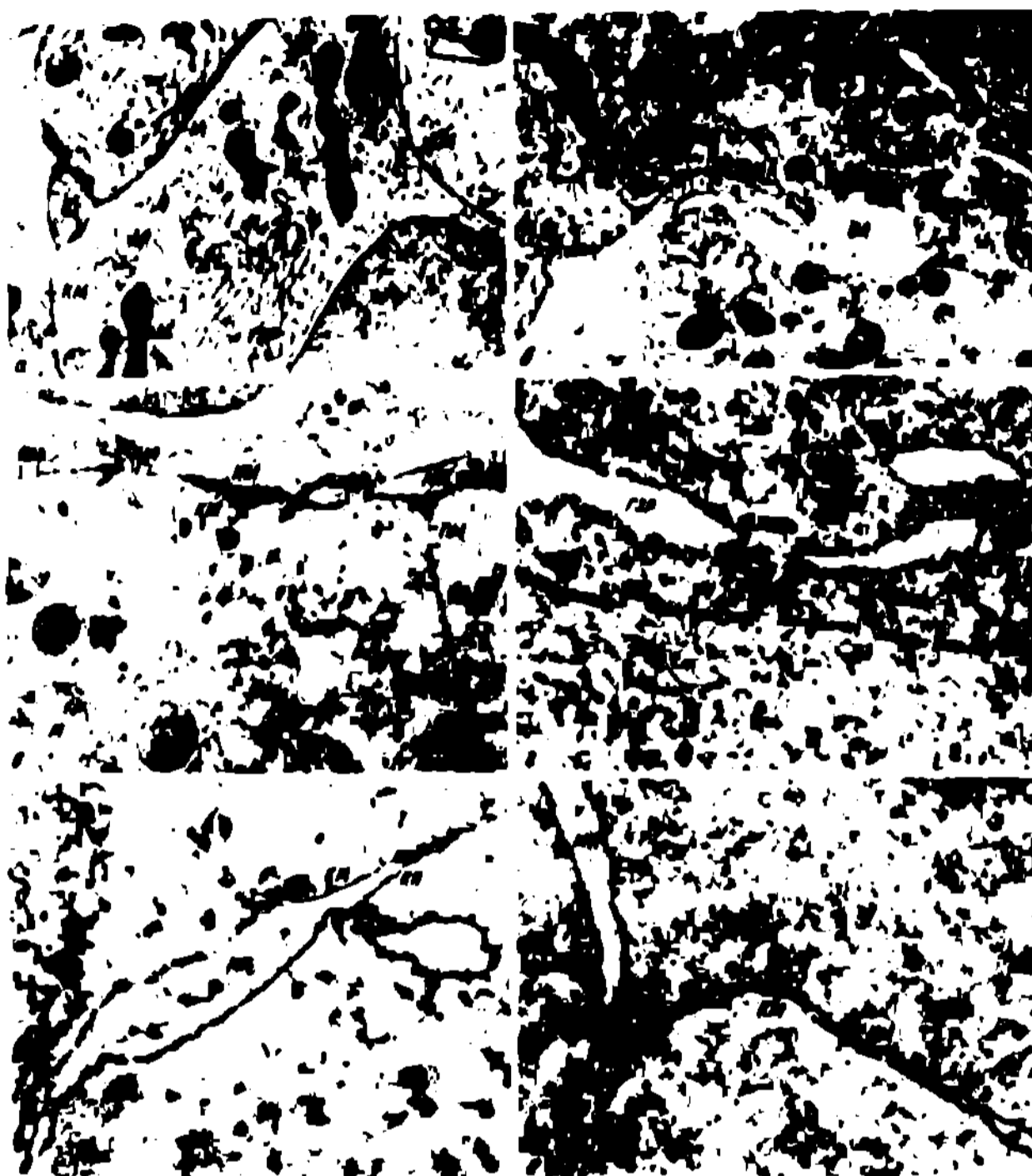


Рис. 2. Состояние жаберного эпителия карася при действии подкисленной дистиллированной воды (б-г) (рН 3,8)

а — контроль, речная вода, рН 7,6; б — 30 мин, нарушение целостности наружных цитоплазматических мембран и образование очагов лизиса; в — 30 мин, расхождение клеточных мембран, заполнение межклеточных пространств электронно-плотным веществом, перфорации мембран; г — 1 ч, перфорации наружных цитоплазматических мембран; д — 4 ч размыкание клеточных контактов; е — 3 ч, расширение межклеточных пространств, нарушение целостности наружных цитоплазматических мембран; *КМ* — клеточная мембрана; *М* — митохондрия; *ГЭР* — гранулярный ретикулум; *АР* — агранулярный ретикулум; *ОЛ* — очаг лизиса; *ПМ* — перфорация мембраны; *МП* — межклеточное пространство. Увел: а, X 8300, б, в, X 13 000, г-е, X 96 000

Рис. 3. Состояние жаберного эпителия карася при действии подкисленной дистиллированной воды (рН 3,8) и раствора CaCl_2 (рН 3,8)

а — подкисленная дистиллированная вода, 6 ч, максимальное расширение межклеточных пространств, расхождение клеточных мембран соседних клеток; б — CaCl_2 , рН 3,8, 30 мин, сохранность структуры клеточных соединений трех смежных клеток; в — CaCl_2 , рН 3,8, 6 ч, сохранность структуры клеточных соединений.

Остальные обозначения те же, что и на рис. 2, X 16 000



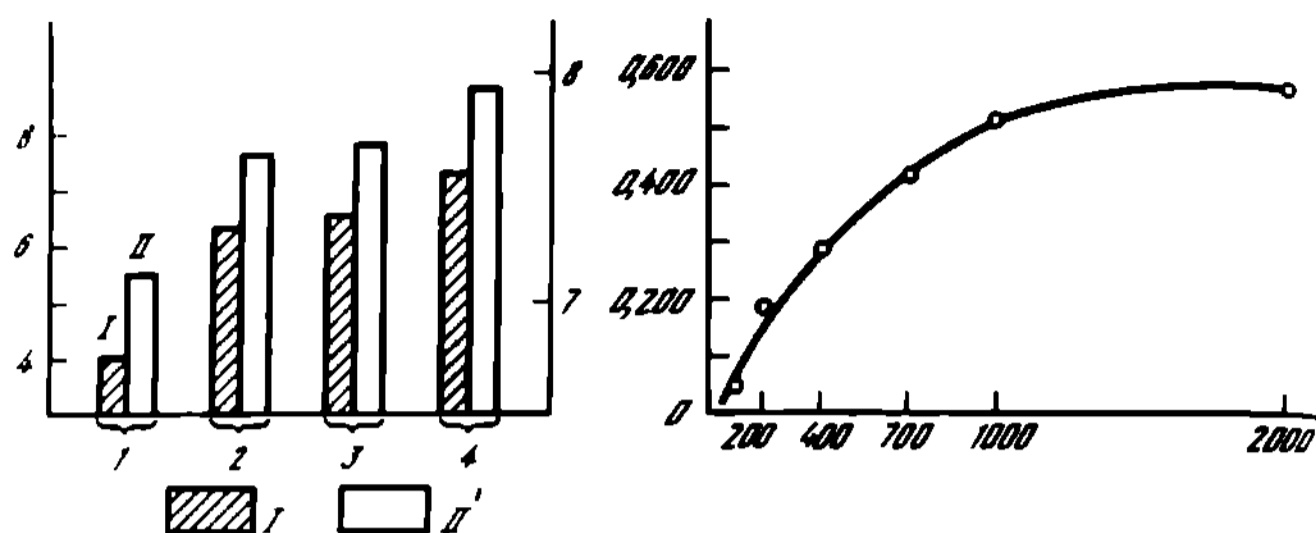


Рис. 4. Содержание Na^+ в крови и pH крови у карася после 6-часового выдерживания в средах с различным ионным составом

1 – дистиллированная вода, pH 3,8; 2 – речная вода, pH 3,8; 3 – дистиллированная вода + 70 мг/л Ca^{++} , pH 3,8; 4 – речная вода, pH 6,8 (контроль); I – содержание Na^+ в крови; II – pH крови. По оси ординат: слева – концентрация Na^+ , г/л, справа – pH

Рис. 5. Поглощение Ca^{++} в зависимости от его концентрации в наружной среде

По оси абсцисс – концентрация Ca^{++} в мкМ/л; по оси ординат – скорость поглощения Ca^{++} , в мкМ/г·час

Такие нарушения классифицируются как слабые, сила сцепленности клеток в этом случае уменьшается в 1,5–2 раза [Маленков, Чуич, 1979].

Через 6 ч пребывания рыб в закисленной среде, незадолго до их гибели, происходят максимальное расширение межклеточных пространств до 120–150 нм в зоне простых соединений и частичное нарушение структуры плотных соединений, приводящие к деструкции клеточных контактов и дезагрегации тканей (рис. 3,а). Такое повреждение рассматривается как "полное", сила сцепленности клеток в этом случае уменьшается в 50–100 раз [Маленков, Чуич, 1979]. Эти процессы способствуют быстрому отторжению жаберного эпителия от капилляров, отмеченному нами ранее [Виноградов и др., 1979].

В растворе CaCl_2 , содержащем 70 мг/л Ca^{++} с pH 3,8, на протяжении всего эксперимента целостность наружных цитоплазматических мембран и структура межклеточных контактов не нарушаются (рис. 3,б,в). Выдерживание карасей в кислой среде (pH 3,8) с различным ионным составом показало, что кальций нормализует не только обмен натрия, но и способствует поддержанию кислотно-щелочного равновесия. В отсутствии ионов Ca^{++} резко снижается уровень Na^+ в крови, происходит ее закисление и через 7–8 ч наступает гибель рыб (рис. 4). В речной воде эти изменения выражены в меньшей степени, а в растворе CaCl_2 данные показатели находятся в пределах нормальных для карасей значений. Тот факт, что присутствие иона Ca^{++} стабилизирует в кислой среде как натриевый, так и кислотно-щелочной гомеостаз, свидетельствует о способности Ca^{++} ограничивать проницаемость жабр не только для Na^+ , но и для H^+ . Снижение концентрации Na^+ в крови и ее закисление в кальциевом растворе и речной воде связано, по-видимому, с угнетением поглощения Na^+ при

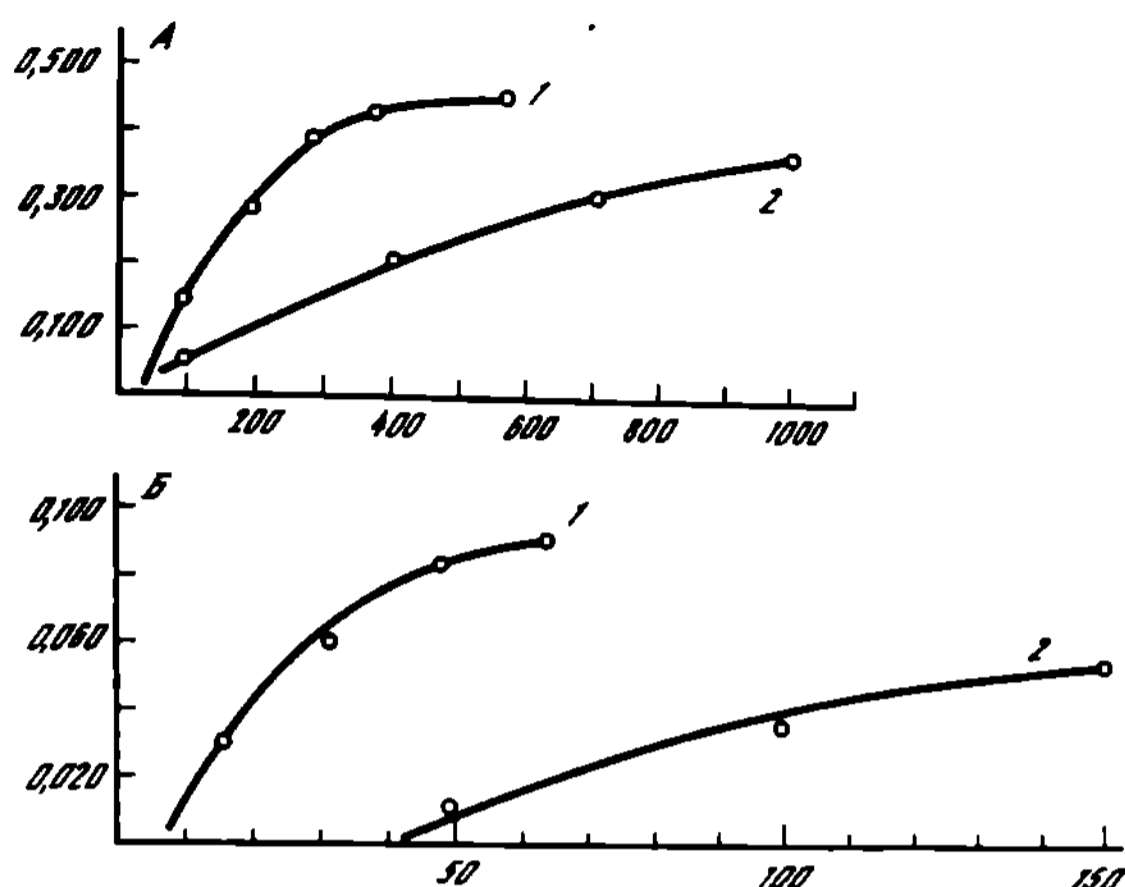


Рис. 6. Поглощение Na^+ (А) и K^+ (Б) из среды с различным ионным составом
1 – речная вода, содержащая 200 мкМ/л Ca^{++} ; 2 – раствор NaCl (А) и KCl (Б).
По оси абсцисс – концентрация Na^+ (А) и K^+ (Б) в наружной среде, мкМ/л; по
оси ординат – скорость поглощения Na^+ (А) и K^+ (Б), мкМ/г/час

pH воды 3,8 и указывает на то значение, которое имеет сопряженный обмен H^+/Na^+ для поддержания кислотно-щелочного гомеостаза у рыб.

Исследования, выполненные на эпителиальных тканях рыб и ракообразных, показали, что кинетика нонтранспортирующих систем соответствует уравнению Михаэлиса – Ментона [Shaw, 1961; Lockwood, 1962; Potts, Parry, 1967; Evans, 1975]. Сродство натрий – транспортирующей системы к Na^+ видоспецифично и характеризуется константой Михаэлиса K_m [Виноградов, 1976; Sutcliffe, 1968]. Исследование скорости поглощения Ca^{++} у окуня из растворов CaCl_2 различных концентраций выявило способность жаберного эпителия интенсивно сорбировать этот катион. Максимальная скорость транспорта V_m достигается при концентрации Ca^{++} в наружной среде $\sim 1,5$ ммоль/л, а K_m составляет 0,4 ммоль/л (рис. 5).

Кинетика поглощения Na^+ из растворов NaCl и из речной воды, содержащей 0,2 ммоль/л Ca^{++} , принципиально различна (рис. 6, А). Об этом свидетельствует несоответствие величин K_m и V_m транспорта Na^+ . В растворах NaCl полунасыщение систем транспорта Na^+ достигается при более высоких концентрациях Na^+ , чем в речной воде. Аналогичные результаты получены при изучении поглощения K^+ из раствора KCl и среды, содержащей 0,2 ммоль/л Ca^{++} (см. рис. 6, Б).

Изменение кинетики поглощения Na^+ и K^+ в кальциевых и бескальциевых растворах невозможно объяснить лишь влиянием кальция на проницаемость жаберного эпителия для ионов. Уменьшение сродства систем активного транспорта Na^+ и K^+ в растворах NaCl и KCl , по-видимому, свидетельствует о том, что двухвалентные катионы оказывают влияние на кинетику транспорта Na^+ и K^+ через мембрану хлоридных клеток.

ВЫВОДЫ

Полученные данные свидетельствуют о необходимости присутствия ионов Ca^{++} для сохранения нормальной структуры клеточных контактов и наружных цитоплазматических мембран, что обеспечивает оптимальную проницаемость клеток и тканей для ионов. Проницаемость жаберного эпителия карасей при низких рН находится в прямой зависимости от состояния клеточных мембран и контактов между клетками. Ионы кальция снижают проницаемость жабр для Na^+ , в то время как ионы водорода ее увеличивают.

Роль кальция особенно значительна при воздействиях, нарушающих адгезионные свойства клеток и способствующих "размыванию" клеточного "цемента" [Пирузян и др., 1974; Маленков, Чуич, 1979; Potts, Fleming, 1970, 1971; Bornancin et al., 1972; Maetz, 1974; Isaia, Masoni, 1976].

На основании проведенного исследования выявлена кинетика поглощения кальция через эпителий жабр рыб. Предполагается, что сродство калий- и натрийтранспортирующих систем зависит от концентрации кальция в наружной среде.

ЛИТЕРАТУРА

- Архипенко В.И., Гербильский Л.В., Черненко Ю.П., Чуич Г.А. Структура и функции межклеточных контактов. — В кн.: Структура и функции биологических мембран. М.: Наука, 1975, с. 77–95.
- Гербильский Л.В. Сравнительная морфология межклеточных контактов. — Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии, 1980, т. 78, вып. 1, с. 11–29.
- Виноградов 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.
- Виноградов Г.А., Соколов В.А., Флерова Г.И. Изучение механизма действия низких рН у пресноводных рыб. — В кн.: Теоретические аспекты рыбохозяйственных исследований водохранилищ. Л.: Наука, 1978, с. 168–173.
- Виноградов Г.А., Гдовский П.А., Матей В.Е. Закисление водоемов и его влияние на метаболизм у пресноводных животных. — В кн.: Физиология и паразитология пресноводных животных. Л.: Наука, 1979, с. 98–116.
- Комиссарчик Я.Ю., Смигиревская Е.С., Вимниченко Л.Н., Ивановская Е.Г. Роль катионов и поверхностных мембранных протеидов в адгезии паренхимных клеток печени крысы. II. Влияние ионов кальция на структур. клеточных контактов. — Цитология, 1976, т. 18, № 5, с. 575–579.
- Комиссарчик Я.Ю., Наточин Ю.В., Смигиревская Е.С., Вимниченко Л.Н. Роль кальция в структурной и функциональной целостности плотного контакта эпителия мочевого пузыря лягушки. — В кн.: Молекулярные основы структуры и функциональная активность клетки. Л.: Наука, 1978, с. 78–81.
- Маленков А.Г., Чуич Г.А. Межклеточные контакты и реакции ткани. М.: Медицина, 1979.
- Пирузян Л.А., Ковалев В.И., Лаврецкая Э.Ф. Действие физиологически активных соединений на биологические мембраны. М.: Наука, 1974.
- Проссер Л. Сравнительная физиология животных. М.: Мир, 1977, т. 1.
- Смигиревская Е.С., Комиссарчик Я.Ю. Ультраструктура специализированных межклеточных контактов. — Цитология, 1980, т. 22, № 9, с. 1011–1136.
- Armstrong P.B., Jones D.P. On the role of metal-cations in cellular adhesion: cation specificity. — J. Exp. Zool., 1968, vol. 67, p. 275–282.
- Beamish R.J., Harvey H.H. Acidification of the la Cloche Mountain Lakes, Ontario and resulting fish mortalities. — J. Fish. Board Canada, 1972, vol. 29, N 8, p. 1131–1143.
- Bornancin M., Cuthbert A.W., Maetz J. The effect of calcium on branchial sodium fluxes in the sea-water adapted eel, *Anguilla anguilla*. — J. Physiol., 1972, vol. 222, p. 487–496.

- Evans D.H. Ionic exchange mechanisms in fish gills. — *Comp. Biochem. Physiol.*, 1975, vol. 51 A, N 3, p. 491–495.
- Isaia J., Maso il A. The effects of calcium and ionic permeabilities in the sea water adapted eel, *Anguilla anguilla* P. — *J. Comp. Physiol.*, 1976, N 109, p. 221–233.
- Likens G.E., Wright R.F., Galloway J.N., Butler T.J. Acid rain. — *Scient. Amer.*, 1979, vol. 241, N 4, p. 39–47.
- Lockwood A.P.M. The osmoregulation of crustacea. — *Biol. Rev.*, 1962, vol. 37, N 2, p. 257–305.
- Maetz J. Origine de la difference de potentiel electrique transbranchiale chez le poisson rouge *Carassius auratus*. Importance de l'ion Ca^{++} . — *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 1974, N 279, p. 1277–1280.
- Orci L., Matter A., Konniger Ch. A comparative study of freeze etch replicas and thin sections of rat liver. — *J. Ultrastruct. Res.*, 1971, vol. 35, p. 1–19.
- Packer R.K., Dunson V.A. Anoxia and sodium loss associated with the death of brook trout at low pH. — *Comp. Biochem. Physiol.*, 1972, vol. 41 A, N 1, p. 17–26.
- Potts W.T.W., Parry G. Sodium balance in two fish from lake Garda. — *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, 1967, N 22, p. 53–60.
- Potts W.T.W., Fleming W.R. The effect of prolactin and divalent ions on the permeability to water of the *Fundulus kansae*. — *J. Exp. Biol.*, 1970, N 53, p. 317–327.
- Potts W.T.W., Fleming W.R. The effect of environmental calcium and ovine prolactin on sodium balance in *Fundulus kansae*. — *J. Exp. Biol.*, 1971, N 55, p. 63–76.
- Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron microscopy. — *J. Cell. Biol.*, 1963, N 17, p. 208–212.
- Shaw J. Sodium balance in *Eriocheir sinensis* (M. Edw.). The adaptation of the Crustacea to fresh water. — *J. Exp. Biol.* 1961, vol. 38, N 1, p. 153–162.
- Sutcliffe D.W. Sodium regulation and adaptation to freshwater in gammarid crustaceans. — *J. Exp. Biol.*, 1968, vol. 48, p. 355–380.

УДК 597.105

ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ РЫБ

В.Р.МИКРЯКОВ, О.Я.АСКИНАЗИ

Институт биологии внутренних вод АН СССР

В процессах управления жизнедеятельностью позвоночных животных большую роль выполняли гормоны. Они в организме животных вырабатываются специальными органами-железами внутренней секреции. Гормоны во взаимодействии с нервной системой и в соответствии с условиями внешней и внутренней среды регулируют интенсивность метаболизма, роста, размножения и т.д., тем самым способствуя сохранению постоянства внутренней среды и приспособлению живых организмов к меняющимся условиям среды [Гербицкий, 1947; Алешин, 1958, 1971; Гинецинский, 1961; Лейбсон, 1967; Поленов, 1968; Хохлов, Овчинников, 1969; Межнин, 1972; Баранникова, 1975; Плисецкая, 1975; Bern. Nandi, 1964; Barr, 1965 и др.] Железы внутренней секреции влияют не только на физиолого-биохимические процессы, но и на иммунологические [Здоровский, 1962, 1969; Гурвич, 1963; Учитель, Хасман, 1968; Груntenко, 1973; Петров и др., 1975; Адо, 1978; Корнеца и др., 1978; Kass, 1960; Slonecker, Lim, 1972]. Многочисленными исследованиями на теплокровных животных показано, что после удаления некоторых желез внутренней секреции или введения гормонов можно изменять характер течения иммунологических реакций, актив-

зировать латентные инфекции, подавить механизмы врожденного и приобретенного иммунитета, стимулировать восприимчивость к разнообразным паразитам и т.д.

Несмотря на то что структура и функция иммунологической системы рыб и влияние на нее ряда внешних и внутренних факторов среды разработаны относительно полно [Лукьяненко, 1971; Микряков и др., 1974; 1979; Acton et al., 1971; Corbell, 1975; Etlinger et al., 1976; Cuchens, Clemm, 1977; Ellis, 1977; Machulla et al., 1979], многие вопросы, касающиеся механизмов регуляции, в том числе роли гормонов в управлении иммунологической системой рыб, до сих пор не привлекали внимание исследователей.

Настоящая работа посвящена изучению влияния гормонов с катаболическим и анаболическим эффектом действий на иммунологическую реактивность рыб.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования были 620 карасей *Carassius carassius*, L. и 150 карпов *Cyprinus carpio*, L. в возрасте 2 лет. Эксперименты проводили в аквариальных условиях лаборатории физиологии и паразитологии пресноводных животных Института биологии внутренних вод АН СССР. Рыб содержали в плексиглазовых аквариумах емкостью 250 и 500 л. Вода в аквариуме хорошо аэрировалась. Рыб подкармливали комбикормом. Температура воды в аквариумах равнялась $20 \pm 1 - 2^\circ$.

В качестве гормональных препаратов использовали гидрокортизон, выпускаемый венгерской фирмой "Рихтер" для инъекций и содержащий 25 мг/мл мелкокристаллического вещества, 0,1%-й раствор адреналина гидрохлорида и масляный раствор дезоксикортикостерон-ацетата, предназначенный для внутримышечных инъекций. Выбор указанных гормонов для экспериментальных исследований обусловлен тем, что они обладают противоположным эффектом действий на иммунологическую реактивность позвоночных. Гидрокортизон с адреналином подавляют, а дезоксикортикостерон-ацетат стимулирует интенсивность проявления иммунологических реакций [Гурвич, 1963; Чеботарев, 1965; Здродовский, 1969; Петров, Манько, 1971; Козлов и др., 1978; Корнева и др., 1978].

Влияние этих гормонов на иммунологическую реактивность рыб определяли по данным анализа фагоцитарной активности лейкоцитов, бактериостатических свойств сыворотки крови, антителогенеза и степени выживаемости рыб после заражения их вирулентной культурой *Aeromonas punctata*.

Фагоцитарную активность лейкоцитов изучали *in vivo* по методу, предложенному Г.Д. Гончаровым [1966], в брюшном экссудате. В опыте было использовано 14 карасей и 40 карпов. Гормоны вводили внутривентрально в дозе по 0,2 мл. Гидрокортизон и адреналин в организм рыб вводили одновременно. Для изучения фагоцитарной активности лейкоцитов использовали суточную культуру вирулентных бактерий *A. punctata* в дозе по 250 млн. микробных тел на одну особь. За ходом фагоцитарной реакции наблюдали через 5, 10, 30, 60 и 120 мин после инокуляции бактерий.

Бактериостатическую активность сыворотки крови (БАСК) рыб определяли радиоуглеродным методом [Микряков и др., 1967, 1976]. Анализ защитных свойств сыворотки крови проводили в сыворотках, полученных от

50 карпов и 120 карасей. О величине БАСК судили по данным расчета количества поглощенного радиоактивного углерода 50 млн. бактериальных тел *A. punctata* после 5–6-часовой инкубации их при температуре 26°.

Влияние гормонов на антителогенез изучали на однократно иммунизированных карпах (45 экз.) и карасях (45 экз.). Гормоны вводили за 24 ч до иммунизации рыб в дозе по 0,2 мл. Иммунизацию рыб проводили суточной культурой инаktivированных бактерий *A. punctata* в дозе 250–300 млн. микробных тел. Антитела определяли реакцией агглютинации в сыворотках крови, полученных через 1, 5, 7, 11, 15 и 30 суток после вакцинации рыб.

Исследование влияния кортикостероидных гормонов на функционирование иммунологической системы рыб на уровне всего организма проводили на 440 карасях по степени выживаемости зараженных *A. punctata* микробами, вызывающими 50%-ную гибель контрольных рыб. ЛД₅₀ устанавливали по Риду–Менчу [Гончаров, 1973]. Во всех случаях для исследования иммунологической реактивности рыб использовали суточные культуры *A. punctata*, выращенные на рыбопептонном агаре, а гормоны вводили за 24 ч до начала основных опытов.

Полученные данные были обработаны статистически на ЭВМ "Минск-22". Достоверность разницы между опытными и контрольными данными проверяли по критерию Стьюдента [Рокицкий, 1961].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Влияние гормонов на фагоцитарную активность лейкоцитов. При исследовании характера действия указанных гормонов на процессы фагоцитоза основное внимание обращали на относительное число лейкоцитов и ретикулярных макрофагов, участвующих в фагоцитозе бактерий, завершенность фагоцитоза и степень разрушения лейкоцитов. Анализ полученных результатов показал различный эффект влияния указанных гормонов на 1-й этап иммунологических реакций рыб. Гормоны с катаболическим эффектом действий (гидрокортизон и адреналин), первоначально стимулируя начальную стадию фагоцитоза, адгезию и последующий захват бактерий лейкоцитами, в дальнейшем подавляют процессы захвата и разрушения и парентерального пищеварения микроорганизмов (рис. 1–3). После введения оксикортикостерон-ацетата фагоцитарная функция лейкоцитов, наоборот, повышается. Если через 5 мин в группе рыб, предварительно обработанных гидрокортизоном и адреналином, относительное число лейкоцитов, находящихся на различных стадиях фагоцитоза, равнялось 50%, то к концу опыта их число снизилось в 25 раз, до 2%. Этот же показатель у рыб, подвергнутых обработке дезоксикортикостерон-ацетатом, повышается от 39 до 65%, а у контрольных — от 32 до 40%.

Существенный интерес с точки зрения оценки эффективности течения фагоцитарной реакции имеет показатель завершенности фагоцитоза, который определяется путем подсчета количества лейкоцитов завершенным фагоцитозом из 100 микро- и макрофагов [Лабинская, 1978]. О завершенности фагоцитоза судили по изменению степени разрушения микробов в лейкоцитах и оценивали по форме, размеру и степени их лизиса в макро- и микрофагах (см. рис. 3). В случае, когда бактерии разрушаются лейкоцитами, размер микробов уменьшается, а сами клетки распадаются на более

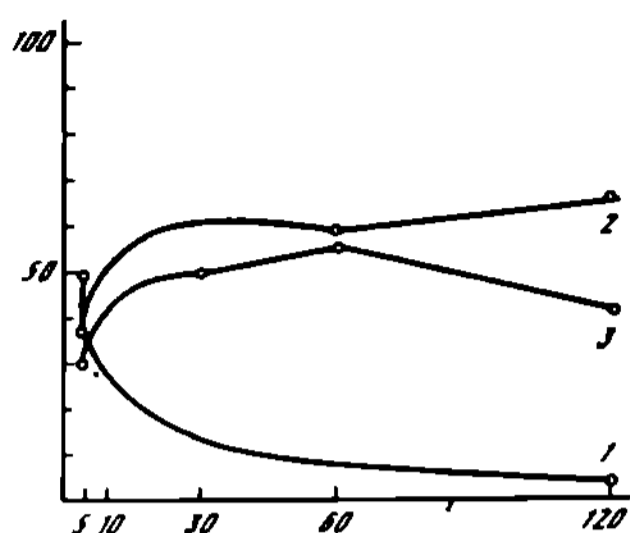


Рис. 1. Фагоцитарная активность лейкоцитов у карпов

1 — обработка гидрокортизоном с адреналином; 2 — то же с дезоксикортикостерон-ацетатом; 3 — контроль. По оси абсцисс — время наблюдения, мин; по оси ординат — число фагоцитирующих лейкоцитов, %

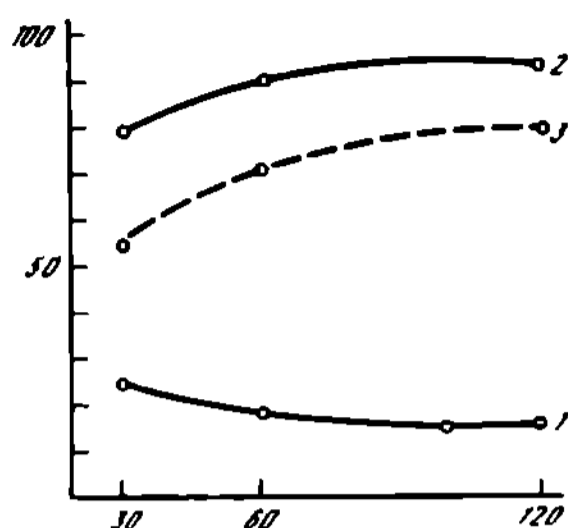


Рис. 2. Показатели завершенного фагоцитоза у рыб

По оси ординат — число лейкоцитов с завершенным фагоцитозом, %
Остальные обозначения те же, что и на рис. 1

мелкие частички. Одновременно с этим, как было установлено нами ранее [Микряков, Балабанова, 1979], усиливается процесс трансформации малых лимфоцитов в функционально активные макрофаги (см. рис. 3), количество которых в процессе фагоцитоза увеличивается. Наоборот, когда лейкоциты не способны нейтрализовать и лизировать бактерии, они начинают бурно развиваться, размер бактериальных тел увеличивается (принимают вид гигантских палочек), а сами макро- и микрофаги интенсивно разрушаются (см. рис. 3) и приводят к снижению числа функционально активных макрофагов.

В соответствии с характером течения фагоцитарного процесса и степенью цитолиза лейкоцитов показатель завершенного фагоцитоза под влиянием гормонов сильно колеблется. У рыб, подвергнутых предварительной обработке гидрокортизоном и адреналином, показатель завершенного фагоцитоза в течение всего периода наблюдения был в 2–4 раза ниже, чем у контрольных и опытных карпов 2-й группы (см. рис. 2). У опытных рыб первой группы эти показатели колебались от 22 (в начале опыта) до 15% (в конце). У рыб 2-й группы (после введения дезоксикортикостерон-ацетата) и контрольных они находились соответственно в пределах 79–96 и 55–74%.

Большие различия отмечены нами в содержании ретикулярных макрофагов (табл. 1). В опыте 1-й группы рыб макрофаги представляли наиболее малочисленную популяцию клеток лейкоцитов. Это, вероятно, свидетельствует о том, что гидрокортизон с адреналином нарушают процесс трансформации лейкоцитов в ретикулярные макрофаги, что приводит к заметному снижению относительного числа этих клеток. Дезоксикортикостерон-ацетат, по-видимому, не влияет на процессы трансформации лимфоцитов в функционально активные макрофаги. У этих групп рыб, как и у контрольных, содержание ретикулярных макрофагов было выше, чем у особей, получающих инъекции гидрокортизона и адреналина.

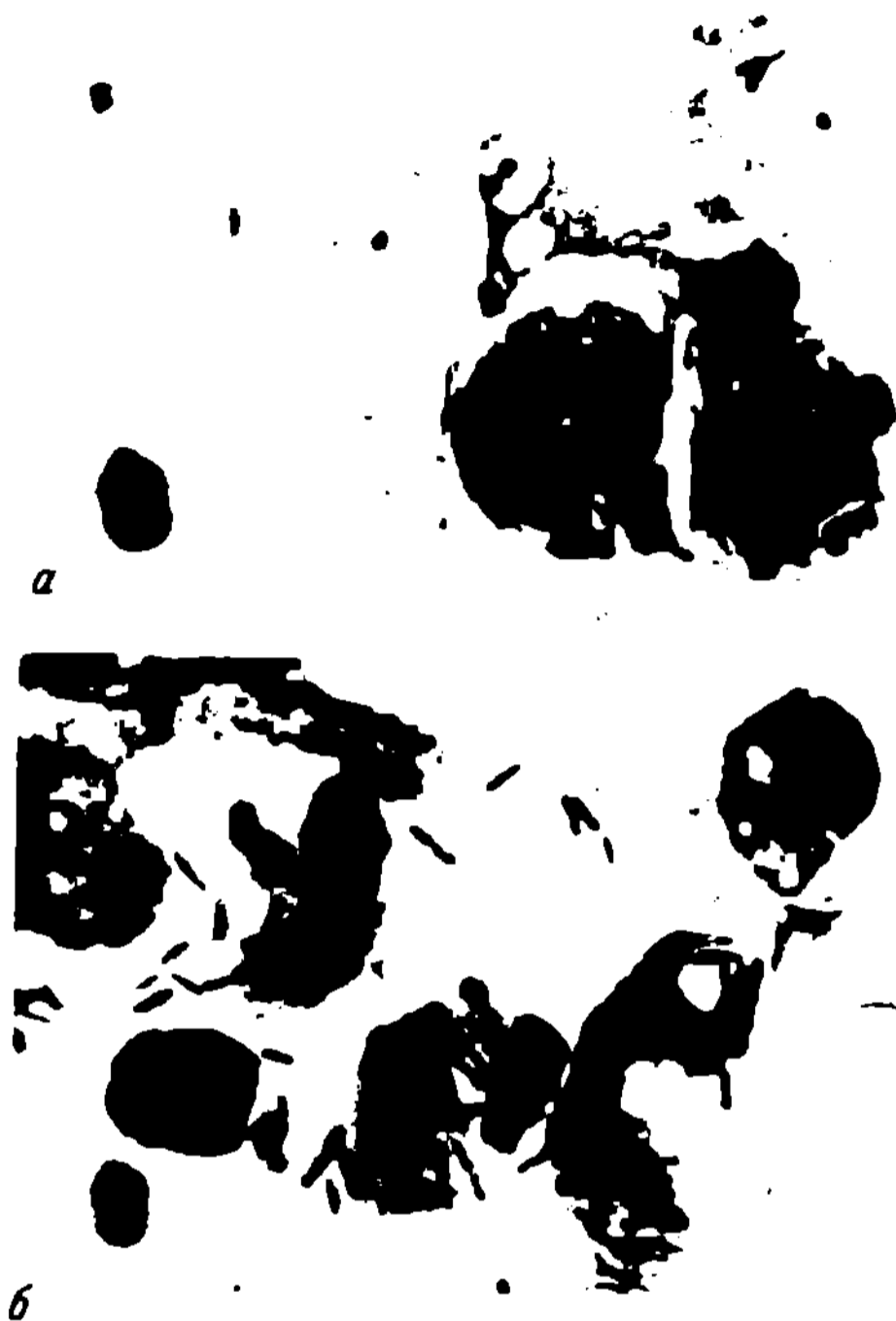


Рис. 3. Лейкоциты с завершенным (а) и незавершенным (б) фагоцитозом

Существенной причиной, способствующей изменению фагоцитарной активности лейкоцитов под воздействием гидрокортизона и адреналина, следует считать, с одной стороны, невозможность осуществить процесс парентерального пищеварения бактерий иммунocyтaми, с другой — интенсивность лимфоцитолiza (табл. 2). Степень разрушения лимфоцитов у рыб, подвергнутых воздействию гидрокортизона и адреналина, была более интенсивной, чем у контрольных и обработанных дезоксикортикостерон-ацетатом карпов. Уже в самом начале эксперимента около 15% лейкоцитов у рыб 1-й группы находилось на стадии разрушения, в то время как у особей 2-й группы и контрольных рыб явления цитолiza среди лейкоцитов установлено не было. С течением времени у всех групп рыб интенсивность цитолiza иммунocyтoв возрастает после введения гидрокортизона и адреналина до 47%, дезоксикортикостерон-ацетата — до 17%, а у контрольных — до 18%.

Таблица 1

Динамика содержания ретикулярных макрофагов у опытных и контрольных рыб, %

Категория рыб	n	Время, мин				
		5	10	30	60	120
Гидрокортизон и адреналин						
Опытные, 1-я группа	10	—	0,2 ± 0,04	0,8 ± 0,1	1,8 ± 0,2	2,0 ± 0,3
Дезоксикортикостерон-ацетат						
Опытные, 2-я группа	10	—	0,8 ± 0,06	5,0 ± 0,3	10 ± 0,7	19 ± 1,1
Контрольные	10	—	0,7 ± 0,02	2,0 ± 0,3	7,7 ± 0,6	17 ± 1,4

Таблица 2

Интенсивность разрушения лейкоцитов после воздействия гормонов, %

Категория рыб	n	Время, мин				
		5	10	30	60	120
Гидрокортизон и адреналин						
Опытные, 1-я группа	10	15 ± 1,3	21 ± 1,1	34 ± 2,1	42 ± 2,3	47 ± 1,9
Дезоксикортикостерон-ацетат						
Опытные, 2-я группа	10	—	10 ± 1,3	15 ± 1,2	19 ± 1,2	17 ± 1,3
Контрольные	10	—	6 ± 0,7	12 ± 1,1	16 ± 1,4	18 ± 1,2

Таким образом, в результате проведенных исследований фагоцитарной реакции лейкоцитов показано, что под влиянием гидрокортизона и адреналина, усиливающих процессы катаболизма, снижается фагоцитарная активность лейкоцитов, падает показатель завершенного фагоцитоза и интенсифицируется лизис фагоцитов; обработка рыб дезоксикортикостерон-ацетатом стимулирует фагоцитарную активность лейкоцитов.

Влияние гормонов на бактериостатические свойства сыворотки крови. В данном эксперименте по изучению антимикробных свойств крови было использовано 50 карпов и 60 карасей. На протяжении всего эксперимента величина БАСК опытных рыб 1-й группы, подвергнутых обработке гидрокортизоном и адреналином, была меньше таковой у рыб 2-й группы и контрольных (табл. 3). Наиболее заметно это различие выявлено на 7-е сутки между опытными рыбами 1-й группы и контролем и между опытными рыбами 1-й и 2-й групп. В этот период у рыб, обработанных этими гормонами, БАСК был в среднем на 50% и более ниже, чем в контроле и в опыте 2-й группы. Существенное различие ($> 70\%$) в уровне БАСК между опытными рыбами установлено на 11-е сутки с момента обработки их гормонами. Сходные результаты в изменении антимикробных свойств сыворотки крови получены и на карасях после обработки рыб этими гормонами (рис. 4). Разница заключается в том, что уровни БАСК карасей были более низкими по сравнению с таковыми карпов в первые 5 суток.

Таблица 3

Уровни БАСК после воздействия гормонов, %

Категория рыб	n	Время, сутки				
		1	5	7	11	15
Гидрокортизон и адреналин						
Опытные, 1-я группа	20	97 ± 1,8	71 ± 2,3	31 ± 2,0	6 ± 1,0	20 ± 1,4
Дезоксикортикостерон-ацетат						
Опытные, 2-я группа	20	82 ± 2,3	85 ± 2,2	84 ± 2,7	79 ± 2,4	80 ± 3,1
Контрольные	10	90 ± 1,8	96 ± 2,1	81 ± 3,3	44 ± 2,0	68 ± 2,3

БАСК рыб, отражающий функциональную активность неспецифических факторов гуморального иммунитета, после воздействия гормонов с катаболическим эффектом действия снижается. Дезоксикортикостерон-ацетат на гуморальные факторы иммунитета рыб заметного (по сравнению с контролем) влияния не оказывает. Величины БАСК на всем протяжении эксперимента оставались на высоком уровне.

Влияние гормонов на антителогенез. Антитела как продукты жизнедеятельности иммунокомпетентных клеток после воздействия на рыб гормонов вырабатываются в соответствии с интенсивностью проявления начальных звеньев иммуногенеза (табл. 4). Гидрокортизон и адреналин, как и в предыдущих опытах, оказывал заметное депрессивное действие на интенсивность антителогенеза у рыб. Это проявлялось в разнице образующихся антител и в интенсивности реагирования антител с антигеном в реакции агглютинации. Максимальные титры антител во все периоды наблюдения у рыб 1-й группы были в 2,4 и 8 раз ниже, чем у рыб 2-й группы и контрольных. В ходе анализа динамики образования антител у опытных и контрольных рыб выявлено, что антитела после иммунизации синтезируются не одинаково интенсивно (рис. 5). Независимо от характера действия используемых гормонов на иммунологическую систему рыб максимальные уровни агглютининов выявлены через 5 и 30 суток от момента иммунизации. В контроле и опыте с дезоксикортикостерон-ацетатом уровни антител через 5 суток в среднем равнялись 1 : 76 и 1 : 133, через 30 дней — 1 : 255 и 1 : 890, когда



Рис. 4. Динамика БАСК у рыб

1а — подопытные карпы; 1б — то же, караси; 2а — контрольные карпы; 2б — то же, караси. По оси абсцисс — время наблюдения, дни; по оси ординат — величина БАСК, %

Таблица 4

Влияние гормонов на интенсивность антителогенеза

Время, сутки	Гидрокортизон и адреналин		Дезоксикортикостерон- ацетат		Контроль	
	Максималь- ный титр	Сумма баллов	Максималь- ный титр	Сумма баллов	Максималь- ный титр	Сумма баллов
1	1 : 20	10	1 : 40	28	1 : 40	20
5	1 : 40	25	1 : 160	60	1 : 160	45
7	1 : 20	15	1 : 80	45	1 : 80	31
11	1 : 10	5	1 : 80	38	1 : 40	22
15	1 : 40	12	1 : 160	49	1 : 160	40
30	1 : 160	28	1 : 1280	120	1 : 320	85

как в опыте с гидрокортизоном и адреналином — 1 : 33 и 1 : 104 соответственно. В промежутках между 7-ми и 11-ми сутками антителообразовательная функция рыб во всех группах падала. Влияние гормонов сказывается не только на средних и максимальных титрах антител, но и на сумме баллов, характеризующих интенсивность связывания антигена с агглютинами и четкость проявления серологической реакции. Сыворотки, полученные от рыб, обработанных дезоксикортикостерон-ацетатом, сильнее связывали бактериальный антиген, чем таковые у рыб 1-й группы. Это говорит о том,

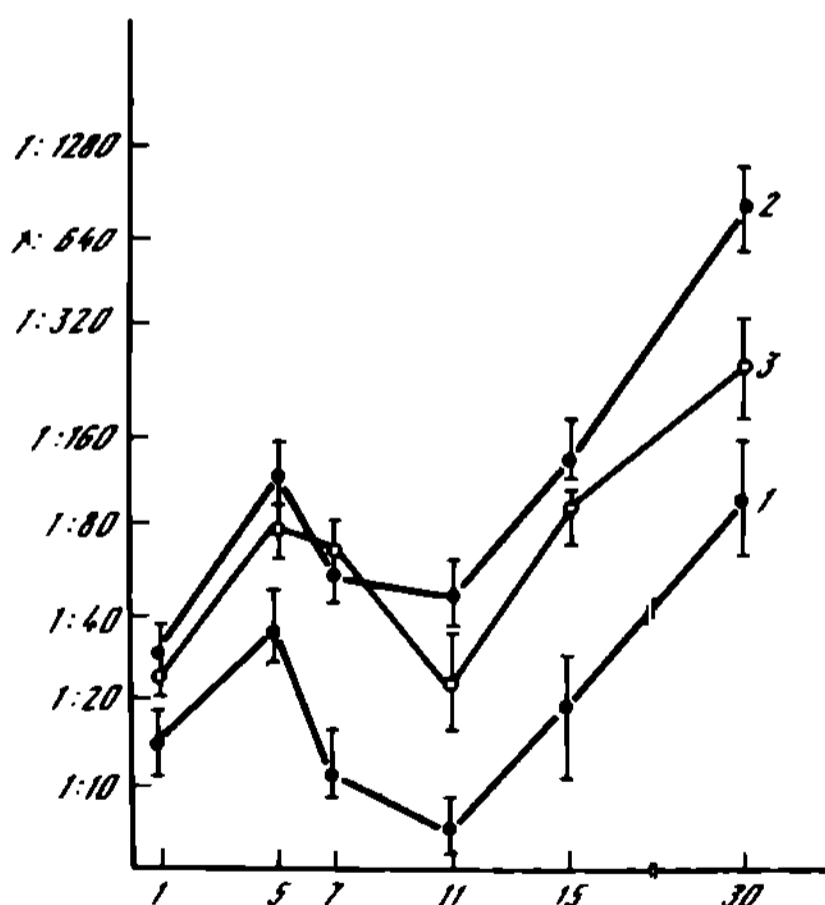


Рис. 5. Динамика антителогенеза у рыб

По оси абсцисс — время наблюдения, дни; по оси ординат — титр агглютининов, в разведениях сыворотки.

Остальные обозначения те же, что и на рис. 1

Т а б л и ц а 5

Влияние различных концентраций бактерий на выживаемость карасей, %

Концентрация бактерий	Число рыб		
	Опыт	Погибшие	Выжившие
1 млрд.	20	100	0
500 млн.	20	45	55
250 млн.	20	12	85
120 млн.	20	0	100

что гидрокортизон и адреналин влияют не только на интенсивность образующихся антител, но и на их количества.

Таким образом, анализ полученных результатов по влиянию гормонов на синтез антител свидетельствует о том, что они в зависимости от особенностей действия на организм рыб (в частности, на обменные процессы) либо подавляют, либо стимулируют эту важную для организма защитную функцию. Гормоны с катаболическим эффектом действия (адреналин и гидрокортизон) угнетают функцию антителогенеза, а с анаболическим эффектом действия усиливают процессы синтеза антител.

Влияние гидрокортизона и адреналина на сопротивляемость рыб к бактериальной инфекции. С целью определения влияния используемых гормонов на чувствительность или восприимчивость рыб к заразным болезням нами проведено исследование степени выживаемости подопытных и контрольных карасей после заражения их вирулентной культурой микробов *A. punctata*. Здесь представлены данные влияния гидрокортизона и адреналина на устойчивость рыб к *A. punctata*. Опыты по влиянию дезоксикортикостерон-ацетата на этот показатель из-за отсутствия экспериментального материала нами не поставлены. Предварительно в целях установления активности микробов проведено определение смертельных доз микробов, вызывающих 100-, 50- и 10%-ную гибель рыб (табл. 5). Рыб после заражения наблюдали в течение 2 недель, т.е. до полного прекращения гибели. Исследованиями установлено, что летальная доза, вызывающая 100%-ную гибель рыб, соответствует 1 млрд. бактериальных тел, 50%-ную гибель — 450–500 млн., 10%-ную — 200–250 млн. Бактерии в концентрации 120–200 млн. не вызывали гибели рыб.

В опытах, поставленных более чем на 440 экз. карасей, показаны особенности влияния различных доз гормонов на степень сопротивляемости рыб бактериальной инфекции — аэромонозу (табл. 6).

На основании анализа представленных в табл. 6 данных можно заключить, что изучаемая группа гормонов оказывает сильное депрессивное действие на функционирование иммунологической системы в целом, приводящее к снижению резистентности организма рыб к аэромонозу. Экспериментальными исследованиями влияния различных доз гормонов и после заражения опытных рыб разной концентрацией микробов, вызывающих 10- и 50%-ную гибель карасей, установлено, что смертность рыб в опыте заметно превышает таковую в контроле. Наиболее сильное влияние на иммунную систему рыб оказывают гормоны в дозе по 0,2 мл, вызывая при этом в

Таблица 6

Влияние гидрокортизона и адреналина на динамику гибели карасей после заражения их бактериями *A. punctata*, %

Концентрация бактерий, млн.	Доза гормонов, мл	Время, сутки					Общее число погибших рыб, %
		2	4	6	8	10	
500	0,2 ± 0,2	69 ± 2,0	30 ± 2,1	0,8 ± 0,1	—	—	100
500	0,1 ± 0,1	45 ± 1,7	40 ± 1,5	2 ± 0,4	—	—	87 ± 2,6
500	0,05 ± 0,05	29 ± 1,2	24 ± 1,0	21 ± 1,2	0,8 ± 0,1	—	75 ± 2,4
250	0,2 ± 0,2	43 ± 1,7	20 ± 1,2	20 ± 1,4	1,2 ± 0,2	—	84 ± 2,4
250	0,1 ± 0,1	19 ± 1,2	17 ± 1,0	14 ± 1,0	14 ± 1,1	3 ± 0,6	69 ± 1,2
250	0,05 ± 0,05	11 ± 1,1	11 ± 1,1	16 ± 1,4	16 ± 1,2	2 ± 0,5	54 ± 1,0
500	—	11 ± 1,0	16 ± 0,2	17 ± 2,9	3 ± 0,1	—	77 ± 2,3
250	—	4 ± 0,7	7 ± 1,1	1 ± 0,1	—	—	12 ± 1,0

обоих опытах почти 100%-ную гибель карасей по сравнению с 50%-ной в контроле. С понижением дозы гормонов смертность рыб несколько снижается, но во всех случаях этот показатель остается более высоким, чем в контроле. Выживаемость рыб по сравнению с контролем была ниже в первом опыте на 28, 40 и 53%, а во втором — на 46, 57 и 76%. Иными словами, понижение дозы гормонов приводит к некоторому повышению выживаемости рыб и уменьшению разницы между степенью гибели карасей в опыте и контроле, тогда как уменьшение концентрации вводимых бактерий в опыте и в контроле способствует снижению гибели рыб. Однако этот эффект в опыте выражен слабее, чем в контроле. Так, у рыб, не подвергавшихся воздействию гормонов, концентрация бактерий в 250 млн. вызывает только минимальную гибель (10–12%). В то же время эта концентрация даже после воздействия минимальной дозы гормонов вызывает более чем 50%-ную гибель рыб. Зависимость степени выживаемости рыб от применяемой дозы гормонов при определенной концентрации бактерий имеет одина-

ковый характер и выражается экспоненциальной кривой (рис. 6). Причем разницы степени выживаемости рыб в 1-м и 2-м опытах при всех дозах гормонов после заражения их разными дозами бактерий приблизительно одинакова и составляет в среднем около 16%. В контроле эта разница, наоборот, в 2 раза больше (34%), чем в опыте.

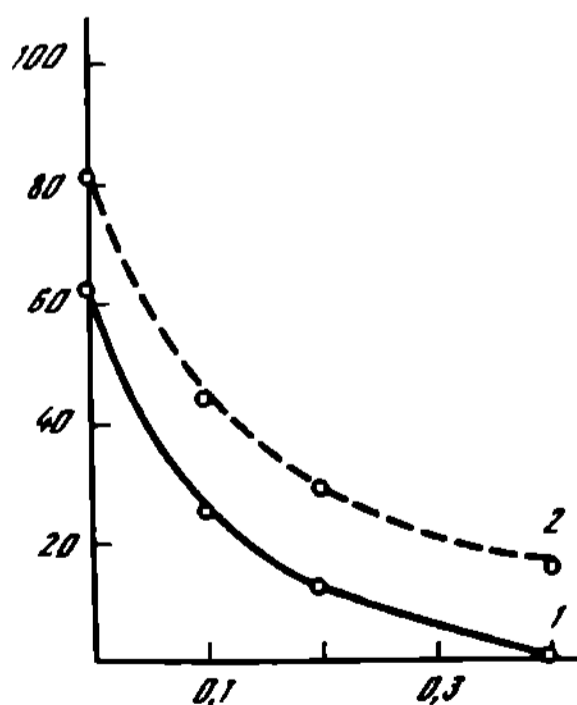


Рис. 6. Влияние различных доз гидрокортизона и адреналина на выживаемость карасей после заражения их бактериальными телами в дозе 500 млн (1) и 250 млн (2)

По оси абсцисс — суммарная доза гормонов, мл; по оси ординат — показатель выживаемости

Таблица 7

Влияние гормонов адреналина и гидрокортизона на степень сопротивляемости иммунных рыб к 500 млн. бактерии *A. punctata*

Категория рыб	Доза гормонов, мм	Динамика гибели рыб, дни			Общее число погибших рыб, %
		2	4	6	
Контрольные	—	5 ± 0,5	8 ± 1,0	6 ± 0,7	21 ± 1,8
Опытные	0,2 ± 0,2	24 ± 2,0	23 ± 1,0	7 ± 1,0	54 ± 2,6

Кроме описанных выше экспериментов нами изучалось влияние гормонов на степень выживаемости предварительно иммунизированных карасей при заражении их бактериями *A. punctata* в концентрации, вызывающей в контрольных опытах 50%-ную гибель рыб (табл. 7).

Полученные данные в этой серии опытов позволяют заключить, что гидрокортизон и адреналин подавляют степень сопротивляемости иммунных рыб. После обработки иммунных рыб гормонами погибло в среднем 54%, а без нее — 21%. В то же время гибель среди иммунизированных карасей, подвергнутых обработке гормонами в дозе по 0,2 мл, достоверно не отличалась от таковой среди интактных рыб без воздействия этими гормонами (см. табл. 6, 7). Если сравнить гибель между интактными и иммунными рыбами после воздействия одинаковыми дозами гормонов (по 0,2 мл), то ни одна особь среди неиммунных карасей не выжила, тогда как среди иммунизированных погибло всего 54% и осталось в живых 46%. Это говорит о том, что гидрокортизон и адреналин на механизмы приобретенного иммунитета влияют в меньшей степени, чем на механизмы иммунитета интактных рыб.

Из анализа полученных данных следует, что гормоны с катаболическим эффектом действия влияют не только на отдельные этапы иммуногенеза и факторы иммунитета, но и на степень сопротивляемости рыб к инфекционным болезням.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Из ряда работ известно, что при воздействии на рыб стрессовых раздражителей меняется функциональная активность надпочечников, гипофиза и других желез внутренней секреции [Матей, 1972, 1979; Межнин, 1973; Wedemeyer, 1970; Fuller et al., 1974; и др.]. Одновременно с этим повышается зараженность рыб паразитами, вызывающими инфекционные и инвазионные болезни [Ляйман, 1963; Мусселиус, 1972; Владимиров, Флеров, 1974; Канаев, 1974; Решетникова, 1975; Бауер и др., 1977; Флеров, Микряков, 1977; Шлейфер, 1978; Mackie, Menzies, 1938; Schäperclaus, 1954; Bullock, 1964; Ghittino, 1966; Snieszko, 1974].

Если структура и функция большинства желез внутренней секреции рыб изучены с той или иной степенью полноты, то вопросы о значении гормонов в регуляции иммунологических процессов исследованы весьма слабо. Имеются только две работы В.Р.Микрякова [1977, 1979], связанные с исследованием влияния гидрокортизона и адреналина на степень восприимчивости

рыбами сапролегниоза, эктопаразитов и характера проявления реакции гиперчувствительности замедленного типа [Микряков, Балабанова, 1979]. Других данных о механизме действия стероидных гормонов на функционирование иммунологической системы рыб в целом и на отдельные звенья иммунологических процессов в литературе не имеется. Значение роли этих гормонов в регуляции иммуногенеза рыб представляет не только теоретический, но и практический интерес в связи с разработкой методов гормональной регуляции механизмов иммунитета и понимания причин, обуславливающих проявление массовых заболеваний среди рыб, возникающих при различных стрессовых нагрузках.

На теплокровных животных установлено, что стероидные гормоны с катаболическим эффектом действия обладают ярко выраженным угнетающим действием на иммунологическую реактивность животных [Гурвич, 1968; Здродовский, 1967, 1969; Учитель, Хасман, 1968; Корнева и др., 1978]. Механизм действия этих гормонов связан с лимфоцитоллизом и ингибированием пролиферативных процессов в органах и тканях, ответственных за реализацию иммунных свойств организма. Другими словами, стероидные гормоны с катаболическим эффектом действия оказывают разрушающее действие на структуры, от функционирования которых зависит реализация процессов распознавания, нейтрализации и деградация чужеродных тел, синтез антител, приобретение иммунологической памяти и т.д. Кортикостероидные гормоны с анаболическим эффектом действия по сравнению с таковыми с противоположным эффектом стимулируют функциональную активность иммунологической системы животных [Чеботарев, 1965; Учитель, Хасман, 1968; Здродовский, 1967, 1969; Корнева и др., 1978].

Проведенное исследование показало, что у рыб, как и у высших позвоночных, ингибирующее влияние гидрокортизона и адреналина на иммунный ответ рыб связано с угнетением функций антигенчувствительных элементов, участвующих в распознавании, нейтрализации и разрушении чужеродных агентов. При воздействии этих гормонов у рыб происходит заметное изменение функциональной активности фагоцитарной системы. Это в первую очередь выражается в нарушении фагоцитарных и трансформационных способностей лейкоцитов и бурном лимфоцитоллизе, что приводит к незавершенности фагоцитоза и торможению процессов дифференцировки малых лимфоцитов и превращению их в функционально активные микрофаги. О последнем свидетельствует тот факт, что после введения рыбам стероидов наблюдается заметное уменьшение числа ретикулярных макрофагов, которые являются одним из объективных показателей завершенности фагоцитоза и определяют дальнейшую дифференциацию малых лимфоцитов в сторону антителообразующих клеток [Микряков, Балабанова, 1979]. Вызванное гормональным воздействием нарушение нормального течения фагоцитарной реакции у лейкоцитов приводит к бурному развитию бактерий в организме рыб.

Дезоксикортикостерон-ацетат, регулирующий минеральный обмен в организме позвоночных и обладающий анаболическим эффектом, стимулирует процесс фагоцитоза, трансформации малых лимфоцитов в ретикулярные макрофаги и дифференцировки антителообразующих клеток. В конечном итоге у опытных рыб после его воздействия фагоцитарная реакция, показав

тель завершенности фагоцитоза, уровень образующихся антител повышаются.

Анализ антителообразовательной функции и бактерицидной активности сыворотки крови рыб, подвергнутых обработке гидрокортизона и адреналина, показывает, что эти гормоны угнетают не только функцию иммунокомпетентных клеток, участвующих в разрушении микробов, но и тех клеток, которые ответственны за синтез антител. Эти гормоны, как и у высших позвоночных, приводят к снижению показателей гуморальных факторов иммунитета. Снижение интенсивности антителогенеза, по-видимому, связано с уменьшением общего количества антителообразующих клеток, поскольку процессы дифференцировки иммуноцитов в сторону антителообразующих после воздействия этих гормонов уменьшаются [Микряков, Балабанова, 1979].

Изменения, наблюдаемые в характере проявления клеточных и гуморальных функций иммуногенеза у рыб, вызванные воздействием гидрокортизона и адреналина, приводят к общему угнетению врожденного и приобретенного иммунитета и к резкому снижению их сопротивляемости по отношению к бактериальной инфекции. Подтверждением этому являются результаты исследования влияния гормонов на выживаемость рыб. Введение рыбам гидрокортизона и адреналина влечет за собой резкое повышение смертности рыб от бактериальной инфекции. Однако эффект влияния этих гормонов на механизмы иммунитета зависит от их дозы. С понижением дозы последних происходит некоторое повышение выживаемости рыб после бактериального заражения. Тем не менее устойчивость опытных рыб к бактериальной инфекции после введения малых доз гормонов (по 0,05 мл) оставалась заметно ниже таковой у контрольных рыб.

Исходя из установленного нами сходства влияния кортикостероидных гормонов на иммунореактивность рыб и высших позвоночных и учитывая ранее найденную аналогию в структуре и функционировании у них эндокринной и иммунологической систем, можно предположить, что кортикостероиды в организме рыб и теплокровных животных выполняют сходные функции. В частности, используемые гормоны у рыб, как и у высших позвоночных, принимают активное участие в регуляции иммуногенеза в соответствии с предложенной П.Ф.Здродовским [1967] теорией нейрогуморальной регуляции иммуногенеза теплокровных. Это прежде всего подтверждается результатами наших исследований по влиянию кортикостероидных гормонов и адреналина на функционирование у рыб фагоцитарной системы, антителогенез, бактерицидные свойства сыворотки крови и степень их сопротивляемости к бактериальной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

- Адо А.Д. Общая аллергология. М.: Медицина, 1978.
- Алешин Б.В. Возникновение эндокринных органов в эволюции и их отношение к нервной системе. — В кн.: Эволюция функций нервной системы. Л.: Медгиз, 1958, с. 36—44.
- Алешин Б.В. Гистофизиология гипоталамо-гипофизарной системы. М.: Медицина, 1971.
- Баранникова И.А. Функциональные основы миграций рыб. Л.: Наука, 1975.
- Бавер О.Н., Мусселиус В.А., Николаева В.М., Стрелков Ю.А. Ихтиопатология. М.: Изд. пром-сть, 1977.

- Владимирова В.Л., Флеров Б.А.** Восприимчивость к ихтиофтириозу у рыб при отравлении фенолом и полихлорпирином. – Тез. докл. VI Всесоюз. совещ. по болезням и паразитам рыб. М.: 1974, с. 55–59.
- Гербыльский Н.Л.** Гонадотропная функция гипофиза у осетровых и костистых. – Тр. Лаб. основ рыбоводства. Л., 1974, № 1, с. 25–96.
- Гинецинский А.Р.** Об эволюции функций и функциональной эволюции. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1961.
- Гончаров Г.Д.** Фагоцитоз карпа при бактериальном инцифировании. – В кн.: Биология рыб волжских водохранилищ. М.; Л.: Наука, 1966, с. 331–338.
- Гончаров Г.Д.** Лабораторная диагностика болезней рыб. М.: Колос, 1973.
- Грунтенко Е.В.** Эндокринная функция тимуса. – Пробл. эндокринологии, 1973, т. 18, № 6, с. 110–115.
- Гурвич Г.А.** Действие дезоксикортикостерона и соматотропного гормона на иммунные реакции организма. – В кн.: Вопросы инфекционной патологии и иммунологии. М.: Медицина, 1968, вып. 3, с. 29–35.
- Здорововский П.Ф.** Цитофизиологические механизмы иммуногенеза. – Вестн. АМН СССР, 1962, т. 26, № 12, с. 34–44.
- Здорововский П.Ф.** Проблемы инфекции, иммунитета и аллергии. М.: Медицина, 1969.
- Здорововский П.Ф.** Митрично-генетическая теория иммуногенеза и нейрогуморальная регуляция антителообразования. – Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 1967, № 7, с. 3–14.
- Канаев А.И.** Ветеринарно-санитарные проблемы, связанные с интенсификацией прудового рыбоводства: Тез. докл. "Новые методы и опыт оздоровления рыбохозяйственных водоемов от заразных болезней рыб" М.: ВАСХНИЛ, с. 13–18.
- Козлов В.К., Архангельская С.Л., Васильева Е.Ф.** Изучение β -адренорецепторов на поверхностных мембранах лимфоцитов и макрофагов. – Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1978, № 6, с. 723–726.
- Корнева Е.А., Клименко В.М., Шхинец Э.К.** Нейрогуморальное обеспечение иммунного гомеостаза. Л.: Наука, 1978.
- Лабинская А.С.** Микробиология с техникой микробиологических исследований. М.: Медицина, 1978.
- Лейбсон Л.Г.** Основные черты структурной и функциональной эволюции эндокринной системы позвоночных. – Журн. эволюц. биохимии и физиологии, 1967, № 3, с. 532–544.
- Лукияненко В.И.** Иммунобиология рыб. М.: Пищ. пром-сть, 1971.
- Ляйман Э.М.** Болезни рыб. М.: Сельхозиздат, 1968.
- Матей В.Е.** Гипоталамо-гипофизарная нейросекреторная система и симптомокомплексы отравления рыб при действии некоторых токсикантов. – В кн.: Физиология и паразитология пресноводных животных. Л.: Наука, 1979, с. 60–67.
- Межнин Ф.И.** Интереналовая ткань и хромоаффинная ткань пресноводных рыб. – Вопр. ихтиологии, 1972, № 12, с. 733–747.
- Межнин Ф.И.** Патогистологические изменения органов и тканей гуппи (*Lebistes reticulatus* Р) при остром экспериментальном отравлении полихлорпирином, фенолом и при повышенной солевой нагрузке. – В кн.: Влияние фенола на гидробионтов. Л.: Наука, 1973, с. 53–66.
- Микряков В.Р., Гончаров Г.Д., Романенко В.И.** Использование гетеротрофной ассимиляции углекислоты для изучения бактериостатических свойств сыворотки крови рыб. – ДАН СССР, 1967, т. 177, № 5, с. 1216–1218.
- 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.
- Микряков В.Р., Межнин Ф.И., Володин В.М.** Иммунофизиологическое состояние самок леща (*Abgatis brama*, L) в период резорбции икры. – Гидробиол. журн., 1976, т. 12, вып. 3, с. 79–82.
- Микряков В.Р.** Иммунитет рыб при сапролегниозе. – Тез. VII Всесоюз. совещ. по паразитам и болезням рыб. Л.: Наука, 1979, с. 71–72.
- Микряков В.Р., Балабанова Л.В.** Клеточные основы иммунитета у рыб. – В кн.: Физиология и паразитология пресноводных животных. Л.: Наука, 1979, с. 105–124.
- Мусселиус В.А.** Меры борьбы с заболеваниями рыб в прудовых хозяйствах в условиях

- повышенной интенсификации. — В кн.: Паразиты и болезни рыб и водных беспозвоночных. М.: Наука, 1972, с. 47–54.
- Петров Р.В., Манько В.М.* Иммунодепрессоры. М.: Медицина, 1971.
- Петров Р.В., Хаитов Р.М., Безин Г.И., Рачков С.М.* Регуляторное влияние гипофиз-адреналовой системы на миграцию стволовых клеток Т- и В-лимфоцитов: воздействие адреналэктомии, АКТГ и гидрокортизона. — В кн.: Нейрогуморальная и фармакологическая корреляция иммунологических реакций в эксперименте и клинике. Л.: Медицина, 1975, с. 52–53.
- Плисецкая Э.М.* Гормональная регуляция углеводного обмена у низших позвоночных. Л.: Наука, 1975.
- Поленов А. Л.* Гипоталамическая нейросекреция. Л.: Наука, 1968.
- Решетникова А.В.* Динамика заболеваний лавр рыб Цимлянского водохранилища. — Тр. Волгогр. отд. ГОСНИОРХ, 1975, т. 9, с. 135–160.
- Рокицкий П.Ф.* Основы вариационной статистики. Минск: Изд-во Белорус. ун-та, 1961.
- Учитель И.Я., Хасман Э.Л.* Влияние веществ катаболического и анаболического действия на образование антител. — В кн.: Вопросы инфекционной патологии и иммунологии. М.: Медицина, 1968, вып. 4, с. 44–56.
- Флеров Б.А., Микряков В.Р.* Влияние некоторых токсических веществ на устойчивость карпов к аэромонозу. — Информ. бюл. Биол. внутренних вод 1977, № 33, с. 59–61.
- Хохлов А.С., Овчинников Ю.А.* Химические регуляторы биологических процессов. М.: Знание, 1969.
- Чеботарев В.Р.* Сравнительная характеристика некоторых иммунобиологических показателей при введении гидрокортизона и дезоксикортизон-ацетата (ДОКСА). — В кн.: Вопросы иммунологии. Киев: Наук. думка, 1965, с. 48–52.
- Шлейфер Г.С.* Влияние ионизирующей радиации на иммуно-физиологическое состояние рыб: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1978.
- Acton R. T., Weinheimer P.F., Durpee H.R., Russel T.R.* Isolation and characterization of the immune macroglobulin from the Paddlefish *Polyodon spathula*. — J. Biol. Chem., 1971, vol. 246, N 22, p. 6760–6769.
- Barr W.A.* The endocrine physiology of fishes. — Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev., 1965, N 3, p. 257–298.
- Bern H.A., Nandi J.* Endocrinology of Poikilothermic vertebrates. — In: The Hormones. N. Y.; London: Acad. Press, 1964, vol. 4, p. 199–299.
- Bullock J.* Pseudomonadales of fish pathogens. — Devel. indast. Microbiol., 1964, N 5, p. 101–106.
- Corbel M.S.* The immune response in fish: a review. — J. Fish. Biol., 1975, vol. 7, N 4, p. 539–563.
- Cuchens M.A., Clemm L.W.* Phylogeny of Lymphocyte Heterogeneity. II. Differential effects of Temperature on Fish T-like and B-like Cells. — Cellular immunol., 1977, vol. 34, N 2, p. 219–230.
- Ellis A.E.* The leucocytes of fish: a review. — J. Fish. Biol., 1977, vol. 11, N 5, p. 453–491.
- Erlinger H.M., Hodgins H.D., Chiller J.M.* Evolution of the lymphoid system. I. Evidence for lymphocyte Heterogeneity in Rainbow trout Reveled by the organ Distribution of Mitogenic Responses. — J. Immunol., 1976, vol. 116, N 6, p. 1547–1553.
- Shittino P.* Les Maladies des poissons en Italie par des facteurs ambiants defavorables. — Bull. off. inf. Eplz., 1966, vol. 65, N 5–6, p. 583–588.
- Fuller J.D., Scott D.B., Fraser C.R.* Effects of catching techniques, captivity and reproductive cycle on plasma cortisol concentration in the powon (*Coregonus lavaretus*), a freshwater teleost. — J. endocrinol., 1974, vol. 63, N 3, p. 24–32.
- Kass E.* Protective effect of corticosteroid and of components of normal blood against the lethal action of bacterial lipopolysaccharides. — In: Reticuloendothelial structure and function. N.Y.: Acad. Press, p. 355–364.
- Machulla H.K.J., Richter R., Jruhn R., Ambrosius H.* Untersuchungen Zűr antikörperheterogenität beim Karpfen (*Cyprinus carpio* L.). I. Elektrophoretische und isoelektrische Spektren von Anti-DNP-Antikörpern. — Acta biol. med. germ., 1979, Bd. 38, S. 1607–1614.
- Mackie T.J., Menzier W.J.* Investigations in Great Britain of furunculosis of the salmonides. J. comp. Path. Therapud., 1938, vol. 51, N 1, p. 1–14.

Schaperclaus W. Fischkrankheiten. Berlin, Akademie-verlag, 1954.

Stonecker J., Lim W.C. Effect of hydrocortisone on the cells an acute inflammatory exudate. — *Lab. invest.*, 1972, vol. 27, N 1, p. 123–128.

Snieszko S.F. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. — *J. Fish.*, 1974, vol. 6, N 2, p. 126–128.

Wedemeyer C. The role of stress in the Disease Resistance of Fishes. — In: *A Symposium Diseases of Fishes and Shellfishes*. Washington, Am. Fish. Soc., 1970, p. 30–36.

УДК 591.525

**ПРИСПОСОБЛЯЕМОСТЬ И РЕГУЛЯЦИЯ У РЫБ
ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ
МАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ТОКСИКАНТОВ
(физиолого-биохимический аспект)**

А.И. ПУТИНЦЕВ, Н.А. ГАМЕЗА

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова

Взаимодействие организма со средой является обязательной предпосылкой существования живого в постоянно изменяющейся внешней среде. Организм не только реагирует на внешние воздействия, но и приспосабливается к ним, что важно учитывать при разработке теоретических вопросов адаптации живого к действию загрязнителей окружающей среды и при анализе экспериментальных данных.

Открытие Ч.Дарвином механизма органической эволюции показало, что, по существу, вся эволюция есть процесс, направленный на выработку приспособительных реакций. В историческом аспекте этот процесс рассматривается эволюционистами (А.Н.Северцов, И.И.Шмальгаузен, Е.М.Завадский). Наряду с этим существует истолкование адаптации в узком (онтогенетическом) смысле, когда основное внимание обращается на приобретение живыми организмами морфологических и физиологических признаков, обеспечивающих им дальнейшее существование в новых условиях [Шварц, 1967]. В науке о токсичности водной среды для организмов (водной токсикологии) преобладает, на наш взгляд, именно такое понимание адаптации, особенно при исследованиях на рыбах. В данной работе оно также является ведущим.

Почти 40 лет назад Н.С.Строганов [1941] ввел понятие биологической нормы вида, включающее такие фундаментальные показатели благополучия вида, как выживаемость, плодовитость, качество потомства особей. Общебиологическое значение этого понятия признается многими биологами. Споры возникают по вопросу применимости его для организмов с длительным жизненным циклом, в частности для рыб [Лукьяненко, 1967].

На наш взгляд, показатели, характеризующие понятие биологической нормы — выживаемость, плодовитость, качество потомства, можно считать критериями адаптации. Выживаемость, видимо, является важным, но недостаточным критерием адаптации, а плодовитость и качество потомства — основными критериями ее. Такое разделение необходимо, поскольку не у всех живущих в данный момент особей сохраняются нормальная плодовитость и качество потомства.

По нашему мнению, понятие биологической нормы по показателям очень близко к определению адаптации, данному Г.И.Царегородцевым и соавторами [1975]. Они рассматривают адаптацию как целостную систему реакций живых систем (индивид, вид, биоценоз), имеющих активный, направленный (телеономический) характер, способствующих не только поддержанию динамического равновесия в данных условиях среды (гомеостазис), но и обеспечивающих возможность эволюции при их изменении (гомеорезис). В данном определении очевиден системный подход к рассмотрению явления, поэтому оно представляется нам удачным. Учитывая его, можно считать, что, видимо, нет оснований говорить об адаптации, если изучаются изменения любых показателей жизнедеятельности особей (выживаемость, биохимические, биофизические, физиологические показатели и др.), кроме плодовитости, качества потомства, т.е. основных критериев адаптации. В таких случаях исследуется процесс адаптации, или, по Г.Ф.Гаузе [1939] и Н.С.Строганову [1956], приспособляемость.

Основу приспособляемости составляют непрерывные приспособительные перестройки, или адаптивные модификации, с помощью которых достигается соответствие организмов меняющимся условиям среды [Гаузе, 1940, 1941].

Изучая приспособительные перестройки (изменения) в организмах карпов под воздействием разных концентраций триметилловохлорида (ТМОХ) и триамилловохлорида (ТАОХ), мы определяли ряд физиолого-биохимических показателей в длительном (до 45–120 суток) опыте [Путинцев, 1975, 1977, 1980; Путинцев, Гамеза, 1979, 1980]. Некоторые из них представлены на рис. 1 и 2.

Оловоорганические соединения (ООС), в частности ТМОХ, интенсивно выводятся из организма карпов желчью, т.е. обезвреживаются печенью [Парина и др., 1979], но о функциональном состоянии этого органа ничего неизвестно. В медицине о нем судят по изменению ряда биохимических показателей сыворотки крови. Мы выбрали следующие: активность щелочной фосфатазы (ЩФ), активность аланинаминотрансферазы (АЛАТ), содержание холестерина, фосфолипидов, липопротеидов. Эти соединения играют важную роль в обмене веществ, и синтез или использование их происходят в основном в печени. Другие показатели (гемоглобин, эритроциты, относительный вес органов) выбрали с учетом влияния ООС на кровь, органы и ткани, как это показано на теплокровных животных. В определенные сроки опыта по выживаемости рыб при повышении температуры растворов (на 1° за 10 мин) определяли их теплоустойчивость.

Для ряда изученных показателей характерно быстрое (например, у сеголеток карпа уже на 1-е сутки) изменение по сравнению с контролем (см. рис. 1). Изменения касались в основном количественных отличий от контроля, но при действии разных по величине концентраций токсиканта отмечались и качественные изменения (разнонаправленные по сравнению с контролем), например, изменения устойчивости сеголеток к тепловой нагрузке, а также количества эритроцитов на 1-е сутки опыта (см. рис. 1, Б, В).

Изменения большинства изученных показателей у сеголеток и взрослых карпов достигали максимума в основном на 15-е сутки воздействия ТМОХ

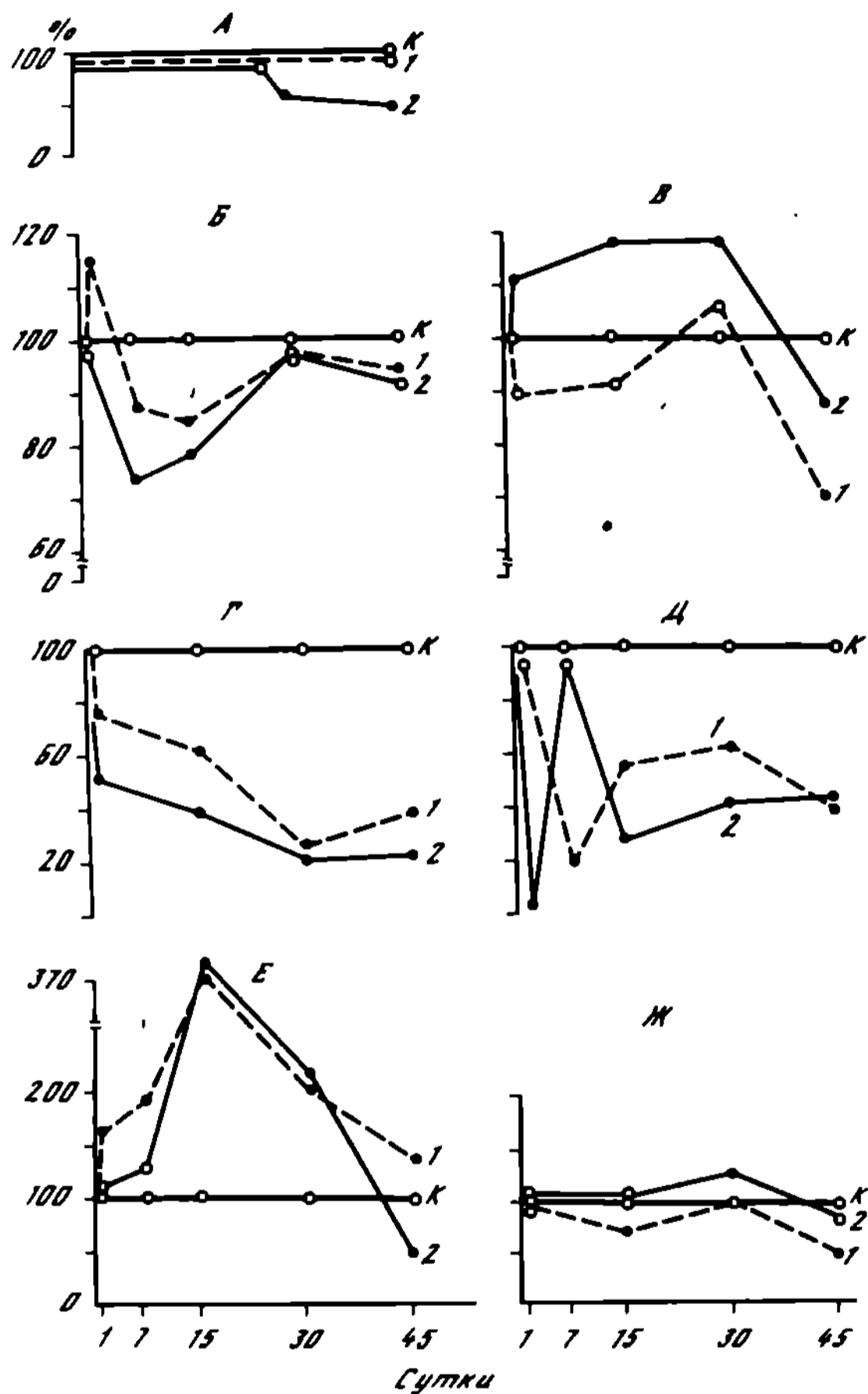


Рис. 1. Биохимические показатели сыворотки крови и выживаемость сеголеток карпа при воздействии ТМОХ

А — выживаемость; Б — теплоустойчивость; В — количество эритроцитов; Г — содержание холестерина; Д — активность аламинотрансферазы; Е — активность щелочной фосфатазы; Ж — содержание гемоглобина; К — контроль; 1, 2 — концентрации ТМОХ соответственно 0,1 и 0,5 мг/л. По оси абсцисс — продолжительность воздействия ТМОХ, черными кружками обозначены величины, статистически достоверно отличающиеся от контроля ($P_v < 0,05$)

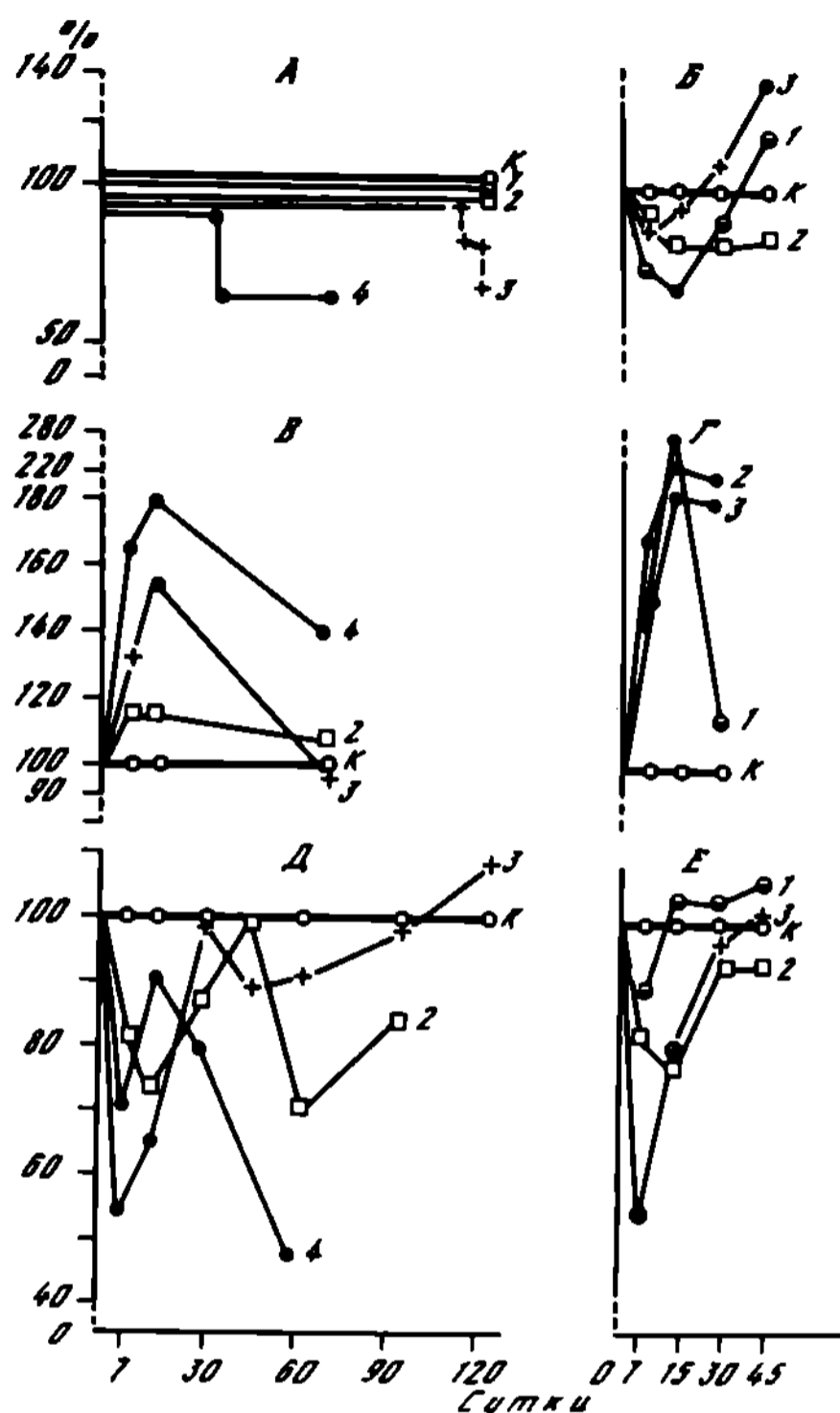


Рис. 2. Биохимические показатели сыворотки крови, выживаемость и вес органов двухлеток карпа при воздействии ТМОХ

А — выживаемость; Б — фосфолипиды; В — относительный вес селезенки; Г — активность щелочной фосфатазы; Д — содержание липопротеидов; Е — содержание холестерина; К — контроль; 1-4 — концентрации ТМОХ соответственно 0,01; 0,1; 1,0; 5,0 мг/л

(см. рис. 1 и 2). В дальнейшем отмечалась либо стабилизация показателей на пониженном уровне (холестерин, АЛТ), либо приближение к контролю или нормализация (гемоглобин, фосфолипиды, липопротеиды, относительный вес органов, устойчивость к тепловой нагрузке), либо резкие колебания показателей (ЩФ, количество эритроцитов). Следовательно, выявляется фазовость физиолого-биохимических изменений у карпов при длительном воздействии токсиканта. Это согласуется с представлениями о фазах реагирования [Строганов, 1941]. Однако фаза безразличия, выделяемая этим автором, в наших опытах часто отсутствовала.

Стабилизация или нормализация большинства показателей во второй половине опытов могла бы означать приспособление рыб к токсическому воздействию. Однако опыты по выживаемости карпов показали, что примерно в это время у рыб появлялись признаки нарушения общего состояния и гибель (см. рис. 1А, 2А). Количественные изменения ряда показателей при сублетальном воздействии ТМОХ были близки таковым при нелетальной концентрации токсиканта. Все это позволило нам предположить, что к нарушению жизнеспособности (иначе приспособляемости) приводят ранние изменения в организме рыб, происходящие в период до стабилизации или нормализации показателей в первые 2–3 недели опыта.

В одни и те же сроки опыта (например, 1,7, 15-е сутки) в ранних изменениях одних и тех же показателей отмечаются два типа зависимости эффекта от концентрации токсиканта. У некоторых показателей (холестерин, липопротеиды, относительный вес селезенки) величины отклонений от контроля были тем больше, чем выше концентрация токсиканта, т.е. наблюдается прямо пропорциональная зависимость концентрация – эффект.

У большинства показателей (ЩФ, АЛАТ, фосфолипиды, липопротеиды, теплоустойчивость, эритроциты) увеличение величины отклонений от контроля по мере повышения концентрации токсиканта происходит только до некоторого предела. Дальнейшее повышение концентрации не вызывает увеличения амплитуды отклонений, а чаще снижает ее. Иначе говоря, эффект действия больших концентраций меньше или равен эффекту менее интенсивных воздействий. Такие эффекты обычно называют инверсией, а в промышленной токсикологии – парадоксальными.

Мы попытались выявить связь между ранними приспособительными перестройками (или изменениями) в организме и выживаемостью рыб при длительном воздействии ООС, рассматриваемой нами как внешнее проявление приспособляемости животных.

Снижение содержания холестерина сыворотки крови на 26% от уровня контроля в 1-е сутки воздействия 0,1 мг/л ТМОХ не оказывало влияния на жизнеспособность сеголеток карпа в последующие 45 суток опыта (см. рис. 1, Г и А). Снижение его на 48% (при 0,5 мг/л ТМОХ) сопровождалось ухудшением состояния рыб после 20-х суток и гибелью, начиная с 27-х суток опыта.

Снижение содержания холестерина в сыворотке крови взрослых карпов на 12% через 7 суток воздействия 0,01 мг/л ТМОХ, а также снижение его на 18% и повышение относительного веса селезенки на 16% через тот же срок воздействия концентрации 0,1 мг/л не сопровождалось нарушением жизнеспособности таких же карпов в последующие 120 суток опыта (см. рис. 2, Е, В). Снижение содержания холестерина на 51% и повышение относительного веса селезенки на 32% (при 1,0 мг/л ТМОХ) сопровождалось гибелью рыб, начиная со 110-х суток. При повышении относительного веса селезенки на 64% через 7 суток воздействия 5,0 мг/л ТМОХ начало гибели отмечено на 36-е сутки опыта. Гибель взрослых карпов на 7-е сутки воздействия 1,0 мг/л ТМОХ сопровождалась снижением липопротеидного показателя сыворотки крови на 34% по сравнению с контролем. При снижении его на 25% (при 0,05 мг/л этого токсиканта на 15-е сутки) все подопытные карпы погибли на 53-и сутки. У рыб, живших в течение 90 суток в раство-

рах 0,01 мг/л, он не изменялся. Следовательно, в ранних реакциях с прямо пропорциональной зависимостью концентрация—эффект отклонения от контроля, превышающие 25%, сопровождались нарушением приспособляемости рыб к длительному воздействию токсикантов.

Еще более четкая связь прослеживается между ранними реакциями с инверсией и приспособляемостью рыб. Так, на 1-е сутки нелетальное воздействие ТМОХ (0,1 мг/л) вызывало повышение устойчивости сеголеток карпа к тепловой нагрузке, а сублетальное (0,5 мг/л) — почти не изменяло их устойчивость; активность ЩФ сеголеток была выше при нелетальном, чем при сублетальном воздействии, количество эритроцитов крови соответственно было снижено или повышено; количество гемоглобина — на уровне контроля при обоих воздействиях. На 7-е сутки активность АЛАТ была ниже при нелетальном воздействии и почти не изменена при сублетальном (см. рис. 1). У взрослых карпов в течение 15 суток при нелетальных воздействиях ТМОХ снижение содержания фосфолипидов и повышение активности ЩФ были выражены сильнее, чем при сублетальных концентрациях токсиканта (см. рис. 2). Таким образом, в наших опытах появление инверсий в ранних физиолого-биохимических перестройках совпадало с ухудшением общего состояния и гибелью карпов через отдаленный период опыта [Путинцев, 1977, 1980].

На приспособляемость рыб оказывают влияние не только количественные изменения, как в случае прямо пропорциональной зависимости концентрация—эффект, но и качественные, выявляющиеся с началом инверсий. Наши экспериментальные данные свидетельствуют о том, что число показателей с инверсией почти в 2 раза больше, чем без нее. Это позволяет предполагать, что качественные изменения в организме под влиянием токсикантов характеризуют состояние подопытных животных лучше, чем количественные. К подобному заключению пришел Н.С.Строганов [1956] при изучении приспособляемости рыб к пониженной температуре. Сопоставление характера ранних изменений в организме с выживаемостью рыб позволяет выявить прогностическую ценность этих изменений, установить признаки нарушения приспособляемости животных к токсическому воздействию и, наконец, указать те концентрации токсикантов, которые не окажут влияния на приспособляемость гидробионтов.

На основании полученных результатов и данных литературы мы предприняли попытку представить последовательность приспособительных перестроек у рыб при воздействии на них ТМОХ. За основу нами взята схема последовательности явлений общего адаптационного синдрома по Селье, уточненная рядом авторов [Лейтес, Лаптева, 1967; Горизонтов, Протасова, 1968 и др.].

Восприятие раздражения токсикантом осуществляется периферическими нервными окончаниями. От них импульсы по нервам поступают в центральную нервную систему рыб, играющую, по Проссеру [1977], ключевую роль как в устойчивости, так и в способности организма к адаптации. Нервная система рыб быстро реагирует на действие ТМОХ, способного, как показано О.В.Париной с соавторами [1979], накапливаться в органах и тканях карпов, в том числе и в нервной ткани. Поэтому нервная система, являющаяся уязвимой при изменениях температуры [Проссер, 1977], становится более чувствительной к повышению температуры, и признаки функционирования

ных нарушений ее (изменение активности движений, потеря тактильной чувствительности, нарушение равновесия) у подопытных карпов появляются раньше, чем у контрольных особей (см. рис. 1, Б).

Благодаря нервной регуляции в ликвидацию токсического эффекта включаются эндокринные механизмы адаптации. Быстрое развитие компенсаторных изменений в организме на стресс происходит вслед за выбросом в кровь мозговым веществом надпочечников гормона адреналина. Роль эндокринной системы преобладает в регулировании длительно протекающих функций и процессов, связанных с ростом и дифференцировкой, обменом веществ, основными проявлениями жизнедеятельности организма [Новалес и др., 1977]. К сожалению, в настоящее время многие вопросы деятельности эндокринной системы рыб остаются нерешенными [Pickford, 1973]. Поэтому для выяснения значения адреналина в возникновении ранних изменений у карпов под влиянием ТМОХ мы использовали данные, полученные на других объектах.

В опытах на лягушках показано, что снижение теплоустойчивости связано с увеличением содержания в организме гормона надпочечников адреналина [Пашкова, 1962]. Введение рыбам адреналина и норадреналина в определенных дозах может приводить к прогрессирующему падению концентрации холестерина в крови [Thorge, Ince, 1974]. Адреналиновое возбуждение характеризуется снижением суммарных фосфолипидов в субклеточных фракциях отдельных частей головного мозга [Карагезян, 1972]. В опытах *in vitro* показано, что большие дозы адреналина (0,2–0,5 М) подавляют активность щелочной фосфатазы, тогда как сравнительно малые дозы (3×10^{-4} М), наоборот, резко повышают ее. Предполагается, что это связано с его способностью переводить неактивную часть молекулы фермента в активные формы путем связывания SH-группы [Адуниц, Саркисян, 1973]. Повышение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови зависит от состояния ретикуло-эндотелиальной системы, деятельность которой активируется при введении адреналина [Ткешелашвили, 1970]. Существует мнение, что резкое снижение активности аланинаминотрансферазы в крови может быть связано с влиянием гормонов мозгового вещества надпочечников [Nghia, 1974].

На основании приведенных данных можно сделать предположение, что изменения ряда исследованных нами показателей (ЩФ, АЛАТ, фосфолипидов, устойчивости к тепловой нагрузке) при воздействии ТМОХ в начальный период опытов связаны с изменениями концентрации адреналина в организме. При продолжении воздействия токсиканта, вероятно, постепенно усиливается влияние других гормонов на регуляторные процессы в организме рыб. Происходит постепенная приспособляемость рыб к воздействию токсиканта при непосредственном участии эндокринной системы, регулирующей, по С.С. Лагучеву [1975], как адаптивные процессы клеток, так и деятельность всего организма.

Изменения в органах карпов тесно связаны и с прямым действием токсиканта. Значительное содержание ТМОХ в крови карпов [Парина и др., 1979] связано, видимо, с накоплением его в эритроцитах, как это показано для других триалкил-производных олова [Barnes, Stoner, 1959] путем соединения с гистидиновыми остатками гемоглобина [Rose, 1969]. В ответ на повреждение эритроцитов происходит стимуляция их об-

разования в селезенке и, как показано в наших исследованиях, количество эритроцитов в крови повышается (см. рис. 1, В). Усиление эритропоэза, вероятно, приводит к повышению относительного веса селезенки рыб (см. рис. 2, В). Этому способствует накопление в селезенке ТМОХ в значительных количествах и медленное выведение его [Парина и др., 1979].

По данным указанных выше авторов, гепатопанкреас по степени накопления ТМОХ следовал за селезенкой. В отличие от других внутренних органов он не только активно накапливал ТМОХ, но и наиболее активно выводил его. Как косвенно показывают выявленные нами биохимические изменения в сыворотке крови карпов, гепатопанкреас является наиболее активно функционирующим органом рыб.

Есть основания полагать, что, в частности, повышается функциональная активность ретикулоэндотелиальных клеток Купфера печени, обезвреживающих токсические вещества. Активность ЩФ, синтезируемой в них, резко повышается (см. рис. 1, Е), а активность АЛАТ, захватываемой ими из крови [Ткешелашвили, 1970], понижается (см. рис. 1, Д) [Путинцев, Гамеза, 1980].

Оловоорганические соединения вызывают окислительную деструкцию липидов, что, видимо, приводит к нарушению проницаемости мембран [Stoner, Threlfall, 1958; Torack, 1965]. Как показал Д.С. Саркисов с соавторами [1975], в ответ на повреждение в клетках органов быстро развиваются неспецифические реакции регенерации: изменяется количество активно функционирующих единиц и увеличиваются их число и размеры. В случае действия на рыб ТМОХ эти реакции, видимо, усиливают использование важных структурных компонентов мембран — холестерина и фосфолипидов, соотношение которых регулирует проницаемость мембран. Содержание их в крови, так же как и их переносчиков-липопротеидов, понижается (см. рис. 1, Г и рис. 2, Б).

Как показали наши опыты, теплоустойчивость сеголеток карпа под влиянием ТМОХ в основном снижалась (см. рис. 1, Б). Это, по В.Я.Александрову [1975], может происходить вследствие изменения конформационной гибкости белковых макромолекул и физического состояния мембранных липидов. По-видимому, ТМОХ (прямо или опосредованно) увеличивает подвижность углеводородных цепей жирных кислот липидов мембран или вызывает их "разжижение", что оказывает влияние на активность исследованных ферментов. Холестерин, выполняющий роль регулятора агрегатного состояния мембранных липидов и уплотнителя мембран, усиленно используется в мембранах для предотвращения излишней "разжиженности".

Как показали наши опыты, на приспособляемость карпов к длительному действию малых концентраций токсикантов существенное влияние оказывают ранние физиолого-биохимические изменения в организме, возникающие при непосредственном участии нервной и эндокринной систем рыб и при прямом действии токсиканта на разные уровни организации организма.

ЛИТЕРАТУРА

- Адуни Г.Т., Саркисян Л.В. Участие некоторых факторов в регуляции активности щелочной фосфатазы. – Биол. журн. АН Арм ССР, 1973, т. 26, с. 22–32.
- Александров В.Я. Клетки, макромолекулы и температура. Л.: Наука, 1975.
- Гаузе Г.Ф. Естественный отбор у животных. – Зоол. журн., 1939, т. 18, вып. 4, с. 557–571.
- Гаузе Г.Ф. Роль приспособляемости в естественном отборе. – Журн. общ. биологии, 1940, т. 1, № 1, с. 105–120.
- Гаузе Г.Ф. Экологическая приспособляемость. – Успехи соврем. биологии, 1941, т. 14, вып. 2, с. 227–242.
- Горизонтов П.Д., Протасова Т.Н. Роль АКТГ и кортикостероидов в патологии. М.: Медицина, 1968.
- Каргезян К. Фосфолипиды и их роль в жизнедеятельности организма. Ереван: Аластан, 1972.
- Лагучев С.С. Гормоны и митотический цикл клетки. М.: Медицина, 1975.
- Лейтес С.М., Ляптева Н.Н. Очерки по патофизиологии обмена веществ и эндокринной системы. М.: Медицина, 1967, с. 411–414.
- Лукашненко В.И. Токсикология рыб. М.: Пищ. пром-сть, 1967.
- Новалес Р., Гильберт Л., Браун Ф. Эндокринные механизмы. – В кн.: Сравнительная физиология животных. М.: Мир, 1977, с. 411–507.
- Парина О.В., Озрина Р.Д., Строганов Н.С., Сорвачев К.Ф. Накопление и распределение по органам и тканям карпа триметилловохлорида при поглощении его из воды и с кормом. – В кн.: Реагирование гидробионтов на оловоорганические соединения. М.: Изд-во МГУ, 1979, с. 85–105.
- Пашкова И.М. Изменение теплоустойчивости мышц лягушек *Rana temporaria* L. при реакциях "испуга". – ДАН, 1962, т. 144, № 6, с. 1425–1428.
- Проссер Л. Температура. – В кн.: Сравнительная физиология животных. М.: Мир, 1977, с. 84–209.
- Путинцев А.И. Влияние триметилловохлорида на содержание лецитина и холестерина в сыворотке крови карпов. – Тез. докл. 3-й Всесоюз. конф. по водной токсикологии. Петрозаводск, 1975, с. 160–161.
- Путинцев А.И. Норма и патология в ранних реакциях гидробионтов на воздействие токсикантов. – Тез. докл. Всесоюз. симпоз. "Норма и патология в водной токсикологии". Байкальск, 1977, с. 83–86.
- Путинцев А.И. Ранние изменения у гидробионтов в связи с химическим загрязнением водоемов: Дис. ... канд. биол. наук. М.: 1980.
- Путинцев А.И., Гамеза Н.А. Теплоустойчивость и биохимические реакции молоди рыб при действии некоторых токсикантов: – Тез. докл. IV Всесоюз. конф. по экологии, физиологии и биохимии рыб. Астрахань, 1979, т. 1, с. 196–197.
- Путинцев А.И., Гамеза Н.А. Изменения биохимических показателей у карпов при экспериментальной интоксикации триметилловохлоридом. – Биол. науки, 1980, № 8, с. 29–34.
- Саркисов Д.С., Пальцын А.А., Втюрин Б.В. Приспособительная перестройка биоритмов. М.: Медицина, 1975.
- Строганов Н.С. Новые пути решения проблемы действия сточных промышленных вод на водные организмы. – Учен. зап. МГУ, 1941, вып. 60, с. 4–25.
- Строганов Н.С. Физиологическая приспособляемость рыб к температуре среды. М.: Изд-во АН СССР, 1956.
- Ткешелашвили М.Г. Влияние различных условий на активность некоторых ферментов в сыворотке крови: Дис. канд. ... биол. наук. Тбилиси, 1970.
- Философские проблемы теории адаптации / Под ред. Г.И. Царегородцева. М.: Мысль, 1975.
- Шварц С.С. Современные проблемы эволюционной теории. – Вопр. философии, 1967, № 10, с. 143–153.
- Barnes J.M., Stoner H.B. The toxicology of tin compounds. – Pharmacol., Rev., 1959, vol. 11, N 2, p. 211–231.
- Nghia L.T. Effects de l'abhydride carbonique sur l'aminotransférase de l'aspartate et l'aminotransférase de l'alanine chez le rat. – Thèse doct. sci. biol., Univ. Claude-Bernard Lyon, 1974, 14, p. ill.

- Pickford G.B. Introductory remarks. — Amer. Zool., 1973, vol. 13, N 3, p. 711–717.
- Rose M.S. Evidence for histidine in the triethyltin-binding site of rat haemoglobin. — Biochem. J., 1969, vol. 3 (2), p. 129–137.
- Stoner H.B., Trelfall C.J. The biochemistry of organotin compounds. Effect of triethyltin sulphate on tissue phosphates in the rat. — Biochem. J., 1958, vol. 69, N 3, p. 376.
- Thorpe A., Ince B.W. The effects of pancreatic hormones catecholamines, and glucose loading on blood metabolites in the northern pike (*Esox lucius* L.). — Gen. and Comp. Endocrinol., 1974, vol. 23, N 1, p. 29–44.
- Torack R.M. The relationship between adenosinetriphosphatase activity and triethyltin toxicity in the production of cerebral edema of the rat. — Amer. J. Pathol., 1965, vol. 46, N 2, p. 245–258.

УДК 591.525

ВЛИЯНИЕ ХЛОРОФОСА НА ВОСПРИИМЧИВОСТЬ РЫБ К ИНВАЗИИ ПАРАЗИТАМИ РОДА DACTYLOGYRUS

Т. И. ЖАРИКОВА

Институт биологии внутренних вод АН СССР

Известно, что качество воды оказывает непосредственное влияние на водные организмы. В условиях возрастающего загрязнения водоемов токсическими веществами изучение их влияния на гидробионтов приобретает особо важное значение. К сожалению, этот аспект проблемы загрязнения слабо разработан.

Существует гипотеза, основанная на немногочисленных наблюдениях, согласно которой токсические вещества ослабляют организм водных животных, снижают их иммунологическую реактивность [Гончаров, Микряков, 1972] и тем самым способствуют возникновению инфекционных и инвазионных заболеваний [Leibman, 1966; Pippy, Hare, 1969; Snieszko, 1974].

Экспериментальных работ, подтверждающих правильность этого предположения, к настоящему времени очень мало. Так, В. П. Владимировым и Б. А. Флеровым [1974] выявлено, что восприимчивость рыб к ихтиофтириозу (*Ichthyophthirius multifiliis*) после отравления фенолом и полихлорпиненом была значительно выше по сравнению с рыбами, не подвергавшимися воздействию токсикантов. Флеровым и Микряковым [1977] показано неблагоприятное воздействие пестицидов (хлорофоса, полихлорпинена и синтетического стирального порошка "Лотос-71") на течение и исход инфекционного процесса при аэромонозе (бактериальной форме краснухи) у карпов. У подопытных рыб отмечена не только меньшая устойчивость к инвазии, но и большая смертность в результате заболевания по сравнению с контрольными рыбами.

Работ, подобных приведенным выше, но касающихся исследования воздействия различных токсикантов на восприимчивость к гельминтозным заболеваниям, не проводилось. Мы решили проследить влияние хлорофоса — широко распространенного фосфорорганического пестицида на степень устойчивости рыб к заражению дактилогирисами. Хлорофос оказывает губительное действие на многих гидробионтов, в том числе и на ракообразных, многие из которых являются промежуточными хозяевами

некоторых гельминтов. На этом свойстве хлорофоса основано применение его в борьбе с некоторыми паразитарными заболеваниями, например с филометроидозом карпа [Авдосьев, 1974, 1977]. Кроме того, хлорофос широко используется как лечебное средство при дактилогирозах карпа и растительноядных рыб [Sarig, 1965, 1966; Grabda J., Grabda E., 1966; Meuer, 1968]. В этих случаях применяют ванны из раствора хлорофоса в концентрации 0,25–1,0% (2,5–10,0 г/л) с экспозицией 15–20 мин. В последнее время с увеличением масштабов производства хлорофос вносят непосредственно в пруды из расчета 25:1 000 000 при экспозиции 24 ч [Бауер и др., 1977].

Токсическое действие хлорофоса на рыб заключается в необратимом подавлении активности ацетилхолинэстеразы, что приводит к нарушению многих функций организма [Мартино, 1968; Метелев, 1969; Мельников, 1974; Тихонова и др., 1976]. Клинические признаки острого отравления рыб хлорофосом характеризуются судорожными движениями и вялостью. Рыбы запрокидываются на бок и гибнут [Маляревская, 1979]. При хроническом отравлении наблюдается замедление и даже полное прекращение роста, нарушение газообмена и другие патологические процессы, которые приводят к снижению коэффициента упитанности и в итоге — к уменьшению рыбопродуктивности водоема.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования проводили на годовиках карася *Carassius auratus* L. и карпа *Cyprinus carpio* L. при температурах 5–7, 15, 19°C. Использовали растворы хлорофоса в концентрациях 2, 10 и 50 мг/л. Свободных от дактилогирозов рыб делили на две равные группы. Одну (подопытную) выдерживали в растворе хлорофоса в течение 5 дней. Другую (контрольную) этот же срок содержали в чистой воде. Затем подопытных и контрольных рыб на 14 дней помещали в "заразник" — аквариум с зараженными рыбами (карасей с зараженными карасями, карпов с зараженными карпами). После этого подопытных и контрольных рыб вскрывали для подсчета численности паразитов на тех и других.

Т а б л и ц а 1

Зараженность карасей дактилогирозами после воздействия 10 мг/л хлорофоса

Температура раствора хлорофоса, °С	n	Группа рыб	Численность паразитов в среднем на одной рыбе	
			<i>D. anchoratus</i>	<i>D. intermedius</i>
5–7	40	Опыт	80	32
		Контроль	82	24
15	60	Опыт	175	48
		Контроль	90	28
19	40	Опыт	220	50
		Контроль	94	26

РЕЗУЛЬТАТЫ

Караси были инвазированы двумя видами дактилогирусов: *Dactylogyrus anchoratus*, *D. intermedius*; на карпах обнаружено четыре вида: *D. anchoratus*, *D. achmerowi*, *D. extensus* и *D. formosus*. Всего за время проведения экспериментов просмотрено 750 экземпляров рыб.

Подопытные рыбы (как караси, так и карпы), выдержанные в растворе хлорофоса концентрацией 10 мг/л при температурах 15 и 19°С, заразились дактилогирусами значительно сильнее по сравнению с интактными рыбами (табл. 1 и 2). При температуре 15° подопытные караси оказались зараженными примерно в 2 раза больше по сравнению с контрольными (соответственно 223 и 119 паразитов в среднем на одной рыбе). При температуре 19° это различие было еще большим: интенсивность инвазии подопытных карасей (270 паразитов на рыбе) примерно в 2,3 раза выше контрольных (в среднем 120 паразитов на рыбе). При этой же температуре подопытные карпы заразились в 2,2 раза сильнее контрольных, интенсивность инвазии составила соответственно 310 и 140 дактилогирусов в среднем на рыбе.

Кроме повышения восприимчивости рыб к инвазии после воздействия хлорофоса отмечена гибель подопытных рыб в "заразнике", причиной чего, по-видимому, явилось отравление рыб хлорофосом и как следствие этого — высокая зараженность паразитами. Из 30 карасей, выдержанных в растворе хлорофоса при 15°С, погибло 4 рыбы (13%). Из 35 подопытных карпов и 20 карасей, находившихся в растворе хлорофоса при температуре 19°С, в "заразнике" погибло 8 карпов и 6 карасей (соответственно 23 и 30%).

Опыты, проведенные при температуре 5–7°С, показали, что воздействие токсиканта в этом случае мало отражается на восприимчивости рыб к заражению дактилогирусами. После пребывания в "заразнике" интенсивность инвазии подопытных и контрольных карпов составила в среднем 94 и 85 дактилогирусов на рыбу (различия достоверны на 1-м уровне значимости). Сходные данные получены для подопытных и контрольных карасей: 112 и 106 паразитов на рыбу в среднем (различия не достоверны). При температуре 5–7°С гибели рыб не отмечалось.

Общая численность паразитов		Критерии Стьюдента, t_{st}	Достоверность различий, p	Число выжив- ших рыб
Пределы колеба- ний	В среднем на од- ной рыбе, $M \pm m$			
86-134	112,1 \pm 2,8	1,6	< 0,5	20
88-133	106,2 \pm 2,3			20
190-240	223,3 \pm 2,9			26
105-132	119,1 \pm 1,4	3,2	> 0,01	30
240-294	269,8 \pm 3,5	4,1		14
106-134	120,0 \pm 1,8			20

Т а б л и ц а 2

Зараженность карпов дактилогирусами после воздействия 10 мг/л хлорофоса

Температура раствора хлорофоса, °С	n	Группа рыб	Численность паразитов в среднем на одной рыбе	
			<i>D. anchoratus</i>	<i>D. achmerowi</i>
5-7	40	Опыт	33	61
		Контроль	30	55
19	70	Опыт	105	205
		Контроль	45	95

При подсчете паразитов учитывали не только их общее количество, но и численность по видам. Результаты экспериментов показали, что соотношение количества червей по видам у подопытных и интактных рыб практически одинаково. Поэтому при проведении дальнейшей серии опытов с хлорофосом в концентрации 50 мг/л на карасях и карпах, зараженных теми же видами дактилогирусов, подсчитывали только общую численность последних. Эксперименты, проведенные с хлорофосом в концентрации 50 мг/л, выявили аналогичную закономерность при воздействии токсиканта на восприимчивость рыб к дактилогирозной инвазии (табл. 3).

Зараженность рыб, выдержанных в растворе хлорофоса при температурах 15 и 19°С, была значительно выше по сравнению с интактными рыбами. Число погибших подопытных рыб в "заразнике" оказалось большим, чем в опытах с хлорофосом в концентрации 10 мг/л. Как и в предыдущей серии опытов, токсикант при температуре 5-7°С незначительно влиял на восприимчивость рыб к инвазии дактилогирусами. Гибели подопытных рыб в "заразнике" при этой температуре не отмечено.

Далее были проведены опыты с раствором хлорофоса в концентрации 2 мг/л при температуре 15 и 19°С. В экспериментах использованы годовики карпа, которые в "заразнике" подвергались инвазии тремя видами дактилогирусов: *D. extensus*, *D. formosus*, *D. achmerowi*. Результаты опытов показали, что воздействие этой дозы в течение 5 дней не отражается на восприимчивость рыб к заражению дактилогирусами (табл. 4). Интенсивность инвазии подопытных и контрольных рыб после пребывания в "заразнике" была практически одинакова. При температуре 19°С в "заразнике" погибло три опытных и три контрольных карпа. Причиной этого, возможно, была высокая температура. Различий в соотношении численности паразитов по видам у опытных и контрольных рыб не выявлено.

Как отмечалось выше, хлорофос широко применяется в прудовых хозяйствах как эффективное лечебное средство при дактилогирозе. Зараженная рыба, проведенная через хлорофосные ванны и освобожденная от паразитов, вновь выпускается в водоем, где находятся яйца и онкомирацидии дактилогирусов. Проведенные эксперименты показали, что этот токсикант в достаточно больших концентрациях отрицательно влияет на устойчивость рыб к заражению дактилогирусами.

Общая численность паразитов		Критерий Стьюдента, t_{ST}	Достоверность различий, p	Число выжив- ших рыб
Пределы колеба- ний	В среднем на од- ной рыбе $M \pm m$			
77-118	$94 \pm 2,8$	2,6	$> 0,05$	20
71-102	$84,9 \pm 2,1$			20
281-340	$310,3 \pm 3,1$	4,4	$> 0,001$	27
100-162	$139,8 \pm 2,3$			35

С целью выявления восприимчивости рыб к повторному заражению паразитами после освобождения их от инвазии с помощью хлорофоса были поставлены специальные опыты. В экспериментах использованы годовики карася (80 рыб), свободные от дактилогирусов. Часть рыб (подопытных) подвергали заражению паразитами, для чего помещали в "заразник" — аквариум, где остались яйца и свободноплавающие личинки дактилогирусов после удаления из него зараженных рыб. В первом опыте интенсивность инвазии рыб равнялась 110 паразитам (*D. anchoratus*, *D. intermedius*, *D. wegneri*), во втором — 90 дактилогирусам (те же виды) в среднем на одной рыбе. Затем зараженных таким способом рыб освобождали от паразитов, проводя их через раствор

Т а б л и ц а 3

Зараженность рыб дактилогирусами после воздействия 50 мг/л хлорофоса

Температу- ра раство- ра хлоро- фоса °С	n	Группа рыб	Численность паразитов		Критерий Стьюдента, t_{ST}	Достовер- ность раз- личий, p	Число выжив- ших рыб
			Пределы колеба- ний	В среднем на одной рыбе, $M \pm m$			
5-7	40 кар- пов	Опыт	100-138	$118,9 \pm 2,1$	4,2	$> 0,001$	20
		Контроль	95-124	$108,0 \pm 1,6$			20
5-7	50 ка- расей	Опыт	110-148	$132,4 \pm 1,9$	2,5	$> 0,05$	25
		Контроль	100-140	$126,0 \pm 1,6$			25
15	50 ка- расей	Опыт	370-422	$405,5 \pm 2,5$	7,6	$> 0,001$	18
		Контроль	128-170	$150,0 \pm 2,2$			25
19	60 кар- пов	Опыт	450-510	$480,0 \pm 4,6$	7,1	$> 0,001$	19
		Контроль	110-150	$130,7 \pm 1,8$			30
19	60 ка- расей	Опыт	360-420	$390,0 \pm 3,1$	8,3	$> 0,001$	20
		Контроль	88-122	$105,2 \pm 1,4$			

Таблица 4

Зараженность карпов после воздействия 2 мг/л хлорофоса

Температура раствора хлорофоса, °С	n	Группа рыб	Численность паразитов в среднем на одной рыбе		
			<i>D. extensus</i>	<i>D. formosus</i>	<i>D. achmerowi</i>
15	40	Опыт	5	26	12
		Контроль	3	25	13
19	40	Опыт	16	71	32
		Контроль	14	68	30

хлорофоса по общепринятой методике: концентрация хлорофоса – 2,5 г/л (0,25%), температура 18°С, экспозиция 15–20 мин. После такой обработки свободных от дактилогирусов рыб сутки выдерживали в чистой воде. Далее подопытных и контрольных рыб при температуре 18–19°С на 14 дней помещали в "заразник", после чего вскрывали для подсчета численности паразитов. Оказалось, что в первом опыте интенсивность инвазии первоначально зараженных рыб составляла 145 в среднем дактилогирусов на рыбу, а контрольных – 55. Во втором опыте эти показатели соответственно составили 87 и 33 паразита на рыбу (табл. 5). Следовательно, обработка хлорофосом зараженных дактилогирусами рыб повышает их восприимчивость к повторному заражению паразитами.

Для выяснения вопроса, возможно ли устранить токсическое воздействие хлорофоса, повышающего восприимчивость рыб к заражению дактилогирусами, был поставлен следующий эксперимент. В раствор хлорофоса концентрацией 10 мг/л на 5 дней поместили 40 свободных от паразитов годовиков карпа (подопытная группа рыб). Одновременно столько же рыб поместили в чистую воду (контрольная группа). Температура раствора хлорофоса и воды была 15–17°С. Через 5 дней пребывания в растворе хлорофоса по 10 подопытных и контрольных рыб были помещены в "заразник". Остальных подопытных рыб перенесли в чистую воду, из которой через 2, 5, 8 дней их пересаживали в "заразник". Одновременно брали по 10 контрольных карпов и также помещали в "заразник". Через 14 дней пребывания в последнем подопытных и контрольных рыб вскрывали для подсчета паразитов. Результаты опыта представлены в табл. 6.

Рыбы, перенесенные в чистую воду сразу после пребывания их в растворе хлорофоса, заразились паразитами значительно сильнее по сравнению с контрольными: соответственно 72 и 29 дактилогирусов в среднем на одного карпа. После 2 дней нахождения в чистой воде различие в численности паразитов на подопытных и контрольных рыбах уменьшилось: в среднем 48 и 34 дактилогируса на рыбу. Через 5 и 8 дней пребывания в чистой воде разницы в величинах инвазии опытных и интактных рыб отмечено не было. Следовательно, выдерживание рыб в чистой воде в течение 5–8 дней устраняет токсическое воздействие хлорофоса.

Общая численность паразитов		Критерий Стьюдента, t_{37}	Достоверность различий, p	Число выжи- вших рыб
Пределы коле- баний	В среднем на одной рыбе, $M \pm m$			
33-53	$43,6 \pm 1,3$	1,7	< 0,05	20
36-55	$40,8 \pm 0,99$			
93-130	$116,9 \pm 2,5$	1,5	< 0,05	17
90-124	$112,0 \pm 2,0$			

Т а б л и ц а 5

Восприимчивость рыб (40 экз.) к повторному заражению дактилогирусами после обработки 0,25%-ным хлорофосом при 18-19° С

Группа рыб	Численность паразитов		Критерий Стьюдента, t_{37}	Достовер- ность раз- личий, p
	Пределы колеба- ний	В среднем на од- ной рыбе, $M \pm m$		
Опыт	132-152	$144,9 \pm 1,2$	> 5,5	0,001
Контроль	44-63	$54,9 \pm 1,2$		
Опыт	70-94	$87,1 \pm 1,2$	> 4,0	0,001
Контроль	27-37	$33,0 \pm 0,67$		

Т а б л и ц а 6

Зараженность рыб, выдержанных в чистой воде, после пребывания в растворе 10 мг/л хлорофоса при 15-17° С

Экспози- ция в чи- стой воде после хло- рофоса, дни	Группа рыб	Численность па- разитов в среднем на одной рыбе		Общая численность па- разитов		Критерий Стьюдента, t_{37}	Достовер- ность различий, p
		D. for- tosis	D. achme- rowi	Пределы колеба- ний	В среднем на одной рыбе, $M \pm m$		
0	Опыт	39	33	65-76	$72,0 \pm 1,1$	25,6	> 0,001
	Контроль	18	11	20-33	$29,0 \pm 1,3$		
2	Опыт	27	21	41-52	$48,0 \pm 1,1$	10,1	> 0,001
	Контроль	20	14	29-38	$34,0 \pm 0,89$		
5	Опыт	24	22	40-51	$46,1 \pm 1,2$	1,3	< 0,05
	Контроль	22	20	38-48	$44,1 \pm 0,95$		
8	Опыт	36	19	49-58	$55,1 \pm 1,0$	1,3	< 0,05
	Контроль	30	27	51-62	$57,0 \pm 0,99$		

ВЫВОДЫ

Хлорофос в концентрации 10 и 50 мг/л при температуре 15 и 19°C (экспозиция 5 дней) повышает восприимчивость годовиков карпа и карася к заражению дактилогирусами. Воздействие тех же концентраций токсиканта при температуре 5–7°C практически не отражается на устойчивости рыб к инвазии. Эти данные являются еще одним подтверждением общеизвестного факта, что при пониженных температурах воздействие различных токсикантов, в том числе и хлорофоса, проходит менее интенсивно [Лукьяненко, 1967; Берим, 1971, Маляревская 1979].

Хлорофос в концентрации 2 мг/л при температуре 15 и 19°C (экспозиция 5 дней) не влияет на восприимчивость годовиков карпа к инвазии дактилогирусами.

Обработка зараженных рыб раствором хлорофоса с целью освобождения от дактилогирусов снижает их устойчивость к повторному заражению.

При выборе химических веществ, применяемых для борьбы с дактилогеридами, по-видимому, следует учитывать не только их воздействие на самих паразитов, но и их отрицательное влияние на организм хозяина, проявляющееся в повышении восприимчивости к повторной инвазии.

Токсическое воздействие хлорофоса можно устранить путем выдерживания рыб в чистой воде. По всей видимости, этот факт также следует учитывать при использовании хлорофоса (и других химических веществ) как терапевтического средства при дактилогирозе.

ЛИТЕРАТУРА

- Авдосьев Б.С. Опыт применения новых химиопрепаратов в борьбе с инвазионными болезнями прудовых рыб. – В кн.: Новые методы и опыт оздоровления рыбохозяйственных водоемов от заразных болезней рыб: Тез. докл. М., 1974, с. 86–91.
- Авдосьев Б.С. Результаты применения хлорофоса в борьбе с филометраидозом карпа: Тез. докл. к семинару "О новых и переработанных методах борьбы с болезнями рыб в рыбоводных хозяйствах Мхирыбхоза СССР". М.: Мхирыбхоз СССР, 1977, с. 1–3.
- Бауер О.Н., Мусселиус В.А., Николаева В.М., Стрелков Ю.А. Ихтиопатология. М.: Пищ. пром-сть, 1977, с. 269–275.
- Берим Н.Г. Биологические основы применения инсектицидов. М.: Колос, 1971.
- Владимирова В.П., Флеров Б.А. Восприимчивость к интиофтириозу у рыб после отравления фенолом и полихлорпипином. – Информ. бюл. Ин-та биол. внутренних вод АН СССР, 1974, № 25, с. 35–37.
- Гончаров Г.Д., Микряков В.Р. Влияние малых концентраций фенола на антителообразование у карпов, *Cyprinus carpio* L. – В кн.: Вопросы водной токсикологии. М.: Наука, 1970, с. 171–175.
- Лукьяненко В.И. Токсикология рыб. М.: Пищ. пром-сть, 1967.
- Маляревская А.Я. Обмен веществ у рыб в условиях антропогенного еутрофирования водоемов. Киев: Наук. думка, 1979, с. 252.
- Мартин К.В. О токсическом действии инсектицидов на рыбу. – Тр. Касп. НИИ рыб. хоз-ва, 1968, т. 24, с. 186–196.
- Мельникова Н.Н. Химия и технология пестицидов. М.: Химия, 1974.
- Метелев В.В. Патогенез отравления рыб фтором, метилнитрофосом и фосфамидом. Бюл. Всесоюз. ин-та эксперим. ветеринарии, 1969, вып. 6, с. 55–60.
- Тихонова П.С., Прокопенко В.А., Сокольская Н.П. Физиологические особенности эмбрионального и постэмбрионального развития лососевых и осетровых рыб под действием иодофоса. – В кн.: Экологическая физиология рыб: Тез. докл. III Всесоюз. конф. Киев: Наук. думка, 1976, ч. 1, с. 166–167.

- Флеров И.А., Микряков В.Р.** Влияние некоторых токсических веществ на устойчивость карпов к аэромонозу. - Информ. бюл. Ин-та биол. внутренних вод АН СССР, 1977, № 33, с. 59-61.
- Grabda J., Grabda E.** An attempt to control *Dactylogyrosus* of carp with Neguvon. - Proceedings of the World Symposium on Warm Water Pond Fish Culture, 1966, vol. 5 (44), p. 377-379.
- Liebmann H.** Fish as an indicator of Water pollution. - Bull. Office internat. epluooties, 1966, vol. 65 (5-6), p. 565-569.
- Meyer F.P.** Dylox as a control for ectoparasites of fish. - Proceedings of the Southeastern Associat. of Game and Fish Commissioners, 1968, p. 392-396.
- Pippy J.H.C., Hare G.M.** Relationship of river pollution to bacterial infection in salmon (*Salmo salar*) and suckers (*Catostomus commersoni*). - Trans. Amer. Fish. Soc., 1969, vol. 98 (4), p. 685-690.
- Sarig S.** Control of *Dactylogyrus vastator* on carp fingerlings with Dipterex. - Bamidgeh, 1965, vol. 17 (2), p. 47-52.
- Sarig S.** A review of diseases and parasites of fishes in warmwater ponds in the near East and Africa. - Proceedings of the Worl Symposium on Warm-Water Pond Fish Culture, 1966, vol. 5 (44), p. 278-289.
- Snieszko S.F.** The effect of invironmental stress on outbreak of infectious diseases of fishes. J. Fish. Biol., 1974, vol. 6 (2), p. 197-208.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	3
Приспособленность и приспособляемость в системе взаимоотношений гидробионта с токсикантом. <i>Н.С.Строганов</i>	5
Об адаптивности и пластичности водных организмов. <i>А. Ф. Карлевич</i>	13
Механизмы приспособления водных животных к токсическим веществам. <i>Б. А. Флеров</i>	30
О некоторых механизмах резистентности гидробионтов к различным токсикантам. <i>Л. П. Брагинский, А. Я. Малаяевская, Т. И. Биргер, Ф. Я. Комаровский, Ф.М. Карасина</i>	34
К вопросу адаптации свободноживущих инфузорий к нефтяному субстрату. <i>О. Г. Миронов</i>	42
Биохимические аспекты адаптации. <i>К. Ф. Сорвачев</i>	46
Регуляция метаболизма рыб при интоксикации. <i>А. Я. Малаяевская</i>	53
Адаптационные биохимические изменения морской микрофлоры при утилизации углеводов в присутствии ДДТ. <i>И. А. Дивавин, Ю. П. Колытов</i>	59
Адаптация морской нефтеокисляющей микрофлоры к комбинированному загрязнению (экологические и физиолого-биохимические аспекты). <i>Ю. П. Колытов, И. А. Дивавин</i>	63
Некоторые методические подходы к изучению привыкания. <i>К. А. Кузьмина, Л. В. Зотова</i>	69
Изменение нормы реакции при адаптации рыб к новым условиям существования. <i>Б. В. Кошелев</i>	74
Реагирование зародышей осетровых рыб на изменение температурного режима развития. <i>Л. А. Сытина, Н. Г. Никольская</i>	82
О приспособительных реакциях рыб при воздействии пестицидов. <i>Г. В. Попова</i>	99
Процессы приспособления и регуляции у моллюсков и эмбрионов рыб при изменении среды. <i>О. П. Данильченко</i>	103
Морфологические изменения, развивающиеся в органах рыб при привыкании к токсическим веществам. <i>Ю. А. Щербаков</i>	113
Адаптация некоторых видов гидробионтов к сточным водам химической промышленности. <i>Р. А. Шахматова</i>	117
О фенотипической адаптации синезеленых водорослей к дисперсантам. <i>Л. Д. Гапочка</i>	122
Эффект кумуляции и его связь с приспособительной реакцией организма. <i>Л. В. Колосова, В. Н. Носов</i>	128
Компенсаторные изменения в ответе дафний на летальные воздействия. <i>О. Ф. Филенко, Е. Ф. Исакова</i>	135
Характер регуляции некоторых показателей пластического обмена у рыб под влиянием токсикантов. <i>Н. С. Бузинова</i>	140
Регуляция активности системы обеспечения кислородного режима у гидробионтов. <i>Б. И. Колупаев</i>	146

Оловоорганические соединения и регуляция поступления фосфата в органы и ткани карпа. <i>О. Ф. Филенко, О. В. Парина</i>	151
Реагирование эмбрионов и личинок карпа на фосфоорганические соединения. <i>С.С. Гусева, О.П. Данильченко</i>	158 ✓
Исследование основных функций жабр речного рака при воздействии солей аммония и закислении среды. <i>Г. А. Виноградов, Е. С. Даль, В. Т. Комов</i>	167
Реакция хлоридных клеток жаберного эпителия карася на изменение кислотности и ионного состава внешней среды. <i>В.Е. Матей, В. Т. Комов</i>	176
Обратимость нитоксикации карпа карбофосом. <i>В. И. Козловская, В. М. Степанова, Г. М. Чуйко</i>	191
Влияние кальция на минеральный обмен и ультраструктуру жабр у пресноводных рыб. <i>Г. А. Виноградов, В. Е. Матей, Е. С. Даль</i>	199
Гормональная регуляция иммунологической реактивности рыб. <i>В. Р. Микряков, О. Я. Аскинази</i>	207
Приспособляемость и регуляция у рыб при длительном воздействии малых концентраций токсикантов (физиолого-биохимический аспект). <i>А. И. Путинцев, Н. А. Гамеза</i>	222
Влияние хлорофоса на восприимчивость рыб к инвазии паразитами ропа <i>Dactylogyruis</i> . <i>Т. И. Жарикова</i>	231

УДК 591.525

Приспособленность и приспособляемость в системе взаимоотношений гидробионтов с токсикантом. Строганов Н.С. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Рассматриваются общebiологические аспекты приспособленности и приспособляемости организма к действию токсиканта, разнообразие реагирования особей на экстремальные воздействия, дается биологическая оценка степени приспособленности особи и механизмы, ее обеспечивающие.

Рис. 5. Табл. 1.

УДК 616.003.96

Об адаптивности и пластичности водных организмов. Карпевич А.Ф. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Анализируется, в какой степени экологические закономерности применимы к водной токсикологии. Разбираются вопросы терминологии, формирования пластичности и адаптивности. Предлагается классификация концентраций химических соединений по реакции на них гидробионтов.

Рис. 10. Библ. 19 назв.

УДК 612.017.2

Механизмы приспособления водных животных к токсическим веществам. Флеров Б.А. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

На основании собственных экспериментальных фактов и данных литературы показано, что в основе приспособляемости водных животных лежат отбор на повышенную устойчивость. Одновременно в организме могут ослабляться другие защитные функции. Ставится вопрос о необходимости изучения физиолого-биохимических механизмов устойчивости.

Библ. 18 назв.

УДК 574.64:594.577.1

О некоторых механизмах резистентности гидробионтов к различным токсикантам. Брагинский Л.П., Мальяревская А.Я., Биргер Т.И., Комаровский Ф.Я., Карасина Ф.М. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Показано, что в токсикорезистентности гидробионтов существенная роль принадлежат уровню никотинамидных коферментов и витамина В₁ в их тканях.

Рис. 2. Табл. 3. Библ. 8. назв.

УДК 616.003.96

К вопросу адаптации свободноживущих инфузорий к нефтяному субстрату. Миронов О.Г. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Приводятся экспериментальные данные по разрушению нефтяных остатков инфузориями, относящимися к различным систематическим группам.

Табл. 1. Библ. 7 назв.

УДК 628.515:591.524.1(28)

Биохимические аспекты адаптации. Сорвачев К.Ф. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Доказывается, что изучение процессов биохимической адаптации на разных уровнях, в частности к химическим структурам токсических веществ, влиянию их на обменные процессы, может дать убедительные и интересные материалы уже на первых стадиях познания биологической сущности приспособительных реакций при интоксикации водных организмов.

Библ. 8 назв.

УДК 574.64:597:577.1

Регуляция метаболизма рыб при интоксикации. М а л я р е в с к а я А.Я. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Экспериментально установлено на пресноводных рыбах (окуне, судаке, карасе и др.) изменение некоторых регуляторов метаболизма: содержания никотинамидных коферментов и витамина В₁ под влиянием токсикантов различного происхождения (токсинов, метаболитов синезеленых водорослей, ДДТ и хлорофоса), а также гипоксии.

Табл.2. Библ. 13 назв.

УДК 582.232.6:628.394

Адаптационные биохимические изменения морской микрофлоры при утилизации углеводов в присутствии ДДТ. Д и в а в и н И.А., К о п ы т о в Ю.П. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Экспериментальное изучение биохимических изменений в углеводород-окисляющих микроорганизмах в процессе их адаптации к ДДТ и определение скорости окисления нефти и нефтепродуктов при разных концентрациях ДДТ вскрыли значительное ингибирование процесса деградации нефти и нефтепродуктов в присутствии ДДТ.

Табл. 4. Библ. 6 назв.

УДК 582.232:6:628.394

Адаптация морской нефтеокисляющей микрофлоры к комбинированному загрязнению (экологические и физиолого-биохимические аспекты). К о п ы т о в Ю.П., Д и в а в и н И.А. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Исследовалась динамика некоторых физиолого-биохимических показателей нефтеокисляющих и фенолразрушающих микроорганизмов в процессе утилизации нефти, фенолов, а также при их сочетании с веществами белковой и углеводородной природы. Показано, что их сочетание замедляет процесс утилизации углеводов.

Табл. 1. Библ. 11 назв.

УДК 578.591.159

Некоторые методические подходы к изучению привыкания. К у з ь м и н а К.А., З о т о в а Л.В. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Развивается мысль о том, что исследование проблемы привыкания должно иметь комплексный характер, включая в себя не только методы непосредственного изучения привыкания, но и специфические для данного вида тесты.

Библ. 14 назв.

УДК 591.597

Изменение нормы реакции при адаптации рыб к новым условиям существования. К о ш е л е в Б.В. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Рассматриваются особенности изменения нормы реакции при действии различных экологических факторов (естественных и антропогенных) в процессе адаптации рыб к новым условиям существования.

Рис. 5. Библ. 18 назв.

УДК 591.044.3 + 597.44

Реагирование зародышей осетровых рыб на изменение температурного режима развития. С ы т и н а Л.А., Н и к о л ь с к а я Н.Г. — В кн.: Реакции гидробионтов рыб на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Прослежены ответные реакции на повышение и понижение температуры инкубации на различных стадиях эмбриогенеза у осетровых рыб. Описан характер их изменения по мере усложнения организации зародыша и зависимость их проявления от интенсивности и продолжительности действия фактора, величины перепада температур и стадии развития к моменту изменения режима инкубации. Оценивается возможный адаптивный смысл выявленных реакций.

Рис. 6. Табл. 4. Библ. 37 назв.

УДК 574. 6:591. 044

О приспособительных реакциях рыб при воздействии пестицидов. П о п о в а Г.В. — В кн.: Реакция гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Рассматривается адаптация организма к токсикантам, разбирается понятие критериев приспособления рыб к измененной среде обитания, формулируется различие между реакциями физиологического приспособления и компенсации патологического процесса в крови рыб при воздействии пестицидов.

Библ. 3 назв.

УДК 591. 525. 628. 394

Процессы приспособления и регуляции у моллюсков и эмбрионов рыб при изменении среды. Д а н и л ь ч е н к о О.П. — В кн.: Реакция гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1982.

Опыты, проведенные на разных объектах при анализе различных биологических показателей, не выявили приспособительного реагирования у рыб и моллюсков на действие токсических веществ.

Рис. 2. Библ. 14 назв.

УДК 615. 9:616. 091:597

Морфологические изменения, развивающиеся в организме рыб при привыкании к токсическим веществам. Щ е р б а к о в Ю.А. — В кн.: Реакция гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Описываются морфологические изменения органов рыб, развивающиеся в концентрациях, не вызывающих видимых явлений интоксикации. Отсутствие клинических признаков отравления объясняется явлениями приспособления, компенсации, функции организма. Изменения, обнаруженные в органах при интоксикации, рекомендуется использовать в диагностике отравления рыб.

Библ. 8 назв.

УДК 574. 632

Адаптация некоторых видов гидробионтов к сточным водам химической промышленности. Ш а х м а т о в а Р.А. — В кн.: Реакция гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Способность гидробионтов адаптироваться к условиям обитания при повышенном загрязнении промышленными сточными водами нельзя рассматривать как положительное явление: увеличение видового разнообразия и численности происходит за счет исчезновения ценных промысловых видов рыб. При разработке вопросов биотестирования следует учитывать высокую адаптационную способность многих видов гидробионтов.

Библ. 4 назв.

УДК 582. 232. 7:628. 515

О фенотипической адаптации синезеленых водорослей к дисперсантам. Г а - п о ч к а Л.Д. — В кн.: Реакция гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Показана способность к фенотипической адаптации популяций двух видов синезеленых водорослей к токсическому воздействию дисперсантов ДН-75 и ЭПН-5.

Рис. 2. Библ. 11 назв.

УДК 577.472:591.145.3

Эффект кумуляции и его связь с приспособительной реакцией организма. Колосова Л.В., Носов В.Н. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

В эксперименте с дафниями методами многомерной статистики выявляется связь угла наклона токсикологической кривой с химической структурой 46 элементоорганических соединений. Изучение полученной зависимости позволяет предположить, что она обусловлена в первую очередь кумулятивными свойствами соединений. Для выявления соотношения между процессами кумуляции и адаптации предлагается экспериментальная схема, в которой определение коэффициента кумуляции играет основную роль.

Рис. 1. Библ. 11 назв.

УДК 577.472 (28):591.145.3

Компенсаторные изменения в ответе дафний на летальные воздействия. Филенко Е.Ф., Исакова Е.Ф. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

На основании анализа экспериментальных кривых динамики гибели дафний при действии токсических веществ различных концентраций делается предположение о закономерностях развития компенсаторных процессов у дафний в зависимости от времени и концентрации вещества.

Рис. 6. Библ. 3 назв.

УДК 591.525:612.015.31

Характер регуляции некоторых показателей пластического обмена у рыб под влиянием токсикантов. Бузнова Н.С. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Рассматривается действие оловоорганических соединений на некоторые биохимические и морфофизиологические показатели рыб. Выявлено, что интоксикация приводит к нарушению нормального соотношения пластического и энергетического обменов в организме карпов и изменению содержания воды и минеральных элементов в тканях. Изменение исследованных показателей при действии токсикантов носит фазовый характер.

Рис. 6. Библ. 5 назв.

УДК 591.128.1

Регуляция активности системы обеспечения кислородного режима у гидробионтов. Колупаев Б.И. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Выявленные в опытах закономерности свидетельствуют о том, что регуляторные механизмы поддерживают соответствие между доставкой, транспортом кислорода и запросами организма гидробионтов в нем только при таких внешних воздействиях на животных, которые свойственны естественной среде обитания исследуемого вида. Изменения в соотношении активности изученных звеньев, обусловленные перестройками в регуляторных процессах, указывают на экстремальность внешних, в том числе и антропогенных, воздействий.

Рис. 3. Библ. 9 назв.

УДК 597 + 615.917

Оловоорганические соединения и регуляция поступления фосфата в органы и ткани карпа. Филенко О.Ф., Парина О.В. — В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Установлена зависимость количественной взаимосвязи биологического эффекта оловоорганических соединений (ООС) от их коэффициента распределения в системе гексан/вода и уровней накопления в органах и тканях карпа. Показана тесная корреляция распределения ООС между головным мозгом и

кровью с их токсичностью. Приведены уравнения регрессии, характеризующие связь между поглощением уравнениями накопления ООС в тканях и величинами, полученными для крови.

Рис. 2. Табл. 4. Библ. 12 назв.

УДК 591.3:628.394

Реагирование эмбрионов и личинок карпа на фосфорорганические соединения. Гусева С.С., Данильченко О.П. – В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Изучение развития эмбрионов и личинок карпа в растворах фосфорорганических соединений (ФОС) выявило возможность начала развития при относительно высоких концентрациях этих веществ и одновременно летальное действие их при 4–5 порядках разведения. ФОС замедляют темп развития карпа. Видимо, исследованные ФОС обладают эмбриотоксическими свойствами.

Рис. 3. Табл. 4. Библ. 14 назв.

УДК 591.1 (28):574.24

Исследование основных функций жабр речного рака при воздействии солей аммония и закислении среды. Виноградов Г.А., Даль Е.С., Комов В.Т. – В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Изучалось действие солей аммония на проницаемость и поглощение Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Cl^- , активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в жабрах и потребление кислорода. В сублетальных концентрациях аммония наблюдается увеличение проницаемости для всех исследованных ионов, снижение скорости поглощения катионов, временное угнетение активности СДГ и интенсивности потребления кислорода. Показано, что закисление внешней среды до pH 4,0 не влияет на обмен Na^+ и K^+ , но пассивная утечка Ca^{++} при pH 4,5 увеличивается в 6–8 раз. Обнаружена экскреция аммония, сопряженная с поглощением Na^+ , Ca^{++} и K^+ . Исследована кинетика поглощения Na^+ , K^+ , Ca^{++} из внешней среды.

Рис. 4. Табл. 2. Библ. 25 назв.

УДК 591.428.4:578.086.3

Реакция хлоридных клеток жаберного эпителия карася на изменение кислотности и ионного состава внешней среды. Матей В.Е., Комов В.Т. – В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Исследовалось влияние низких значений pH в средах с различным ионным составом на ультраструктуру хлоридных клеток, ответственных за ионный обмен, и активность сукцинатдегидрогеназы в жабрах рыб. Показано, что закисление внешней среды вызывает прогрессирующее набухание и лизис митохондрий, деструкцию системы агранулярного цитоплазматического ретикулума и снижение активности сукцинатдегидрогеназы. Эти процессы в наибольшей степени выражены в закисленной дистиллированной воде. Введение в закисленную дистиллированную воду кальция нормализует структуру хлоридных клеток и активность фермента.

Рис. 6. Библ. 38 назв.

УДК 574.64:597.554.3

Обратимость интоксикации карпа карбофосом. Козловская В.И., Степанова М.В., Чуйко Г.М. – В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Изучалась обратимость интоксикации карпа карбофосом. Рассмотрено изменение активности ацетилхолинэстеразы мозга на различных стадиях отравления. Показано, что стадия повышенной возбудимости, нарушения координации движений, потери рефлекса равновесия высоко обратима, стадия потери чувствительности обратима на 50%. В остролетальных концентрациях (50 и 100 мг/л) после замены токсической среды чистой водой и в сублетальной

концентрации (30 мг/л) симптомы отравления исчезали быстрее, чем восстанавливалась активность ацетилхолинэстеразы мозга.

Рис. 3. Библ. 12 назв.

УДК 591. 12. 8:574. 24

Влияние кальция на минеральный обмен и ультраструктуру жабр у пресноводных рыб. В и н о г р а д о в Г.А., М а т е й В.Е., Д а л ь Е.С. – В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Исследовалось влияние кальция на минеральный обмен и ультраструктуру жабр рыб. Показано, что проницаемость для Na^+ жаберного эпителия карася снижается при увеличении наружной концентрации Ca^{++} и увеличивается при закислении внешней среды. Ионы кальция 70 мг/л стабилизируют в низких рН среды концентрацию Na^+ и рН в крови карася, способствуют сохранению нормальной структуры клеточных контактов и наружных цитоплазматических мембран. Выявлена прямая зависимость между проницаемостью жаберного эпителия для натрия при низких рН среды от состояния клеточных мембран и межклеточных контактов. Исследована кинетика поглощения Na^+ , K^+ и Ca^{++} у окуня. Предполагается, что родство Na^+ и K^+ транспортирующих систем от концентрации Ca^{++} в наружной среде.

Рис. 6. Библ. 28 назв.

УДК 597. 105

Гормональная регуляция иммунологической реактивности рыб. М и к р я - к о в В.Р., А с к и н а з и О.Я. – В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Изучалось влияние адреналина (Ади) и гидрокортизона (Гди) и дезоксикортизон-ацетата (Дка) на иммунологические реакции рыб. Гормоны с катаболическим эффектом действия (Гди и Ади) угнетают фагоцитарную активность лейкоцитов, антителообразовательную функцию, бактериостатические свойства сыворотки крови и сопротивляемость рыб к бактериальной инфекции (аэромонозу). Напротив, Дка с анаболическим эффектом действия стимулирует иммунологические реакции рыб. Гди и Ади на иммунную систему рыб действуют на уровне антигенчувствительных и антигенразрушающих элементов. Эффект действия гормонов зависит от дозы гормона.

Рис. 6. Табл. 7. Библ. 60 назв.

УДК 591. 525

Приспособляемость и регуляция у рыб при длительном воздействии малых концентраций токсикантов (физиолого-биохимический аспект). П у т н - ц е в А.И., Г а м е з а Н.А. – В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Установлены общие закономерности ранних (до 15 суток) изменений ряда физиолого-биохимических показателей карпов под влиянием триметил- и триамиллоловохлорида. Выявлена зависимость приспособляемости рыб к действию токсикантов в длительном (до 120 суток) опыте от характера ранних физиолого-биохимических изменений. Показана прогностическая ценность ранних изменений при установлении допустимых уровней химического воздействия на рыб. Анализируется механизм физиолого-биохимической регуляции у рыб под влиянием токсикантов.

Рис. 2. Библ. 31 назв.

УДК 591. 525

Влияние хлорофоса на восприимчивость рыб к инвазии паразитами рода *Dactyloglossus*. Ж а р и к о в а Т.И. – В кн.: Реакции гидробионтов на загрязнение. М.: Наука, 1983.

Показано, что хлорофос в концентрации 10 и 50 мг/л при температуре 15 и 19°С повышает восприимчивость годовиков карпов и карасей к заражению дактилогиреями.

Табл. 6. Библ. 20 назв.

РЕАКЦИИ ГИДРОБИОНТОВ НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ

Утверждено к печати

*Научным советом по проблемам гидробиологии,
ихтиологии и использования биологических ресурсов водоемов
и Институтам эволюционной морфологии
и экологии животных им. А.Н. Северцова АН СССР*

Редактор издательства *И.С. Левитина*

Художник *С.Б. Генкина*

Художественный редактор *Н.Н. Власик*

Технический редактор *А.Л. Шелудченко*

Корректор *Л.А. Агеева*

ИБ № 24016

Подписано к печати 14.02.83. Т – 05534

Формат 60х90 1/16. Бумага офсетная № 1. Печать офсетная

Усл.печ.л. 15,5. Усл.кр.-отт. 15,8. Уч.-изд. 18,6

Тираж 850 экз. Тип.зак. 22

Цена 2 р. 80 к.

Издательство "Наука", 117864 ГСП-7, Москва, В-485,

Профсоюзная ул., д. 90

Орден Трудового Красного Знамени

1-я типография издательства "Наука", 199034, Ленинград,

В-34, 9-я линия, 14

2 р. 80 к.

