

МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ВОДНО-СОЛЕВОГО ОБМЕНА
У НЕКОТОРЫХ ПСЕВДОФИЛЛИДНЫХ ЦЕСТОД

Г. А. Виноградов, В. Г. Давыдов, Б. И. Куперман

Институт биологии внутренних вод АН СССР, Борок, Ярославская область

В работе приводятся результаты изучения водно-солевого обмена цестод *Triaenophorus nodulosus* и *Eubothrium rugosum* — паразитов из кишечника пресноводных рыб — щуки и налима, имеющих различное происхождение. Выявлены существенные различия в устойчивости этих видов цестод к изменению солености среды. *E. rugosum* способен выдерживать солевые концентрации до 20 г/л NaCl, тогда как *T. nodulosus* лишь 10 г/л. Устойчивость к осолонению внешней среды у *E. rugosum* связана с наличием гипоосмотической регуляции, отсутствующей у *T. nodulosus*. Предполагается, что высокая устойчивость к солености *E. rugosum*, паразитирующего в пресноводном хозяине — налиме, свидетельствует об его морском происхождении, в отличие от паразита щук — *T. nodulosus*.

Проблеме влияния абиотических факторов на различные функции организма посвящена обширная литература. Для гидробионтов важное значение имеет изменение солености внешней среды, о чем свидетельствует большой фактический материал, позволяющий проводить достаточно полный анализ приспособительных механизмов, обеспечивающих выживаемость организма (Проссер, 1977). Показано, что в ответ на изменение солености организм отвечает, как правило, компенсаторными функциональными перестройками деятельности различных систем, характер и размах которых определяется генетической природой (Бергер, 1976).

Интерес в этом плане представляет изучение паразитических организмов. До настоящего времени проблема осморегуляции у ленточных червей из кишечника позвоночных животных изучена недостаточно. Имеются лишь единичные работы, посвященные этой проблеме (Марков, 1958; Smyth, 1969; Давыдов, 1975; Хлебович, Михайлова, 1976). Обзор отношений некоторых паразитов к изменению солености окружающей среды приводится в монографии Хлебовича (Хлебович, 1974). Глубокая специализация цестод в связи с паразитическим образом жизни привела к тому, что основные функции взаимоотношений их с хозяевами выполняют покровные ткани. Высказано предположение об участии покровов цестод в процессах осморегуляции (Давыдов, 1975).

В связи с этим представляет интерес исследование особенностей водно-солевого обмена и структуры покровов, связанных с ним, у взрослых червей из кишечника пресноводных рыб, различающихся как по систематическому положению, так и по своему происхождению.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В качестве объекта исследования взяты цестоды *Triaenophorus nodulosus* из кишечника щуки *Esox lucius* и *Eubothrium rugosum* из кишечника налима *Lota lota*. Щука — представитель типично пресноводного семейства рыб.

в то время как налим — единственный вид из семейства тресковых, перешедший из морских вод в пресные и сохранивший способность переносить осолонение.

В опытах использовался нормальный раствор Рингера для пойкилотермных животных с концентрацией NaCl — 6.5 г/л, KCl — 0.14 г/л, CaCl₂ — 0.12 г/л, NaHCO₃ — 0.2 г/л. Для получения более высоких или низких концентраций по отношению к нормальному раствору Рингера количество солей пропорционально уменьшалось или увеличивалось. Опыты проводили на половозрелых червях, акклимированных 24 и 48 ч к растворам Рингера, содержащим от 1 до 20 г/л NaCl. Контролем служили физиологические и морфологические показатели обоих видов цестод, извлеченных непосредственно из кишечника хозяев. Для определения осмотической концентрации тканевой жидкости, состоящей из межклеточных и внутриклеточных компонентов, стробилы паразитов гомогенизировали и надосадочную жидкость исследовали методом криоскопии (Соколова, 1967). Общая скорость потери Na⁺ и K⁺ изучалась с использованием метода фотометрии в пламени. В этих опытах червей выдерживали определенное время в дистиллированной воде, после чего в ней измеряли концентрацию Na⁺ и K⁺. Скорость общей потери этих ионов пересчитывали на 1 г веса паразита. Гибель цестод тестировали по отсутствию реакции на механическое раздражение.

Для морфологического исследования фрагменты червей из растворов различной солености фиксировали жидкостью Буэна. Соотношение различных структур покровных тканей определяли на срезах толщиной 7 мкм при иммерсии с использованием окуляр-микрометра. Полученные данные обрабатывали статистически. Для электронно-микроскопического исследования небольшие кусочки червей фиксировали в 3%-ном глутаральдегиде на фосфатном буфере в течение 2 ч на холоду. Дофиксацию производили 1%-ным раствором четырехокси осмия на фосфатном буфере в течение 1.5 ч при той же температуре. Дегидратацию осуществляли в восходящем ряду спиртов, абсолютном ацетоне, после чего материал заливали в аралдит. Ультратонкие срезы контрастировали в уранилацетате, окрашивали цитратом свинца и просматривали на электронном микроскопе JEM-100С.

Локализацию АТФ-азы определяли на срезах свежемороженой ткани по методу Падикюлы и Германа (Берстон, 1965). Часть срезов инкубировали в субстрате со строфантином в конечной концентрации 3×10^{-4} М.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как показали исследования, *T. nodulosus* переносит изменения концентрации солей во внешней среде в диапазоне от 2 до 10 г/л, тогда как *E. rugosum* — от 2 до 20 г/л после экспозиции 48 ч. Исследование выживаемости *T. nodulosus* в средах с различным ионным составом выявило, что в растворе сахарозы с тоничностью, равной 4 г/л раствора Рингера, гибель червей наступает через 6 ч, а при эквимолярной замене сахарозы на холинхлорид — через 7 ч. Результаты этих экспериментов свидетельствуют о чувствительности червей не только к изменению тоничности среды, но и к изменению ее ионного состава.

Одним из показателей, характеризующих степень развития объемной регуляции у животных, служит способность поддерживать постоянный вес тела в условиях меняющейся тоничности внешней среды. В гипотонических растворах осмотический гомеостаз осуществляется главным образом за счет удаления избыточной воды и активного поглощения из внешней среды ионов, в гипертонических условиях — поступлением воды и экскреции солей. Кроме того, постоянство ионного состава внутренней среды во многом зависит от возможностей к адаптивной регуляции проницаемости покровов для воды и солей (Проссер, 1977). В наших опытах изучали изменение веса *T. nodulosus* и *E. rugosum* в течение 24-часового пребывания в толерантном диапазоне концентрации солей. Проведенные эксперименты показали, что вес *E. rugosum* изменяется незначительно. Его отклонение от первоначального значения, т. е. у непосредственно извлеченных из кишечника червей, не превышало 30%, а в диапазоне концентраций от 8 до 20 г/л вес практически не изменялся. У *T. nodulosus* в концентрации солей 2—10 г/л колебания веса составляли 68—145%. Некото-

рая способность поддерживать постоянство веса отмечается при инкубации в концентрациях от 2 до 8 г/л (рис. 1).

Результаты этого эксперимента свидетельствуют о том, что *E. rugosum* обладает эффективной объемной регуляцией в широком диапазоне концентрации солей во внешней среде. У *T. nodulosus* способность к объемной регуляции выражена в меньшей степени и в значительно более узких границах солевых концентраций.

Тканевая жидкость *T. nodulosus* гиперосмотична по отношению к внешней среде с концентрациями от 1.5 до 6 г/л, а в более высоких — изоосмотична (рис. 2). Наиболее отчетливо гипертоническая регуляция выражается в диапазоне 2—5.5 г/л. Зависимость осмотической концентрации внутренней среды

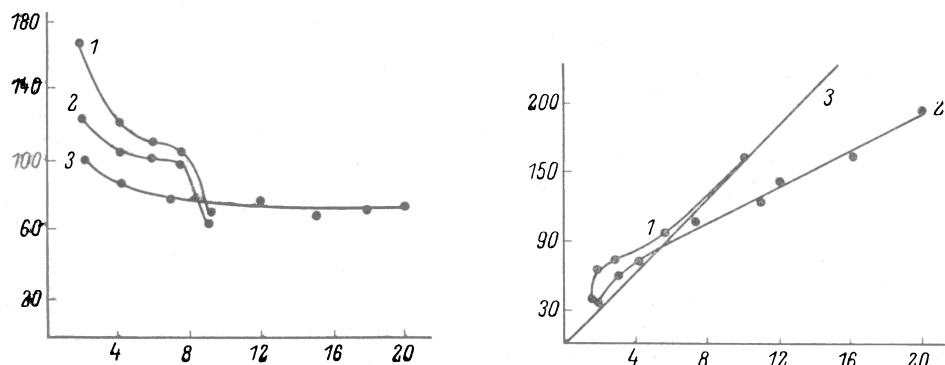


Рис. 1. Вес червей, акклимированных к различным соленостям.

По оси ординат — вес червей, в процентах от контроля; по оси абсцисс — концентрация физраствора в г/л NaCl; 1 — 24 ч и 2 — 48 ч акклимации *T. nodulosus*, 3 — 24 ч акклимации *E. rugosum*.

Рис. 2. Зависимость осмотической концентрации внутренней среды червей от солевой концентрации наружной среды.

По оси ординат — осмотическая концентрация тканевой жидкости в пересчете на ммг; по оси абсцисс — концентрация физраствора, в г/л NaCl; 1 — *T. nodulosus*, 2 — *E. rugosum*, 3 — линия изотонии между внутренней и наружной средой.

у *E. rugosum* от концентрации солей во внешней среде носит иной характер. При 2—8 г/л его тканевая жидкость изоосмотична внешней среде, а при высоких концентрациях солей гипоосмотична. Таким образом, *T. nodulosus* обладает ограниченной гиперосмотической регуляцией, характерной для стеногалинных пресноводных животных. В то же время у *E. rugosum* наблюдается гипоосмотический тип регуляции, свойственный эвригалинным и морским организмам.

Исследование скорости общей потери Na^+ и K^+ в дистиллированной воде выявило существенные различия в ионном обмене изучаемых цестод. У *E. rugosum*, акклимированного к нормальному раствору Рингера (6.5 г/л NaCl), натрий диффундирует через покровы тела в течение 15 мин пребывания в дистиллированной воде со скоростью 6.1 ± 0.5 мкМ/г/час, а калий — 0.72 ± 0.08 мкМ/г/час. В аналогичных условиях скорость выхода натрия и калия у *T. nodulosus* составляет соответственно 5.2 ± 0.6 мкМ/г/час и 6.0 ± 0.05 мкМ/г/час. Соотношение скорости потери натрия и калия у первого близко к 9:1, а у второго — 1:1. В этой связи важно проследить морфологические изменения в покровных тканях, сопровождающие адаптацию изучаемых цестод к средам с различными концентрациями солей.

По данным электронной микроскопии, покровы обоих видов по своему строению сходны с таковыми у других цестод и представлены двумя слоями: наружным безъядерным цитоплазматическим симпластом, включающим множество вакуолей и везикул, мембранных элементов и митохондрий и связанными с ним внутренним слоем клеток с ядрами, лежащими под базальной пластинкой. Связь между этими слоями осуществляется отростками клеток, проходящими через базальную пластинку. На поверхности тегумента расположены особые выросты — микротрихии, свойственные лишь цестодам (рис. 3, а, г;

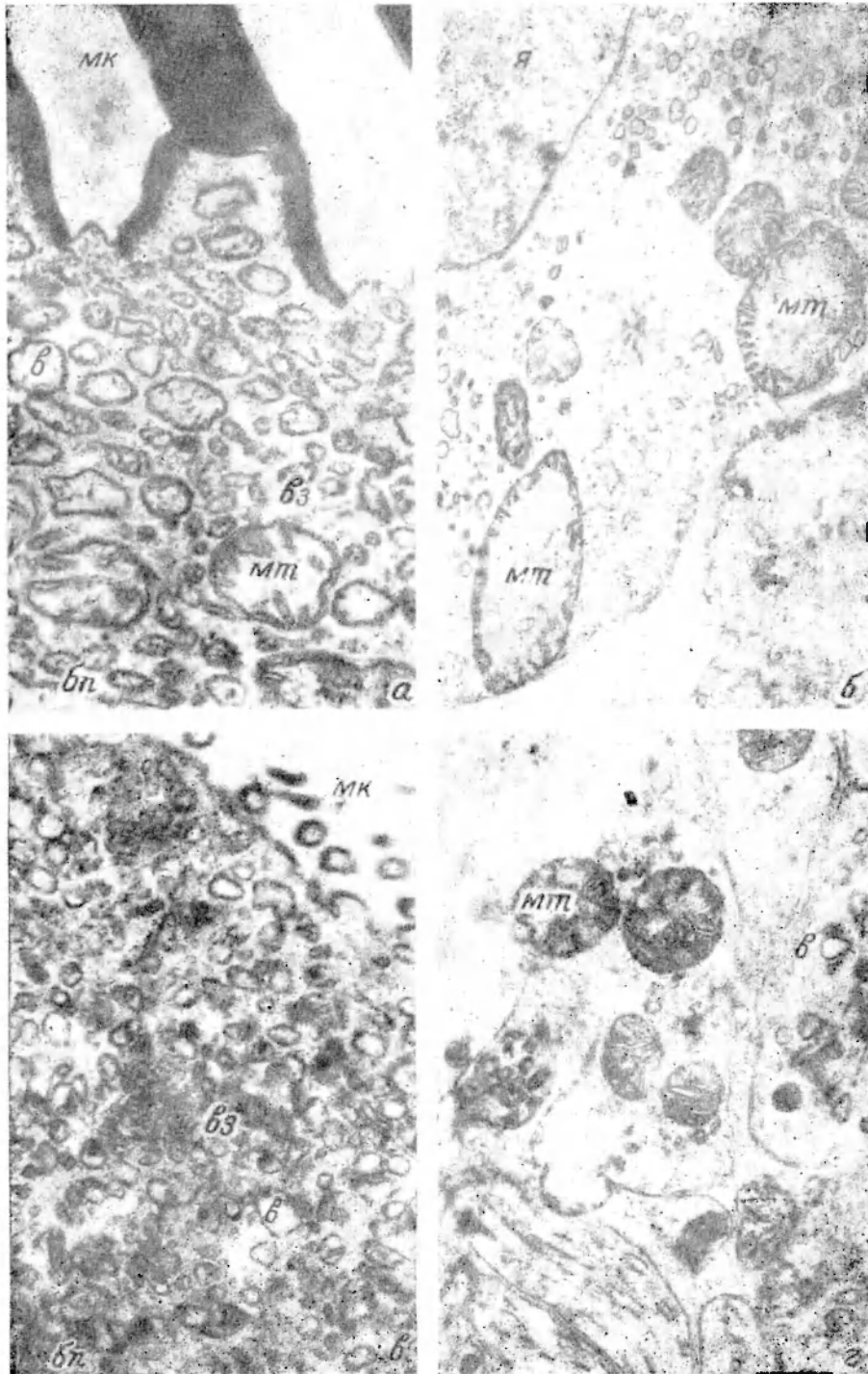


Рис. 3. Ультраструктура покровных тканей *T. nodulosus* и *E. rugosum*.
а — тегумент *T. nodulosus* (80 000×), б — субтегументальные клетки *T. nodulosus* (30 000×), в — тегумент *E. rugosum* (30 000×), г — субтегумент *E. rugosum* (30 000×); в — вакуоли, в3 — везикулы, бп — базальная пластинка, мк — микротрихии, мт — митохондрии, я — ядро.

см. вкл.). Покровы цестод рассматриваются как метаболически активная поверхность, осуществляющая молекулярный взаимный обмен между паразитами и их хозяевами (Smyth, 1969).

Имея общий план строения, покровы *T. nodulosus* и *E. rugosum* заметно различаются в морфологических деталях. Слой наружной цитоплазмы тегумента *T. nodulosus* почти вдвое меньше, чем у *E. rugosum* (рис. 4). Размеры и формы митохондрий в этом слое у исследованных цестод также отличаются. У *T. nodulosus*

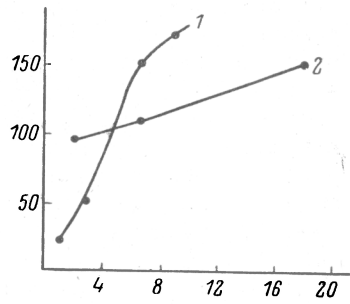


Рис. 4. Соотношение размеров тегумента и субтегумента у червей, акклимированных к различным соленостям.

По оси ординат — отношение тегумента к субтегументу, в процентах от контроля; по оси абсцисс — концентрация физраствора, в г/л NaCl; 1 — *T. nodulosus*, 2 — *E. rugosum*.

митохондрии крупнее, с менее плотным матриксом и более выраженными кристами, чем у *E. rugosum* (рис. 3, а, в). Субтегументальный слой первого представлен плотно прилегающими друг к другу клетками. У второго

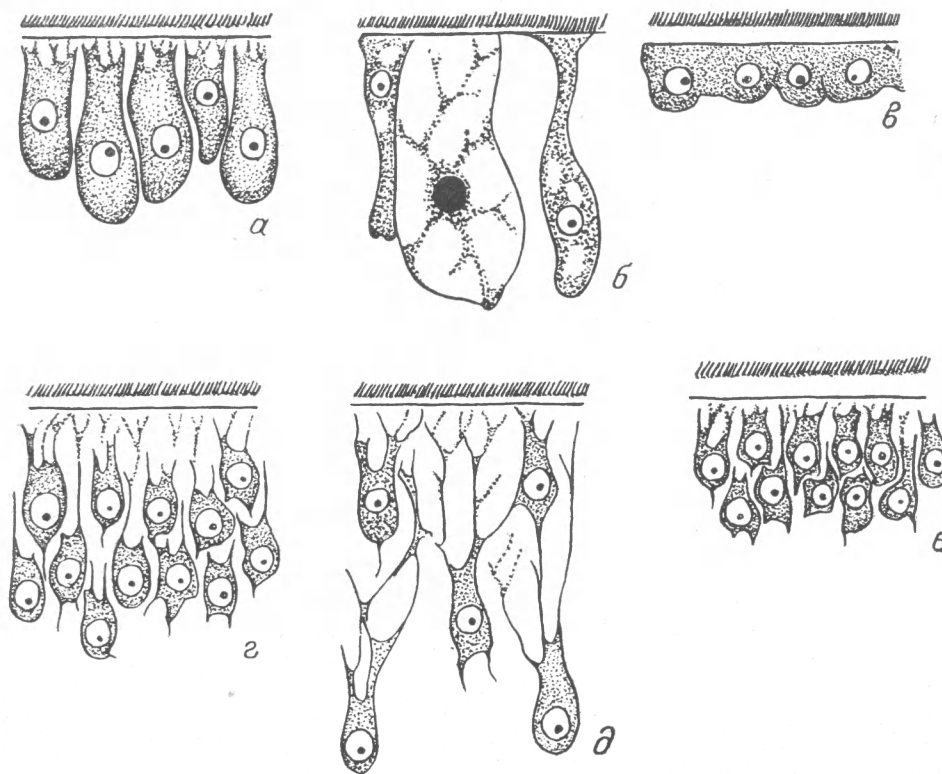


Рис. 5. Морфология покровов *T. nodulosus* (а—в) и *E. rugosum* (г—е), акклимированных к различным соленостям.

а — контроль, б — 2 г/л NaCl, в — 9 г/л NaCl, г — контроль, д — 2 г/л NaCl, е — 18 г/л NaCl.

они мельче, расположены рыхло, на разных уровнях, образуя ячеистую структуру со значительными межклеточными пространствами (рис. 5, а, г). Цитоплазма субтегументальных клеток у *T. nodulosus* разреженная, с умеренным количеством рибосом, митохондрии крупные с просветленным матриксом, кристы глубокие. У *E. rugosum* цитоплазма более плотная, содержит много мелких вакуолей и везикул, аналогичных таковым в наружной цитоплазме тегумента. В отличие от *T. nodulosus* митохондрии *E. rugosum* мельче, с электрон-

ноплотным, хорошо осмирующимся матриксом и большим количеством крист (рис. 3, б, з).

Соотношение размеров тегумента и субтегумента изменялось у обоих видов в средах с различной соленостью, однако они различались в количественном отношении. Как видно из рис. 4, соотношение покровных слоев у *T. nodulosus* как при низких, так и при высоких солевых концентрациях значительно отличались от нормы. В то же время эти соотношения у *E. rugosum* оставались относительно постоянными, и только акклимация к солевой концентрации 18 г/л вызывала заметные изменения. Размеры субтегумента у *T. nodulosus* при содержании в растворах с низкими концентрациями солей увеличивались за счет набухания клеток в результате поглощения воды (рис. 5, б), в то время как у *E. rugosum* разбухание происходило за счет увеличения межклеточных пространств, а размеры клеток оставались относительно постоянными (рис. 5, д). Акклимация червей в растворах с высокими концентрациями солей (6—10 г/л — для *T. nodulosus* и до 18 г/л для *E. rugosum*) приводила к значительному увеличению размеров их тегумента. Противоположная реакция отмечена в слое субтегумента. Его размеры уменьшаются у первого в результате сжатия цитоплазмы клеток (рис. 5, в), а у второго преимущественно за счет уменьшения межклеточных пространств (рис. 5, е).

Гистохимическим методом обнаружено наличие в тегументе исследованных цестод значительной активности АТФ-азы и отсутствие этого фермента в субтегументальном слое. Введение в инкубационную среду строфантина снижало интенсивность реакции по визуальной оценке более чем вдвое. Эти данные позволяют говорить о присутствии $\text{Na}^+ \text{K}^+$ АТФ-азы в тегументе *T. nodulosus* и *E. rugosum*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно, осмотическое давление и ионный состав в кишечнике рыб могут подвергаться существенным изменениям. У пресноводных видов вода поступает в организм по осмотическому градиенту через жабры, однако некоторое ее количество может попадать в кишечник при заглатывании пищи и значительно опреснять кишечную среду. Рыбы, обитающие в море, в отличие от пресноводных, постоянно пьют морскую воду. По мере прохождения ее по кишечнику происходит поглощение воды и солей. Таким образом, кишечным паразитам пресноводных рыб необходимо приспособление к существованию при осмотическом давлении более низком, а паразитам морских рыб более высоком, чем в крови их хозяев (Хлебович, Михайлова, 1976).

Проведенное исследование показало, что адаптация к снижению осмотической концентрации внешней среды осуществляется у изучаемых видов цестод различными способами. У *T. nodulosus* она идет за счет поддержания осмотического давления в тканях тела более высокого, чем во внешней среде (гипертоническая регуляция). С другой стороны, *E. rugosum* в низких соленостях является осмоконформером, поскольку его адаптация происходит за счет «привыкания» тканей организма к снижению тоничности внешней среды (тканевая жидкость изотонична внешней среде).

Объемная регуляция у обоих видов червей в средах, гипотоничных крови рыб, выражена в значительной мере. Это связано, вероятно, с наличием эффективного механизма удаления воды из организма через покровы тела и выделительную систему. В растворах, гипертоничных крови рыб, у *T. nodulosus* отсутствует как осмотическая, так и объемная регуляция. По всей видимости, этим и объясняется низкая устойчивость этого вида к повышению концентрации солей в окружающей среде. *E. rugosum*, напротив, переносит значительные увеличения соленостей в пределах концентраций, намного превышающие их значение, которые могут быть в кишечнике пресноводного хозяина-налима. В основе высокой солевой толерантности его лежит способность к гипоосмотической и объемной регуляции.

Изучение морфологии покровов тела цестод *E. rugosum* и *T. nodulosus* при адаптации паразитов к средам различной тоничности показало их непосредственное участие в этом процессе. Реакция тегумента является общей для обоих видов, в нем выявляется значительная активность $\text{Na}^+ \text{K}^+$ АТФ-азы, что сви-

детельствует о непосредственном участии его в регуляции ионного обмена. Характер изменений субтегументальных слоев различен. При помещении червей в высокие или низкие концентрации солей субтегументальные клетки *T. nodulosus* соответственно сжимаются или набухают, в то время как у *E. rugosum* этот процесс затрагивает в основном межклеточное пространство, а клетки не обнаруживают значительных изменений.

Таким образом, высокая устойчивость к изменениям солености внешней среды у *E. rugosum* связана с наличием гипотонической регуляции. Это интересное свойство является, вероятно, рудиментарным и представляет собой генетическую «память» о морском происхождении паразита и его дефинитивного хозяина.

Л и т е р а т у р а

- Б е р г е р В. Я. Сравнение реакций баренцевоморских и беломорских литторин на изменение солености среды и обсуждение вопроса о критериях физиологических рас. — В кн.: Соленостные адаптации водных организмов. Л., Наука, 1976, с. 122—123.
- Б е р с т о н М. Гистохимия ферментов. М., Мир, 1965. 464 с.
- Д а в ы д о в О. Н. К осмотической регуляции у некоторых цестод рыб. — Гидробиол. журн., 1975, т. 11, № 4, с. 75—79.
- М а р к о в Г. С. Физиология паразитов рыб. — В кн.: Основные проблемы паразитологии рыб. Л., ЛГУ, 1958, с. 122—143.
- П р о с с е р Л. Сравнительная физиология животных. Т. 1. М., Мир, 1977. 608 с.
- С о к о л о в а М. М. Определение концентрации осмотически активных веществ в биологических жидкостях. — Лаб. дело, 1967, вып. 10, с. 589—591.
- Х л е б о в и ч В. В. Критическая соленость биологических процессов. Л., Наука, 1974. 235 с.
- Х л е б о в и ч В. В., М и х а й л о в а О. Ю. Осмотическая толерантность и адаптация к гипотоническому воздействию у *Echinorhynchus gadi* (Acahtocephala, Echinorhynchidae). — Паразитология, 1976, т. 10, вып. 5, с. 444—448.
- S m y t h J. D. The physiology of Cestodes. Freeman, San Francisco, 1969. 280 p.

MORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF WATER-SALINE METABOLISM IN SOME PSEUDOPHYLLIDEAN CESTODES

G. A. Vinogradov, V. G. Davydov, B. I. Kuperman

S U M M A R Y

The water-saline metabolism in cestodes of *Triaenophorus nodulosus* and *Eubothrium rugosum*, parasites of the gut of fresh water fishes of various origin, were studied. Essential differences in the resistance of worms to the changes of salinity of external environment have been stated. It was shown that *E. rugosum* can stand higher saline concentrations (up to 20 g/l NaCl) than *T. nodulosus* (up to 10 g/l NaCl). The resistance of *E. rugosum* to salinity of external medium is absent in *T. nodulosus*. It is assumed that high resistance to salinity and the hypoosmotic regulation of *E. rugosum* infecting a fresh water host, the burbot, is the sign of their marine origin unlike the pike parasite *T. nodulosus*.