

УДК 597-11 : 597-12 : 539.16

О СВЯЗИ НЕКОТОРЫХ ПАРАМЕТРОВ ДЫХАНИЯ И ХАРАКТЕРИСТИК КРОВИ РЫБ

Л. Б. Кляшторин

Использование интенсивности потребления кислорода в качестве характеристики физиологического состояния рыб (Строганов, 1962; Рыжков, 1971) существенно ограничивается неспецифичностью этого показателя. Значительно большие возможности дает использование некоторых параметров зависимости потребления O_2 рыбами от его содержания в среде. Такими параметрами, характеризующими устойчивость рыб к недостатку O_2 , являются «критическое» и «пороговое» содержания O_2 .

Известно (Graham, 1940; Fry, 1957; Винберг, 1956), что увеличение интенсивности потребления O_2 , вызванное возрастанием температуры или двигательной активности рыб, приводит к повышению критического содержания O_2 . Значение этой величины имеет смысл только при указании уровня обмена данного животного, поэтому принято давать значение этого параметра для уровня стандартного обмена как физиологически нормального минимума потребления O_2 при данной температуре. Практически критическое содержание O_2 может быть определено как наименьшее содержание растворенного O_2 , при котором потребление O_2 остается на уровне стандартного обмена.

Пороговое содержание O_2 (lethallewel по терминологии Грехем, 1949) может быть определено как такое его содержание, при котором потребление O_2 становится равным нулю. Следует отметить, что строгого определения порогового содержания O_2 в литературе пока нет. Это объясняется тем, что момент полного прекращения дыхания животного трудно установить, однако, продолжая кривую зависимости дыхания до уровня нулевого потребления, можно определить экстраполированную величину порогового содержания O_2 . Для подавляющего большинства рыб эта величина очень близка к моменту изменения естественного положения (переворачивания) рыбы, который обычно рассматривают как момент гибели животного.

Следует отметить, что в физиологической литературе содержание растворенного O_2 и других газов принято выражать не в единицах концентрации (мл/л или мг/л), а в единицах парциального давления (мм рт. ст. или в системе СИ в Па), не зависящих от температуры. Поэтому изменение параметров дыхания рыб следует относить к величине парциального давления O_2 (pO_2) в среде. Литературные данные (Hall, 1966; Grigg, 1969) позволяют предполагать, что положение критических и пороговых pO_2 у рыб в значительной степени определяется степенью сродства гемоглобина крови рыб к O_2 .

В данной работе значения критических и пороговых pO_2 используются в качестве параметров, характеризующих устойчивость к недо-

статку O_2 рыб, подвергающихся хроническому воздействию ионизирующей радиации. В работе также делается попытка установить связь между измеряемыми параметрами внешнего дыхания и некоторыми характеристиками крови. Проведение такого рода исследований потребовало разработки методики определения дыхания, позволяющей быстро и с достаточной точностью определить критические и пороговые pO_2 у рыб.

Рыб (*Tilapia mossambica*) массой 14—20 г выращивали в аквариальной лаборатории и с момента оплодотворения икры содержали в растворах $Sr^{90}-Y^{90}$ активностью $1 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-8}$ и $1 \cdot 10^{-10}$ Ки*/л. Концентрация $Sr^{90}-Y^{90}$ Ки/л равна предельно допустимой концентрации радионуклидов по уровню радиоактивности для Sr^{90} , поэтому рыб, содержащихся в таком растворе, можно считать находящимися в обычных условиях. Гушпи (*Lebistes reticulatus*) выращивали с момента вымета икры в растворах $Sr^{90}-Y^{90}$ активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л. Контрольными были рыбы того же потомства, выращиваемые в тех же условиях без добавления радионуклида.

Потребление O_2 рыбами в зависимости от его парциального давления измеряли при помощи мембранного кислородного электрода по методу прерванного потока, принцип которого состоит в том, что животное проходит период успокоения после пересаживания в респирометр при постоянном потоке воды, затем проток отключается и измеряется установившаяся скорость потребления O_2 . Проток может быть включен снова и цикл измерений повторен. При этом непрерывно измеряется содержание O_2 при помощи мембранного электрода, показания которого записываются на ленте самопишущего потенциометра. Смена воды осуществляется автоматически с помощью временного реле (Кляшторин, Яржомбек, 1972).

Использование этой методики позволяет надежно определять стандартный обмен у рыб, а также быстро получать кривые потребления O_2 рыбами в зависимости от его парциального давления.

На рис. 1 представлены кривые зависимости потребления кислорода от его парциального давления для гушпи (опыт проводили на 80 экземплярах рыб, на рис. 1 представлены данные восьми опытов). Средний уровень стандартного обмена для контрольных и подопытных рыб практически одинаков и составляет 430—470 мг O_2 /кг в час. Критическое pO_2 (точка перегиба кривых на рис. 1) как у контрольных, так и у опытных рыб составляло 3200—4200 Па, что при 20°С соответствует концентрации O_2 1,4—1,9 мг/л. Пороговое pO_2 находили двумя способами: продол-

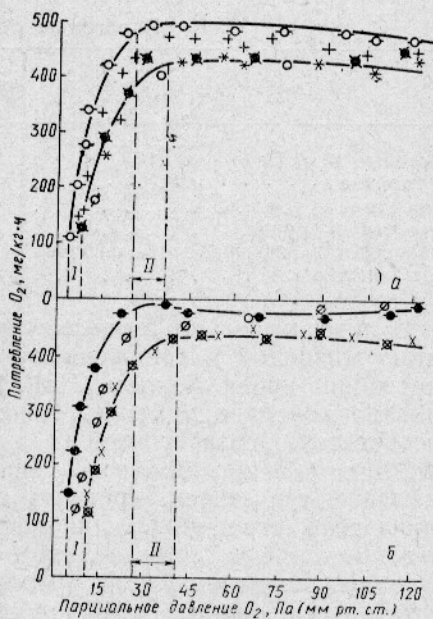


Рис. 1. Зависимость потребления O_2 от его парциального давления для группы (сплошные кривые ограничивают разброс экспериментальных точек): а — контроль; б — опыт ($Sr^{90}-Y^{90}$, $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л).

* Ки (кюри) в системе СИ = $3,7 \cdot 10^{10}$ с⁻¹.

жая кривую зависимого потребления O_2 до пересечения с осью абсцисс (находя величину, соответствующую нулевому потреблению O_2) или отмечая pO_2 , соответствующее наименьшему из измеренных величин потребления O_2 . Среднее пороговое pO_2 для подопытных рыб составляло 520—800 Па, а для контрольных 330—1040 Па. Статистически достоверных различий по этому показателю, не было обнаружено. Очень низкие пороговые pO_2 для гуппи объясняются акклиматизацией рыб к относительно плохим кислородным условиям существования, при которых они выращивались. Содержание O_2 в воде составляло 35—65% насыщения. Кроме того, следует учитывать и видовую приспособленность гуппи к существованию в плохих кислородных условиях.

Данные, характеризующие пороговые pO_2 для тилапий, выращенных в растворах Sr^{90} — Y^{90} разной активности, приведены в таблице.

Рыбы из растворов радионуклидов активностью $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л не отличались по величине пороговых pO_2 от рыб, находившихся в среде с предельно допустимой концентрацией Sr^{90} . В то же время рыбы, выращенные в растворах активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л, достоверно отличались по этому признаку от рыб, выращенных при активности $1 \cdot 10^{-10}$ Ки/л, хотя уменьшение среднего порогового pO_2 незначительно. Можно полагать, что при хроническом действии малых доз ионизирующей радиации неблагоприятных изменений в системе дыхания не наблюдается и устойчивость подопытных рыб к дефициту O_2 не снижается.

Пороговые pO_2 для тилапий

Показатели pO_2	Растворы активностью, Ки/л		
	$1 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-10}$
Пороговые pO_2 , Па			
крайние	800—1045	950—1210	735—1332
средние	935±20	970±32	1040±43
Число рыб в группе, шт.	8	8	7
Достоверность различий по Т-критерию по отношению к ПДК	Достоверны	Недостоверны	—

В литературе есть данные, указывающие на связь между устойчивостью животных к пониженному содержанию O_2 и характеристиками гемоглобина крови. Хэллом (Hall, 1966) для некоторых млекопитающих показана корреляция между степенью сродства гемоглобина к O_2 и способностью утилизировать O_2 при пониженных парциальных давлениях. Григ (Grigg, 1969) на основании опытов с *Ictalurus nebulosus* указывает, что степень сродства гемоглобина к O_2 — наиболее значимый фактор, ограничивающий кислородную устойчивость рыб. Подобное заключение делается в монографии Строганова (1962), хотя экспериментальных данных по корреляции между степенью сродства гемоглобина и кислородной устойчивостью рыб не приводится. В литературных данных о величинах pO_2 , необходимых для 50%-ного насыщения оксигемоглобина O_2 (P_{50}), не учтены параметры дыхания рыб. С другой стороны, данные о критических и пороговых pO_2 (Jones, 1964) не связаны с данными о характеристиках гемоглобина крови. При попытках найти коррелятивную связь между показателями гемоглобина крови и внешнего дыхания мы столкнулись с тем, что имеющиеся данные о степени сродства гемоглобина рыб к кислороду (Root, 1931; Irving, Black et al, 1941; Black, 1940; Павлов, 1940, 1949) разнородны по условиям определения и видовому составу рыб. Подробные данные об изменении кислородной емкости крови в зависимости от pO_2 для гольца

(*Salvelinus fontinalis*) приведены в работе Ирвинга с соавторами (Irving, Black et al, 1941). Для этого же вида данные о пороговых и критических pO_2 в широком диапазоне температур из работы Грэхем (Graham, 1949) нанесены на график в зависимости от температуры (рис. 2). Величины P_{50} для оксигемоглобина приведены для парциального давления CO_2 около 800 Па, поскольку, по данным Грэхем, содержание CO_2 при определении пороговых pO_2 составляло от 515 до 1200 Па. На рис. 2 представлены также критические и пороговые pO_2 для серебряного карася (Fry, 1948) и значения P_{95} и P_{50} для карпа (Black, 1940).

Из рис. 2 видно, что кривые изменения критического pO_2 практически совпадают с кривой для значений P_{95} оксигемоглобина гольца. Пороговые pO_2 для гольца достаточно хорошо согласуются с изменением величины P_{50} крови от температуры. Хорошо видны также характерные различия в абсолютной величине критических и пороговых pO_2 для гольца и карася. Различия в крутизне кривых для этих видов хорошо объясняются различиями в температурной зависимости диссоционных характеристик гемоглобина крови этих видов. Тот факт, что критические и пороговые pO_2 тесно коррелируют с такими показателями крови, как P_{50} и P_{95} гемоглобина, свидетельствуют о степени сродства гемоглобина крови как о величине, определяющей положение критической и пороговой точек. Падение содержания O_2 компенсируется увеличением объема жаберной вентиляции, что продолжается и при достижении критической точки. На это указывается в работах Грига (1966), Долиннина и Осипова (1971). Можно полагать, что причиной падения интенсивности потребления O_2 по достижении критического pO_2 является уменьшение способности крови к переносу O_2 а не снижение объема жаберной вентиляции. По данным наших измерений, объем жаберной вентиляции у тилляпии продолжает расти некоторое время и после достижения критического pO_2 . Что касается пороговых pO_2 , то в условиях падения объема вентиляции жабер переход O_2 из воды в кровь почти целиком определяется способностью гемоглобина крови к сорбции O_2 при пониженных парциальных давлениях. По-видимому, можно полагать, что полученные нами пороговые и критические pO_2 характеризуют положение точек P_{50} и P_{95} на кривой диссоциации оксигемоглобина рыб этих видов. Для подтверждения этого предположения необходимы дополнительные данные о кривых диссоциации оксигемоглобина.

Возможность получать данные о степени сродства гемоглобина крови рыб без трудоемкой процедуры взятия крови и определения кри-

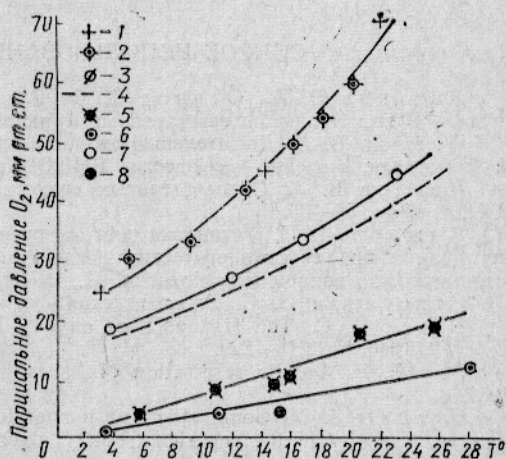


Рис. 2. Связь между величинами критических и пороговых pO_2 и характеристиками гемоглобина рыб:

1 — P_{95} оксигемоглобина гольца; 2 — критическое pO_2 ; 3 — P_{50} оксигемоглобина гольца; 4 — пороговое pO_2 ; 5 — критическое pO_2 карася; 6 — пороговое pO_2 карася; 7 — P_{95} оксигемоглобина карпа; 8 — P_{50} — оксигемоглобина карпа.

вой диссоциации очень облегчила бы исследования характеристик дыхательной системы рыб на ранних стадиях развития, когда цельную кровь взять нельзя. При таком методе параметры дыхания рыб могут служить диагностическим признаком при оценке влияния на рыб ионизирующей радиации или других токсических агентов.

Выводы

1. При длительном воздействии малых доз ионизирующей радиации у рыб (тиляпии и гуппи) достоверных изменений параметров дыхания не наблюдается.

2. Можно полагать, что критическое pO_2 близко к P_{95} оксигемоглобина крови рыб, а пороговое pO_2 к P_{50} оксигемоглобина.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Долинин В. А., Осипов В. Ф. Влияние гипоксии на газообмен и дыхание щуки.— В кн.: Эволюция вегетативных функций, Л., 1971, с. 202—206.

Павлов В. А. Дыхательные свойства крови некоторых пресноводных рыб и их экологическое значение.— «Известия ВНИОРХ», 1940, т. 23, с. 32—38.

Павлов В. А. О дыхательных свойствах крови сигов.— «Известия ВНИОРХ», 1949, т. 28, с. 59—65.

Рыжков Л. П. Установка для измерения интенсивности газообмена у водных организмов при токсикологических воздействиях.— В кн.: Методы биологических исследований по водной токсикологии. М., 1971, с. 130—136.

Строганов Н. С. Экологическая физиология рыб. Изд. МГУ, 1962. 445 с.

Black E. C. The transport of oxygen by the blood of freshwater fishes. Biol. Bull. 79, 1940, pp. 215—229.

Fry F. E. Aquatic respiration of fishes. Physiology of Fishes. Acad. Press. N. Y., 1957.

Graham J. M. Some effect of temperature and oxygen pressure on the metabolism and activity of the speckled trout. (*Salvelinus fontinalis*). Can. J. Res. 27(5), 1949, pp. 270—288.

Grigg G. C. The failure of oxygen transport in a fish at low levels of ambient oxygen. Comp. Biochem. Physiol., 29, 1969, pp. 1253—1257.

Hall F. G. Minimal utilizable oxygen and the oxygen dissociation curve of blood of rodents. J. Appl. Physiol. 21, 1966, pp. 375—378.

Irving L., E. C. Black, V. Safford. The influence of temperature upon the combination of oxygen with the blood of trout. Biol. Bull. 80(1), 1941, pp. 1—17.

Jones J. Fish and river pollution. London, Butterworths, 1964, pp. 312.

Root R. W. The respiratory function of the blood of marine fishes. Biol. Bull. 61, 1931, pp. 427—456.

SUMMARY

The relationship of the oxygen uptake and partial pressure was determined in *Tilapia mossambica* and *Lebistes reticulatus* reared under chronic exposure of radioactive strontium-90 with the activities of 10^{-6} — 10^{-10} curie/l. The "critical" and "threshold" values of pO_2 were estimated. The breathing intensity was measured by the method of discontinuous flow with the use of a membrane oxygen electrode. No trustworthy difference in the breathing indices investigated was found in specimens from the test and control samples.

The analysis of the data obtained allows for the assumption that the critical value of pO_2 characterizes the P_{95} of oxyhemoglobin in the blood of fish and the threshold value indicates P_{50} .