

NATURFORSCHER GESELLSCHAFT ZU LENINGRAD  
BERICHTE DER BIOLOGISCHEN BORODIN STATION  
Bd. IX Heft 1

---

ЛЕНИНГРАДСКОЕ ОБЩЕСТВО ЕСТЕСТВОИСПЫТАТЕЛЕЙ

**Т Р У Д Ы  
БОРОДИНСКОЙ  
БИОЛОГИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ  
В К А Р Е Л И И**

Том IX. вып. 1

Издатели: Совет Народных Комиссаров АКСР  
и  
Государственное Издательство Кирия  
Ленинград  
1936

T 958.

**ПРОВЕРЕНО**

57.

1973 г.

NATURFORSCHER GESELLSCHAFT ZU LENINGRAD  
BERICHTE DER BIOLOGISCHEN BORODIN STATION  
Bd. IX Heft 1

ЛЕНИНГРАДСКОЕ ОБЩЕСТВО ЕСТЕСТВОИСПЫТАТЕЛЕЙ

**Т Р У Д Ы  
БОРОДИНСКОЙ  
БИОЛОГИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ  
В К А Р Е Л И И**

Том IX. вып. 1

Карело-Финская База  
Академии Наук СССР  
БИБЛИОТЕКА

Издатели: Совет Народных Комиссаров АКСР  
и  
Государственное Издательство Кирья  
Ленинград  
1936

205411  
1572

ОГЛАВЛЕНИЕ. INHALT.

	стр. Seite
1. Предисловие	
2. В. А. Павлов и Б. Г. Кролик. Исследования по физиологии крови рыб. I. Содержание гемоглобина и число эритроцитов в крови некоторых пресноводных рыб . . . . .	5
V. A. Pavlov und B. G. Krolik. Ueber Haemoglobin—und Blutkörperchengehalt einiger Süßwasserteleostier.	
3. В. А. Павлов. Исследования по физиологии крови рыб. II. О содержании сахара в крови пресноводных рыб . . . . .	29
V. A. Pavlov. Ueber Blutzucker bei Süßwasserteleostiern	
4. Е. А. Веселов. Исследования по физиологии крови рыб. III. Осмотическое давление крови пресноводных рыб и методы его определения . . . . .	43
E. A. Wesselow. Der Osmotische Druck des Blutes von Süßwasserfischen und dessen Bestimmungsmethoden.	
5. С. И. Рубашев. Исследования по физиологии крови рыб. IV. О белых кровяных клетках некоторых пресноводных костистых рыб. . . . .	61
S. I. Rubascheff. Ueber weisse Blutzellen einiger Süßwasserfische.	

Ответств. редактор Г. Н. Гассовский

Техн. ред. А. Аланен

Сдано в набор 14/II—1936 г.

Подписано к печати 29/VII—1936 г.

Авт. л. 5,44

Тираж 600

Ст. форм. 6. 72 x 110

Тип. зн. в 1 бум. л. 123648

Ленгорлит № 18378

Издание Бородинской Биологической Станции

Зак. № 509

Типография ф-ки Кирьялая. Ленинград, Харьковская, 9

## ПРЕДИСЛОВИЕ.

Серьезным препятствием на пути развития ихтиологии и успешного выполнения ответственных задач, стоящих перед ней в связи с социалистической реконструкцией рыбного хозяйства, является недостаточность наших знаний в области физиологии важнейших водных организмов — рыб.

Не говоря уже о таких вопросах, как проблема контроля и управления отдельными функциями организма рыбы: ростом, созреванием половых продуктов, размножением и т. д. путем соответствующего активного вмешательства и регулирования — проблема, которая в области животноводства и, особенно, растениеводства находится на пути к успешному разрешению, основные вопросы физиологии рыб не нашли еще систематического освещения на основе современных взглядов и методов исследований. Систематическое изучение дыхательной функции крови, пищеварения, полового созревания и размножения, эндокринных функций и т. д. у наших промысловых пород — лосося, сига, судака, леща и т. п. в экологическом и возрастном разрезе, с учетом всей сложности и изменчивости факторов внешней среды представляют собой актуальнейшие задачи сегодняшнего дня.

Современная точная методика физиологических и биохимических исследований требует оборудованной лаборатории, в которой исследования функциональной деятельности рыб могут вестись в условиях естественных или приближающихся к естественным. Успешное разрешение задач, указанных выше в экологическом разрезе с учетом всего многообразия факторов внешней среды, возможно лишь при условии комплексного систематического изучения динамики данного водоема и его населения, что легче и полнее всего достижимо в условиях биологических или лимнологических станций.

Руководство Бородинской Биологической Станции, учитывая важность постановки и методической разработки проблем эколого-физиологического изучения рыб в общем комплексе лимнологических исследований водоемов Карелии, предусматривало включение в план работ Станции экспериментальных зоологических исследований, в частности — экспериментальных работ по физиологии рыб, поскольку изучение в таком комплексе физиологического состояния организмов облегчает вскрытие закономерностей взаимодействия факторов внешней (лимнологические условия) и внутренней (кровь, гормоны и пр.) среды.

Расположение лабораторий Станции в с. Кончезере близ перешейка между двумя крупными озерами, со значительной разницей уровня их вод, обеспечивающей возможность самотечных установок с водами различного химизма; ведущиеся уже в течении ряда лет систематические разносторонние исследования этих водоемов, наконец, наличие достаточной лабораторной базы, все это могло бы создать весьма благоприятные условия для развертывания в Кончезере экспериментальных работ. Однако невыпол-

нение в 1934 г., несмотря на проведение Станцией всех подготовительных мероприятий, программы минимум строительства, в которую входила упрощенная аквариальная, привело к необходимости осуществить намеченные работы в несколько ином разрезе, как изложено ниже. При их выполнении были использованы также руководимые автором лаборатория физиологии рыб Всесоюзного Института Озерного и Речного Рыбного Хозяйства и кафедра общей биологии Ленинградского Государственного Педиатрического Медицинского Института. Первый год работ был посвящен преимущественно разработке методической стороны с отнесением развертывания экспериментальной комплексной работы на следующий год.<sup>1)</sup>

По ходу наших опытов по изучению гормонального эффекта на темпы полового созревания у карпа и судака во Всес. Инст. Озерн. и Речн. Рыбн. Хоз. (Павлов, 1934, 1935) мы пришли к заключению о необходимости обратить особое внимание на изучение картины крови и тех изменений, которые в ней происходят или могут происходить в условиях эксперимента.

Однако, по ознакомлении с соответствующей литературой выяснилось, что более или менее систематически исследована кровь только у млекопитающих и некоторых птиц, что же касается холоднокровных и, в частности, рыб, то по отношению к ним не только отсутствуют систематические наблюдения, но даже и состав крови изучен еще далеко не полно.

Такое положение вещей в значительной степени определило направление нашей дальнейшей работы. Параллельно с экспериментальной работой были начаты систематические исследования крови основных промысловых рыб с целью выяснения химизма плазмы и форменных элементов в их динамике. Результаты этих исследований должны составить основу для изучения динамики обмена у разных пород промысловых рыб, как в условиях естественного, так и экспериментального регулирования.

Статьи по физиологии крови, напечатанные в настоящем выпуске Трудов Б. Б. С., представляют собой результаты первого года работы, основной задачей которого мы считали разработку методики изучения крови в применении к рыбам в условиях полевой работы и получение общей ориентировочной картины некоторых основных свойств крови рыб.

Считаем своим долгом выразить благодарность А. М. Александровой, за помощь при сборе и обработке материала.

*В. Павлов*

---

<sup>1)</sup> Прям. ред. Дальнейшая задержка разработанного Бородинской Станцией капитального строительства в с. Кончезере продолжает препятствовать продолжению подобных работ.

## Исследования по физиологии крови рыб.

### I. Содержание гемоглобина и число эритроцитов в крови некоторых пресноводных рыб.

В. А. ПАВЛОВ и Б. Г. КРОЛИК.

(Из Бородинской Биологической Станции и лаборатории физиологии рыб Всесоюзного Научно Исследовательского Института Озерного и Речного Рыбного Хозяйства)

Указаний в литературе на содержание гемоглобина и число эритроцитов в крови рыб имеется весьма немного, в особенности, по отношению к пресноводным. Сводку всей старой литературы по крови позвоночных мы находим у Шульца и Крюгера (Schulz u. Krüger 1925) в статье, напечатанной в руководстве по сравнительной физиологии Винтерштейна.

Большинство данных старых авторов (Bethe 1891, Malassez 1872, Welcker 1863), приводятся без каких-либо указаний на пол, возраст или состояние рыб, что в значительной степени снижает ценность сообщаемых сведений.

Более интересные материалы мы находим у Марша (Marsh 1906), который исследовал ручьевую и радужную форель, как дичков, так и культурные формы, здоровых и больных. Полученные им данные могут быть сведены в следующую таблицу (табл. I):

Таблица I

Название рыбы (число исследованных экз. указано в скобках)	Содержание гемоглобина (в % в сред- нем)	Число эритро- цитов в 1 мм <sup>3</sup> крови в мил- лионах
Ф. ручьевая дик. (35) . . .	43	∞ 1,0
„ „ культ. (23) . . .	34	—
„ радужн. дик. (2) . . .	92	1,83
„ „ культ. (19) . . .	54	1,49

Марш отмечает более низкую сопротивляемость культурных форм по отношению к инфекциям и ставит это в связь с пониженным содержанием гемоглобина и эритроцитов.

Гоффмейер (Hoffmeyer 1907) исследовал форель ручьевую и радужную, карпа культурного и линя по 15 взрослых здоровых экземпляров и получил следующие показатели: гемоглобин от 62% (*Salmo, Tinca*) до 72% (*Cyprinus carpio*), эритроциты — 1,4—1,9 миллионов.

Ланге (Lange, 1919), впервые указывает на наличие половых различий в крови у взрослых половозрелых шук и усачей-марен (табл. II).

Таблица II.

Название рыбы	Пол	Содержание гемоглобина в %	Число эритроц. в 1 мм крови в миллионах	Время и место поимки рыбы
Усач (8) . . . . .	♂	36,3	1,49	11/13 -IV пресн. вода.
„ (8) . . . . .	♀	32,1	1,32	
„ (7) . . . . .	♂	45,4	1,68	9/10—IV в низовьях реки, вода солоноватая.
„ (7) . . . . .	♀	42,6	1,66	
Щука (2) . . . . .	♂	43,5	1,59	20/VIII и 31/III вода солоноватая.
„ (8) . . . . .	♀	35,0	1,83	20/VIII и 22/III вода солоноватая.

Согласно приводимых данных у ♂♂ содержание гемоглобина и число эритроцитов несколько выше, чем у ♀♀. Более высокие показатели у экземпляров, пойманных в солоноватой воде следует, по мнению автора, поставить в связь с более благоприятными условиями питания в низовьях.

Более поздних работ по гемоглобинометрии и гемоцитометрии у пресноводных рыб мы не нашли.

Лучше изучены в этом отношении морские *Teleostei*. За последние годы изучению физиологии крови морских рыб уделяют значительное внимание американские исследователи. Так, Холл и его сотрудники, в ряде работ (Hall, Gray and Lepkowsky 1926; Hall 1928; Hall and Gray, 1929) установили наличие корреляции между содержанием гемоглобина и образом жизни. Наиболее активные рыбы, совершающие большие переходы—макрелевые, сельдевые и т. п. отличаются высоким средним содержанием гемоглобина, а малоподвижные, не мигрирующие рыбы, как например камбаловые, морской чорт (*Lophiidae*) и т. п. имеют мало гемоглобина. На основании этого, указанные авторы полагают, что содержание гемоглобина может в отношении морских рыб служить показателем их физиологической активности.

### 1. Материал и методика.

В отношении содержания гемоглобина, числа и размеров эритроцитов нами были исследованы следующие формы: карп, форель ручьевая, лещ, судак, сиг, форель озерная. Отдельные наблюдения имеются также в отношении щуки, лосося, линя и налима. Всего было исследовано 196 рыб. Возрастной материал был только по карпу, остальные породы были представлены главным образом половозрелыми экземплярами.

Переходим к технике взятия и обработки крови.

#### а) Взятие крови у живой рыбы.

Вопрос о месте взятия крови для исследования, не представляющий никаких затруднений при работе с млекопитающими, является по отношению к рыбам довольно сложной проблемой. Прежде всего, очень трудно получить совершенно чистую, незагрязненную тканевыми соками кровь. Рыбья кровь не свертывается только при условии, если она совершенно чиста. Даже незначительное загрязнение тканевыми соками, слизью (особенно сильной коагулирующей способностью отличается слизь, покры-

вающая жабры) вызывает резкое ускорение, иногда даже моментальное свертывание крови, что делает ее непригодной для целей дальнейшего исследования. Далее, важно имеет возможность получать кровь в достаточном количестве и не только не умерщвляя при этом рыбы, но даже, по возможности, не нанося ей тяжелой травмы. Гаррис (Harris 1903), работая с акулами, получал у них кровь из хвостовой вены путем отсекания хвоста и подвешивания рыбы в вертикальном положении, при этом кровь свободно стекала вниз через канюлю, вставленную в открытый просвет вены, в стеклянный сосуд. При этом способе получается кровь безусловно свободная от загрязнений,—в этом заключается достоинство метода,—но ввиду того, что он связан с умерщвлением рыбы, этот способ является применимым не во всех случаях. Большинство авторов, работавших с рыбами (Lange, Hoffmeyer, Malassez, Diamare и др.) получали кровь непосредственно из сердца—способ, мало чем отличающийся в принципе от указанного выше. Возможно, впрочем, взятие крови из сердца посредством пункции, через кожу, без вскрытия. Этот способ дает хорошие результаты у амфибий и даже мелких млекопитающих. У рыб это сделать трудно, ввиду более глубокого расположения сердца; при известном навыке, у небольших экземпляров, удается при помощи шприца насосать некоторое количество крови, но не говоря уже о том, что при этом приходится действовать вслепую, невозможно избежать сильного загрязнения конца иглы тканевыми соками.

Остается третий способ—взятие крови из жаберного сосуда, на котором мы и остановились. У этого способа целый ряд достоинств:—легкая доступность, надежность, возможность непрерывного контроля и, наконец, что наиболее важно для наших целей—это возможность повторного получения крови без ущерба для жизни рыбы. Недостатки:—невозможность предварительной очистки места взятия и вытекающее отсюда неизбежное загрязнение конца иглы, что правда, при известном навыке может быть сведено до минимума, а также трудность получения чистой артериальной или венозной крови, особенно у небольших экземпляров. Вследствие тесного расположения в жабре приводящего и отводящего сосудов, при втыкании иглы почти неизбежно повреждение обоих сосудов, так что кровь получается смешанной, что впрочем заметного влияния на результаты не оказывает; наконец, наиболее серьезный недостаток—это более или менее сильное кровотечение, которое наблюдается при поранении значительного участка жабры, что наблюдается довольно часто у особенно сильных и активных экземпляров, вследствие трудности фиксации их в неподвижном состоянии. Впрочем, даже самые сильные кровотечения прекращаются вследствие коагулирующего действия жаберной слизи обычно уже через несколько минут и к губительным последствиям для рыбы не ведут, хотя нормальную картину крови сбивают и поэтому являются весьма нежелательными. По нашим наблюдениям благоприятное действие оказывает фиксация рыбы в неподвижном состоянии, в течении нескольких минут, перед ее обратном спуском в воду, за это время на раневой поверхности успевает образоваться достаточно прочная кровяная пробка, которая предотвращает возможность дальнейшего кровотечения. Возможно, что полезным может оказаться смачивание пораненного участка раствором веществ, ускоряющих свертывание, напр. солями кальция.

При взятии крови из жабры предпочтительно пользоваться стеклянными пипетками, которые не трудно приготовить самому. Длина пипетки—10—15 см, диаметр 0,6—0,8 см. Один конец вытянут в тонкую иглу, диаметром в 0,05—0,1 см. Форма иглы и ее диаметр должны быть прировнены к размерам и форме жаберных дужек. Поэтому следует всегда иметь достаточный запас этих пипеток различной формы и диаметров. На широкий конец

пипетки одевается резиновая трубка, длиной в 25—30 см с небольшим отрезком стеклянной трубки, одетым на другой конец трубки. Отрезок стеклянной трубки оператор при взятии крови берет в рот. Внутренняя поверхность пипетки, в целях замедления свертывания парафинируется или, лучше, смачивается насыщенным раствором щавелево-кислого калия, натрия или лития. Само взятие крови производится следующим образом: помощник вынимает рыбу из воды и фиксирует ее, по возможности, неподвижно на столе или, что бывает иногда удобнее, у себя на коленях или просто в руках. Оператор берет пипетку в правую руку, конец резиновой трубки в рот, споласкивает пипетку 1—2 раза раствором оксалата, затем левой рукой приподнимает жаберную крышку и, осторожно, стараясь не касаться концом пипетки окружающих частей, вкалывает пипетку в основание первой жабры параллельно жаберной дужке. При удачном введении конца пипетки в просвет сосуда, кровь начинает немедленно подниматься в пипетке даже без насасывания ртом; если поднятие не происходит или происходит очень медленно, то этот процесс можно ускорить путем осторожного подсосывания ртом. Следует остерегаться насасывания в пипетку воздуха, ибо в случае вспенивания крови моментальное свертывание неизбежно и, в таком случае, взятие крови нужно начинать сизнова. Когда крови набралось достаточное количество (для определения гемоглобина и эритроцитов достаточно 0,1—0,3 см<sup>3</sup>) пипетка вынимается из жабры, конец ее обтирается чистой тряпочкой, а затем оператор осторожно (стараясь не вспенить) выпускает кровь на часовое стекло или чашку Коха, предварительно тщательно пропарафинированные и закрытые от пыли; первую, показывающуюся из пипетки каплю, а также последнюю лучше отбросить, как наиболее загрязненные. Следует отметить, что удачно взять кровь из жабры не с одинаковой легкостью удается у разных пород рыб, (кроме того, понятно, что у крупных экземпляров легче, чем у мелких). Очень легко и удобно брать кровь у карпа, судака, леща, сига. Труднее и часто требует иной формы иглы взятие крови у форели и щуки. Это зависит от анатомических различий в строении жабр.

#### б) Определение гемоглобина.

Как указывает Фрейфельд (1934) абсолютно точного метода количественного определения гемоглобина мы не имеем. Для обычных, практических целей особенная точность и не нужна, не допустимы лишь грубые ошибки. Наиболее простым, удобным, быстрым и вместе с тем достаточно точным методом определения гемоглобина в крови рыб, особенно пригодным для работы в полевых условиях следует считать колориметрическое определение гемометром Сали (Sahli) <sup>1)</sup>

Все наши определения сделаны этим методом. При этом, как известно определяется не абсолютное содержание гемоглобина, а испытуемый раствор сравнивается по цвету со стандартным раствором, условно принимаемым за 100. Стандартный раствор содержит 17,3% гемоглобина и соответствует содержанию гемоглобина у взрослого, здорового „нормального“ мужчины. Стандартный раствор налит в запаянную пробирку и, при условии хранения в темноте, стоек практически безгранично. <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Гемометры Сали имеются в продаже в магазинах Медснабторга:—цена 20 рублей. Там-же продаются запасные пипетки и пробирочки к ним. В продажу поступают наряду с хорошими—неудачные, поэтому приступая к работе с новым гемометром, необходимо его проверить по какому-нибудь другому.

<sup>2)</sup> Впрочем, имеются указания (Фрейфельд, 1934), что стандартные растворы, даже при хранении в темноте, все-же со временем выцветают, а потому требуют периодической проверки.

Само определение производится следующим образом: в особую пипетку набирается очень точно до метки  $20 \text{ мм}^3$  крови. Нижний конец пипетки обтирается чистой тряпочкой от лишней крови. Затем в эту же пипетку набирается немного  $0,1 \text{ N HCl}$  и обе жидкости выпускаются в мерную пробирочку, прилагаемую к гемоглобинометру. Операция наполнения пипетки  $0,1 \text{ N HCl}$  и опораживания ее в пробирочку повторяется несколько раз, пока из пипетки не будут удалены все следы крови и уровень жидкости в пробирке не достигнет метки 10. Содержимое пробирки осторожно сбалтывается или, лучше размешивается стеклянной палочкой и оставляется стоять минут на 5—10 (пока не растворится все содержимое и не исчезнут хлопья). Когда растворение закончилось, следует снова приливать в пробирку, при постоянном помешивании  $0,1 \text{ N HCl}$  (или просто воду), сравнивая в гемоглобинометре окраску испытуемого раствора с таковой обеих стандартных. Когда окраски сравнялись следует сделать отсчет и после этого для проверки прибавить еще каплю разбавляющей жидкости. Если определение было сделано правильно, то прибавление новой капли вызовет ослабление окраски испытуемого раствора по сравнению со стандартным. Цифра отсчета на пробирке указывает непосредственно % содержание по отношению к стандарту, принимаемому, как уже было указано выше, за 100. Значение прибавляемой кислоты следующее. Под действием кислоты гемоглобин распадается на глобин и гематин (окисленный гемохромоген). Гематин, растворяясь, переходит в солянокислый гематин (или гемин), который и сообщает раствору его характерную окраску. Таким образом, в гемоглобинометре мы, строго говоря, определяем концентрацию не гемоглобина, а солянокислого гематина (гемина).

Несмотря на большую простоту определения, этот метод является весьма чувствительным и достаточно точным. Правда, при работе с кровью рыб приходится считаться с некоторым осложнением, по сравнению с кровью млекопитающих. Солянокислый раствор получается не вполне прозрачным, а слегка мутноватый, что обычно не мешает отсчету, но в нескольких случаях (кровь половозрелого карпа) у нас получалась настолько сильная муть, что точное определение становилось невозможным. Расхождения в отсчетах, могут достигать 5—6 делений шкалы гемометра (%). Такого рода явления наблюдались лишь в тех случаях, когда число эритроцитов крови было высокое (3 милл. и выше). Последнее обстоятельство дает основание думать, что основной причиной мутности являются ядра эритроцитов, нерастворяющиеся в растворе слабой кислоты. Не исключена возможность также, что кровь рыб в отличие от таковой млекопитающих, вообще содержит вещества, не распадающиеся в слабом растворе. Следует отметить, что с подобно-же рода затруднениями встретились авторы, работавшие с кровью птиц. (Dukes and Schwarte 1931, Wintrobe 1933, Schultze and Elvehjem 1934). Мутность получающегося раствора они ставят исключительно на счет ядер эритроцитов. <sup>1)</sup>

#### в) Подсчет форменных элементов (эритроцитов).

Большая часть подсчетов нами сделана наиболее распространенным методом Тома-Цейса, принцип которого заключается в следующем: особой калиброванной пипеткой с резервуаром, т. н. смесителем, наби-

<sup>1)</sup> Дюкс и Шварте предлагают вводить поправку на мутность, а Шульце и Эльвехем выступают с более радикальным предложением, они считают метод с кислым гематином для ядросодержащих эритроцитов вообще неприменимым и предлагают его модификацию, требующую, однако, значительно большей затраты времени и довольно сложной аппаратуры. С работами указанных авторов мы имели возможность ознакомиться, к сожалению, лишь когда данная работа была в основном закончена и проверить на практике целесообразность предложенной модификации пока еще не смогли.

рается кровь строго до метки 11, кончик обтирается и в пипетку набирается до метки 101 жидкость Гайема, <sup>1)</sup> фиксирующая и консервирующая кровяные клетки. Размеры резервуара пипетки рассчитаны таким образом, что при заполнении пипетки кровью и жидкостью Гайема получается разбавление крови ровно в 200 раз. Путем усиленного встряхивания смесителя достигается тщательное перемешивание содержимого пипетки. <sup>2)</sup>

Самый подсчет производится в счетной камере Тома-Цейса, представляющей собой толстое предметное стекло, с нанесенной по середине сеткой из квадратов. Из смесителя наносится на сетку капля смеси (предварительно выпустив около  $\frac{1}{3}$  содержимого) и немедленно покрывается покровным стеклом, плотно прижимаемым к камере.

Под микроскопом просчитываются эритроциты по-квадратно, полученные цифры суммируются и результат пересчитывается на  $1 \text{ мм}^3$  крови. Против этого метода подсчета был выдвинут рядом исследователей, особенно Бюркером (Bürker 1913), весьма серьезные возражения, что цифры эритроцитов, получаемые при этом методе являются преувеличенными, вследствие недостатков, присущих самому методу. Важнейшим недостатком Бюркер считает то, что сначала капля смеси помещается на стекло, а затем уже покрывается покровным стеклом. Вследствие этого, эритроциты, обладая заметной массой, оседают на дно, т. е. на сетку и создают впечатление более густого расположения, чем это имеет место в действительности. По подсчетам Бюркера эта ошибка достигает для эритроцитов человека от 7—10%, в отношении же более крупных эритроцитов — рыб и земноводных ошибка должна быть еще больше. Ввиду этого, Бюркер предложил счетную камеру измененной конструкции в которой покровное стекло накладывается на камеру заранее, а капля смеси втягивается в пространство между покровным и предметным стеклами, в силу капиллярности, чем устраняется возможность вредного действия оседания.

Как было уже указано выше, большая часть наших подсчетов сделана по Томас-Цейсу, камеру Бюркера нам удалось достать лишь к концу нашей работы.

Подсчет по Бюркеру производился нами следующим образом: в круглодонную колбу, емкостью  $25 \text{ см}^3$  микробюреткой отмеривалось  $3,98 \text{ см}^3$  жидкости Гайема и прибавлялось  $20 \text{ мм}^3$  свежей крови (кровь бралась мерной пипеткой, употребляемой для определения гемоглобина). После тщательного размешивания, обыкновенной пипеткой набиралось немного смеси, первые две капли отбрасывались, а 3 и 4 капли подводились, соответственно к верхнему и нижнему отделениям камеры Бюркера. Подсчет производился немедленно после заполнения камеры, в том же порядке: сперва — верхняя камера, а затем — нижняя. В каждой камере эритроциты сосчитывались в 80 малых квадратах. (Подсчет велся с объективом  $8 \text{ мм}$  и компенсационным окуляром 8, микроскоп Рейхерта, с крестообразным столиком). Число эритроцитов в  $1 \text{ мм}^3$  крови равняется сумме эритроцитов в 80 квадратах, помноженной на 10.000. Для большей точности брали среднее из подсчета 2-х камер.

Для выяснения размеров отклонения в числе эритроцитов нами был произведен ряд параллельных подсчетов крови карпов в камерах Тома-

<sup>1)</sup> Состав жидкости Гайема: сулемы 0,1, натра сернок.—5,0, натра хлор.—1,0, воды дистил. 200,0.

<sup>2)</sup> Подробные практические указания по методике подсчета можно найти в клинических руководствах по исследованию крови, напр. в книге Фрейфельд. Гематология. 3 изд. 1934 г., а также в практическом курсе физиологии Гянецинского и Лейбсона 1933.

Цейса и Бюркера. Полученные результаты приведены на таблице III (в графах 2 и 3 указано число эритроцитов в миллионах).

Таблица III.

№№ по пор.	По Бюркеру (В)	По Тома (Т)	Разность В—Т	Разность в %
1	0,97	0,94	+ 0,03	3,09
2	1,25	1,31	- 0,06	4,80
3	1,44	1,14	+ 0,30	20,90
4	0,83	0,75	+ 0,08	9,70
5	0,96	1,20	- 0,24	25,00
6	1,30	1,35	- 0,05	3,80
7	0,72	0,64	+ 0,08	11,10
8	0,57	0,62	- 0,05	8,70
9	0,89	1,12	- 0,23	27,00
10	1,14	1,26	- 0,12	10,50
Среднее . .			- 0,026	12,46

Разница при подсчете в обеих камерах достигает в среднем 12—13%, причем отклонения встречаются в обе стороны. В отдельных случаях отклонения достигали 25 и даже 27%. С той-же целью приблизительного определения ошибки при подсчете по Тома-Цейсу нами были произведены измерения скорости оседания эритроцитов карпа, при этом оказалось, что скорость их оседания превышает таковую эритроцитов человека в 2 с небольшим раза, следовательно можно ожидать ошибок до 20—25%. Общий вывод из этих поверочных определений можно сделать следующий: цифры, полученные по Тома-Цейсу, несомненно преувеличены, но, в среднем, при большом числе определений — ошибка вряд-ли превышает 5—10%. Таким образом, с учетом этого обстоятельства цифры, полученные по Тома-Цейсу сохраняют свое значение. Это относится к карповым рыбам, с относительно некрупными эритроцитами, у лососевых, в особенности у сигов, эритроциты значительно крупнее и, следовательно, ошибка больше. Работать с камерой Бюркера значительно удобнее, проще и быстрее, чем с камерой Тома-Цейса, точность выше. Поэтому применение камеры Бюркера для рыбьей крови следует несомненно предпочесть; в настоящей работе все данные подсчетов приведены, как уже указывалось выше, по Тома-Цейсу. Это обстоятельство необходимо учитывать при общей оценке цифровых данных.

#### г) Измерение и вычисление поверхности эритроцитов.

После целого ряда опытов мы остановились на следующей методике измерения эритроцитов, как наименее искажающий истинные соотношения размеров: обычным путем делались 2 мазка на тонких покровных стеклах. Мазки подсушивались на воздухе. Сухие стекла с мазками слегка смачивались по углам канадским бальзамом, помещались на предметное стекло (мазками вниз) и легким нажатием закреплялись на нем неподвижно. Само измерение производилось под иммерзией, с помощью окуляр-микрометра. Длина тубуса и увеличение окуляра подбирались для удобства таким образом, что 1 деление окуляр-микрометра соответствовало 1 микрону. Измерялись только эритроциты нормальной формы, свободно лежащие и с ясно выраженными границами ядра. У каждого эритроцита брались следующие меренизия: большой диаметр ( $D = 2R$ ), малый диаметр ( $d = 2r$ ) и попереч-

ник ядра (h). Толщину эритроцита измерить непосредственно удается лишь в самых редких случаях, поэтому за толщину эритроцита мы принимали поперечный диаметр ядра, поскольку многочисленные наблюдения показали, что степень выпуклости стенок эритроцита определяется размерами ядра. На каждом мазке измерялось по 100 эритроцитов и вычислялись средние величины. Для вычисления поверхности эритроцита мы принимали эритроцит за цилиндр, с высотой равной поперечнику ядра и с радиусом равным одной четвертой части суммы обоих диаметров эритроцита. Вычисление производилось следовательно по формуле:

$$O_E = 2\pi \frac{D+d}{4} \left[ h + \frac{D+d}{4} \right]$$

## 2. Собственные наблюдения

### КАРПОВЫЕ

Из карповых нами были исследованы: карп зеркальный, топорованский и гибриды между ними, а также лещ и линь. Наиболее полный в возрастном отношении материал был в нашем распоряжении по карпу (84 шт.). Лещи (22 шт.) и лини (4 шт.) — только половозрелые.

#### КАРП (*Cyprinus carpio* L).

Сеголетки доставлены осенью 1934 года из Никольского рыбноводного завода. Исследованы в ноябре в Ленинградской лаборатории. Все экземпляры в прекрасном состоянии.

Таблица IV.

№№ п/п	Название рыбы	Откуда по- лучена	Время и место взятия крови	Возраст	E <sup>1)</sup>	Gб <sup>2)</sup>	Вес в г
1	Карп зерк.	Ник. рыбн. зав.	2/XI-Лгр.	Сеголетка	3,28	70	98
2	" "	"	4/XI-Лгр.	"	3,53	65	88
3	" "	"	4/XI-Лгр.	"	—	48	73
4	" "	"	10/XI-Лгр.	"	2,66	62	86
5	" "	"	10/XI-Лгр.	"	3,24	85	85
6	" "	"	10/XI-Лгр.	"	2,53	67	—
7	" "	"	20/XI-Лгр.	"	3,42	64	65
8	" "	"	20/XI-Лгр.	"	2,74	66	71
Среднее . . .					3,06	65,9	80,9

На таблице IV представлены результаты определений гемоглобина и числа эритроцитов у сеголеток. У одного экземпляра (№ 3) не удалось произвести подсчета эритроцитов, в виду быстро наступившего свертывания крови. Обращают на себя внимание высокие цифры, как эритроцитов, так и гемоглобина.

Годовики исследованы летом 1934 года в Ропшинском рыбхозе, в день вылова; экземпляры бодры и вполне здоровы на вид.

1) E на этой таблице и на всех последующих обозначает число эритроцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови в миллионах.

2) Gб % на этой таблице и на всех последующих обозначает — содержание гемоглобина в % (по Сали).

Таблица V

№№ п/п	Название рыбы	Откуда по- лучена	Время и место взятия крови	Возраст	Е	Гб %
1	Карп зерк.	Ропша	12/VII-Ропша	Годовик	3,13	58
2	"	"	12/VII "	"	2,17	42
3	"	"	12/VII "	"	2,20	48
4	"	"	12/VII "	"	3,02	55
5	"	"	12/VII "	"	2,21	45
Средний вес . . . 132 г					Среднее . .	2,55 49,6

При среднем весе в 132 г, мы видим у годовиков значительно более низкие показатели, чем у сеголеток с Н. Р. З. Пол у них установить не было возможности, ввиду того, что при макроскопическом исследовании не удалось обнаружить зачатков гонад. По картине крови намечаются однако, как-бы две группы — одна (№№ 1 и 4) с более высокими показателями, другая (2, 3 и 5) с более низкими. Возможно, что уже у годовиков намечаются те половые различия крови, которые как будет видно в дальнейшем, выявлены уже ясно у двухлеток.

Двух и трехлетки были доставлены в Ленинград в сентябре 1933 г. и перезимовали в аквариумах. Зимовку перенесли большинство хорошо. Для исследования (в мае 1934 г.) были отобраны наиболее бодрые и здоровые экземпляры. Внешние повреждения и заболевания сапролегнией отсутствовали.

Таблица VI

№№ п/п	Название рыбы	Откуда по- лучена	Время и место взятия крови	Возраст	Пол	Е	Гб %
1	Карп зерк.	Ропша	V-34 Лгр.	2-хлетка (2)	♂	1,74	58
2	"	"	V/34 "	"	♂	1,35	54
3	"	"	V/34 "	"	♂	3,00	56
4	"	"	V/34 "	"	♂	3,24	63
Средний вес . . . 232 г					Среднее . .	2,33	57,8

Таблица VII

№№ п/п	Название рыбы	Откуда по- лучена	Время и место взятия крови	Возраст	Пол	Е	Гб %
1	Карп зерк.	Ропша	V/34 Лгр.	2-хлетка (2)	♀	2,32	40
2	"	"	V/34 "	"	♀	2,10	38
3	"	"	V/34 "	"	♀	1,40	46
4	"	"	V/34 "	"	♀	1,80	48
Средний вес . . . 245 г					Среднее . .	1,91	40,5

У двухлеток (табл VI, VII) обнаруживаются ясно выраженные различия в содержании гемоглобина. Число эритроцитов колеблется в более резких пределах, но в среднем у ♀♀ ниже, чем у ♂♂. В общем картина сходная с таковой годовиков.

У трехлеток (табл. VIII, IX) наблюдается опять повышение, обоих показателей, как у ♂♂, так и у ♀♀:

Таблица VIII

№№ п/п	Название рыбы	Откуда получена	Время и место взятия крови	Возраст	Пол	Е	Гб %
1	Карп зерк.	Ропша	10/VII Ропша	3-летка (2+)	♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂	2,92	72
2	"	"	7/IX Лгр.	"		1,75	57
3	"	"	10/IX "	"		2,89	59
4	"	"	8/IX "	"		3,24	58
5	"	"	10/IX "	"		2,30	65
6	"	"	8/IX "	"		1,90	58
7	"	"	8/IX "	"		2,40	59
Средний вес . . . 346 г						Среднее . . . 2,46	60,9

Таблица IX

№№ п/п	Название рыбы	Откуда получена	Время и место взятия крови	Возраст	Пол	Е	Гб %
1	Карп зерк.	Ропша	10/VII Ропша	3-летка (2+)	♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂	1,88	48
2	"	"	14/IX Лгр.	"		1,20	35
3	"	"	1/IX "	"		2,31	48
4	"	"	8/IX "	"		3,04	47
5	"	"	10/IX "	"		1,76	38
6	"	"	10/IX "	"		3,05	47
7	"	"	10/IX "	"		2,08	46
8	"	"	10/IX "	"		2,92	45
9	"	"	7/IX "	"		2,69	45
10	"	"	7/IX "	"		1,80	36
Средний вес: ~ 350 г						Среднее . . . 2,27	43,5

Тенденция к повышению совершенно явственная. Особенно показательно в этом отношении сравнение 2-х леток и 3-х леток, находившихся целую

Таблица X

№№ п/п	Название рыбы	Откуда получена	Время и место взятия крови	Возраст	Пол	Е	Гб %
1	Карп зерк.	Ропша	5/X-34 Ропша	4-летка (3+)	♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂ ♂♂	3,10	62
2	"	"	5/X-34 "	"		3,28	90
3	"	"	5/X-34 "	"		2,80	70
3	"	"	5/X-34 "	"		2,68	61
5	"	"	5/X-34 "	"		3,60	78
6	"	"	5/X-34 "	"		3,00	60
7	"	"	5/X-34 "	"		4,20	109
8	"	"	5/X-34 "	6-8 л.		2,31	81
9	"	"	5/X-34 "	"		2,78	80
10	"	"	5/X-34 "	"		3,12	65
L 1) 48,5 — 68 см						Среднее . . . 3,09	75,6

1) L — длина всего тела, от вершины рыла до конца хвостового плавника.

зиму в совершенно одинаковых условиях, чего нельзя сказать при сравнении 2-х леток с годовиками.

Переходим к последней группе — половозрелых карпов (4, 6—8 лет). Параллельно с половым созреванием наблюдается отчетливое изменение крови в сторону увеличения, как гемоглобина, так и эритроцитов. У ♂♂ опять-таки это выражено значительно резче, чем у ♀♀ (табл. X, XI).

Таблица XI

№№ п/п.	Название рыбы	Откуда получена	Время и место взятия крови	Возраст	Пол	E	Гб%	
1	Карп зерк. . .	Ропша	5—10/VI—34 г. Ропша	4-х летка (3+)	♀	2,28	53	
2	" " . . .	"	"	6—8 л.	♀	2,60	50	
3	" " . . .	"	"	"	♀	3,44	60	
4	" " . . .	"	"	"	♀	2,84	56	
5	" " . . .	"	"	"	♀	1,75	50	
L—54—66,5 см.						Среднее .	2,58	53,8

Исследованный нами возрастной материал по карпу позволяет констатировать наличие в течение жизненного цикла по крайней мере 2-х максимумов содержания гемоглобина и, повидимому, эритроцитов, один, в раннем периоде жизни—у сеголеток и второй—в периоде половозрелости. Первый максимум сменяется к концу первого года жизни понижением содержания гемоглобина (и эритроцитов), за которым следует медленное нарастание по мере приближения к половозрелости, когда наступает второй максимум.

Причиной таких возрастных колебаний состава крови могут быть, как абсолютные количественные изменения в содержании гемоглобина и эритроцитов, так и изменения общего объема крови, вследствие поглощения или отдачи воды тканями, при постоянном или почти постоянном содержании гемоглобина и форменных элементов. Очевидно, что эти колебания, как в одном, так и в другом случае отражают изменения в общем обмене веществ.

Этот процесс выступает еще более резко, если содержание гемоглобина выразить не в условных %, а в абсолютных величинах в граммах на 100,0 см<sup>3</sup> крови (г %) и вычислить количество гемоглобина, приходящееся на 1 μ<sup>2</sup> поверхности каждого эритроцита.

На таблице XII приведены размеры (минимальные, максимальные и средние) эритроцитов 10 карпов различного возраста. Поверхность эритроцита в среднем (из 1.000 измерений), вычисленная по приведенным нами выше (стр. 12) формуле равняется 276,76 μ<sup>2</sup> или округленно 277 μ<sup>2</sup>.

Таблица XII

	D	d	h	Ос в μ <sup>2</sup>
	В микронах			
Карп (10)				
min . . .	11,06	8,23	3,13	276,76
max . . .	12,59	9,27	3,44	
Ср. . . .	11,98	8,76	3,31	

Найти содержание гемоглобина в % можно исходя из того, что 100% гемоглобина по Сали соответствует 17,3 г гемоглобина. Это определение носит, конечно, приближенный характер, но для наших целей это пока вполне достаточно.

Обратимся к рассмотрению таблицы XIII.

Таблица XIII

№№ п/п.	Возраст и число исслед. экземпляров	E	Гб %	Содержание гемоглобина в %	Содержание гемоглобина в 1 эритро- ците в $10^{-12}$ г	Поверхность эр-цита в $\mu^2$	Содержание гемоглобина на 1 $\mu^2$ поверхности в $10^{-14}$ г
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
1	Сеголетки (8) . . . . .	3,06	65,9	11,44	34	277	12,3
2	Годовики (5) . . . . .	2,55	49,6	8,58	34	277	12,3
3	2-х летки ♂♂ (4) . . . . .	2,33	57,8	10,01	43	277	15,5
	2-х летки ♀♀ (4) . . . . .	1,91	40,5	7,01	37	277	13,4
4	3-х летки ♂♂ (7) . . . . .	2,46	60,9	10,54	43	277	15,5
	3-х летки ♀♀ (10) . . . . .	2,27	49,5	8,57	38	277	13,7
5	4—8 летки ♂♂ (10) . . . . .	3,09	75,6	13,11	42	277	15,2
	4—8 летки ♀♀ (5) . . . . .	2,58	53,8	9,31	36	277	13,0

В графе 5 помещены данные по содержанию гемоглобина в % — мы видим здесь те-же 2 максимума, о которых говорили выше у сеголеток и у половозрелых особей: если принять во внимание данные графы 6 (содержание гемоглобина в каждом эритроците, выраженное в  $10^{-12}$  г) и 7 (количество гемоглобина, приходящееся на 1  $\mu^2$  поверхности эритроцита, выраженное в  $10^{-14}$  г) то процесс возрастных изменений крови представится в следующем виде: у сеголеток и годовиков общее количество гемоглобина, приходящееся на каждый эритроцит, или иначе говоря, степень насыщенности эритроцита гемоглобином не изменяется, а уменьшение общего количества гемоглобина связано с меньшим количеством эритроцитов. Начиная с 2-х летнего возраста наблюдается повышение степени насыщенности гемоглобином каждого эритроцита в различной степени у ♂♂ и ♀♀ и эта степень насыщения сохраняется почти неизменной до конца изученного нами периода (6—8 л.), таким образом повышение общего количества идет уже не за счет повышения концентрации гемоглобина в каждом эритроците, а за счет увеличения количества самих эритроцитов. Какова причина такого изменения „емкости“ эритроцитов по отношению к гемоглобину? В принципе, повидимому, возможны три случая: 1) изменяется поверхность самого эритроцита, т. е. он увеличивается в размерах и соответственно его поверхность и „емкость“, 2) увеличивается продукция гемоглобина и соответственно повышается концентрация его в эритроците, т. е. иными словами, в молодом возрасте эритроциты находятся в состоянии неполного насыщения и 3) с возрастом происходят изменения в способности эритроцита удерживать гемоглобин в сторону ее повышения. Первый случай представляется, на первый взгляд, весьма возможным. Мы не имели возможности измерить эритроциты у сеголеток. 1) Наши данные основаны преимущественно на материале 2-х и 3-х леток, однако, можем привести косвенные указания на то, что этот момент не может иметь решающего значения. Дело в том, что между эритроцитами ♂♂ и ♀♀ как мы видим, существует подобная-же разница, таким образом можно ожидать, что между

1) Как указывает Рейхерт (1909) кровяные клетки у новорожденного даже несколько крупнее, чем у взрослого.

ними имеется соответствующая разница в величине поверхности. Собственных данных о различиях в величине эритроцитов у ♂♂ и ♀♀ в нашем распоряжении не имеется, но мы можем привести данные Ланге (1919) по усачам-маренам (табл. XIV).

Таблица XIV

Пол	Число экз.	Длина эритроцита	Ширина эритроцита	Толщина эритроцита	ОЕ в $\mu^2$
		В микронах			
♂+♂+♀	8	12,2	3,85	7,46	266,72
	8	12,1	3,85	7,55	271,15
	7	12,37	3,85	7,41	274,94
	7	12,27	3,85	7,41	271,25

Различия действительно существуют, но они слишком незначительны для того, чтобы ими можно было объяснить различия между ♂♂ и ♀♀. <sup>1)</sup>

Нужно полагать, что причина заключается в каких-то более глубоких изменениях всего химизма организма и связанных с этим изменений свойств самих эритроцитов.

Это подтверждается также данными, полученными нами при сравнении крови сеголеток карпа зеркального (галицийского), карпа топорованского и гибридов между ними, полученных впервые В. И. Савельевым. Данные по зеркальному карпу приведены на табл. IV (стр. 12), а по топорованскому и гибридам на табл. XV и XVI.

Как топорованцы, так и гибриды были получены из Никольского Рыбоводного завода, одновременно с зеркальными галицийцами в ноябре 1934 г. и одновременно-же с ними были подвергнуты исследованию. <sup>2)</sup>

Результаты получились следующие:

Таблица XV

№№ п/п.	Название рыбы	Откуда получена	Время и место взятия крови	Возраст	Е	Гб %	Вес в г
1	Карп топорованский	Ник. рыба.	2/XI Лгр.	Сеголетка	3,08	87	75
2	" "	" "	4/XI "	" "	2,40	82	101
3	" "	" "	4/XI "	" "	3,12	83	84
4	" "	" "	10/XI "	" "	2,04	85	—
5	" "	" "	10/XI "	" "	3,10	81	—
6	" "	" "	21/XI "	" "	2,20	86	90
7	" "	" "	21/XI "	" "	2,70	84	87
Среднее . .					2,66	84,0	87,4

<sup>1)</sup> Тем более, что эти различия могут быть противоположны; в некоторых случаях кровяные клетки ♀♀ могут в среднем оказаться крупнее таковых ♂♂, как напр. в табл. XIV у второй группы ♂♂ и ♀♀.

<sup>2)</sup> Пользуемся случаем, выразить В. И. Савельеву нашу искреннюю признательность за содействие в получении столь интересного материала.

Таблица XVI

№№ п/п	Название рыбы	Откуда получена	Время и место взятия крови	Возраст	E	Гб %	Вес в г
1	Гибрид (карп зерк. × карп топор.) . . .	Ник. рыбз.	2/XI Лгр.	Сеголетка	2,33	70	148
2	"	" "	2/XI "	"	1,63	65	130
3	"	" "	3/XI "	"	3,60	70	102
4	"	" "	4/XI "	"	3,20	81	108
5	"	" "	4/XI "	"	2,88	75	148
6	"	" "	10/XI "	"	2,32	81	141
7	"	" "	26/XI "	"	2,10	69	102
8	"	" "	26/XI "	"	2,88	75	131
Среднее . . .					2,62	73,3	126,3

По содержанию гемоглобина гибриды занимают как раз промежуточное положение между обоими родительскими формами. Обращает на себя внимание, одинаковое число эритроцитов у топорованца и гибрида, уменьшенное по сравнению с галицийцами. Очень отчетливую картину в различной степени насыщенности эритроцитов у всех трех пород можно видеть на табл. XVII.

Таблица XVII

№ п/п	Название и число исслед. экз. (сеголеток)	E	Гб %	Содержание гемоглобина в г %	Содержание гемогл. в 1 эритроц. в $10^{-12}$ г	Поверхность эр-цита в $\mu^2$	Содержание гемогл. на $1 \mu^2$ поверхности в $10^{-14}$ г
1	Карп зерк. (8) . . . . .	3,06	65,9	11,44	34	277	12,3
2	Гибрид зерк. × топор. (8)	2,62	73,3	12,68	48	—	17,5
3	Карп топоров. (7) . . . . .	2,66	84,0	14,53	55	—	19,8

На таблице ясно выступают специфические различия в количестве гемоглобина, удерживаемого единицей поверхности эритроцита — 12,3 у галицийца, 17,5 у гибрида и 19,8 у топорованца. Контрольный просмотр эритроцитов у топорованцев не обнаружил каких-либо заметных отклонений в размерах, по сравнению с галицийцами.

Прежде чем покончить с карпами, еще несколько замечаний по поводу цвета их крови. В большинстве исследованных нами случаев окраска крови карпов (зеркальных) колебалась между различными оттенками темно-красного, вишневого цвета, что указывает на преимущественное присутствие восстановленного гемоглобина в смеси с оксигемоглобином. Яркая красная окраска оксигемоглобина встречалась лишь в единичных случаях, что вероятно зависит от метода взятия крови (в большинстве случаев повреждались как приводящий, так и отводящий сосуды). У „стариков“ — 6—8 летних, а также у части 4-х леток кровь имела буроватый оттенок, у нескольких экземпляров (3) была совершенно бурого цвета. При рассмотрении этой крови под микроскопом, в ней было замечено довольно много агрегатов кристаллов метгемоглобина типичной формы, слегка напоминающей связки снопов (Reichert and Brown, 1909). Подобное же явление описывает Рейхерт для карпа и атлантической сельди (*Alosa*), причем количество метгемоглобина ставит в связь с изменениями в состоянии

организма, степени его активности. Так Рейхерт высказывает предположение, что у *Alosa* увеличение количества метгемоглобина в крови связано с периодами нереста, когда рыба перестает питаться и органы пищеварения находятся в бездеятельном состоянии. Аналогичные случаи описаны также у животных, впадающих в спячку, напр. у медведя. В нашем случае, соответствующие карпы отличались исключительно высоким содержанием гемоглобина (до 109%), возможно чрезмерным по сравнению с их потребностью в кислороде. Не является ли в таком случае переход части гемоглобина в неактивное соединение—метгемоглобин своего рода адаптацией организма к определенным физиологическим условиям, как это предполагает Рейхерт? Предположение во всяком случае очень правдоподобное, которое требует, однако, доказательств. У более молодых карпов, заметного присутствия метгемоглобина нами ни в одном случае обнаружено не было.

### ЛЕЩ (*Abramis brama* L.).

Лещи (22 шт.) нами были исследованы в конце мая и в начале июня 1934 г., во время нерестового периода, на рыбоводном пункте Свицкого рыбозавода в устье р. Лисьей у с. Н. Свирица. Рыба привозилась с Ладожского озера и отсаживалась в садки, где находилась от 10 до 20 дней. Общее состояние удовлетворительное. Нерест происходил более или менее нормально. Все исследованные экземпляры, как ♂♂, так и ♀♀ были половозрелы, но половые продукты выделялись туго. Картина крови представлена на табл. XVII (♂♂) и XIX (♀♀).

Таблица XVIII

№№ п/п.	Название рыбы	Время и место взятия крови	Возраст	Пол	Е	Гб %	
1	Лещ . . . . .	13—20/VI—34 Н. Свирица	Половозр.	♂	2,55	68	
2	" . . . . .	"	"	♂♂	2,39	60	
3	" . . . . .	"	"	♂♂	1,80	60	
4	" . . . . .	"	"	♂♂	2,10	65	
5	" . . . . .	"	"	♂♂	2,24	67	
6	" . . . . .	"	"	♂♂	2,32	57	
7	" . . . . .	"	"	♂♂	2,43	55	
8	" . . . . .	"	"	♂♂	1,84	52	
9	" . . . . .	"	"	♂♂	2,02	57	
Ср. вес: 1850 г					Среднее . . . . .	2,19	60,1

Можно отметить, что у леща по сравнению с карпами соответствующего возраста показатели понижены, если вычислить содержание гемоглобина в 1 эритроците, то результат получится следующий: (табл. XX, стр. 20).

Оказывается, что абсолютное содержание гемоглобина в крови исследованных нами лещей меньше, чем у карпов, но зато емкость эритроцитов выше, так что общая физиологическая активность крови у леща может быть при одинаковом числе эритроцитов—выше.

Таблица XIX

№№ п/п.	Название рыбы	Время и место взятия крови	Возраст	Пол	Е	Гб %	
1	Лещ . . . . .	13—20/VI 34 г. Н. Свирица	Половоз.	♀	0,90	37	
2	" . . . . .	"	"	♂	2,52	40	
3	" . . . . .	"	"	♂	1,68	39	
4	" . . . . .	"	"	♂	2,32	47	
5	" . . . . .	"	"	♂	2,18	46	
6	" . . . . .	"	"	♂	1,73	49	
7	" . . . . .	"	"	♂	2,16	56	
8	" . . . . .	"	"	♂	1,44	32	
9	" . . . . .	"	"	♂	1,31	42	
10	" . . . . .	"	"	♂	1,31	37	
Ср. вес : 2100 г					Среднее . .	1,72	42,5

Таблица XX

№№ п/п.	Возраст и число исследований	Е	Гб %	Содержание гемоглобина в г %	Содержание гемоглоб. в 1 эр-ците в $10^{-12}$ г	Поверх. эр-цита в $\delta^2$	Содержание гемогл. на $1 \mu^2$ поверхн. в $10^{-14}$ г
1	Половозр. (4—5 л.) ♂ ♂ (9)	2,19	60,1	10,4	48	280 <sup>1)</sup>	17,1
2	Половозр. (4—5 л.) ♀ ♀ (10)	1,72	42,5	7,96	46	280	16,4

ЛИНЬ (*Tinca tinca* L.)

Материал по линю у нас незначительный; всего было исследовано в Ропше в июне 1934 г.—2 половозрелых экземпляра (♂ и ♀). Результаты представлены на табл. XXI.

Таблица XXI

Название рыбы	Пол	L в см	Е	Гб %	Содерж. гб. в г %	Содерж. гб. в 1 эри-ците в $10^{-12}$ г	Поверх. эр-та в $\mu^2$	Содерж. гемогл. на $1 \mu^2$ поверхн. в $10^{-14}$ г
Линь . . . . .	♂	22	2,61	63	10,90	42	280 <sup>2)</sup>	15
" . . . . .	♀	22	2,24	44	7,61	34	280	12

По содержанию гемоглобина—совпадение с лещем (табл. XX), а по степени насыщенности эритроцита—с карпом (табл. XIII). Это очень ясно выступает на табл. XXII. Лини и карпы жили вместе, так что экологические условия у них сходны, оба являются формами одомашненными, а лещ—

1) Величина поверхности получена не путем вычисления, а взята приблизительно равной таковой у карпа в предположении, что у всех карповых рыб размеры эритроцитов мало отличаются друг от друга.

2) См. прим. к табл. XX.

Таблица XXII

Название рыбы	Пол	Содерж. гемоглобина в %	Содерж. гемоглобина на 1 $\mu^2$ поверхности в $10^{-14}$ г
Карп . . . . .	♂	13,11	15,2
		9,31	13,0
Лещ . . . . .	♂	10,40	17,1
		7,96	16,4
Линь . . . . .	♂	10,90	15,0
		7,61	12,0

дикая. Ограничимся пока констатированием этого факта и перейдем к рассмотрению результатов по лососевым.

### ЛОСОСЕВЫЕ

Из лососевых нами были исследованы: форель ручьевая и озерная, лосось озерный и сиг свирский.

Эритроциты лососевых рыб резко отличаются от таковых карповых, они на много крупнее, при этом внутри самих лососевых, в свою очередь наметились 2 группы: р. *Salmo* и р. *Coregonus*. Наиболее крупные эритроциты у сиговых. Данные измерений приведены в таблице XXIII.

Таблица XXIII

Название рыбы и число исслед. экз.		<i>D</i>	<i>d</i>	<i>h</i>	ОЕ в $\mu^2$
		В микронах			
Форель озерн. (3) . . .	мин.	15,45	9,03	3,29	—
	макс.	16,03	9,39	3,31	—
	ср.	15,77	9,25	3,30	374,85
Лосось озерный (4) . .	мин.	15,18	9,15	3,27	—
	макс.	15,82	2,81	3,40	—
	ср.	15,50	9,50	3,32	375,62
Сиг (5) . . . . .	мин.	15,28	9,91	3,64	—
	макс.	17,02	11,36	4,10	—
	ср.	16,17	10,60	3,93	446,15

У форели и лосося размеры одинаковы, у сига заметно крупнее.

#### ФОРЕЛЬ РУЧЬЕВАЯ (*Salmo trutta fario* L.)

Исследовались в Ропшинском рыбхозе в VI—VII—1934 г. трехлетки (2+). Всего исследовано 36 экземпляров.  $L = 22-45$  см, средняя длина 37,5 см. Все рыбы здоровые и очень бодрые.

При сравнении с однолетками-карпами бросается в глаза сниженное число эритроцитов и содержание гемоглобина. Насыщенность эритроцитов гемоглобином тоже очень низка, как можно видеть из табл. XXVI.

Эти данные по ручьевой форели интересно сравнить с данными по озерной форели и лососю. Нам не удалось, к сожалению, сделать подсчетов эритроцитов для этих форм, но данные по гемоглобину достаточно убедительно говорят о том, что у озерных форм, как у форели так и у лосося содержание гемоглобина на весьма высоком уровне (табл. XXVII).

Таблица XXIV

№№ п/п.	Название рыбы	Время и место взятия крови	Возраст	Пол	Е	Гб %
1	Форель ручьевая . . . . .	20—30/VI 1934 г.  Ропша	3-х летки (2+)	♂	2,37	67
2	" " . . . . .		"	♂	—	60
3	" " . . . . .		"	♂	1,86	61
4	" " . . . . .		"	♂	1,86	55
5	" " . . . . .		"	♂	1,41	52
6	" " . . . . .		"	♂	1,76	43
7	" " . . . . .		"	♂	2,38	52
8	" " . . . . .		"	♂	2,80	56
9	" " . . . . .		"	♂	2,04	56
10	" " . . . . .		"	♂	2,26	66
11	" " . . . . .		"	♂	—	57
12	" " . . . . .		"	♂	—	52
13	" " . . . . .		"	♂	1,14	45
Среднее . . . . .					1,99	55,4

Таблица XXV

№№ п/п.	Название рыбы	Время и место взятия крови	Возраст	Пол	Е	Гб %
1	Форель ручьевая . . . . .	20—30/VI— 1934 г.  Ропша	3-х летки (2+)	♀	2,80	47
2	" " . . . . .		"	♀	—	47
3	" " . . . . .		"	♀	1,69	30
4	" " . . . . .		"	♀	1,26	42
5	" " . . . . .		"	♀	2,16	47
6	" " . . . . .		"	♀	1,25	45
7	" " . . . . .		"	♀	2,45	47
8	" " . . . . .		"	♀	—	48
9	" " . . . . .		"	♀	1,40	30
10	" " . . . . .		"	♀	1,76	31
Среднее . . . . .					1,85	41,4

Таблица XXVI

Возраст и число исслед. экз.	Е	Гб %	Содержание гемог. в г %	Содерж. гемогл. в 1 эр-ците в 10 <sup>-12</sup> г	Поверхн. эр-тов в μ <sup>2</sup>	Содержание гемоглоб. на 1 μ <sup>2</sup> поверх. в 10 <sup>-14</sup> г.
3-х летки ♂♂ (10) .	1,99	55,3	9,57	48	375	12,8
" ♀♀ (10) .	1,85	41,4	7,16	39	375	10,4

Таблица XXVII

	Гб %
Форель озерн. ♂ (6) . . . . .	71
" " ♀ (6) . . . . .	60
Лосось озерн. ♂ (2) . . . . .	76
" " ♀ (2) . . . . .	60

Как форели, так и лососи были исследованы на Свирском заводе в ноябре 1934 г. Все экземпляры были половозрелые. Форели 12 экз.  $L = 58$  см (средн.) лосось 4 экз.  $L = 64$  см (средн.).

### СИГ (*Coregonus lavaretus* L.)

Исследовались на Свирском рыбноводном заводе в октябре—декабре 1934 г., во время нерестового хода. Нерест проходил неудачно. Для сравнения приводим данные по содержанию гемоглобина в октябре—ноябре (во время нерестового хода) и в декабре (по окончании) (см. табл. XXVIII).

Таблица XXVIII

Пол	Число экз.	Средн. длина	Когда взята кровь	Гб %
♂	5	55,8	X—XI—34	51,4
	6	52,0	XII—34	61,5
	5	50,4	XI—34	43,6
	6	53,0	XII—34	53,0

К моменту нереста можно отметить относительно низкое содержание гемоглобина, которое становится выше уже после окончания нереста. Весьма вероятно, что низкое содержание гемоглобина находится в связи с неудачей нереста, тем более, что аналогичные наблюдения имеются у нас и в отношении судака.

### СУДАК (*Lucioperca lucioperca* L.)

Судак является единственным исследованным нами представителем *Percidae*. Кровь бралась у судаков в Н. Свирице (на рыбноводном пункте в устье реки Лисьей) в V—VI 1934 г. во время нерестового хода. Нерест проходил совершенно неудачно. Наблюдался сильный отход. Изучение картины крови дало следующие результаты: (табл. XXIX и XXX).

Таблица XXIX

№ п/п	Название рыбы	Время и место взятия крови	Возраст	Пол	L	E	Гб %		
1	Судак . . . . .	Н. Свирица	Половозр.	♂	50,0	2,62	49		
2	„ . . . . .				13—20/VI—34	♂	58,0	1,90	40
3	„ . . . . .				♂	47,0	2,58	40	
4	„ . . . . .				♂	45,0	2,24	45	
5	„ . . . . .				♂	66,5	1,90	44	
6	„ . . . . .				♂	50,0	1,91	43	
Ср. вес—1850 г					Среднее . .	52,7	2,18	43,5	

Содержание гемоглобина необычайно низкое для взрослых особей, что свидетельствует, повидимому, о глубокой анемии. Степень насыщенности эритроцитов, как можно видеть из табл. XXXI не превышает таковой 3-х летней ручьевой форели, с очень слабо развитыми гонадами.

Таблица XXX

№ п/п	Название рыбы	Время и место взятия крови	Возраст	Пол	L	E	Гб %	
1	Судак . . . . .	13—20/VI—34 Н. Свирица	Половозр.	♂	50,0	1,20	29	
2	" . . . . .			♀	50,0	2,48	35	
3	" . . . . .			♀	51,0	1,16	34	
4	" . . . . .			♀	54,0	1,20	25	
5	" . . . . .			♀	64,0	2,85	38	
6	" . . . . .			♀	50,0	1,42	34	
7	" . . . . .			♀	68,0	2,16	47	
8	" . . . . .			♀	67,5	1,80	32	
Ср. вес—1900 г					Среднее . .	56,8	1,78	34

Таблица XXXI

Возраст и число исслед. экземпл.	Число эр-цитов в милл.	Содерж. гемогл. в %	Содерж. гемогл. в г %	Содерж. ге- могл. в 1 эр. в $10^{-12}$ г	Поверхн. эр-цита в $\mu^2$	Содерж. ге- моглоб. на 1 $\mu^2$ поверхн. в $10^{-14}$ г
Половозр. (4—6 л.) ♂♂ (6)	2,18	43,5	7,53	35	285 <sup>1)</sup>	12,3
" ♀♀ (8)	1,78	34,3	5,93	33	285	11,6

Анемия у исследованных судаков сопровождалась сильно выраженной гипергликемией, т. е. увеличением содержания сахара в крови (см. работу одного из нас (Павлова), в этом томе, о сахаре в крови рыб). О возможных причинах подобного состояния ничего определенного сказать пока нельзя, но во всяком случае это так или иначе связано с общеизвестной неустойчивостью судака.

В заключение, еще несколько замечаний по поводу налима. Во время пребывания на Сви́рском заводе, в декабре 1934 г., мы имели возможность исследовать кровь у нескольких налимов (3 ♂♂). Размеры эритроцитов оказались такими-же, как у карповых (табл. XXXII).

Таблица XXXII

		D	d	h	$O_E$ в $\mu^2$
		В микронах			
Налим (3) . . . . .	миним.	12,14	8,50	3,11	274,89
	максим.	13,49	8,69		
	средн.	12,86	8,30		

Что-же касается содержания гемоглобина, то оно довольно неожиданно оказалось очень низким (табл. XXXIII).

Кровь была взята незадолго до нереста, который проходил по имеющимся у нас данным, вполне нормально. Имеем-ли мы, в данном случае, дело с формой, отличающейся вообще низким содержанием гемоглобина,

<sup>1)</sup> Эта величина вычислена на основании данных о размерах эритроцитов окуня по Гулливеру (цит. у Reichert and Brown 1909).

Табл. XXXIII

№ по пор.	L в с.м.	Гб%
1	85	35
2	77	30
3	79	30
	Ср. 80,3	31,7

в силу специфики метаболизма или же налицо была патологическая анемия, решить пока невозможно, следует лишь добавить, что в других отношениях (сахар) кровь была вполне нормальна (в противоположность судакам).

### 3. Заключение.

Полученные нами данные позволяют сделать ряд заключений предварительного характера:

1. По размерам эритроцитов (величина их поверхности) все исследованные формы разделяются на 3 группы: 1) с наименьшей поверхностью, (270—280  $\mu^2$ ), сюда относятся вероятно все карповые (каarp, линь, усач, лещ (?), окуневые (окунь, судак (?), щуки, налим. 2) Со средней поверхностью (375—385  $\mu^2$ ) — р. *Salmo* и 3) с наибольшей (440—450  $\mu^2$ ) — р. *Coregonus*.

2. Закон распределения гемоглобина, установленный Бюркером (1922) для млекопитающих, согласно которому количество гемоглобина, отнесенное к единице поверхности эритроцитов у всех животных, независимо от величины их эритроцитов, всегда одинаково ( $30-32 \cdot 10^{-14}$  г), по нашим наблюдениям на рыб не распространяется. Оно различно не только для различных групп рыб, но изменяется, как мы видели, также с возрастом.

3. Цифры, приводимые нами для эритроцитов во многих случаях выше средних, приводимых другими авторами для пресноводных рыб. Считаюсь с тем, что известное преувеличение, связанное с методом исследования (подсчет по Тома-Цейсу), несомненно могло иметь место, мы однако полагаем, что данные поверочных подсчетов (по Бюркеру) показывают что ошибка в среднем не превышает 5—10%, а также многочисленность наших наблюдений безусловно доказывают, что верхние пределы количества эритроцитов могут быть у рыб во многих случаях выше указанных другими авторами (до 2 мил.), имевшими в своем распоряжении лишь крайне незначительный материал. (Цифры, указываемые авторами для морских рыб, весьма близки к нашим данным и, в некоторых случаях, даже превышают их).

4. Определение гемоглобина у рыб обычным колориметрическим методом, с переводом его в кислый гематин наталкивается на трудности, вследствие наличия нерастворяющихся в HCl ядер эритроцитов, вызывающих муть и затрудняющих отсчет. При наличии малого количества эритроцитов эти затруднения практического значения не имеют, но при богатстве крови форменными элементами точное определение гемометром становится почти невозможными и колебания доходят до 5—6 делений шкалы по Сали. Предложенные американскими авторами модификации этого метода гораздо сложнее и менее пригодны для полевых исследований. Более целесообразно применение поправки на мутность (Dukes and Schwarte), а также определение Fe.

5. Как в содержании гемоглобина, так и в количестве эритроцитов у рыб наблюдаются такие-же сильные индивидуальные колебания, связанные с внешними и внутренними условиями, как и у других животных, но несмотря на это удается обнаружить закономерные изменения, связанные с возрастом. Так у исследованных нами карпов можно было констатировать наличие двух максимумов содержания гемоглобина, соответствующих, возможно, периодам наиболее интенсивных окислительных процессов в организме. Первый максимум — у сеголеток, совпадает очевидно с периодом интенсивного роста, а второй максимум развивается к моменту наступления половой зрелости. В ряде случаев (сиг, судак) было отмечено, что ненаступление половой зрелости сопровождалось низким содержанием гемоглобина.

6. Наши данные не позволяют установить в настоящее время (в отношении исследованных форм) столь простой и ясной зависимости между содержанием гемоглобина и образом жизни, как это удалось американским исследователям по отношению к морским рыбам. Если, с одной стороны, активные рыбы, как например, лосось, имеют высокий процент гемоглобина, а мало подвижные, донные формы (налим) — крайне низкий, то, с другой стороны мы находим высокие цифры у карпа и отчасти у леща, низкие у сига и особенно у судака. Можно думать, что большее разнообразие и неустойчивость физико-химических условий в пресных водоемах, по сравнению с относительным постоянством таковых в морях и океанах, отражаясь на физиологическом состоянии пресноводных рыб, создают весьма комплексную картину влияний, в которой основные зависимости могут быть оттеснены и сильно изменены.

7. Наши данные подтверждают указания Рейхерта о наличии у карпов в некоторых случаях метгемоглобина. В нескольких случаях у крупных чрезвычайно полнокровных (80—110% Гб) 6—8-летних карпов были обнаружены кристаллы метгемоглобина — при чем кровь имела красно-бурую окраску. Предположение Рейхерта об адаптивном характере этого явления (перевод части активного гемоглобина в неактивное состояние) весьма вероятно. Подобное явление, описанное Рейхертом еще для *Alosa* наблюдалось нами только у карпа. Является ли этот переход обратимым и каков механизм этого перехода остается пока невыясненным.

8. У всех исследованных форм можно наблюдать половые различия крови. Впервые установить биохимическую дифференцировку пола у карпа удается у двухлеток (1+).

9. Определение гемоглобина крови может быть использовано в условиях рыбоводных хозяйств для определения пола у неполовозрелых особей, а также для суждения о физиологическом состоянии рыбы, а тем самым, повидимому, косвенно и о степени ее зрелости. Последнее обстоятельство должно быть проверено и уточнено на возможно более обширном материале.

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Bethe. Zahl und Massenverhältnisse der Erythrozyten. Diss. Strassburg, 1891. — 2. Bürker. Tigerstedts Handb. d. physiol. Methodik. Bd. 2. S. 36. 1912. — 3. Pflüg. Arch. 195. 516—524. 1922. — 4. Dukes and Schwarte. Amer. J. Physiol. **96**, 89, 1931. — 5. Фрайфельд. Гематология, 1934. — 6. Гинцинский и Лейбсон. Практический курс физиологии, 1933. 7. Hall J. biol. Chem, **76**, 623, 1928. — 8. Hall and Gray. J. biol. Chem. **81**, 589, 1929. — 9. Hall and Lepkovsky. J. biol. Chem. **67**, 549, 1926. — 10. Harris. J. Physiol. **30**, 319—321; 1903. — 11. Hoffmeyer. Allgm. Fisch. Ztg **32 Jg.** 50—53, 1907. — 12. Lange. Zool. Jahrb. Abt. allgm. Zool. **36**, 657—698, 1919. — 13. Malassez. C. R. Acad. Sc. **75**, 1528; 1872. — 14. Marsh. Science n. s. **23**,

Nr. 591, 666; 1906—15. Павлов. Бюл. № 2. ВНИОРХ, 1934. — 16. Он-же. Тр. Бород. Биол. Ст. IX, в. 1, 1936. — 17. Reichert and Brown. The crystallography of hemoglobins. Carnegie Inst. of Washington. Publ. Nr. 116. 1909.—18. Schulze and Elvehjem, J. biol. Chem. **105**, 253; 1934. — 19. Schulz und Krüger Das Blut der Wirbeltiere. Handb. d. vergl. Physiol. hrsg. v. Winterstein. Bd. 1. Hälfte I, 1111—1344; 1925,—20. Welcker. 1863, цитир. по Reichert and Brown. — 21. Wintrobe. Folia haematol. **51**, 203; 1931.

## UEBER HAEMOGLOBIN- UND BLUTKÖRPERCHENGEHALT EINIGER SÜSSWASSERTELEOSTIER

V. A. Pavlov und B. G. Krolik.

(Zusammenfassung)

Es wurden auf Haemoglobingehalt und Blutkörperchenzahl (Rote) folgende Arten untersucht: *Cyprinus carpio* L, *Abramis brama* L, *Tinca tinca* L, *Salmo trutta fario* L, *Salmo trutta lacustris* L, *Coregonus lavaretus*, *Lucioperca lucioperca* L und *Lota lota* L.

Der Haemoglobingehalt wurde mit einem Haemometer nach Sahli bestimmt, die Zählung der roten Blutkörperchen geschah anfangs nach Thomas-Zeiss, später nach Bürker.

Von Karpfen wurden alle Altersstufen von Sommerlingen angefangen bis zu den geschlechtsreifen 4—6—8 jährigen Individuen untersucht. Von anderen Arten gelangten nur geschlechtsreife Tiere zur Untersuchung (ausgenommen Bachforellen, von denen nur Dreijährlinge zur Verfügung waren).

Unsere Untersuchungen erlauben uns folgende Schlüsse zu machen:

1) Der Grösse der Erythrozytenoberfläche nach können alle untersuchten Fische in 3 folgende Gruppen geteilt werden:

a. Die kleinste Oberfläche (etwa  $270-280\mu^2$ ) besitzen die Erythrocyten der Cypriniden (Karpfen, Schleie, Brassen, Maräne), der Hechte, des Sanders und der Quappe.

b. Eine mittlere Stellung (Oberfläche von  $375-385\mu^2$ ) nehmen die Salmoniden (gen. *Salmo*) ein und endlich

c. haben Schnapel die grössten Erythrocyten ( $340-450\mu^2$ )

2) Das „Haemoglobinverteilungsgesetz“ von Bürker (1922) trifft nach unseren Beobachtungen für Fische nicht ein. Der Haemoglobingehalt auf  $1\mu^2$  Oberfläche, der bei allen Säugetierarten eine konstante Grösse zu sein scheint (etwa  $30.10^{-14}$  gr) ist nicht nur bei verschiedenen Fischarten, verschieden, sondern ändert sich bei einem und demselben Individuum im Laufe der Jahre.

4. Unsere Erythrocytezählungen fallen im Mittel etwas höher als bei andren Autoren aus. Der Rechnungsfehler, der der Methode (Thomas-Zeiss) inne liegt fällt nach unseren Parallelzählungen, die wir nach der Bürkerschen Methode vornahmen, nicht so gross aus, um alle die hohen Zahlen zu erklären. Es ist anzunehmen, dass bei den untersuchten Fischarten die Erythrocytenzahlen doch grösseren numerischen Schwankungen unterworfen sind, als von anderen Autoren angenommen wurde. Für Seefische geben amerikanische Autoren (Hall und Gray 1929) recht hohe Zahlen an, die nicht nur mit unseren recht gut stimmen, sondern übertreffen sie sogar in einigen Fällen (über 3 Mill.).

5. Der Haemoglobingehalt und Erythrocytenzahl ist bei den Fischen ebenso hohen individuellen Schwankungen ergeben, wie bei anderen Tieren, doch gelingt es gesetzmässige Unterschiede im Blutbilde verschiedener Altersstufen zu finden. So konnten wir bei den von uns untersuchten Karpfen zwei Maxima an Haemoglobingehalt erweisen, die offenbar mit Zeiten intensiver Oxydationsprozesse im engen

Zusammenhang stehen. Das erste Maximum war bei den Sommerlingen zu finden, es fällt offensichtlich mit der Periode des intensiven Wachstums zusammen. Das zweite Maximum entwickelt sich parallel der Geschlechtsreife. In mehreren Fällen (Schnäpel und Sander) konnten wir beobachten, dass ein Nichtauftreten der Geschlechtsreife und ein ausgesprochen niedriger Haemoglobingehalt parallele Erscheinungen waren.

6. Bei den untersuchten Süßwasserarten konnte eine deutliche Korrelation zwischen Haemoglobingehalt und Lebensweise, wie es den amerikanischen Autoren (Hall und Mitarbeiter 1926, 1928, 1929) für Seefische zu erweisen gelang, zurzeit nicht nachgewiesen werden können. So waren z. B. bei aktiven Schwimmern, wie Lachs hohe Haemoglobinwerte (über 70%), bei einem so ausgesprochen trägem Fische, wie der Quappe sehr niedrige (ca 30%) beobachtet worden, doch andererseits war der Gehalt an Blutfarbstoff hoch und teilweise sogar sehr hoch (bis zu über 100% beim Karpfen, auch Brachse (60%) und niedrig (38% im Mittel) beim Sander. Offensichtlich üben die Lebensbedingungen der Binnengewässer, die recht mannigfaltig und unbeständig im Vergleich zur relativen Konstanz der Meere und Ozeane sind einen sehr komplexen und variablen Einfluss auf den physiologischen Zustand der Süßwasserfische aus, so dass die Korrelationsverhältnisse sich bei den Süßwasserarten viel schwieriger gestalten, als bei den Seefischen.

7. Eine Beobachtung von Reichert (1909) dass im Blute von Karpfen Methhaemoglobin auftreten kann, können wir bestätigen. Bei einigen besonders grossen (6—8 jähr.) und vollblütigen Karpfen war das Blut rotbraun gefärbt und zeigte typische Methhaemoglobinkristalle. Die Vermutung Reicherts, dass in solchen Fällen eine Überführung des Haemoglobins in einen inaktiven Zustand als Folge eines Übergehaltes an Haemoglobin stattfindet, ist sehr glaubwürdig. Ob diese Überführung reversibel ist und wie sie zu Stande kommt ist unbekannt.

8. Bei den untersuchten Arten konnte ein deutlicher Einfluss des Geschlechtes auf das Blutbild erwiesen werden. Eine biochemische Geschlechtsdifferenzierung war beim Karpfen schon an Zweisommerlingen zu erkennen.

---

## Исследования по физиологии крови рыб.

### II. О содержании сахара в крови пресноводных рыб.

В. А. ПАВЛОВ.

[Из Бородинской Биологической Станции и лаборатории физиологии рыб Всесоюзного Научно-Исследовательского Института Озерного и Речного Рыбного Хозяйства.]

#### 1. Задачи исследования и литературные данные.

Одним из главных источников энергии животного организма является виноградный сахар — глюкоза. Окисляясь, в конечном счете, до углекислоты и воды сахар освобождает большое количество энергии, которая используется организмом, как тепловая и механическая. Можно считать установленным, что сахар в животном организме может образоваться не только за счет углеводов, принимаемых с пищей, но также из неуглеводов — белков и, вероятно, жиров. Последнее должно иметь место особенно у хищников, не получающих углеводов с пищей.

Впервые Клод Бернар, еще в 1848 г. указал на существование глюкозы в крови животного и человека при нормальных физиологических условиях. Последующими исследованиями многочисленных авторов было доказано, что сахар содержится в крови и соках в состоянии раствора, при чем концентрация его является более или менее постоянной и меняется в нормальных условиях лишь незначительно. Это постоянство уровня кровяного сахара поддерживается активной регуляцией как его содержания, так и потребления. Сахар, потребляемый клетками и тканями немедленно замещается новым, поступающим из печени, путем расщепления гликогена. Эта регуляция осуществляется посредством весьма тонкого нервно-гуморального механизма, нервную часть которого составляют вегетативные центры среднего и продолговатого мозга (Бругш, Дрезель, Леви), а гуморальную — инкреты поджелудочной железы (инсулин) и надпочечников (адреналин). Инсулин, способствуя синтезу гликогена в печени вызывает понижение уровня сахара в крови, а адреналин, наоборот, содействуя распаду гликогена приводит к повышению количества сахара.

Постоянство уровня сахара в крови может нарушаться под влиянием самых разнообразных причин, как экзогенного, так и эндогенного характера, причем чаще наблюдается повышение уровня сахара (гипергликемия), чем понижение (гипогликемия). Гипергликемия наступает очень легко у вполне нормальных животных под влиянием раздражений, исходящих из центральной нервной системы — сильного волнения, испуга и т. п.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> У лабораторных животных — кроликов, собак, кошек, крыс и т. п. при содержании в неволе очень легко наступает гипергликемия, как результат нервной депрессии, т. н. „Fesselungshyperglykämie“ немецких авторов.

Гипергликемия наблюдается после асфиксии, причем и в этом случае по исследованиям Поллака решающее значение имеют исходящие из центра раздражения. Уровень сахара в крови повышается также после сильных кровотечений. Наркоз, соли, многие лекарственные вещества действуют в том же направлении. Но кроме подобных преходящих форм гипергликемии существуют такие, которые связаны с тяжелыми нарушениями физико-химического состояния клеток и тканей и потерей ими способности связывать и окислять сахар крови, в этих случаях происходит резкое увеличение сахара уже не временного характера — диабет или сахарное мочеизнурение.

Литература по вопросу о сахаре крови в настоящее время чрезвычайно обширна, но подавляющая масса работ носит клинический характер и посвящена человеку и немногим лабораторным животным. Более или менее изучены еще млекопитающие и, отчасти, птицы. Что же касается низших позвоночных и, в частности, рыб, то имеются лишь немногие наблюдения над сахаром крови у селажий и морских *Teleostei*. Данных по пресноводным рыбам мы в литературе не нашли.

Диамаре (Diamare 1905, 1906), Диамаре и Монтуори (Diamare e Montuori, 1907) работая со скатами (*Torpedo*) и акулами (*Scyllium* и *Mustelus*) пришли к заключению, что у селажий в нормальном состоянии сахар в крови совершенно отсутствует, но после экстирпации панкреатической железы наблюдается ясная гипергликемия и наличие сахара в почке, Фодар и Ран (Faudard et Ranc, 1914), а также Скотт (Scott 1921), применяя более новую методику определения сахара, пришли по отношению к акулам (*Mustelus*) к иным результатам. Фодар и Ран приводят цифру во 80 мг % для *Mustelus vulgaris*, а Скотт — 0—41 мг % для *Mustelus caniculus*.

Значительные видовые вариации обнаружены также у морских *Teleostei*, хотя различие примененных методов определения сахара затрудняет сравнение результатов. По мнению большинства авторов эти вариации обусловлены экологическими факторами. Так, Маклеод (Macleod, 1926) высказал предположение, что более активные рыбы имеют более высокое содержание сахара, чем пассивные. Грей (Gray, 1929) также указывает на наличие корреляции между активностью и количеством сахара. Наиболее высокие цифры содержания сахара приводятся (Gray и Hall, 1930) для макрелевых и сельдевых рыб прекрасных пловцов, совершающих дальние миграции (у макрелевых среднее содержание сахара около 90 мг %, у сельдевых — 75 мг %). Наиболее низкие — обнаружены у морского чорта (*Lophiu piscatorius*), лежащего часами неподвижно зарывшись в грунт (от 0 до 10 мг %). Наряду с видовыми вариациями авторы указывают также и индивидуальные колебания. Эти колебания некоторые авторы (Menten, 1927) ставят в зависимость от количества пищи, другие (Simpson, 1926, Mc. Cormick and Macleod, 1925, Hall, Gray and Lerkovsky, 1926) полагают, что главное значение имеют явления асфиксии, вызывающие гипергликемию. Впрочем, Холл и Грей (Hall and Gray, 1930) в более поздней работе указывают, что у изученной ими формы т. н. „*menhaden*“ (*Brevoortia tyrannus* Latrobe из сельдевых) корреляции между содержанием сахара и степенью асфиксии не наблюдается. Высокая изменчивость содержания сахара (от 40 до 294 мг %) у этого вида связана, по их мнению, с другими факторами пока неизвестными.

Крюгер (Kügler 1925) в сводке по сравнительной биохимии крови позвоночных животных приводит следующие данные для среднего уровня кровяного сахара в различных классах позвоночных (Табл. I).

Если даже не придавать цифрам, указанным в таблице абсолютного значения и считать их лишь приблизительными (в особенности по отно-

шению к амфибиям и рыбам), то и в этом случае общая тенденция выявляется достаточно отчетливо. Средний уровень — „норма“ — содержания сахара в крови находится в тесной зависимости от общей интенсивности

Таблица I

Класс	Содержание сахара в мг %
Млекопитающие . . . . .	81
жвачные . . . . .	90
не жвачные . . . . .	57
человек . . . . .	80—110
Птицы . . . . .	201
Амфибии . . . . .	65
Рыбы (селахии) . . . . .	50

энергетического обмена. Наиболее высокую цифру мы находим у птиц, с их высокой температурой тела и интенсивными окислительными процессами. Не менее примечательны различия между жвачными и остальными млекопитающими, а также те различия, которые наблюдаются у морских рыб, в связи с различиями в активности.

Таким образом, определение сахара в крови дает, с одной стороны, возможность характеризовать общую интенсивность энергетического обмена, а, с другой, судить о состоянии организма, о степени устойчивости нервной системы по отношению к внешним раздражениям и, наконец, о наличии и характере органических нарушений обмена.

По ходу наших опытов по изучению влияния гормонов и лизатов на половое созревание культурного карпа и судака<sup>1)</sup> мы пришли к необходимости определения кровяного сахара, как одного из возможных критериев при учете гормонального эффекта. В виду обнаружившегося отсутствия каких-либо литературных данных, касающихся содержания сахара в крови пресноводных рыб мы расширили предварительно намеченные рамки работы и придали исследованиям содержания сахара самостоятельное значение. Настоящая работа представляет собой сводку предварительных данных по сахару крови некоторых пресноводных рыб, полученных нами в 1934 году.

## 2. Материал и методика.

Определения сахара нами производились у следующих форм: *Cyprinus carpio* L., *Abramis brama* L., *Salmo trutta*, L., *S. trutta morpha fario* L., *S. trutta morpha lacustris* L., *Coregonus baeri* Kessl., *Lucioperca lucioperca* L и *Lota lota* L.

Все определения производились у половозрелых экземпляров, за исключением карпов, у которых наряду с половозрелыми были использованы также 2-х и 3-х летки. Пробы крови брались на месте: у судака и леща в Н. Свирице, у лососевых, сига и налима на Свирском заводе, у карпов — производителей на Ропшинском заводе, у карпов — 2-х и 3-х леток на живорыбном садке в Ленинграде, а у содержащихся в аквариумах, непосредственно в лаборатории.

Кровь для анализа бралась из жаберного сосуда стеклянной пипеткой

<sup>1)</sup> Опыты ведутся во Всес. Инст. Оз. и Речи. Рыб. Хоз. в Ленинграде.

(см. Павлов, и Кролик 1936) и обрабатывалась на месте одним из следующих способов:

1) 1—2 капли крови (ок. 0.1 г) фиксировались на бумажке, обработанной по Бангу — (Балаховский 1932) предварительно взвешенной в тарированной бюксе. Одновременно брались две параллельные пробы. После фиксации бюкса плотно закрывалась и с возможной быстротой взвешивалась, после чего помещалась в эксиккатор над серной кислотой и в нем сохранялась. Анализ воздушносухих бумажек производился в пределах 10—15 дней после взятия пробы в городской лаборатории. Достоинство этого метода заключается в возможности ограничиться для целей анализа несколькими каплями крови, но весьма серьезным затруднением является необходимость наличия аналитических весов, транспортирование которых в условиях полуполевого работы является весьма обременительным. Сохранение проб крови в течение 10—15 дней при условии сохранения в сухом виде в эксиккаторе заметным образом на результатах анализа, по имеющимся у нас наблюдениям не отражается.

2) Более удобным, но требующим более значительных количеств крови является следующий способ, примененный нами на Свирском заводе. Взятая из сосуда кровь выпускается в небольшую пробирку, смоченную во избежание свертывания 20% раствором щавелевокислого калия. Микропипеткой отмеряется точно 1,0 см<sup>3</sup> крови и выдувается в пробирку, снабженную перетяжкой у верхнего края для запаивания. В пробирку затем приливается 7,0 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и содержимое тщательно перемешивается. В полученной лаковой крови производится осаждение белков вольфрамвокислым натрием и серной кислотой по Фолину (Folin and Wu, 1919, 1920, Асатиани, 1932). После дезальбуминации пробирка запаивается и в таком виде сохраняется. Если имеется в виду только определение сахара, то можно ограничиться 0,5 см<sup>3</sup> крови, уменьшив соответствующим образом дозировку всех реактивов.

Дальнейшая обработка проб и анализы на сахар производились по методу Хагедорна и Иенсена (Hagedorn und Jensen, 1923), с той разницей, что в жидких пробах, обработанных по Фолину осаждение белков гидратом окиси цинка естественно отпадает и обработка начинается с фильтрации. Сухие пробы обрабатывались полностью по Хагедорну-Иенсену.

При оценке результатов определений сахара в крови необходимо иметь в виду, что в крови наряду с глюкозой, составляющей главную массу редуцирующих веществ крови могут содержаться небольшие количества других углеводов, как фруктозы, мальтозы и т. д., а также незначительные количества таких соединений, как мочевая кислота, креатинин, глюкуроновая кислота и т. д., так что определяя „сахар“, мы собственно говоря, определяем всю сумму редуцирующих веществ, содержащихся в крови, среди которых, правда, преобладающее значение имеет глюкоза.

Считаю приятной обязанностью выразить благодарность проф. Л. Т. Соловьеву за ценные методические указания.

### 3. Результаты анализов.

КАРП, шести-восьмилетки, крупные производители. Кровь взята у 5 экз. — 2♂♂ и 3♀♀ в Ропше, в начале лета перед отсадкой в нерестовый пруд. Все экземпляры здоровые и бодрые. Содержание сахара у всех оказалось очень близким и в среднем равным 27 мг %. Влияния пола незаметно. (см. табл. II).

Содержание в садке (на Неве) и голодание в течение зимы мало отра-

Таблица II

№№ по пор.	Название рыбы	Местонахождение	Дата взятия крови	Возраст	Пол	Содержание сахара в мг %
1	Карп зерк.	Ропша	8/VI-34	5 л.	♂	20
2	"	"	9/VI-34	6—8 л.	♂	32
3	"	"	8/VI-34	"	♂	23
4	"	"	8/VI-34	"	♀	32
5	"	"	9/VI-34	"	♀	28

Среднее 27

жается на уровне сахара. На таблице III приведены данные для 3-х леток, живущих в садке на реке:

Таблица III

№№ по пор.	Название рыбы	Местонахождение	Дата взятия крови	Возраст	Пол	Содержание сахара в мг %
1	Карп зерк.	Ленинград.	1/II-35	3-х л.	♂	30,5
2	"	Садок на	1/II-35	"	♀	40,0
3	Карп-сазан	р. Неве	1/II-35	"	♀	35,0
4	"	"	1/II-35	"	♀	37,5
5	"	"	1/II-35	"	♂	37,0

Среднее 36,0

Средняя цифра — 36 мг % несколько выше, чем у летних, таким образом, имеется очень слабо выраженная гипергликемия. Совершенно иная картина получается при анализе крови карпов, перезимовавших в лабораторных условиях — в баках и стеклянных аквариумах — в этом случае обнаруживается ясно выраженная гипергликемия (табл. IV), со средним содержанием — 188,5 мг %.

Таблица IV

№№ по пор.	Название рыбы	Местонахождение	Дата взятия крови	Возраст	Пол	Содержание сахара в мг %
1	Карп зерк.	Ленинград	10/V-34	3-х лет	♀	224
2	"	аквариум	15/V-34	(2-х год)	♀	157
3	"	"	26/V-34	"	♀	124
4	"	"	3/VI-34	"	♀	275
5	"	"	10/V-34	"	♂	193
6	"	"	15/V-34	"	♂	157
7	"	"	26/V-34	"	♂	155
8	"	"	26/V-34	"	♂	196
9	"	"	27/V-34	"	♂	132
10	"	"	3/V-34	"	♂	168
11	"	"	3/V-34	"	♂	292

Среднее 188,5



Таблица VI

№№ по пор.	Название рыбы	Местонахождение	Дата взятия крови	Возраст	Содержание сахара в мг %
1	Сиг свирск.	Свирский	18/XII-34	Поло-	184
2	" "	рыб. завод	18/XII-34	возр.	142
3	" "	" "	18/XII-34	"	320
4	" "	" "	18/XII-34	"	273

Среднее ~ 230

с 23 мг % сахара можно думать, что норма сахара у лососей колеблется приблизительно в тех же пределах, как у карпа, т. е. 20—40 мг %, так что, в данном случае имеется легкая гипергликемия. Совершенно иная картина у сига, со средним содержанием 230 мг %. Какова норма у сига, мы за отсутствием данных пока сказать не можем, но вряд ли можно предположить, что она сильно разнится от карпа и лосося. Гипергликемия у сига, находившегося в условиях садка лишь в течении 10—20 дней выражена более резко, чем у карпа, после 8 месячного пребывания в тесном аквариуме. Общеизвестная слабая выживаемость сига в условиях неволи находит свою материальную основу в неустойчивости нервной и эндокринной регуляции процессов обмена.

В виде дополнения к лососю и сигу интересно привести некоторые данные по налиму, полученные нами тогда-же:

Таблица VII

№№ по пор.	Название рыбы	Местонахождение	Дата взятия крови	Возраст	Пол	Содержание сахара в мг %
1	Налим	Свирский	19/XII-34	Поло-	♂	26
2	"	рыбозавод	19/XII-34	возр.	♂♂	24
3	"	"	19/XII-34	"	♂	44

Среднее ~ 31,5

Содержание сахара не превышает нормы. Для оценки полученных результатов необходимо указать, что налимы были пойманы под льдом, в 4 км. ниже завода на р. Свири и, затем, в мешке, при 12-ти градусном морозе были принесены на завод. В полузамерзшем состоянии, с побелевшими глазами они были помещены в баки; через 20—30 мин. они пришли в нормальное состояние, а через 1 час была взята кровь. Все эти испытания ни в какой мере не отразились на норме сахара.

ЛЕЩ И СУДАК. В июне 1934 г. мы имели возможность исследовать кровь лещей и судаков, в Новой Свирице (устье р. Свири). Привозимые с озера производители отсаживались в садки, расположенные в устье небольшой тихой речки Лисьей. У лещей нерест протекал более или менее удовлетворительно, с судаками же дело не клеилось, наблюдался большой отход, особенно среди самок, икраяников с текущей икрой почти не попадалось, а отсадка никаких результатов не давала. Поставленные нами опыты по стимуляции гормонами полового цикла (гравидан) тоже были безрезультатны.

татны. Анализы крови на сахар дали у лещей следующие результаты (табл. VIII и IX):

Таблица VIII

№№ по пор.	Название рыбы	Местонахождение	Дата взятия крови	Возраст	Пол	Содержание сахара в мг %
1	Лещ	Лисья речка	13/VI-34	Поло- возр.	♂	110
2	"	"	17/VI-34		"	80
3	"	"	20/VI-34		"	190
4	"	"	14/VI-34		"	160
5	"	"	15/VI-34		"	119
6	"	"	15/VI-34		"	40
7	"	"	18/VI-34		"	105

Среднее для ♂♂ 134

Таблица IX

№№ по пор.	Название рыбы	Местонахождение	Дата взятия крови	Возраст	Пол	Содержание сахара в мг %
1	Лещ	Лисья речка	13/VI-34	Поло- возр.	♀	227
2	"	"	17/VI-34		"	58
3	"	"	19/VI-34		"	86
4	"	"	20/VI-34		"	186
5	"	"	14/VI-34		"	161
6	"	"	14/VI-34		"	81
7	"	"	15/VI-34		"	92
8	"	"	18/VI-34		"	127
9	"	"	18/VI-34		"	105
10	"	"	18/VI-34		"	131
11	"	"	18/VI-34		"	145
12	"	"	21/VI-34		"	467

Среднее для ♀♀ 146

Общая картина гипергликемии средней степени, вызванной очевидно, содержанием в тесных садках. Бросаются в глаза довольно резкие индивидуальные различия. Между полами заметных различий нет за исключением № 12 на табл. IX, но эта самка вообще выпадает из общей массы. В то время как большинство лещей, несмотря на длительное пребывание в садках (15—20 дней) находилось в бодром состоянии и плавало вполне нормально, самка № 12 отличалась вялостью и лишь с трудом могла поддерживать свое тело в нормальном положении, перевертываясь часто брюхом кверху. (В тот же день она была случайно упущена из садка и дальнейшая ее судьба осталась для нас неизвестной). Подобное состояние указывает, несомненно, на наличие тяжелого нарушения нормальных отправлений организма. У большинства же подобных явлений не наблюдалось, а была налицо лишь устойчивая гипергликемия, носившая, подобно описанной выше у карпов, характер „Fesselungshyperglykämie“ — гипергликемии, под влиянием нервной депрессии. Устойчивость этой гипергликемии подтверждается повторными определениями сахара у одних и тех-же экземпляров, напр.:

- |                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| 1) ♂ 13/VI—115 мг% | 2) ♂ 14/VI— 74 мг% |
| 14/VI—246 "        | 15/VI—144 "        |
| 15/VI—118 "        | 16/VI—140 "        |
| 3) ♀ 17/VI— 57 мг% | 4) ♀ 13/VI—115 мг% |
| 30/VI—114 "        | 14/VI—228 "        |
|                    | 15/VI—141 "        |

Во всех случаях при вторичном взятии крови обнаруживается значительное увеличение гипергликемии, которая, однако снова падает в дальнейшем, приближаясь к первоначальному повышенному уровню. Можно думать что, известная стабилизация содержания сахара на новом повышенном против нормы уровне свидетельствует об адаптации организма к новым измененным условиям существования.

Судаки, находившиеся в садке являли весьма печальную картину. Уже на 2—3 день после посадки (а у некоторых даже в тот-же день) значительная часть рыб (преимущественно ♀♀) теряло способность сохранять нормальное положение в воде, переворачивались вверх брюхом и в таком виде продолжали плавать довольно оживленно еще в течении 1—2 дней, дыхательные движения уащены. Вскоре к этим признакам начинали присоединяться паралич, распространявшийся от заднего конца к переднему, выражавшийся в потери подвижности сначала хвоста, а затем брюшных плавников. Дольше всего сохраняли подвижность грудные плавники. Затем наступала смерть. Анализы крови на сахар дали следующие результаты (табл. X и XI):

Таблица X

№№	Название рыбы	Место нахождение	Дата взятия крови	Возраст	Пол	Содерж. сахара в мг %	Состояние рыбы
1	Судак	Р. Лисья	13/VI 34 г.	Половозр.	♂	141	Плав. в норм. пол. то же вверх брюхом " " в норм. полож. вверх брюхом в норм. полож. тоже- " "
2	"	"	13/VI 34 г.	"	"	164	
			16/VI 34 г.	"	"	434	
3	"	"	19/VI 34 г.	"	"	335	
			13/VI 34 г.	"	"	89	
4	"	"	15/VI 34 г.	"	"	105	
			16/VI 34 г.	"	"	147	
5	"	"	16/VI 34 г.	"	"	170	
6	"	"	18/VI 34 г.	"	"	132	
7	"	"	19/VI 34 г.	"	"	152	
8	"	"	19/VI 34 г.	"	"	76	

Среднее для ♂♂ 177

У самцов гипергликемия оказалась в среднем несколько выше, чем у лещей, указывая на их более значительную чувствительность. Неспособность сохранять нормальное положение тела в одном случае сопровождалось высокой степенью гипергликемии (№ 2) в другом же случае (№ 3) такой связи не наблюдалось.

У самок, в соответствии с более тяжелым общим состоянием, гипергликемия оказалась на значительно более высоком уровне, чем у самцов, достигая в отдельных случаях величин, наблюдаемых при наиболее тяжелых случаях диабета у человека (400—500 мг %). В одних случаях (№№ 2, 5 и 7) повышение степени гипергликемии сопровождается потерей способности к сохранению нормального положения тела, в других (№ 9) потеря этой способности сопровождается понижением гипергликемии. Повидимому, эти оба симптома могут проявляться в значительной степени независимо друг от друга.

Таблица XI

№ №	Название рыбы	Место нахождения	Дата взятия крови	Возраст	Пол	Содерж. сахара в мг %	Состояние рыбы
1	Судак	Р. Лисья	13/VI 34 г.	Половозр.	♀	347	Плав. в нормальн. пол.
2	}	"	15/VI 34 г.	"	"	310	} вверх брюх.
3			17/VI 34 г.			420	
4	}	"	13/VI 34 г.	"	"	212	} в норм. пол.
5			15/VI 34 г.			156	
6	}	"	15/VI 34 г.	"	"	216	} " "
7			19/VI 34 г.			404	
8	}	"	15/VI 34 г.	"	"	205	} вверх брюх. то же
9			16/VI 34 г.			240	
10	}	"	19/VI 34 г.	"	"	384	} в норм. пол. вверх брюх.
11			19/VI 34 г.			528	
12	}	"	17/VI 34 г.	"	"	235	} в норм. пол. то же
13			19/VI 34 г.			184	

Среднее для ♀♀ 296

Таким образом, из всех исследованных нами форм наименее устойчивым оказался судак. Причем у него, в отличие от всех остальных видов, обнаружилось в этом отношении заметные половые различия. Самки менее устойчивы, чем самцы. Существуют ли эти различия в действительности и на чем они основаны покажут дальнейшие исследования. Судя по характеру симптомов, развивающихся у судака, можно думать, что сущность наблюдаемых явлений заключается в поражении центральной нервной системы и вытекающем отсюда нарушением механизма, регулирующего энергетический обмен. Первопричиной же является нервная депрессия, вызванная помещением в тесный садок, резко ограничивающий возможности передвижения столь подвижной рыбы, как судак. Эта нервная депрессия вызывает первоначальную типичную картину „Fesselungshyperglykämie“, которая в дальнейшем, в результате глубоких нарушений нормальных свойств тканей и клеток, может перейти в тяжелую форму, заканчивающуюся гибелью рыбы.

#### 4. Заключение и выводы.

Уровень сахара в крови пресноводных рыб, по нашим наблюдениям, обнаруживает значительные колебания как видовые, так и индивидуальные. По среднему содержанию сахара все исследованные виды можно разделить на две резко отграниченные группы (см. табл. XII) — на группу с низким содержанием сахара (30—50 мг%), сюда относятся; карп, налим, форель (озерная) и лосось и на группу с высоким содержанием (120 мг% и выше): лещ, судак и сиг. Амплитуда колебаний у первой группы не превышает 20—30%, у второй мы находим очень сильные вариации (амплитуда доходит до 250%).

Хорошее состояние рыб во время взятия крови, малая амплитуда колебаний позволяет нам с большей долей вероятности утверждать, что „нормой“ содержания сахара в крови у первой группы рыб можно считать 30—40 мг%. В составе этой группы мы находим не только малоподвижных рыб, как карп и налим, но также и активные формы, как озерная форель и лосось. Образ жизни у этих форм весьма различен, общим является большая устойчивость по отношению к неблагоприятным условиям.

Таблица XII

Вид	Число ис- след. экз.	Содержание сахара в мг %		
		ми- ним.	максим.	средн.
Карп . . . . .	10	20	40	31,5
Налим . . . . .	3	26	44	31,5
Форель озерн. } Лосось }	8	23	60	51,5
Лещ . . . . .	18	40	227	122
Судак <sup>1)</sup> . . . . .	1 (17)	70	347(528)	186(236)
Сиг . . . . .	4	184	320	230

Совершенно другую картину представляет вторая группа. Очень большая амплитуда колебаний, большой процент вялых и больных рыб указывают на то, что полученные средние цифры для сахара не могут считаться „нормой“, а являются результатом ясно выраженной гипергликемии. Определить „норму“ сахара для этой группы рыб, на основании имеющихся данных, затруднительно, необходимы дальнейшие исследования, но представляется весьма вероятным, что „норма“ у них, вообще, несколько выше, чем у первых. В составе этой группы мы находим очень активных, подвижных рыб — судака и сига отличающихся также большою чувствительностью и неустойчивостью к внешним факторам. Лещ, по своему образу жизни и реакции на внешние условия занимает среднее место.

Корреляция между активностью рыбы и содержанием сахара в крови, указанная авторами (Hall and Gray 1930) для морских рыб, имеет, повидимому, место и у пресноводных форм, хотя отношения нам представляются здесь более сложными (напр. лосось при своей активности имеет норму, лишь немногим превышающую средние цифры для карпа и налима).

Если уровень сахара определяется активностью рыбы и интенсивностью ее обмена, то уклонения от нормы, повышение уровня сахара (гипергликемия) связано с нарушениями механизма, регулирующего подачу сахара в кровь. Степень устойчивости этого нервно-гуморального механизма является, как мы видели, неодинаковой у различных видов. Легкое наступление и сильное развитие гипергликемии наблюдается параллельно с большой чувствительностью и неустойчивостью рыбы. Непосредственной причиной гипергликемии в исследованных нами случаях следует считать нарушение нервного регулирующего механизма под влиянием неблагоприятных внешних условий (теснота помещения, недостаток кислорода, механические травмы, голодание). Это подтверждается тем, что наиболее сильные степени гипергликемии наблюдаются у форм с наиболее дифференцированной центральной нервной системой (сиг, судак). Влияние пищи на уровень сахара мы обнаружить не смогли (Menten, 1927).

На основании полученных нами данных о содержании сахара в крови пресноводных рыб, можно сделать следующие общие выводы:

- 1) В содержании сахара в крови пресноводных рыб наблюдаются значительные индивидуальные и видовые различия.
- 2) Корреляция между активностью рыб и „нормой“ содержания сахара, отмеченная для морских рыб имеет, повидимому, место и у пресноводных, хотя эта связь представляется очень сложной и зависит от многих факторов.
- 3) При наличии неблагоприятных условий: теснота помещения, недоста-

<sup>1)</sup> В скобках указаны цифры у особей, явно ненормальных (плавающих вверх брюхом).

ток кислорода и т. п., наблюдается повышение уровня содержания сахара или т. н. „гипергликемия“ (Fesselungshyperglykämie).

4) Повышение уровня сахара под влиянием неблагоприятных условий, происходит у различных видов рыб не в одинаковой степени. Из исследованных нами форм, наиболее устойчивыми оказались карп и налим, а также лосось (озерная форель); наиболее чувствительными — сиг и судак; лещ занимает среднее положение. Указанные различия в гипергликемии совпадают с различиями в жизнестойкости указанных видов вообще.

5) Непосредственной причиной гипергликемии в исследованных нами случаях следует считать нарушение нервного регуляторного механизма под влиянием депрессии. Это подтверждается тем, что наиболее сильные степени гипергликемии наблюдаются у форм с наиболее высоко дифференцированной нервной системой (сиг, судак).

### Цитированная литература.

1. Асатиани, В. С. — Методика определения редуцирующих веществ крови. — Усп. биол. химии, в. IX, 1932. — 2. Балаховский, С. Д. — Микрoхимический анализ крови, 1932. — 3. Diamare, V. — Zbl. f. Physiol. Wien. XIX, 1905. — 4. Там-же XX, 1906. — 5. — Diamare, V. e A. Montuori. Rend. Accad. Sc. Napoli (3), XIII, 1907. — 6. Faudard et Ranc. CR. Soc. Biol. 76, 1914. — 7. Folin and Wu. Journ. of biol. Chem. 38, 1919; 41, 1920. — 8. Gray, 1929. Цитир. по Gray and Hall, 1930. — 9. Gray and Hall. Biol. Bull. 58, 217, 1930. — 10. Gray, Hall and Lepkovsky. — Journ. of biol. Chem. 67, 549, 1926. — 11. Hagedorn und Jensen. — Bioch. Zft. 135; 137, 1923. — 12. Krüger F. v. und Fr. Schulz. — Das Blut der Wirbeltiere. C. Chemie des Blutes (Krüger) in Winterstein. Handb. d. vergl. Physiologie. Bd. I. Heft I. 1925. — 13. Mc. Cormick and Macleod. Proc. Roy. Soc. London. B. 98, 1925. — 14. Macleod 1926, цитир. по Gray and Hall, 1930. — 15. Menten, 1927. То-же. — 16. Павлов В. А. и Б. Г. Кролик — Тр. Бород. Биол. Ст. IX, в. 1. 1936. — 17. Scott E. L. Amer. Journ. of Physiol. 55, 1921. — 18. Simpson, 1926. Цитир. по Gray and Hall, 1930.

## UEBER BLUTZUCKER BEI SÜSSWASSERTELEOSTIERN.

V. A. Pavlov.

### Zusammenfassung

Auf Blutzuckergehalt wurden folgende Arten untersucht: *Cyprinus carpio* L., *Abramis brama* L., *Salmo trutta* L., *S. trutta fario* L., *S. trutta lacustris* L., *Corelucioperca lucioperca* L. und *Lota lota* L.

Das Blut wurde mittels einer Glaspipette den Kiemenblutgefäßen entnommen. Die Blutentnahme erfolgte bei einigen Fischen mehrmals. Die Zuckerbestimmung *Coregonus baeri* Kessl; erfolgte nach Hagedorn-Jensen.

Die untersuchten Arten lassen sich in Bezug auf das Blutzuckerniveau in 2 Gruppen teilen: 1) mit niedrigem Zuckergehalt (unter 50 mg% im Mittel), hierher gehören, Karpfen, Quappe, Forelle und Lachs und 2) mit hohem Zuckergehalt (über 100 mg%) Zander, Schnapel und Brachse.

Eine Korrelation zwischen Aktivität und Blutzuckerniveau, wie die amerikanischen Autoren (Gray, Hill u. A.) für Seefische festgestellt haben, scheint auch für Süßwasserfische zu gelten, doch sind die Verhältnisse hier nicht so einfach.

So hat der aktive Lachs ein niedriges Niveau, nicht viel höher als der träge Karpfen und Quappe, andererseits hat A. bei Brachsen hohe Zahlen gefunden.

„Fesselungshyperglykämie“ tritt nicht mit gleicher Intensität bei allen untersuchten Arten auf. Am widerstandsfähigsten erwiesen sich *Cyprinus*, *Lota*, sowie auch *Salmo*; bei *Coregonus* und bei *Lucioperca* tritt Hyperglykämie sehr schnell ein und nimmt extremste Formen an; bei *Lucioperca* bis zu über 500 mg %, *Abramis* nimmt eine Mittelstellung ein. Dies steht im guten Einklang mit der Widerstandsfähigkeit der betreffenden Arten im Allgemeinen.

Als unmittelbare Ursache der Hyperglykämie ist in den von uns untersuchten Fällen wohl eine Schädigung des nervösen Regulationsmechanismus des Glykogenauf- und -abbaues infolge eines Depressionszustandes des Zentralnervensystems anzunehmen. Bestätigt wird diese Annahme dadurch, dass die extremsten Fälle der Hyperglykämie gerade bei den Arten auftreten, die ein am höchsten differenziertes Nervensystem besitzen (*Coregonus*, *Lucioperca*).

## Исследования по физиологии крови рыб.

### III. Осмотическое давление крови пресноводных рыб и методы его определения.

Е. А. ВЕСЕЛОВ.

(Из Бородинской Биологической Станции и кафедры общей биологии Ленинградского Государственного Педиатрического Медицинского Института; зав. проф. В. А. Павлов).

Литература по вопросу об осмотическом давлении крови и соков рыб, в особенности наших основных промысловых форм, очень скудна и носит по большей части отрывочный характер. Неизвестны границы колебаний осмотического давления у отдельных видов, не разрешена проблема связи этих колебаний с тем или иным физиологическим состоянием организма, не изучен механизм и пределы осморегуляции у основных промысловых форм.

А между тем, вопрос об осмотическом давлении и его регуляции у рыб имеет большое значение для познания таких основных проблем биологии рыб, как напр. вопрос о возможности перехода из одной среды в другую для одних (проходных) рыб и невозможности такого перехода для других (непроходных). Как показала работа Тарусова (13), с водным обменом, а следовательно, и с осмотическими условиями тесно связан обмен веществ в целом и прежде всего — окислительные процессы. Белковый, жировой и углеводный обмен, так или иначе, стоят в связи с минеральным составом крови, с характером и степенью регуляции ее осмотического давления. Характер этой связи до сих пор неясен. Интересные работы Капланского и Болдыревой (10) пытаются разрешить вопрос о регуляции минерального обмена у рыб при различном минеральном составе воды, однако авторы не касались вопроса о регуляции осмотического давления крови.

Когда мы приступили по предложению проф. В. А. Павлова к изучению явлений осморегуляции у некоторых промысловых рыб (в первую очередь у карповых), перед нами прежде всего встал вопрос о методе определения осмотического давления, позволяющем производить многочисленные наблюдения и требующем незначительных количеств крови.

С целью выбора такого метода, мы произвели экспериментальную проверку нескольких методов, видоизменив некоторые из них, применительно к нашей задаче. В настоящей статье излагаются результаты этой работы, вместе с некоторыми полученными нами предварительными данными по осмотическому давлению крови пресноводных рыб.

Считаю долгом выразить признательность проф. В. А. Павлову, оказавшему всемерное содействие работе предоставлением места в лаборатории и повседневным руководством.

## Методика.

Из существующих методов определения осмотического давления, пригодных для биологических целей и позволяющих работать с минимальным количеством испытуемой жидкости, следует отметить методы: Гамбургер-Гедина (Hamburger und Hedin), Гуге-Богдана (Guge und Bogdan), Друккер-Шрейнера (Drucker und Schreiner) и Барджер-Раста (Barger und Rast).

В методе Гамбургер-Гедина (8) в качестве осмометра служит некоторое количество эритроцитов. Одинаковые количества эритроцитов, при центрифугировании их в изотоничных друг другу растворах, изменяют свой объем на одинаковую величину. Поэтому концентрацию испытуемой жидкости можно найти путем сравнения: она будет равна концентрации того раствора  $NaCl$ , в котором при центрифугировании произойдет изменение объема эритроцитов на такую-же величину, как и в испытуемой жидкости.

Но, оказывается, как это доказал Гамбургер, прибавление к испытуемой жидкости таких легко проникающих в клетку веществ, как мочевины — не изменяет результата, т. е. повышение осмотического давления в этом случае, не улавливается. Поэтому для точного определения осмотического давления крови рыб, где мочевины может встречаться в значительном количестве, этот метод непригоден. Кроме того он неудобен для массовых определений, т. к. каждое определение занимает до 3-х часов.

Метод Гуге-Богдан, модифицированный Бурианом и Друккером (3) представляет специальную форму Бекмановского криоскопического метода, приспособленного к малым количествам испытуемой жидкости. Он требует все-же не менее  $1-1\frac{1}{2}$  см.<sup>3</sup> жидкости. При работе с мелкой рыбой — это черезчур большое количество, почему этот довольно точный и удобный метод — для нас тоже не пригоден.

Нам пришлось остановиться на тензиметрическом методе Барджер-Раста и микрокриоскопическом методе Друккер-Шрейнера. Для приближенных определений использован гемолитический метод.

### Взятие крови и предварительная обработка.

Кровь берется при помощи стеклянной канюли с тонко оттянутым концом или прямо из сердца, через соответствующий разрез стенки грудной полости, или, если необходимо оставить рыбу живой, из жаберного сосуда. В обоих случаях следует тщательно следить, чтобы к пробе не примешивалась вода. Для этого следует подсушить место предполагаемого укола фильтровальной бумагой или гигроскопической ватой.



Для тензиметрического и микрокриоскопических методов вполне достаточно  $0,25$  см.<sup>3</sup> крови. Однако, если рыба крупная и есть возможность получить больший объем — лучше брать больше, это уменьшает ошибку от возможной примеси воды и от неизбежного при взятии и при последую-

ших подготовительных операциях некоторого сгущения крови от испарения. В большинстве случаев производится определение осмотической концентрации не цельной крови, а плазмы. Для центрифугирования удобно пользоваться кусочками стеклянной трубки диаметром 0,4—0,5 см. запаянными с одного конца, так что получается подобие пробирочек емкостью 1—1,1/2 см.<sup>3</sup>.

Взятие крови, перелевание ее в пробирочки, помещение в центрифугу — все нужно делать с возможной быстротой, иначе кровь очень быстро свертывается. Такие предосторожности, как парафинирование стенок пробирочек и канюль для взятия крови, как показал опыт, мало помогают.

Когда кровь перелита в пробирочку, ее следует плотно закрыть пробкой, чтобы предохранить от испарения. Пробирочки можно поместить в стаканчик центрифуги, укрепленными на корковой или каучуковой пробке.

Центрифугирование, при пользовании электрической центрифугой в 3—4 тысячи оборотов в минуту, занимает 15—20 минут.

§

### Гемолитический метод.

Приближенное представление об осмотической концентрации крови можно составить, наблюдая за гемолизом крови в растворах *NaCl*.

Небольшое количество исследуемой крови (следы ее на кончике стеклянной палочки) вносят в капли растворов различной концентрации, помещенные на предметном стекле, затем тотчас-же изучается под микроскопом состояние эритроцитов. Приводим пример такого определения (взята кровь карпа).

#### Растворы *NaCl*

0,01 <i>mol</i>	— гемолиз.
0,05 „	„
0,08 „	смазчивание эритроцитов, деформация характерная для гипертонии.
0,12 „	То же.

В этом примере концентрация раствора *NaCl*, изотонического крови исследуемого карпа, лежит где-то между 0,05 и 0,08 т. Следовательно осмотическое давление в данном случае — между 2,4 и 3,5 атм.

Точность метода не превышает 0,5—1,0 атм. и зависит в значительной мере от осмотической устойчивости эритроцитов. Если резистентность эритроцитов велика, то гемолиз не происходит и в довольно гипотоничных, по отношению, к плазме крови, растворах, в этом случае и точность метода уменьшается. Описанным способом можно производить только грубые определения, чтобы установить порядок величин.

### Метод Барджер-Раста

Предложенный Барджером (1) и дополненный Растом (11) микрометод основан на доказанном Вант-Гоффом положении о том, что понижение упругости пара растворителя пропорционально осмотическому давлению раствора.

В капиллярную трубку (1,5—2,0 мм. диаметром) вносят каплю исследуемой жидкости и каплю раствора *NaCl* с известной концентрацией. Обе капли должны быть отделены друг от друга пузырьком воздуха. Капил-

ляр запаивают с обоих концов и следят под микроскопом, при помощи окуляр-микрометра, за изменением длины столбиков обеих жидкостей. На поверхности капли с меньшим осмотическим давлением вода будет испаряться, осаждаясь на капле с большим осмотическим давлением. Делают серию таких капилляров с одной и той-же испытуемой жидкостью, но с растворами  $NaCl$  различной концентрации. В капилляре, где в течение нескольких дней не произойдет изменения длины столбиков, очевидно, раствор  $NaCl$  будет изотоничен с испытуемой жидкостью.

Метод применен для биологических целей впервые Халькет (Miss Halket \*) (5).

При определении осмотического давления клеточного сока *Salicornia ramosissima* Халькет нашла, что метод Барджера позволяет улавливать колебания концентрации до 0,01 м, (в переводе на осмотическое давление около 0,5 атм.). Барджер и Раст дают подробное описание технических деталей метода касающихся способа наполнения капилляров, измерения длины столбика и т. д. Мы не будем описывать эти детали, многие из них мы изменили и упростили. Приступаем прямо к описанию выработанной нами и проверенной на практике модификации метода.

КАПИЛЛЯРЫ можно вытягивать самому из обычной стеклянной трубки, на огне спиртовки или бензиновой горелки. Длина капилляра 7—8 см., просвет около 0,4—0,5 мм.

НАПОЛНЕНИЕ КАПИЛЛЯРОВ. В один из концов капилляра следует набрать 1—1½ см. столбик раствора  $NaCl$  известной концентрации. Затем этот конец нужно осторожно запаять на спиртовке так, чтобы не нагреть помещенный в капилляр раствор  $NaCl$ . Теперь, с теми-же предосторожностями, т. е. избегая перегревания, надо подогреть середину капилляра и другим его концом быстро набрать: а) столбик испытуемой плазмы крови, длиной 1½—2 мм., б) 3—4 мм. столбик воздуха, в) второй столбик того-же раствора  $NaCl$ , г) столбик воздуха не менее 1 см. Затем следует запаять и второй конец капилляра.

Подобным образом необходимо приготовить серию капилляров с одной и той-же плазмой, но с растворами  $NaCl$  различной концентрации. Из предосторожности следует делать по паре капилляров с одинаковыми растворами  $NaCl$ .

Для удобства измерения и хранения капилляры приклеиваются воском к предметным стеклам, по несколько штук на каждом.

ИЗМЕРЕНИЕ. Сразу-же, как капилляры готовы, следует измерить под микроскопом, с помощью окуляр-микрометра длину столбиков плазмы.

Дней через 5—6 следует повторить измерение.

Если плазма гипертонична по отношению к взятому для сравнения раствору  $NaCl$ , то столбик удлинится, если гипотонична — станет короче. Пузырек воздуха, разделяющий оба столбика, играет роль полупроницаемой мембраны. Изотония будет в том капилляре, где не обнаруживается никаких изменений в длине столбика плазмы.

КОНТРОЛЬНЫЕ ОПЫТЫ. Нами проделан ряд опытов для проверки предложенного метода. Вместо плазмы я брал тоже раствор  $NaCl$ , с заранее известной концентрацией. В результате выяснилось что метод хорошо улавливает разницу концентраций до 0,013 м., что соответствует приблизительно 0,4—0,5 атм.

Приводим для примера два опыта.

В качестве „испытуемой жидкости“ взят 0,0875 м. раствор  $NaCl$ . В

\*) Цитир. по Расту (12)

графе „изменения столбика“—указано изменение длины столбика этого раствора, через 11 дней после начала опыта, в делениях окулярмикрометра.

Сравниваемые растворы <i>NaCl</i>	Изменения столбика.
0,0750 м.	+ 30,0
<b>0,0875</b> „	— <b>0,5</b>
0,1125 „	— 6,0

В капилляре с раствором *NaCl* гипотоничным по отношению к испытуемому раствору, столбик последнего удлинился, в капиллярах с гипертоническим раствором — дал укорочение, с изотоничным — остался почти без изменений. Небольшие изменения, правда наблюдаются и здесь, но оно незначительно и может быть отнесено за счет тех неточностей метода, о которых будет сказано ниже.

Приводим один из опытов с плазмой крови лия.

Сравниваемые растворы <i>NaCl</i>	Изменение столбика плазмы (через 11 дней).
0,0750 м.	+ 3,0
<b>0,0875</b> „	— <b>0,5</b>
0,0920 „	— 1,5
0,1125 „	— 3,0

Здесь осмотическая концентрация плазмы близка к осмотической концентрации 0,0875 м. раствора *NaCl*.

В обоих примерах указывается изменение столбика испытуемой жидкости через одиннадцать дней после начала опыта. Окончательное равновесие, после которого длина столбиков остается неизменной, наступает, обычно, еще позже — через 13—15 дней после начала опыта. Нет надобности ждать такой долгий срок, второе измерение можно производить уже на 4—5 день. Равновесие к этому времени не наступает, но тенденция столбика укорачиваться, удлиняться или оставаться без изменения — вполне выявляется.

**ПОГРЕШНОСТИ МЕТОДА.** Могут быть следующие причины ошибок: 1) неровный просвет капилляра, так что при небольшом перемещении столбика изменяется и его длина. 2) неаккуратное наполнение капилляров. При неосторожном нагревании капилляра испытуемая жидкость и сравниваемые растворы могут изменить свою концентрацию.

Главное достоинство метода — техническая простота. После небольшой практики на наполнение каждого капилляра и измерение жидкости в нем (включая измерение в конце опыта) требуется в среднем не более 2½ минуты. В моих опытах с кровью карпов приходилось применять растворы семи концентраций (от 0,07 до 0,15 м.). Ради предосторожности я готовил с каждым раствором по два капилляра, каждое определение требовало не менее 14 капилляров и занимало в общей сложности около 35—40 минут.

#### Микрокриоскопический метод.

Взятый нами в основу микрокриоскопический метод предложен в 1913 г. Друккером и Шрейнером (5). Биологическое применение он нашел впервые в работе Фриче (Fritzsche 1917; см. 7) изучавшего осмотическое давление соков у дафний, этим методом пользовался Светлов (13).

**ПРИНЦИПЫ МЕТОДА.** Небольшое количество испытуемой жидкости (около 1 мм<sup>3</sup>) помещается в запаянный с одного конца длинный капилляр. Пробу замораживают, прикрепляют к шарикку Бекмановского термометра

и погружают в охлажденную глицериновую ванну. При исчезновении в пробе последнего кристаллика льда отмечают показания термометра. Оно соответствует точке таяния пробы.

**КОНСТРУКЦИЯ ПРИБОРА.** Берется два стеклянных сосуда, вложенных один в другой, с промежутком между ними, заткнутым в верхней своей части ватой. Размер внутреннего сосуда  $10 \times 20$  см. Он наполняется 20% водным раствором глицерина. Вдоль стенок сосуда проходит изогнутая спирально трубка диаметром около 10—11 мм. Оба конца этого змеевика выведены наружу и соединены каучуковыми трубками: один — с укрепленной на штативе воронкой, другой — с какой-либо стеклянной банкой. Через змеевик пропускается охлаждающая смесь (снег с кухонной солью) до тех пор, пока раствор глицерина не охладится на  $1-1\frac{1}{2}^{\circ}$  ниже предполагаемой точки таяния исследуемой жидкости.

После этого в раствор погружают нижнюю часть термометра Бекмана с прикрепленным к нему капилляром с испытуемой жидкостью. Для того, чтобы постепенное отогревание глицериновой среды происходило возможно равномернее, к прибору прикрепляется мешалка, работающая от водяной турбинки или электрического мотора.

После испытания сконструированного по Друккер-Шрейнеру прибора мы нашли, что он обладает некоторыми недостатками. Очень много хлопот доставляет охлаждение глицериновой ванны, непродуктивно расходуется охлаждательная смесь. Это вызывает много затруднений при работе летом, когда охлаждение достигается с большим трудом. Все это затрудняет пользование прибором, делать массовые определения невозможно. Мы решили сохраняя принцип метода Друккер-Шрейнера переработать конструкцию прибора.

В приборе нашей конструкции охлаждение среды производится не в самом криоскопе, а отдельно, в особом холодильнике, чем достигается значительная экономия и времени и охлаждающей смеси. Прибор состоит, таким образом, из двух частей холодильника и микрокриоскопа.

**МИКРОКРИОСКОП.** Устройство микрокриоскопа хорошо видно из чертежа. (стр. 49)\*). Он состоит из двух стеклянных цилиндрических сосудов. Наружный сосуд — диаметром около 12 см., высотой около 21 см. Внутренний сосуд вставлен в наружный, так что нигде непосредственно с наружным не соприкасается (его дно укреплено на корковых пробках), в целях лучшей нетеплопроводности. Внутренний сосуд соединен стеклянной и каучуковыми трубками с холодильником, откуда подается охлажденная жидкая среда.

В центре деревянной крышки прибора укреплен термометр Бекмана. Сбоку имеется обыкновенный химический термометр.

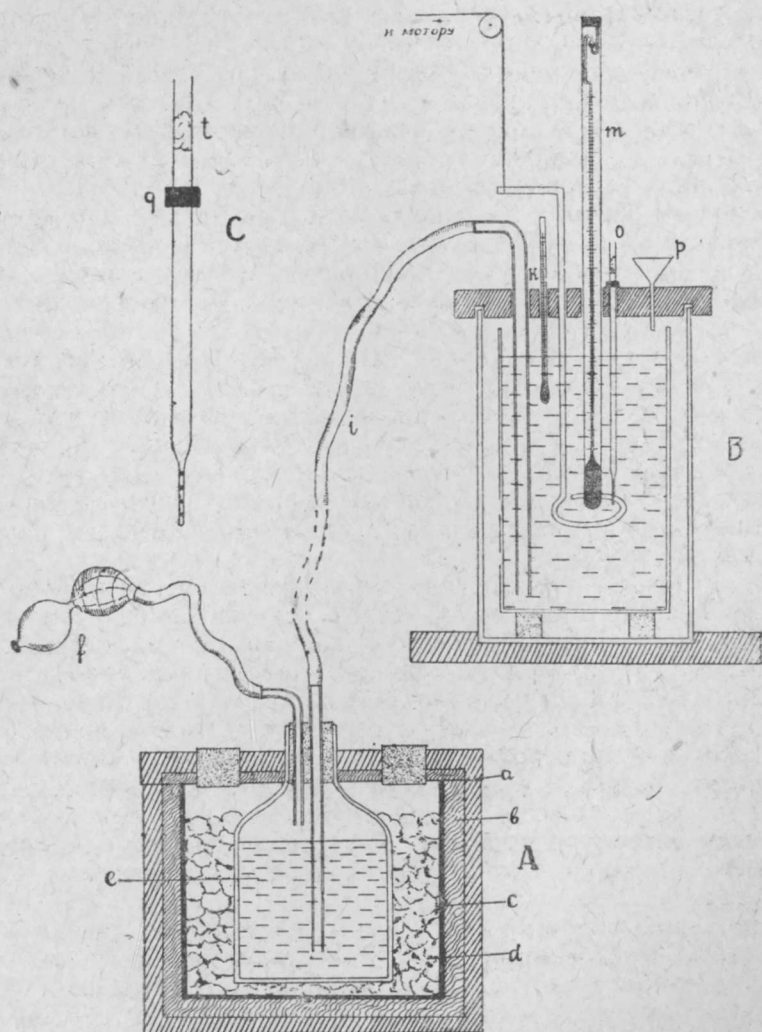
Рядом с термометром Бекмана находится кольцеобразная мешалка, сделанная из стеклянной или эбонитовой палочки. Она соединена с шкивом, вращающимся от электрического мотора. При работе мотора мешалка ритмически двигается вверх и вниз. Скорость ее движения можно регулировать реостатом.

В крышке прибора сделано пять сквозных отверстий, расположенных полукругом от термометра Бекмана, для помещения проб испытуемых жидкостей. Отверстия должны быть возможно ближе к термометру Бекмана, чтобы капилляры приходили в соприкосновение с шариком термометра.

Кроме термометра Бекмана, химического термометра, капилляров с пробками и мешалки в крышке укреплена стеклянная воронка, на случай необходимости разбавить переохлажденную жидкую среду — такой же жидкостью комнатной температуры.

\*) Чертежи выполнены Н. М. Яновской.

В процессе работы с прибором стенки внутреннего сосуда отпотевают, затрудняя наблюдение за пробями. Поэтому у самого края крышки сделана полулунная вырезка (она на чертеже не изображена) длиной, 4—5 см, шириной около 1 см. Через вырезку обращенные друг к другу стенки наружного и внутреннего сосудов можно протирать кусочком тряпочки намотанной на проволоку.



Установка для микрокриоскопии.

**А. Холодильник.** а—деревянный ящик, б—войлочная прокладка; с—цинковый ящик; д—охладительная смесь; е—жидкая среда для микрокриоскопа.

**Б. Микрокриоскоп.** и—каучуковая трубка; к—термометр для грубого определения температуры жидкой среды; м—термометр Бекмана; о—стеклянная трубка с пробой испытуемой жидкости (для ясности чертежа трубка изображена несколько в стороне от термометра Бекмана. На самом деле капиллярная часть трубки должна соприкасаться с шариком термометра). р—воронка для наливания жидкой среды.

**С. Стеклоная трубка с капиллярно-оттянутым концом, с пробой испытуемой плазмы крови.** т—вата, г—резиновое кольцо для укрепления трубки на крышке микрокриоскопа.

**ХОЛОДИЛЬНИК.** Служит для предварительного охлаждения жидкой среды. Состоит из деревянного наружного ящика, внутреннего металлического ящика и 2 литровой стеклянной банки.

Деревянный ящик с толстыми стенками и плотно прикрывающейся крышкой имеет размеры приблизительно  $32 \times 22 \times 26$  см. В крышке ящика есть два отверстия диаметром около 6 см закрывающиеся пробками и в середине крышки третье — для горлышка стеклянной банки.

Дно, стенки, и крышка ящика обиты изнутри двойным слоем войлока для лучшей нетеплопроводности.

Внутри деревянного ящика вставлен плотно прилегающий к его войлочной обивке цинковый ящик (без крышки).

Стеклянная банка помещается в цинковой ящик, так что ее горлышко через отверстие в крышке холодильника выходит наружу. Она наполнена жидкой средой для микрокриоскопа. В пробке банки — две стеклянные трубки, одна соединена с резиновой грушей для накачивания воздуха, другая — доходит до самого дна банки, а верхним концом посредством снабженной зажимом каучуковой трубки сообщается с микрокриоскопом. При накачивании воздуха в банку жидкая среда переходит из банки в микрокриоскоп.

Перед началом работы цинковый ящик наполняется охлаждающей смесью (снег или толченый лед с кухонной солью).

**ЖИДКАЯ СРЕДА.** Вначале мы употребляли рекомендованный Д р у к к е р - Ш р е й н е р о м 20% водный раствор глицерина. Однако, уже при небольшом переохлаждении среды в холодильнике, часть растворителя вымерзает, что создает неудобство в работе. Я стал применять вместо глицеринового раствора 50% раствор  $CaCl_2$ . Он обладает большими преимуществами: во первых вода из него не вымерзает даже при значительном переохлаждении, во вторых он согревается в микрокриоскопе медленнее чем глицериновый раствор, это повышает точность определений.

**КАПИЛЛЯРЫ** для проб делаются из кусочков тонкостенной стеклянной трубки длиной 18—22 см, диаметром 0,3—0,5 см. Достаточно оттянуть, как это показано на чертеже, до диаметра 0,8—1,0 мм. на длину 4—8 см. только один из концов трубки.

Лучше заранее приготовить запас таких трубок. Чтобы при хранении они не засорились, широкий конец следует заткнуть ватой, а капиллярный — запаять.

**НАПОЛНЕНИЕ КАПИЛЛЯРОВ.** Отломив запаянный кончик, нужно набрать в капилляр из пробирочки, в которой центрифугировалась кровь, столбик плазмы, длиной 0,5—1,0 см. Затем, держа трубку капилляра концом вверх, необходимо встряхнуть ее, так, чтобы столбик жидкости разбился на отдельные мелкие столбики, длиной по 1,0—1,5 мм. Отогнав потряхиванием эти столбики к середине капиллярной части трубочки, кончик капилляра следует осторожно снова запаять на спиртовке, стараясь не нагреть пробу.

**ЗАМОРАЖИВАНИЕ ПРОБ.** Большая фарфоровая ступка наполняется наполовину снегом или мелкими кусочками льда. Снег, или лед, нужно обильно посыпать мелкой поваренной солью, а затем растирать смесь до образования жидкой кашицы. Эта кашица будет иметь температуру в  $-19$ — $-21^\circ C$ . Достаточно погрузить в нее капиллярные концы трубок на несколько секунд, чтобы запаянные в них столбики жидкости замерзли.

**ХОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ.** Перед началом работы нужно наполнить криостат охлаждающей смесью. Охлаждение жидкой среды до нужной температуры требует обычно 12—20 минут. Пока идет охлаждение можно взять кровь от подопытных рыб, отцентрифугировать ее, приготовить капилляры с пробками.

Затем надо накачать из криостата в криоскоп достаточное количество охлажденной жидкой среды (не менее  $\frac{3}{4}$  объема внутреннего сосуда). Температура среды должна быть  $1\frac{1}{2}$ — $2^\circ\text{C}$  ниже предполагаемой точки таяния пробы.

Если раствор  $\text{CaCl}_2$  недостаточно охладился, надо спустить его обратно в холодильный бак (открыв зажим каучуковой трубки соединяющей микрокриоскоп с холодильником) и подождать еще некоторое время, пока он достаточно охладится. Если, наоборот раствор слишком охлажден, надо его разбавить с помощью имеющейся на крышке криоскопа воронки, таким же раствором, но имеющим комнатную температуру.

Когда температура отрегулирована следует заморозить пробы и вставить трубки в предназначенные для них отверстия в крышке криоскопа.

При некотором навыке можно одновременно делать сразу пять определений.

Тотчас, как закончены все приготовления к установке капилляра с пробой, надо пустить в ход мешалку. Помешивание надо производить возможно медленнее. Дальнейшая задача состоит в наблюдении за таянием столбиков испытуемых жидкостей. В каждом капилляре несколько столбиков жидкости. Наблюдения нужно вести за одним из них, лучше за самым маленьким. Как увидим ниже, размеры столбика влияют на точность определения. Намеченный для наблюдения столбик жидкости должен быть обязательно на уровне середины ртутного шарика термометра Бекмана.

Для удобства наблюдения позади криоскопа надо поставить сильную электрическую лампу с рефлектором. Во избежание нагревания жидкой среды от лампы, между лампой и криоскопом можно поставить какой-нибудь прямоугольный сосуд с водой, оклеенный с одной стороны пергаментом, для рассеивания и смягчения света.

При наблюдении за таянием удобно пользоваться ручной лупой. Задача наблюдения состоит в том, чтобы по термометру Бекмана отметить температуру жидкой среды в момент исчезновения в столбике пробы последнего кристаллика льда. Этот момент соответствует криоскопической точке испытуемой жидкости. Отсчет делается с точностью до тысячных долей градуса. Определение криоскопической точки пяти проб занимает обычно от 30 до 45 минут.

**ТОЧНОСТЬ МЕТОДА.** Основные возможные причины ошибок: 1) изменение концентрации при взятии пробы, усыхание пробы при излишнем затягивании приготовительных операций (центрифугирование крови, наполнение капилляров), изменения при неосторожном запаивании капилляров с пробой, 2) слишком толстые стенки капилляров и потому—плохая их теплопроводность, 3) неправильное положение столбика испытуемой жидкости по отношению к термометру. Опыты показали, что расположение столбика пробы сантиметра на  $1\frac{1}{2}$  выше или ниже середины шарика термометра Бекмана дает ошибку до  $0,25^\circ\text{C}$  и 4) неточность наблюдения: неточно уловленный момент исчезновения последнего кристаллика льда в пробе, неточный отсчет-термометра.

Большое влияние на точность определения имеет объем пробы, на это указывали еще Друккер и Шрейнер (5) рекомендовавшие брать настолько минимальные количества жидкости, насколько позволяет возможность наблюдения.

Мы проделали несколько опытов с различной длины столбиками жидкости. Истинная депрессия жидкостей определялась предварительно макрокриоскопическим методом Бекмана, потом депрессия той же жидкости определялась микрокриоскопическим путем.

Столбики длиной по 5 мм.

Табл. I

	Раствор	$\Delta$ по Бекману	Микрокриоскопия		Ошибка
			Начало таяния	Конец таяния	
I	$CuSO_4$	$-0.232^\circ$	$-0.758^\circ$	$+0.200^\circ$	$0.432^\circ$
II	"	$-0.378^\circ$	$-2.100^\circ$	$+0.300^\circ$	$0.678^\circ$
III	Глюкоза	$-1.178^\circ$	$-1.528^\circ$	$-0.898^\circ$	$0.280^\circ$

При уменьшении длины столбика жидкости ошибка значительно уменьшается.

Столбики длиной 3 мм. (Раствор  $CuSO_4$ ).

Табл. II

$\Delta$ по Бекману	Микрокриоскопия		Ошибка
	Начало таяния	Конец таяния	
$-0.558^\circ$	$-0.588^\circ$	$-0.440^\circ$	$0.118^\circ$

Дальнейшее уменьшение объема столбика сводит ошибку до минимальных размеров.

Столбики длиной до 1 мм.  
(плазма бычьей крови).

Табл. III

	$\Delta$ по Бекману	Микрокриоскопия		Ошибка
		Начало таяния	Конец таяния	
I	$-0.478^\circ$	$-0.848^\circ$	$-0.458^\circ$	$0.020^\circ$
II	$-0.478^\circ$	$-0.847^\circ$	$-0.455^\circ$	$0.023^\circ$

Следовательно объем столбика должен быть не больше  $1 \text{ мм}^3$ , его длина не должна превышать диаметра капилляра.

Несколько определений  $0,25 \text{ м}$  раствора  $NaCl$  при соблюдении всех перечисленных условий, дали в микрокриоскопе среднюю  $\Delta 0,910^\circ$  ( $10,98 \text{ атм.}$ ). В аппарате Бекмана  $\Delta$  этого же раствора  $= 0,930^\circ$  ( $11,20 \text{ атм.}$ ). Точность метода, повидимому, около  $0,02^\circ$  (прибл.  $0,3 \text{ атм.}$ ).

Хранение проб крови.

Опыты показали, что пробы крови можно некоторое время сохранять на холоду так, что депрессия плазмы не меняется (Табл. IV и V).

Для хранения крови надо запаивать пробы в ампулки объемом около  $1\frac{1}{2} \text{ см}^3$ , оттянутые из кусочков стеклянной трубки. Центрифугировать кровь можно прямо в ампулах.

Только в одном случае (Табл. IV, № 3) разница несколько превышает обычную погрешность метода.

Депрессия плазмы крови карпа <sup>1)</sup>

Табл. IV

№№	Тотчас по взятии крови	Через сутки	Разница
1	0.287°	0.292°	+ 0.005°
2	0.232°	0.252°	+ 0.020°
3	0.319°	0.232°	- 0.087°
4	0.252°	0.250°	- 0.002°

Депрессия плазмы крови карпа <sup>2)</sup>.

Табл. V

№№	Тотчас по взятии крови	Через двое суток	Разница
1	0.319°	0.330°	+ 0.011
2	0.252°	0.262°	+ 0.010

Можно было ожидать, что через некоторое время после взятия крови ее осмотическое давление изменится в ту или другую сторону, вследствие связывания или, наоборот, освобождения осмотически активных веществ при посмертных процессах. Очевидно, в пределах изученных сроков, на ходу, этого не происходит или изменения практически неощутимы. Это обстоятельство расширяет возможности получения материала, позволяет брать кровь на далеко отстоящих от лаборатории промыслах, хранить и перевозить ее в ампулах.

**Результаты определений осмотического давления крови у пресноводных рыб.**

Исследовано, в течение зимы 1934/35 г. (ноябрь—февраль) 74 экз., относящиеся к шести видам (каarp, линь, форель, сиг, налим, лосось), Главное внимание уделено карпу (51 экз.) и линю (12 экз.).

Кровь бралась из жаберных сосудов (если прямо из сердца — то это особо оговорено), с помощью стеклянной канюли.

У рыб из реки Свири и из садка на Неве определения делались через 1—2 дня после взятия пробы, т. к. не было возможности сделать их тотчас-же, как это делалось с кровью рыб из аквариума лаборатории.

Осмотическое давление определялось не по цельной крови, а по плазме, описанным нами выше микрোকриоскопическим методом.

КАРП. *Cyprinus carpio* L. Сеголетки зеркального карпа (16 экз. L. от 7 до 10 см; таб. VI). Доставлены в лабораторию из Ропшинского прудового хозяйства. Перед исследованием около 2-х месяцев жили в аквариумах. За исключением № 1 кровь у всех рыб взята из сердца.

Δ колеблется от 0,292 до 0,692° (3,5—8,4 атм.). Средняя равняется 0,537° (6,5 атм.).

Карпы сеголетки

Табл. VI

№№	Δ	P	№№	Δ	P
1	0,668°	8,0 атм.	9	0,692°	8,4 атм.
2	0,600°	7,2 "	10	0,391°	4,7 "
3	0,580°	7,0 "	11	0,390°	4,7 "
4	0,630°	7,6 "	12	0,292°	3,5 "
5	0,620°	7,5 "	13	0,300°	3,6 "
6	0,560°	6,8 "	14	0,322°	3,9 "
7	0,530°	6,4 "	15	0,610°	7,4 "
8	0,525°	6,3 "	16	0,580°	7,0 "

1) Длина всего тела (L) от 18 до 25 см.

2) L = 18 см.

Двух — трехлетние зеркальные карпы (26 экз. L. 18—39 см; табл. VII).  
Колебания  $\Delta$  от 0,122 до 0,610° (1,5—7,4 атм.). Средняя  $\Delta = 0,305^\circ$   
(3,7 атм.).

Табл. VII

№№	L	Пол	$\Delta$	P
1	25 см		0,287°	3,5 атм.
2	20 "		0,232°	2,8 "
3	18 "		0,319°	3,8 "
4	18 "		0,252°	3,0 "
5			0,157°	1,9 "
6			0,437°	5,3 "
7	от 18 до 23 см		0,220°	2,7 "
8			0,412°	5,0 "
9			0,322°	3,9 "
10			0,375°	4,5 "
11	от 18 до 20 см		0,460°	5,6 "
12			0,122°	1,5 "
13			0,400°	4,8 "
14	38		0,325°	3,9 "
15	39 ок.		0,310°	3,7 "
16	34 "		0,285°	3,4 "
17	35 "		0,260°	3,1 "
18	32 "		0,315°	3,8 "
19	30 "		0,280°	3,4 "
20	35 "		0,275°	3,3 "
21	25 "		0,190°	2,3 "
22	24 "		0,360°	4,3 "
23	25 "		0,360°	4,3 "
24	23 "		0,610°	7,4 "
25	25 "		0,142°	1,8 "
26	25 "		0,232°	2,8 "

Карпы за №№ 14—20 взяты из садка Севрыбсбыта на Неве. Бросается в глаза, что у них осмотическая константа колеблется в значительно меньших пределах, чем у карпов, содержавшихся несколько месяцев в аквариумах лаборатории (№№ 1—13 и 21—26), хотя средние величины в обоих случаях очень близки друг к другу.

Сравнение осмотического давления крови карпов из аквариума и из садка на Неве

Табл. VIII

	Аквариум (19 рыб)	Нева (7 рыб)
Колебания $\Delta$ . . . . .	0,122—0,610°	0,260—0,325°
Колебания P . . . . .	1,5—7,4 атм.	3,1—3,9
Средняя $\Delta$ . . . . .	0,300°	0,293°
Среднее P . . . . .	3,6 атм.	3,5 атм.

Пол определен только у 15 рыб, в остальных случаях вскрытие не производилось, т. к. нужно было сохранить рыбу живой.

Никакой разницы в средней криоскопической точке крови у самцов и самок карпа не обнаружено (см. табл. IX).

Сравнение осмотического давления  
крови самцов и самок карпа

Табл. IX

	♂♂ (7 экз.)	♀♀ (8 экз.)
Колебания $\Delta$ . . . . .	0,122—0,610	0,142—0,460°
Колебания P . . . . .	1,5—7,4	1,8—5,6
Средняя $\Delta$ . . . . .	0,301°	0,297°
Среднее P . . . . .	3,63 атм.	3,58 атм.

Топорованский карп (4 экз. сеголетки L = 17—20 см). Колебания  $\Delta$  от 0,252 до 0,330° (3,0—4,0 атм.). Средняя  $\Delta$  = 0,283° (3,4 атм.).

Топорованский карп

Табл. XI

№№	$\Delta$	P
1	0,255°	3,1 атм.
2	0,330°	4,0 "
3	0,252°	3,0 "
4	0,295°	3,6 "

Гибрид (топорован. карп  $\times$  зеркальн.). 1 экз. сеголеток L ок. 18 см.  $\Delta$  = 0,330° (3,7 атм.).

Средняя депрессия крови сеголеток топорованского карпа и гибрида очень близки между собою и отличаются от средней  $\Delta$  сеголеток зеркального карпа (табл. VI). Но, конечно, материал слишком незначителен чтобы делать какие либо заключения.

При сравнении (см. табл. XII на стр. 56) средних криоскопической точки крови молодых (сеголетков) и карпов более старших возрастов наблюдается заметная разница.

У молоди осмотическое давление крови в среднем выше чем у взрослых карпов. Вероятно, это связано с большей интенсивностью процессов обмена в молодом организме.

САЗАН. (4 экз. L = 18—38 см)  $\Delta$  колеблется от 0,210 до 0,370° (2,5—4,5 атм.). Средняя  $\Delta$  = 0,286° (3,5 атм.).

Сазан

Табл. X

№№	L	$\Delta$	P атм.
1	37,2 см	0,210°	2,5
2	26 "	0,252°	3,0
3	18 "	0,370°	4,5
4	38 "	0,312°	3,8

ЛИНЬ — *Tinca tinca* L (12 экз). До исследования лини более месяца жили в аквариумах. Депрессия крови колеблется от 0,180 до 0,652° (2,2—7,9 атм.), средняя  $\Delta$  = 0,363° (4,4 атм) — см. табл. XIII (стр. 56).

Табл. XII

	Сеголетки L=7—10 см. 16 экз.	2—3 летки L=18—39 см. 26 экз.
Колебания $\Delta$ . . . . .	0,292—0,692°	0,122—0,610°
Колебания P . . . . .	3,5—8,4 атм.	1,7—7,4 атм.
Средняя $\Delta$ . . . . .	0,537°	0,305°
Среднее P . . . . .	6,5 атм.	3,7 атм.

Линь Табл. XIII

№№	L	Пол	$\Delta$	P
1	13 см	♀	0,390°	4,7
2	10 "	—	0,425°	5,1
3	12 "	—	0,425°	5,1
4	11 "	—	0,250°	3,0
5	8 "	—	0,652°	7,9
6	18 "	—	0,302°	3,6
7	20 "	—	0,272°	3,3
8	14 "	—	0,292°	3,5
9	20 "	—	0,180°	2,2
10	25 "	—	0,210°	2,5
11	25 "	—	0,495°	6,0
12	25 "	—	0,465°	5,6

ФОРЕЛЬ озерная — *Salmo trutta morpha lacustris* — из р. Свири <sup>1)</sup> и ручьевая (*morpha fario*) — из Ропшинского рыбхоза.

У озерной форели (1 экз.)  $\Delta = 0,592^\circ$  (7,2 атм.). У ручьевой (5 экз.) средняя  $\Delta = 0,470^\circ$  (5,7 атм.), причем отклонения от средней очень незначительны:  $\Delta$  колеблется от 0,460° до 0,485° (5,6—5,9 атм.)

Табл. XIV

Форель (1 — озерная, 2—6 ручьевая).

№№	L	Пол	$\Delta$	P
1	77 см	♂	0,592°	7,2 атм.
2	ок. 50 "	—	0,470°	5,7 "
3	" "	—	0,485°	5,9 "
4	30—40 "	—	0,460°	5,6 "
5	" "	—	0,468°	5,6 "
6	" "	—	0,470°	5,7 "

СИГ — *Coregonus lavaretus* L. р. Свирь (2 экз.) Средняя  $\Delta = 0,497^\circ$  (6,0 атм.)

Табл. XV

Сиг (р. Свирь 18—19/ХII 1934 г.)

№№	L	Пол	$\Delta$	P
1	56 см	♀	0,562°	6,8 атм.
2	55 "	♂	0,432°	5,2 "

<sup>1)</sup> Пробы крови у свирских рыб (форель, налим, сиг, лосось) взяты и доставлены в Ленинград в заянных ампулах проф. В. А. Павловым.

НАЛИМ — *Lota lota* L. Р. Свирь (2 экз.) Средняя  $\Delta = 0,481^\circ$  (5,8 атм.)

Табл. XVI

Налим. 18. XII—1934 г.

	L	Пол	$\Delta$	P
1	82 см.	♂	0,512°	6,2 атм.
2	77 "	—	0,450°	5,4 атм.

ЛОСОСЬ ОЗЕРНЫЙ — *Salmo salar* L. Р. Свирь (1 экз.) ♀ L=0,56 см,  $\Delta = 0,557^\circ$  (6,7 атм.)

Табл. XVII

Сводка результатов

	Число иссл. экз.	L в см	Колебания		Средние	
			$\Delta$	P в атм.	$\Delta$	P в атм.
1 Карп						
а) Сеголетки зеркальн. карпа . . . . .	16	7—10	0,292—0,692°	3,5—8,4	0,537°	6,5
б) 2—3 летние зерк. карпы . . . . .	26	18—39	0,122—0,610°	1,5—7,4	0,305°	3,7
в) Топорованский карп (сеголетки) . . . . .	4	17—20	0,252—0,330°	3,0—4,0	0,283°	3,4
г) Гибрид топованский, зеркальный, сеголеток . . . . .	1	ок. 18	0,310°	3,7	0,310°	3,7
д) Сазан . . . . .	4	18—38	0,21°—0,370°	2,5—4,5	0,286°	3,5
2 Линь . . . . .	12	10—25	0,180—0,652°	2,2—7,9	0,363°	4,4
3 Форель . . . . .						
а) озерная . . . . .	1	77	0,592°	7,2	0,592°	7,2
б) ручьевая . . . . .	5	30—40	0,460—0,485°	5,6—5,9	0,470°	5,7
4 Сиг . . . . .	2	55—56	0,432—0,562°	5,2—6,8	0,497°	6,0
5 Налим . . . . .	2	77—82	0,450—0,512°	5,4—6,2	0,481°	5,8
Лосось озерный . . . . .	1	56	0,557°	6,7	0,557°	6,7
	74	7—82	0,122°—0,692°	1,5—8,4	0,425°	5,1

Средняя  $\Delta$  крови 74 экз. исследованных нами пресноводных рыб, относящихся к 6 видам, равна  $0,425^\circ$  (5,1 атм.)

Литературные данные по осмотическому давлению крови рыб, особенно пресноводных, как уже указывалось, очень скудны. Разными авторами (Frédéricq — 6, Dekhuizen 4, Гамбургер — 9) проделано, в общей сложности, не более двух десятков определений осмотического давления крови пресноводных рыб. Интересно сравнить некоторые наши данные и данные упомянутых авторов.

Наши цифры во всех случаях ниже соответствующих цифр цитируемых авторов. Декуйзен приводит среднюю из 13 определений депрессии крови

Табл. XVIII

	Определения Декуйзена $\Delta$	Определен. Гамбургера $\Delta$	Наши опре- дел. $\Delta$
1 Линь . . . . .	0,466°; 0,514°	0,550°	0,363°
2 Карп . . . . .	0,527°; 0,540°	—	0,305°
3 Форель ручьев.	0,567°	—	0,470°

нескольких видов пресноводных костистых рыб (окунь, карп, линь, щука, густера, форель), она равна  $0,521^{\circ}$ . Эта цифра тоже выше нашей средней для  $\Delta$  крови всех исследованных нами рыб ( $0,425^{\circ}$ ).

Фредерик дает результаты нескольких определений для усача, плотвы и пресноводного угря. Все его цифры тоже выше нашей средней (усач:  $\Delta = 0,500 - 0,475^{\circ}$ , плотва:  $\Delta = 0,450^{\circ}$ , угорь:  $\Delta = 0,580 - 0,690^{\circ}$ ).

Перечисленные авторы делали определения тоже криоскопическим методом, следовательно такую разницу нельзя отнести за счет погрешности, которая для криоскопического метода незначительна. Что касается применявшегося нами микрокриоскопического способа определения, то его ошибка, как уже указывалось, равна приблизительно  $0,02^{\circ}$ .

Возможно различие объясняется причинами географического, климатического или сезонного порядка, что так или иначе связано с различиями в обмене веществ. В этом направлении в нашей лаборатории начаты соответствующие исследования.

### Выводы.

1. Положив в основу метода определения осмотического давления крови рыб принцип микрокриоскопии и выдвинутый Друккер-Шрейнером мы переработали конструкцию прибора, сделав ее более удобной для массовых измерений.

2. Возможность хранения крови на холоду в запаянных ампулах, без заметного изменения осмотической концентрации, по крайней мере в течение двух суток, позволяет распространить применение микрокриоскопического метода на многих промысловых рыб.

3. Тензиметрический метод Барджер-Раста значительно уступает по удобству микрокриоскопическому. За то он незаменим в условиях полевой работы, потому что кроме микроскопа и объектив-микрометра не требует никаких сложных приспособлений.

4. Гемолитический метод пригоден только для самых приближенных определений.

5. Депрессия крови пресноводных рыб, определенная на 74 экз., относящихся к шести видам (преимущественно карп, кроме того; линь, форель, сиг, налим, и лосось), колеблется от  $0,122$  до  $0,692^{\circ}$ , средняя  $\Delta = 0,425^{\circ}$  С. Все определения относятся к зимнему периоду.

6. По данным Декгуйзен средняя  $\Delta$  крови пресноводных костистых рыб (13 экз.) равна  $0,521^{\circ}$  С. Другие авторы (Гамбургер, Фредерик) получили тоже более высокие цифры, чем наша средняя, причем разница превышает возможную погрешность определения. Мы предполагаем, что эта разница зависит от причин географического, сезонного или климатического порядка, влияющих на осмотическое давление крови через обмен веществ.

7. У рыб из садка на реке (карпы, форель) осмотическое давление устойчивее, чем у рыб живущих в аквариумах.

8. Разницы в средней криоскопической точке крови у самцов и у самок (карп) не наблюдалось.

9. У молоди карпа осмотическое давление крови в среднем выше, чем у 2—3 летних.

### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Barger. Abderh. Handb. d. biol. Arb. Meth. Abt. III, T. A. 1928. — 2. Bottazzi. Erg. d. Physiol. **7**, 161, 1908. — 3. Burian und Drucker, Zbl. f. Physiol. **23**, 772, 1909. — 4. Dekhuyzen. Arch. Neerland. d. Sciences, 10, 121—136. 5. Drucker und Schreiner. Biol. Zbl. **33**, 99, 1913. — 6. Frè-

déricq. Bull. de l'Acad. Roy. de Belgique № 8, 428, 1901. — 7. Fritzsche. Int. Revue d. ges. Hydrob. u. Hydrogr. 8, 1917. — 8. Hamburger. Abderh. Handb. d. biol. Arb. Meth. — 9. Hamburger. Osmotischer Druck und Ionenlehre. I—III. 1902—4. — 10. Капланский и Болдырева. Физиол. Ж. С.С.С.Р. 16, 1933/34. — 11. Rast. Abderh. Handb. d. biol. Arb. Meth. Abt. III. T. A. — 12. Светлов. Тр. Севастоп. Биол.: Ст. 1928. — 13 Тарусов. Ж. эксп. биол. 219, и медиц. 6, 232, 1927.

## DER OSMOTISCHE DRUCK DES BLUTES VON SÜSSWASSERFISCHEN UND DESSEN BESTIMMUNGSMETHODEN.

E. A. Wesselow.

### Zusammenfassung

Eine vergleichende experimentelle Prüfung verschiedener Methoden der Gefrierpunktmessungen des Fischblutes hat gezeigt, dass für osmometrische Untersuchungen minimaler Mengen biologischer Flüssigkeiten die mikrokryoskopische Methode von Drucker-Schreiner bei Weitem die handlichste und präziseste ist. Es wird eine modifizierte Konstruktion eines Mikrokryoskops beschrieben, die eine gleichzeitige Bearbeitung mehrerer Flüssigkeitsproben gestattet und für Massenbestimmungen sich gut eignet.

Blutgefrierpunktbestimmungen wurden an folgenden 6 Süßwasserteleostierarten angestellt: Karpfen, Forelle, Lachs, Schleie, Schnäpel und Quappe.  $\Delta$  variierte zwischen  $0,122^{\circ}$  und  $0,692^{\circ}$ , im Mittel —  $0,425^{\circ}$ . Alle Bestimmungen wurden im Winter gemacht. Fische, die eine längere Zeit in Zimmeraquarien verbracht haben unterscheiden sich von denen, die aus grösseren Fischbehältern (Schwimmbehälter) stammen durch grössere individuelle Schwankungen des osmotischen Druckes. Sexuelle Unterschiede wurden nicht beobachtet. Bei Jungfischen (Karpfen) war der osmotische Druck höher als bei den Zwei- und Dreisommerlingen.

## Исследования по физиологии крови рыб.

### IV. О белых кровяных клетках некоторых пресноводных рыб.

С. И. РУБАШЕВ.

(Из Бородинской Биологической Станции и кафедры общей биологии Ленинградского Гос. Педиатрического Медицинского Института, зав. проф. В. А. Павлов).

В связи с исследованиями по физиологии крови пресноводных рыб мне было предложено проф. В. А. Павловым выяснить реакцию со стороны белых кровяных клеток на различные изменения физиологических и экологических условий. При изучении форменных элементов крови рыб выяснилось, что картина нормальной крови в отношении белых клеток исследована у рыб совершенно недостаточно. Поэтому прежде всего надо было подойти к ознакомлению с качественным и относительным количественным составом белых кровяных клеток основных видов пресноводных рыб, что и составляет содержание настоящего краткого сообщения.

Имеющаяся литература по форменным элементам крови костистых рыб чрезвычайно бедна. Работы Равитца (Rawitz 1899), Мейнерта (Meinert, 1902), Месниля (Mesnil, 1895) в значительной мере устарели, поскольку авторы не могли использовать современной гематологической техники. Исследования Вейденрейха (Weidenreich, 1908), Левенталя (Loewenthal, 1909), Ланина (Lanine, 1912) и Иордана (Jordan, 1924) касаются лишь отдельных клеточных элементов и потому для наших целей не вполне подходят. Наибольший интерес представляют работы Држевиной (Drzewina, 1905—1911) и Верцберга (Wertzberg 1911).

Верцберг дает подробное описание белых кровяных клеток у карповых (каarp, карась, плотва, линь, лещ, пескарь), трески, окуни, щуки и угря. Он констатирует у них наличие лейкоцитов (гранулоцитов) с нейтрофильной и эозинофильной зернистостью и типичных малых лимфоцитов. Кроме того он описывает ряд лимфоидных клеток, среди которых различает большие лимфоциты (*Grosslymphozyten*) и лимфолейкоциты (*leukocytoide Lymphozyten*, *Leuko-Lymphozyten*). Базофильные лейкоциты найдены им лишь у *Carassius auratus*. Характеризуя ядра Верцберг отмечает наличие мало дифференцированных рыхлых округлых ядер наряду с сегментированными и полиморфными ядрами. В отношении протоплазмы указывает на ее, преимущественно, базофильный характер, который нередко свойственен и гранулоцитам.

В своем заключении Верцберг устанавливает различия между видами по наличию или отсутствию гранулоцитов, а также по характеру ядра. Однако, в конечном выводе он отмечает, что установить какие-либо общие показатели для родственных видов не представляется возможным, поскольку кровяные клетки близких видов различны и, напротив, у систематически далеких видов наблюдается сходная гематологическая картина.

К подобному выводу приходит и Држевина, которая указывает на крайнюю нестойкость лейкоцитарной формулы у рыб. По ее данным картина крови резко меняется в зависимости от экологических и физиологических условий. Однако выяснить какие-либо взаимоотношения между условиями содержания рыб и составом кровяных клеток ей не удалось.

При изучении нашего материала мы сразу встретились с многообразием форменных элементов крови и, в частности, с различным характером негранулированных белых кровяных клеток, которые Верцберг отмечает терминами: большие лимфоциты, лейколимфоциты и лейкоцитонидные лимфоциты. Согласно его описаниям и рисункам эти клетки имеют миэлобластический и миэлоцитный характер. Не считая возможным в настоящей работе устанавливать специфическую для рыб классификацию и номенклатуру белых клеток крови, мы полагаем пока более удобным сравнивать их с теми элементами, которые хорошо изучены у млекопитающих. При этом мы сопоставляем их с онтогенетически ранними клетками — миэлобластами и лимфобластами. При этом мы, конечно, учитываем, что клетки крови рыб, являясь онтогенетически зрелыми элементами, не вполне соответствуют молодым клеткам крови млекопитающих, главным образом по характеру ядра. Мы их обозначаем поэтому условно как клетки лимфо-миэлобластического типа.

В качестве материала мы имели возможность использовать следующие виды: лосось озерный (*Salmo salar L.*), форель озерная (*Salmo trutta lacustris L.*), форель ручьевая (*Salmo trutta fario*), таймень (*Salmo trutta L.*), сиг (*Coregonus baeri Kessl*), налим (*Lota lota L.*), судак (*Lucioperca lucioperca L.*), линь (*Tinca tinca L.*), лещ (*Abramis brama L.*) и карп (*Cyprinus carpio L.*). Кровь бралась от тех-же экземпляров, которые исследовались в нашей лаборатории на гемоглобин и содержание сахара. Из исследованных видов лосось, форель озерная, таймень, сиг и налим были получены нами на Свирском рыбноводном заводе в октябре—декабре 1934 г., т. е. в период нереста и, следовательно, были половозрелыми экземплярами. Материал по остальным видам был собран летом, за исключением карпа, кровь которого неоднократно исследовалась с лета по февраль. Все исследованные экземпляры были либо только что пойманными, либо содержались в заводских садках в течении не более 10—15 дней. К сожалению по условиям работы на рыбноводных заводах не всегда представлялось возможным сразу обрабатывать мазки крови. Поэтому не для всех видов можно было применить проверочные исследования на гранулы путем пероксидазной реакции. Кроме того, часть материала была передана нам в виде сухих нефиксированных мазков.

Кровь для мазков бралась всегда одним и тем же способом из жаберного сосуда. Мазки делались на предметных стеклах и, по возможности сразу обрабатывались двумя способами: 1) фиксировались метиловым спиртом и окрашивались по Гимза в течении 30—40 минут; 2) фиксировались смесью спирта с формалином и обрабатывались  $\alpha$ -нафтолом с последующей окраской толуидиновой синькой по Эпштейну (пероксидазная реакция, Фрейфельд, 1934).

Принимая окраску по Гимза мы сначала разводили краску на нейтральной дистиллированной воде с рН 6,8—7,0, как это необходимо при окраске крови млекопитающих, но в дальнейшем применяли более кислую воду с рН 6,4—6,6, так как при этом получались лучшие результаты. При пероксидазной реакции мы ни в одном случае не получали той темнозеленой окраски гранул, которая свойственна при этой обработке включениям нейтрофилов и эозинофилов млекопитающих. Положительный результат пероксидазной реакции выявлялся в светло зеленой окраске зернистости лейкоцитов.

1. ЛОСОСЬ (*Salmo salar* L.).

В известной нам литературе указаний о лейкоцитарном составе не имеется. Кровь лосося содержит много мелких лимфоцитов размером около 4  $\mu$ , с типичным темным бухтообразным ядром и узкой каймой базофильной протоплазмы. Кроме того имеются более крупные лимфоциты с подковообразным ядром (разм. 6—7  $\mu$ ). Из гранулоцитов встречаются нейтрофилы с бухтообразным ядром и эозинофилы с полиморфными лапчатыми ядрами и местами базофильной протоплазмой. Кроме того имеется много клеток миэлобластического типа с базофильной плазмой, нередко с сегментированным ядром, а также моноциты с обильной сероватого цвета протоплазмой, размерами до 15—20  $\mu$ .

Количественный состав		%
гранулоциты	нейтрофилы зернистые . . . . .	10
	эозинофильные . . . . .	2
лимфоциты малые и крупные . . . . .		71
моноциты . . . . .		2
клетки типа лимфо-миэлобластов . . . . .		15
		100

2. ФОРЕЛЬ ОЗЕРНАЯ (*Salmo trutta morpha lacustris* L.).

Држевина отмечает наличие клеток с нейтрофильной зернистостью, лимфоцитов и моноцитов. Ланин отмечает отсутствие эозинофилов.

Кровь озерной форели содержит много мелких (4  $\mu$ ) и крупных (7  $\mu$ ) лимфоцитов. Лейкоциты с нейтрофильной зернистостью очень немногочисленны. Сама зернистость очень мелкая и в незначительном количестве. Протоплазма амфотильная с наклоном к базофилии. Ядра у гранулоцитов почти всегда округлые. Эозинофильной грануляции нет, также как и моноцитов. Клетки миэлобластического типа отличаются сложными ядрами, а также базофильным характером протоплазмы.

Количественный состав		%
гранулоцитов	нейтрофильных . . . . .	11
	эозинофильных . . . . .	—
лимфоцитов малых и крупных . . . . .		57
моноцитов . . . . .		—
клетки типа лимфо-миэлобластов . . . . .		32
		100

3. ФОРЕЛЬ РУЧЬЕВАЯ (*Salmo trutta morpha fario* L.).

Нейтрофильная зернистость очень нечетка и устанавливается лишь реакцией на пероксидазу.

Количественный состав		%
гранулоциты	нейтрофильные . . . . .	18
	эозинофильные . . . . .	—
лимфоциты . . . . .		64
моноциты . . . . .		—
клетки типа лимфо-миэлобластов . . . . .		18
		100

4. ТАЙМЕНЬ (*Salmo trutta* L.).

В известной нам литературе данных не имеется. Лимфоциты как у предыдущих видов. Настоящих гранулоцитов почти нет, что подтверждается отрицательной пероксидазной реакцией. Ядра сегментированные.

Количественный состав		%
гранулоциты	нейтрофильные . . . . .	4
	эозинофильные . . . . .	—
лимфоциты . . . . .		66
моноциты . . . . .		—
клетки типа лимфо-миэлобластов . . . . .		30
		100

5. СИГ (*Coregonus baeri* Kessl.).

Лимфоциты как у предыдущих видов. Настоящих гранулоцитов почти нет. Пероксидазная реакция отрицательна. Ясная зернистость встречается лишь у очень незначительного количества клеток с амфифильной протоплазмой, причем по своему характеру она напоминает эозинофильную. Встречается много моноцитов размером 11—18  $\mu$  с большим ядром и обильной серого цвета протоплазмой

Количественный состав		%
гранулоциты	нейтрофильные . . . . .	3
	эозинофильные . . . . .	2
лимфоциты . . . . .		78
моноциты . . . . .		10
клетки лимфо-миэлобл. типа . . . . .		7
		100

6. НАЛИМ (*Lota lota* L.).

Верцберг дает описание крови *Gadus lota* и отмечает отсутствие гранулоцитов. Ланин также подчеркивает, что ему не удалось обнаружить оксифильных гранулированных элементов.

У налима мы видим типичные эозинофильные клетки со светло-розовой, иногда голубоватой, протоплазмой и крупной красной зернистостью. У клеток миэлобластического типа протоплазма амфифильная и нередко оксифильная. Вообще все клетки крови менее базофильны, чем у представителей лососевых. Заслуживает внимания также меньшая дифференцированность ядер, имеющих обычно округлую форму.

Количественный состав		%
гранулоциты	нейтрофилы . . . . .	10
	эозинофилы . . . . .	2
лимфоциты . . . . .		51
моноциты . . . . .		5
клетки лимфо-миэлобл. типа . . . . .		32
		100

7. СУДАК (*Lucioperca lucioperca* L.).

Данных в известной нам литературе нет. Верцберг дает описание крови окуня, у которого он отмечает исключительно лимфоидные элементы и клетки типа миэлобластов. У судака, на препаратах, окрашенных по Гимза, нам также удалось видеть лишь немного гранулоцитов. Применив пероксидазную реакцию мы, однако, могли констатировать обилие нейтрофилов. Так как при окраске по Гимза нейтрофильная зернистость выявляется очень нечетко, возможно что она имеется и у окуня. Кроме того у судака имеются и клетки с эозинофильными включениями. По сравнению с рассмотренными видами надо отметить еще большую оксифильность протоплазмы гранулоцитов и клеток миэлобластического типа. Кровь судака изобилует малыми лимфоцитами.

Количественный состав		%
гранулоциты	нейтрофильные . . . . .	14
	эозинофильные . . . . .	1
лимфоциты . . . . .		81
клетки типа лимфо-миэлобластов . . . . .		4
		100

8. ЛИНЬ (*Tinca tinca* L.).

Верцберг отмечает слабую дифференцированность ядер. Из гранулоцитов он констатирует наличие эозинофилов. Согласно его описания, од-

нако, вряд ли эти клетки можно считать содержащими зернистость. Скорее— это клетки с оксифильной ячеистой протоплазмой. Эозинофилы, описываемые Ланиным, также представляются нам не вполне ясными, тем более, что при окраске по Гимза он их не видел. По нашим данным у линя из гранулоцитов имеются лишь очень ясные нейтрофилы с округлыми ядрами и обильной зернистостью.

Количественный состав		%
гранулоциты	} нейтрофилы . . . . .	4
		} эозинофилы . . . . .
лимфоциты . . . . .		
моноциты . . . . .		—
клетки типа лимфо-миэлобластов . . . . .		1
		100

Кроме того нами наблюдались клетки, которые мы затруднились классифицировать. Они имеют экцентрично расположенное овальное ядро и резко оксифильную протоплазму с крупной яркой, скорее всего азурофильной зернистостью.

#### 9. ЛЕЩ (*Abramis brama* L).

В известной нам литературе данных нет. Гранулоциты почти исключительно нейтрофильные с экцентрично расположенным, нередко сегментированным ядром. Их очень много. Сравнительно небольшой процент объясняется избытком лимфоцитов. Повидимому некоторые клетки имеют базофильную грануляцию, хотя, в виду недостаточной свежести материала, настаивать на этом мы затрудняемся.

Количественный состав		%
гранулоциты	} нейтрофилы . . . . .	17
		} эозинофилы . . . . .
лимфоциты . . . . .		
клетки лимфо-миэл. типа . . . . .		2
		100

#### 10. КАРП (*Cyprinus carpio* L).

Верцберг отмечает обилие нейтрофилов и эозинофилов с полиморфными ядрами, а также множество клеток миэлобластического типа. Ланин, отрицая эозинофильный характер описываемых Верцбергом эозинофилов, отмечает наличие эозинофильных включений иного характера (Ланин рис. 5). В наших мазках мы не могли обнаружить эозинофилов. Применяя пероксидазную реакцию мы, в клетках подобных описываемым Верцбергом и Ланиным, зернистости не обнаружили.

Количественный состав		%
гранулоциты	} нейтрофилы . . . . .	12
		} эозинофилы . . . . .
лимфоциты . . . . .		
клетки типа лимфо-миэлобластов . . . . .		4
		100

Кровь рыб в отношении белых клеток изобилует лимфоидными элементами. Зернистые лейкоциты, которые у млекопитающих крайне разнообразны как по качеству грануляции, так и по степени зрелости ядра (молодые округлые рыхлые ядра, т. н. палочковидные и сегментированные) у рыб описывались довольно редко и у некоторых видов их наличие вообще отрицалось. Равным образом характер протоплазмы лейкоцитов рыб нередко отличается базофильностью, что свойственно лишь онтогенетически



Рис. Fig. 1. *Salmo salar* L. Клетка лимфо-миэлобластического типа. Eine Zelle von lympho-myeloblastischem Typus.

Рис. Fig. 2, 3. *Salmo salar* L. Нейтрофил. Ein Neutrophil.

Рис. Fig. 4. *Salmo salar* L. Эозинофил. Ein Eosinophil.



Рис. Fig. 5. *Salmo trutta* L. Клетка лимфо-миэлобластического типа. Eine Zelle von lympho-myeloblastischem Typus.

Рис. Fig. 6. *Salmo trutta* L. Клетка лимфо-миэлобластического типа. (Окраска по Эпштейну). Eine Zelle von lympho-myeloblastischem Typus. (Peroxydasereaktion).

Рис. Fig 7. *Coregonus baeri* Kessl. Лимфоцит. Ein Lymphozyt.

Рис. Fig. 8. *Cyprinus carpio* L. Клетка лимфо-миэлобластического типа. Eine Zelle von lympho-myeloblastischem Typus.



Рис. Fig. 9, 10, 11. *Cyprinus carpio* L. Нейтрофилы, Neutrophilellen.

Рис. Fig. 12. *Cyprinus carpio* L. Нейтрофил. (Окраска по Эпштейну). Ein Neutrophil (Peroxydasereaktion).



Рис. Fig. 13. *Cyprinus carpio* L. Моноцит. Ein Monozyt.

Рис. Fig. 14. *Tinca tinca* L. Клетка лимфо-миэлобластического типа. Eine Zelle von lympho-myeloblastischem Typus.

Рис. Fig. 15. *Tinca tinca* L. Гранулоцит. Ein Granulozyt.

Рис. Fig. 16. *Tinca tinca* L. Крупный гранулоцит. Ein grosser Granulozyt.

юным лейкоцитам крови млекопитающих (миелобластам и миелоцитам), появляющимся, обычно, в патологических случаях.

Таким образом, картина крови рыб отличается наличием ряда клеток, которые несвойственны нормальной крови млекопитающих. Даже в тех случаях, когда мы находим однородные лейкоцитоподобные формы, как например, клетки с нейтрофильной и эозинофильной зернистостью, эта грануляция не является вполне тождественной с гранулами нейтрофилов крови высших позвоночных. Нейтрофилы и эозинофилы крови млекопитающих содержат гранулы с адсорбированными на поверхности липоидными образованиями, что констатируется применением реакции на пероксидазу. Между тем грануляции лейкоцитов рыб реагируют на реакцию значительно слабее.

Сравнивая результаты по описанным нами видам мы устанавливаем различный характер белых кровяных клеток, а также разный их количественный состав (см. таблица 1).

Таблица 1.

Процентное содержание клеток в крови исследованных видов.

	Гранулоциты Granulozyten	Лимфоциты Lymphozyten	Моноциты Monozyten	Кл. лимфо-миэ- лобл. типа Zellen vom lympho-myelo- blastischen Typus
Лосось <i>Salmo salar</i> L. . . . .	12	71	2	15
Форель озерная <i>S. trutta lacustris</i> L. . . . .	11	57	—	32
Форель ручьевая <i>S. trutta fario</i> L. . . . .	18	64	—	18
Таймень <i>S. trutta</i> L. . . . .	4	66	—	30
Сяг <i>Coregonus baeri</i> Kessl. . . . .	5	78	10	7
Налим <i>Lota lota</i> L. . . . .	12	51	5	32
Судак <i>Lucioperca lucioperca</i> L. . . . .	14	81	1	4
Линь <i>Tinca tinca</i> L. . . . .	4	95	—	1
Лещ <i>Abramis brama</i> L. . . . .	18	80	—	2
Карп <i>Cyprinus carpio</i> L. . . . .	12	84	—	4

В отношении характера клеток крови можно отметить, что у всех лососевых: 1) лимфоциты характеризуются по сравнению с карповыми более светлыми ядрами; 2) зернистость гранулоцитов очень незначительная и нечеткая, часто обнаруживается лишь при пероксидазной реакции; 3) протоплазма гранулоцитов и в особенности клеток лимфо-миэлобластического типа обнаруживает значительную склонность к базофилии. У карповых: 1) лимфоциты имеют более компактные ядра с меньшим количеством протоплазмы; 2) грануляция лейкоцитов выражена очень рельефно в виде мелких зерен на амфифильном фоне протоплазмы; 3) у гранулоцитов часто встречаются полиморфные сегментированные ядра; 4) кровяные клетки лимфо-миэлобластического типа имеют значительно оксифильную протоплазму.

У судака оксифильность клеток выражена менее ясно чем у карповых, грануляция очень мелкая (значительно мельче, чем у карповых), но при окраске по Эпштейну чрезвычайно четкая. У налима лимфоциты имеют более рыхлые и крупные ядра, чем у остальных исследованных видов. Другие клетки также обладают менее дифференцированными ядрами преимущественно округлой формы.

В отношении количественного состава, как видно из таблицы 1, представители семейства лососевых отличаются большим процентным содержанием

клеток лимфо-миэлобластического типа, которые у карповых встречаются значительно реже. Напротив, количество лимфоцитов, которыми буквально изобилует семейство карповых, у лососевых значительно меньше. Гранулированные лейкоциты, судя по таблице распределены в этих семействах однообразно, однако нужно учесть отмеченную нерельефность включений лососевых. Совершенно несомненно, что в этом отношении лососевые обладают менее дифференцированными гранулоцитами, чем остальные исследованные семейства. Вероятно в соответствии с этим находится и отмеченная базофильность протоплазмы этих клеток у лососевых, в особенности по сравнению с карповыми.

Таким образом у лососевых, из которых мы исследовали 5 видов (лосось, форель озерная, форель прудовая, таймень и сиг) и у карповых, относительно которых, кроме рассмотренных нами 3-х видов (линь, лещ, карп) имеются литературные данные (Верцберг — лещ, карп, карась, плотва; Ланин — линь, карп, пескарь и уклейка), мы можем констатировать определенные различия в отношении состава белых клеток, характера их ядер, окраски протоплазмы и зернистости. Налим и судак — представители других семейств (тресковые и окуневые) также имеют свои, отмеченные ранее, особенности. Надо однако иметь в виду, что исследованные экземпляры судака были анемичными, почему делать какие-либо выводы относительно этого вида нам представляется трудным.

Таким образом возможно сделать следующие предварительные выводы:

1. Между лососевыми и карповыми констатируются различия в характере одноименных белых клеток крови и в их относительных количествах.
2. Кровь лососевых по составу белых клеток является наименее дифференцированной по сравнению с другими исследованными группами рыб.
3. Пероксидазная реакция обнаруживает, что грануляция лейкоцитов исследованных видов отличается по своему химическому составу от гранул клеток крови млекопитающих.

#### Литература.

- 1) Drzewina. Arch. d'anat. micr. **XIII**, 1911; — 2) Фрейфельд. Гематология. 1934; — 3) Lanine. Arch. de Biol. **27**. 1912; — 4) Loewenthal. Journ. de l'anat. et phys. **15**. 1909; — 5) Meinert. Virch. Arch. 1902; — 6) Пиней. Последние достижения гематологии. 1931; — 7) Rawitz. Arch. micr. Anat. **54**. 1899; — 8) Weidenreich. Arch. micr. Anat. **72**. 1908; — 9) Werzberg. Fol. haemat. (Arch.) **XI**, 1911.

### UEBER WEISSE BLUTZELLEN EINIGER SÜSSWASSERFISCHE.

S. I. Rubascheff.

#### Zusammenfassung.

Das weisse Blutbild wurde bei folgenden Arten untersucht: Lachs (*Salmo salar* L.), Forelle (*S. trutta* L., *S. trutta lacustris* L. u. *S. trutta fario* L.), Zander (*Lucioperca lucioperca* L.), Schleihe (*Tinca tinca* L.), Maräne (*Coregonus* sp), Quappe (*Lota lota* L.), Brachse (*Abramis brama* L.) und Karpfen (*Cyprinus carpio* L.).

Das Blut wurde den Kiemengefässen entnommen. Die Ausstriche wurden teils mit Methanol fixiert und nach Giemsa 30—40 Min. lang (pH des Spülungswasser = 6,4—6,6) gefärbt, teils zum Peroxydasenachweis mit Formol-Alkohol fixiert, mit  $\alpha$ -Naphtol behandelt und mit Toluidinblau nach Epstein gefärbt.

Das Fischblut ist reich an lymphoiden Elementen und hat einen wenig differen-

zierten, embryonalen Charakter. Aus der Tabelle 1 (S. 67) sind die quantitativen Verhältnisse verschiedener Zellarten bei den untersuchten Fischarten zu ersehen.

Für Salmonidenblut ist ein relativ hoher Prozentsatz lympho-myeloblastischer Elemente und zahlreiche Lymphozyten charakteristisch, Cyprinidenblut ist geradezu überschwemmt von Lymphocyten, dagegen arm an lympho-myeloblastischen Elementen. Quappe nähert sich in dieser Hinsicht mehr den Salmoniden, dem Zander und den Cypriniden.

Die Granulozyten sind bei den untersuchten Arten mehr oder weniger gleichmäßig vorhanden. Doch qualitativ scheinen sie bei verschiedenen Arten verschieden zu sein. So ist das Zellprotoplasma der Granulozyten und insbesondere der Lymphozyten bei den Salmoniden ausgesprochen basophil, Granula wenig zahlreich und nicht selten nur mit Hilfe der Peroxydasereaktion nachweisbar. Im Cyprinidenblut heben sich die Granula recht deutlich vom amphophilen Grunde des Zellprotoplasmas ab. Die Zellen des lympho-myeloblastischen Typus zeichnen sich bei ihnen durch ein ausgesprochen oxyphiles Protoplasma.

Auf Grund der Untersuchungen des A. lässt sich folgendes feststellen:

1. Das weisse Blutbild weist bei den Salmoniden und Cypriniden deutliche Unterschiede sowohl qualitativer, als auch quantitativer Natur auf.
2. Das Salmonidenblut ist ihrem weissen Bilde nach von allen untersuchten Arten das am wenigsten differenzierte.
3. Der Ausfall der Peroxydasereaktion deutet auf Unterschiede in der Chemie der Granula der Fisch- und Säugetierleukozyten.

