

Н. Ф. ЛАБУНЕЦ

### ИССЛЕДОВАНИЕ АНАБИОЗА ПРИ ВЫСЫХАНИИ ТИХОХОДОК (TARDIGRADA) ПУТЕМ ПРИЖИЗНЕННОГО ОКРАШИВАНИЯ

**Введение.** Явления угнетения жизни имеют очень широкое распространение в живой природе. Одновременно с развитием жизни, в процессе эволюции развивалась способность организмов противостоять неблагоприятным условиям внешней среды. Таковы спячка земноводных, рептилий, некоторых млекопитающих, оцепенение рыб, насекомых, скрытая жизнь семян и, наконец, почти полная остановка жизни у высушенных тихоходок и коловраток. У этих обитателей мхов и лишайников способность к почти полной остановке жизни выработалась путем долгой эволюции как приспособление к исключительным условиям существования в периодически высыхающей и увлажняющейся среде.

Способность тихоходок и коловраток оживать после высыхания подтверждает, повидимому, возможность такого устойчивого состояния живого организма, при котором происходит полная остановка жизненных процессов<sup>(6)</sup>. В то же время вызывает сомнение в полноте перерыва жизни тот факт, что возможность оживания высушенного животного ограничивается определенным временем<sup>(3)</sup>. При продолжительном пребывании в высушенном состоянии и хранении при низкой температуре животные не оживают. Точно так же продолжительность периода оживания увеличивается в зависимости от времени пребывания в высушенном состоянии.

Это показывает, что при анабиозе после высыхания жизнь не полностью останавливается, что процессы обмена веществ в теле высушенного животного все же совершаются, хотя и с минимальной скоростью. Возможно ли установить наличие обмена веществ в организме, лишенном притока влаги извне? Многие насекомые в личиночном состоянии питаются исключительно сухой или почти сухой пищей, таковы личинки платяной моли, амбарного долгоносика, древоточцев и др.<sup>(6)</sup>. Все они накапливают воду путем сложных реакций разложения резервных веществ. Возможно, что такого же рода реакции образования «обменной воды» протекают и в высушенном организме.

Задачей данной работы было путем прижизненного окрашивания изучить явление высыхания у тихоходок и подойти к выяснению этого вопроса. Мы надеялись выяснить, существует ли полная остановка жизненных процессов, после которой возобновляется жизнь. Для этого надо было найти такие витальные краски, которые окрасили бы резервные вещества животного, но были бы безвредны для организма. По изменению количества окрашенного резервного вещества можно было бы судить об интенсивности обмена в высушенном организме.

**Материал.** Объектом для изучения анабиоза при высыхании методом прижизненного окрашивания были избраны тихоходки (Tardigrada). Вести прижизненные наблюдения над тихоходками удоб-

нее, чем над коловратками и нематодами, так как тихоходки мало-подвижны\*.

Известно, что Маркус (4) обнаружил резервное вещество у *Echiniscus* в виде особых клеток, лежащих в полости тела. Эти клетки освобождаются в течение развития животного из эпителия кишечника. При голодании тихоходки число этих клеток уменьшается вследствие израсходования накопленного в них питательного материала. Маркус указывает, что эти клетки имеют шарообразный вид, представляя сжатые в комочки питательные глыбки. Они свободно перемещаются из клеток кишечника в жидкую полость тела.

Для того чтобы установить, расходуется ли это резервное вещество во время пребывания тихоходки в высушенном состоянии, необходимо было найти такие краски, которые окрасили бы их прижизненно.

Тихоходок мы добывали из лишайников рода *Xanthoria* и *Parmelia* и из мхов *Hypnum cupressiforme*. Самыми распространенными в этих пробах оказались следующие виды тихоходок: *Hypsibius oberhaeuseri*, *Macrobiotus huffelandii*, *Milnesium tardigradum*, *Hypsibius dujardini*. Остальные виды встречались очень редко, по 3—4, а иногда по 1 в большом числе проб.

Методика. Лишайники были собраны в течение лета 1947—1948 гг. в районе Змиевской биостанции (Харьковская обл.) и в окрестностях поселка В. Сорочинец, Полтавской обл.

Так как для работы необходимо было большое количество тихоходок, преимущественно использовались лишайники *Xanthoria parietina* и *rgunastri*, в которых в достаточном количестве находились *Hypsibius oberhaeuseri* и *Macrobiotus huffelandii*. Это крупные тихоходки — до 1200 мкм и их дисперсность 3—4 в 2 см<sup>3</sup> воды из лишайника.

Оживление производилось в чашках Петри. Мох смачивался дистиллированной водой или дважды профильтрованной дождевой или снеговой водой, так, чтобы, прижав лишайник к стенке чашки, можно было набрать пипеткой влагу. Оживали тихоходки через час-два, но больше всего их было на второй день. Жидкость (около 2 см<sup>3</sup>) из лишайника

Таблица 1

Оживание окрашенных тихоходок после анабиоза

Число тихоходок в опыте	Род	Число оживших тихоходок	Время высущивания в днях	Время оживания в мин.	Число резервных клеток		% оживших тихоходок
					до высущивания	после высущивания	
15	10 <i>Hypsibius</i> , 5 <i>Macrobiotus</i> . . . . .	1	60	90	150	—	6,6
28	21 " 7 " . . . . .	2	50	80	180	8	7
18	12 " 6 " . . . . .	2	45	85	160	10	11
7	6 " 1 " . . . . .	1	36	60	170	15	13
20	16 " 4 " . . . . .	3	21	45	150	20	15
15	12 " 3 " . . . . .	2	17	30	190	18	18
10	2 <i>Milnesium</i> , 8 <i>Hypsibius</i> . . . . .	2	10	30	180	18	20
10	1 " 1 <i>Macrobiotus</i> , 8 <i>Hypsibius</i> . . . . .	2	10	25	150	20	20

\* Большую помощь в ознакомлении с видовым составом тихоходок и с методикой нахождения их мне оказала М. П. Божко, которая в течение ряда лет занималась систематикой тихоходок (2). Экспериментальной частью работы руководил проф. Н. И. Калабухов.

набиралась пипеткой в часовое стекло, затем тихоходки вылавливались под биноклем капиллярной пипеткой и пересаживались в раствор краски.

Нами ставились опыты с метиленовой синькой, нильской голубой, нильблаусульфат, судан III, лейкобазой и нейтральной красной. Жир, жирные кислоты и липоиды при жизни не удалось окрасить, так как нильблаусульфат и судан III окрашивают лишь фиксированные ткани. Слабые концентрации нильблаусульфат окрашивали тихоходок очень плохо. В растворах большей концентрации тихоходки погибали. Кормить тихоходок глыбками судан III не удалось, потому что тихоходки питаются жидкой пищей.

Положительный результат был получен при окрашивании тихоходок нейтральной красной.

Окрашивание производилось в часовых стеклах в водном растворе. Лучше всего пользоваться бидистиллированной водой. В каждое часовое стекло помещалось по 10—15 тихоходок. Индикатор — нейтральная красная в концентрации 1 : 200 000.

Краска проникает через кишечник тихоходок, но не проникает через кутикулу, которая во время окрашивания остается совершенно прозрачной. Часа через 2—3 после помещения в раствор краски, у тихоходки прокрашивается в красный цвет глотка и затем весь кишечник, через сутки видны слабо прокрашенные розоватые резервные клетки. Через 2—3 дня резервные клетки прокрашиваются хорошо в красный цвет и видны очень ясно. При движении тихоходок они перемещаются под давлением сокращающихся мышечных волокон. Клетки желез (коготочные и слюнные) окрашиваются в фиолетовый цвет, что указывает на кислую среду.

Через двое суток тихоходки под биноклем вылавливались из раствора и рассматривались под микроскопом на предметном стекле. Необходимо заметить, что на стекле после высушивания оживает значительно меньшее число тихоходок (а именно, около 15%), чем на фильтровальной бумаге (беззольном фильтре) (около 30—40%).

До высушивания животные зарисовывались в активном состоянии, причем отмечалось количество запасных клеток. Обычно их 150—200. Они при движении тихоходки передвигаются, как бы обтекая всю полость тела. Окрашенные тихоходки на предметных стеклах высушивались в эксикаторе над хлористым кальцием при температуре  $+14^{\circ}$ ,  $+15^{\circ}$ .

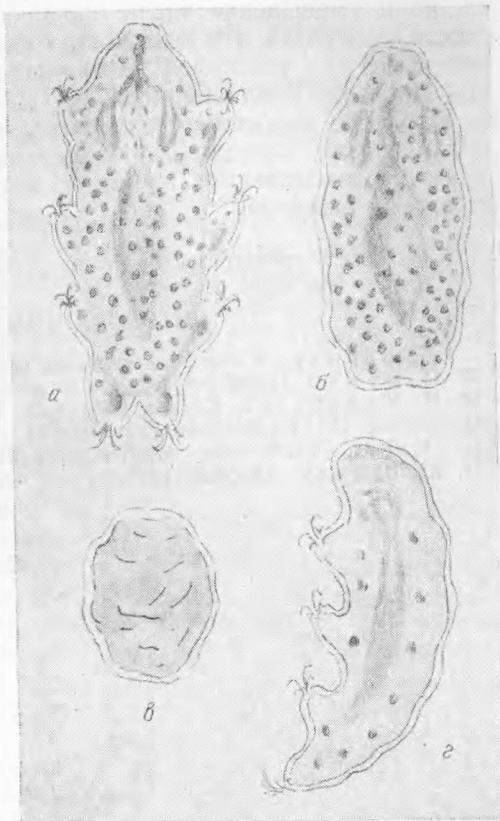


Рис. 1. Тихоходка *Macrobiotus huffelandii* № 2, окрашена нейтральной красной. *a* — после трехдневного пребывания в растворе нейтральной красной; *b* — начало высыхания; *c* — в высушенном состоянии; *d* — после оживания (пробыла в сухом состоянии при  $t + 15^{\circ}$  36 дней)

Результаты исследования. Наши опыты показали прежде всего, что чем больше дней тихоходки были в высушенном состоянии, тем больше времени понадобилось для их оживления (см. табл. 1) и тем меньший процент их ожил. У оживших окрашенных тихоходок произошли существенные изменения. Количество резервных клеток значительно уменьшилось, как после голодания: от 150—180 до 20—10 (см. рис. 1).

Таким образом, результаты этих исследований показали, что в высушенном состоянии у тихоходок в условиях естественного температурного режима жизненные процессы замедлены, но не остановлены. Об этом говорит не только израсходование резервных веществ во время анабиоза, но и уменьшение числа оживающих тихоходок с увеличением периода высыхания. Отсюда можно сделать вывод, что состояние оживания высушенных тихоходок не является настоящим анабиозом в понимании Прейера, Клода Бернара.

Изучение анабиоза окрашенных животных при разных температурных режимах, возможно, позволит ответить на вопрос, происходит ли вообще у высыхающих животных остановка жизни, после которой возможно их оживание.

Харьковский государственный университет  
им. А. М. Горького

Поступило  
9 VII 1949

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> К. Бернар, Жизненные явления, общие животным и растениям, СПб, 1878.
- <sup>2</sup> М. П. Божко, Праці наук.-досл. зоол.-біол. Інституту ХДУ, 1936; там же, 1937.
- <sup>3</sup> Н. И. Калабухов, Спячка животных, 1946.
- <sup>4</sup> E. Marcus, Spinnentiere oder Arachnoidea, IV: Bärtierchen (Tardigrada). Biologie der Tiere Deutschlands, 1928.
- <sup>5</sup> G. Raht, Tardigrada, Bärtierchen. Biologie der Tiere Deutschlands, 1926.
- <sup>6</sup> П. Ю. Шмидт, Анабиоз, 1948.