

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ГЕМОГЛОБИНА И ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ РЫБ

© 2022 г. И. М. Камшилов\*

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,  
пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия

\*e-mail: kim@ibiw.ru

Поступила в редакцию 17.11.2021 г.

После доработки 19.01.2022 г.

Принята к публикации 11.04.2022 г.

Исследованы функциональные свойства гемоглобина у представителей популяций плотвы *Rutilus rutilus* L., язя *Leuciscus idus* L. и леща *Abramis brama* (L.). Впервые в изученных популяциях обнаружено наличие нескольких групп рыб с различными функциональными свойствами гемоглобина: в популяции плотвы – две группы, в популяции язя – тоже две, леща – четыре группы. Это свидетельствует о гетерогенности исследованных популяций рыб по функциональными свойствами гемоглобина.

**Ключевые слова:** сродство гемоглобина к кислороду,  $P_{50}$ , эффект Бора, популяция, *Rutilus rutilus*, *Leuciscus idus*, *Abramis brama*

**DOI:** 10.31857/S032096522205014X

Миллионы лет назад, расселяясь по планете и занимая определенные экологические ниши, виды приспособились обитать в тех условиях, которые наиболее соответствуют их биологическим и, в частности, физиологическим потребностям. Если наземные организмы находятся в относительно стабильных условиях, то гидробионты в большей степени подвержены воздействию различных факторов внешней среды. К наиболее важным абиотическим факторам можно отнести температуру и количество растворенного в воде кислорода. Рыбы обычно обладают множеством компонентов или изоформ гемоглобина, и функциональная неоднородность, обнаруженная у многих видов, по-видимому, связана с изменяющейся физико-химической средой и меняющимися потребностями в кислороде в течение жизненного цикла (Andersen, 2020). Функциональная неоднородность гемоглобинов рыб позволяет многим видам переносить гипоксические условия и изнурительное плавание, а также поддерживать давление газа в плавательном пузыре. Известно, что катодные изоформы гемоглобина имеют высокое сродство к кислороду и низкую чувствительность к изменениям рН, что важно для обеспечения транспорта кислорода, когда рН крови падает во время физических нагрузок и в условиях гипоксии. Для сравнения, анодные изоформы обладают относительно низким сродством гемоглобина к кисло-

роду, а при снижении рН оно еще более снижается (Andersen, 2020).

Виды, занимая определенные пространства, наиболее благоприятные для существования, либо благодаря, либо вопреки каким-то факторам, не приводящим к их гибели, образовали популяции.

В современной биологии популяция рассматривается как элементарная единица процесса эволюции, способная реагировать на изменения среды перестройкой своего генофонда (Яблоков, 1980; Северцов, 2005). Относясь к открытым системам, популяции рыб находятся под постоянным воздействием внешних факторов, оказывающих на нее определенное воздействие (Судаков, 2012). Вместе с тем, популяция в определенном смысле относится и к изолированным системам, скрещивание или обмен генетическим материалом обычно происходит внутри самой популяции (Северцов, 2005).

Сродство гемоглобина к кислороду, а также и концентрация этого газа в воде для конкретного вида рыб служат лимитирующими факторами, определяющими его место обитания. Гемоглобин различных видов рыб способен присоединять и отдавать кислород в тех условиях температуры,  $pO_2$  и других факторов внешней среды, которые характерны для места обитания данного вида в настоящем и, следовательно, в обозримом прошлом (Лукьяненко и др., 1991). Эти факторы играют особую роль, поскольку к ним приспособле-

ны как физиологические, биохимические, так и биологические процессы в организме (Строганов, 1962). Популяция, являясь элементарной единицей эволюции (Северцев, 2005), как и виды рыб, находится под постоянным воздействием различных внешних и внутренних факторов, которые в конечном итоге приводят к выживанию или гибели ее представителей и самой популяции. Таким образом, при относительном постоянстве этих условий можно, с большой долей вероятности, спрогнозировать дальнейшее развитие или деградацию определенной популяции рыб.

Основная константа гемоглобина  $P_{50}$  (особенно водных организмов) находится под сильным давлением естественного отбора, который ведет к выживанию только тех особей вида, у которых гемоглобин имеет достаточно высокое сродство к кислороду, чтобы он мог эффективно связывать его в органах аэрации, но и достаточно низкое, чтобы дыхательный пигмент легко освобождал кислород в дышащих тканях. Это та “золотая середина” в формировании свойств гемоглобина и его  $P_{50}$ , абсолютное значение ее различно для разных видов, обитающих в разных условиях, по достижении которой вид может выжить в том или ином водоеме. Функциональные свойства гемоглобинов разных видов имеют в основе своей особенности молекулярной структуры белковой части молекулы, возникшие в процессе длительной эволюции и закрепленные естественным отбором. Изложенное выше относится и к популяциям рыб.

Исследования функциональных свойств гемоглобина и других переносчиков кислорода у рыб и водных животных должны по праву занимать одно из главенствующих мест в экологической физиологии. Наличие растворенного кислорода — один из основных лимитирующих факторов, определяющих место обитания данного вида и его популяции. В настоящее время данные о влиянии функциональных свойств гемоглобина на популяции рыб в литературе отсутствуют.

Для определения функциональных свойств гемоглобина у леща *Abramis brama* (L.), плотвы *Rutilus rutilus* L. и язя *Leuciscus idus* L. рыб отлавливали разово весной неводом в канале, соединяющемся с Рыбинским водохранилищем у пос. Борок, Ярославская обл. Для исследования отбирали половозрелых особей в количестве  $\geq 40$  экз. леща,  $\geq 40$  экз. плотвы и  $\geq 20$  экз. — язя. Рассматривали рыбу, выловленную в одном месте, что обеспечивало принадлежность каждого вида к своей популяции. По собственным наблюдениям и неопубликованным данным, пол рыбы не влияет на функциональные свойства гемоглобина. Отбор проб крови и получение гемоглобина проводили по стандартной методике, кривые кислородного равновесия получали спектрофотометрически по разработан-

ной ранее методике (Камшилов, 2001). Результаты статистически обрабатывали по критерию Стьюдента.

По величине  $P_{50}$  во всех случаях обнаружены различия, наиболее заметные при рН 6.6 и молярности буферного раствора 0.05M.

У плотвы кривые кислородного равновесия имели выраженную S-образную форму, однако, в исследованной группе находились особи с разным сродством гемоглобина к кислороду. По величине  $P_{50}$  выделились две группы — Г1 (6239.4 Па) и Г2 (7239.3) (рис. 1а). Рыб с более высоким сродством гемоглобина к кислороду было ~10%. В то же время кривые кислородного равновесия были очень схожи по своей форме и инвариантны.

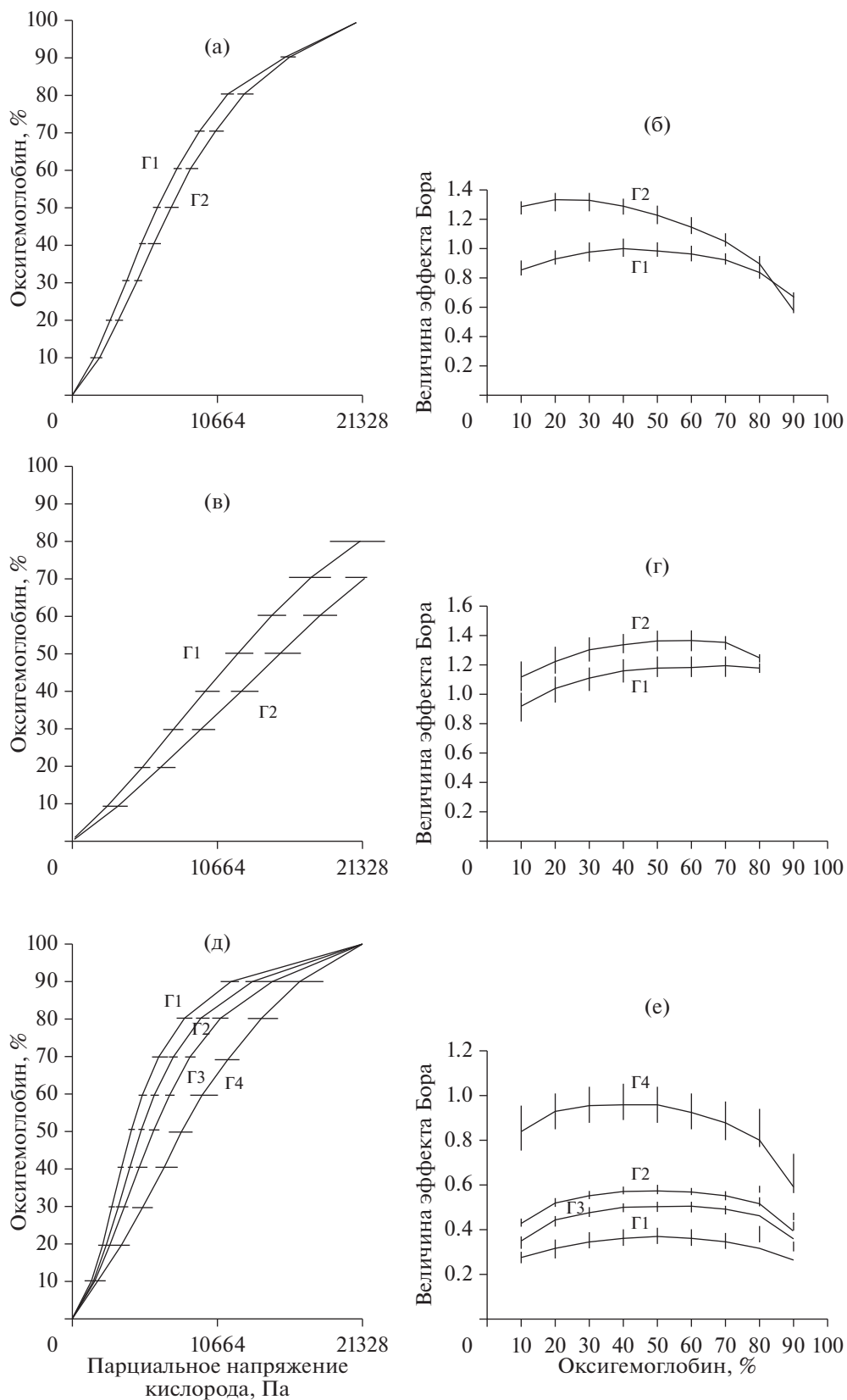
Несколько иная картина выявлена при изучении величины эффекта Бора (рис. 1б). У 10% рыб наблюдали классическую куполообразную форму эффекта Бора, у 90% рыб максимум смещался в сторону более низких значений насыщения гемоглобина кислородом, это может свидетельствовать о воздействии стрессирующего фактора на большую часть рыб из выборки.

Сходные результаты получены и при исследовании величины  $P_{50}$  гемоглобина язя. Рыбы в выборке также разделились на две независимые статистически достоверные группы с  $P_{50}$  12132.1 (Г1) и 15251.8 Па (Г2), однако в этом случае рыб с более высоким сродством гемоглобина к кислороду было значительно больше — ~2 : 1 или 66 : 33%. При этом не происходило полного насыщения гемоглобина кислородом, хотя кривые кислородного насыщения очень сходны (рис. 1в).

По величине эффекта Бора эти две группы язя также отличались друг от друга (рис. 1г), однако по форме кривой величины эффекта Бора были сходны.

Исследование функциональных свойств гемоглобина леща выявило несколько другую картину (рис. 1д). Хотя все кривые кислородного равновесия имели выраженную S-образную форму, выборка разделилась на четыре группы. Величины  $P_{50}$  достигали 8025.9 (Г1), 5919.4 (Г2), 5026.2 (Г3) и 4306.2 Па (Г4) при рН 6.6, т.е. при крайних значениях сродство гемоглобина к кислороду увеличилось в 1.86 раза. Вместе с тем, наибольшее количество рыб обладало более высоким сродством к кислороду — 29%, 42, 14 и 14% соответственно. Сходные различия наблюдались и при исследовании эффекта Бора, в выборке присутствовали те же четыре группы (рис. 1е). Все кривые имели почти классическую куполообразную форму, лишь у четвертой группы максимум сдвинулся в область 40%-ного насыщения гемоглобина кислородом.

В свое время в акватории Рыбинского водохранилища проводили исследования популяций леща



**Рис. 1.** Кривые кислородного равновесия гемоглобина при молярности буферного раствора 0.05M и pH 6.6 (а, в, д) и величина эффекта Бора гемоглобина (б, г, е) плотвы (а, б), язя (в, г), леща (д, е). Г1–Г4 – группы рыб с разным парциальным давлением (пояснение в тексте).

и плотвы. Многолетние исследования миграционного поведения леща (Рыбинское..., 1972; Рыбы..., 2015) показали, что лещ в водохранилище представляет собой единую популяцию, состоящую из локальных стад. По результатам массового мечения (Рыбинское..., 1972; Рыбы..., 2015), все производители леща возвращались для нереста в те реки и участки побережья, где были помечены весной предыдущего года. Авторы считают, что это предопределяет дифференциацию популяции на ряд территориальных группировок, обособленных в период нереста и состоящих из оседлых рыб, а также уходящих далеко от нерестилищ мигрантов. Более подробные комплексные исследования популяции леща (Рыбы ..., 2015) позволили сделать заключение, что существуют две трофические группировки леща, различающиеся по ширине спектра питания, и две этологические группировки этого вида, (номадные). Такие исследования согласуются с нашей точкой зрения, что подтверждается обнаружением четырех групп леща с различными функциональными свойствами гемоглобина. Часть из них находится под воздействием гипоксии, о чем свидетельствует высокое сродство гемоглобина к кислороду (Г1, Г2) (Камшилов, Камшилова, 2019). Также в исследованной популяции обнаружена группа с низким сродством гемоглобина к кислороду (Г4), т.е. живущая при максимальном содержании кислорода. Однако, в выборке присутствует еще одна небольшая группа рыб (Г3), занимающая среднее положение, как по сродству гемоглобина, так и по величине эффекта Бора, что может свидетельствовать о том, что эта группа в данный момент не подвергается воздействию каких-либо физических факторов.

Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что в выборку попали представители как двух трофических, так и двух этологических группировок леща, отличающиеся по месту обитания, и соответственно гидрологическому режиму водоема. Необходимо отметить, что наличие в выборке леща четырех групп рыб с различными функциональными свойствами гемоглобина увеличивает возможность этой популяции выжить при изменении и температуры, и снижении кислорода в водоеме.

По мнению исследователей (Рыбы..., 2015), плотва Рыбинского водохранилища разделена на две экологические расы: прибрежную форму (со смешанным спектром питания) и пойменно-придонную (преимущественно моллюскоядную), различающиеся по комплексу морфологических признаков. Это также согласуется с выделением по результатам настоящего исследования двух групп плотвы, различающихся по функциональным свойствам гемоглобина, на пойменно-придонную или глубоководную группировку (бентофаги) с относительно высоким сродством и прибрежную

(растительноядную) с более низким сродством гемоглобина к кислороду.

Гораздо меньше данных по биологии язя, видимо, потому что он не принадлежит к относительно ценным промысловым речным рыбам. Известно, что пища молоди язя, в основном, представлена зоопланктоном; рыбы старших возрастов питаются преимущественно бентосными насекомыми. Иногда в пище язя попадает и рыба (Никольский, 1971), т.е. при определенных условиях язь может становиться хищником. При этом несколько меняется его образ жизни, он становится более активным, что, в свою очередь, требует несколько больших затрат энергии, а следовательно, и большего потребления кислорода. Известно, что гемоглобин высокоподвижных видов рыб способен легче отдавать кислород тканям против крутого градиента  $O_2$ . Это имеет определенное адаптивное значение, поскольку в активнорыбающих тканях рыб, как и у других позвоночных, происходит интенсивное образование лактата, АТФ, производится больше  $CO_2$  и некоторых других кислых продуктов, которые в конечном счете понижают рН крови, вследствие чего освобождается большая часть связанного им кислорода. Вместе с этим, избыток ионов водорода, представляющих собой, по образному выражению П. Хочачка и Дж. Сомеро (1977), “отрицательный модулятор функции гемоглобина”, способствуя отдаче кислорода тканям, в то же время препятствует насыщению гемоглобина кислородом в жабрах (Weber, Campbell, 2010), что приводит к гипоксии. Однако в выборке язя присутствует две группы рыб, различные свойства гемоглобина которых позволяют популяции выжить при снижении кислорода.

Согласно прогнозам, из-за изменения климата средняя температура пресной воды вырастет на  $4^{\circ}C$ . Повышенная температура вызывает снижение сродства гемоглобина к кислороду, что способствует разгрузке кислорода в тканях, но может быть вредным для связывания кислорода в жабрах. С повышением температуры воды количество растворенного кислорода уменьшается, а метаболическая потребность в нем увеличивается (Val et al., 2016). При таких изменениях выживут популяции, в которых присутствует несколько групп, обладающих различными функциональными свойствами гемоглобина.

**Выводы:** Итак, функциональные свойства гемоглобина способны влиять на популяции рыб. В исследованной группе плотвы находились особи с разным сродством гемоглобина к кислороду. По величине  $P_{50}$  выделились две группы. В выборке язя присутствовали также две группы рыб, позволяющие популяции выжить и при потеплении, и при похолодании. Наличие в выборке леща четырех групп рыб с различными функциональными свой-

ствами гемоглобина также увеличивает возможность этой популяции выжить и при изменении температуры, и снижении кислорода в водоеме.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках темы АААА-А18-118012690123-4.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Камшилов И.М.* 2001. Методика определения функциональных свойств у рыб (влияние метгемоглобина и АТФ) // Биология внутр. вод. № 1. С. 96.
- Камшилов И.М., Камшилова Т.Б.* 2019. Функциональные свойства гемоглобина леща *Abramis brama* и карася *Carassius carassius* при гипоксии // Вопр. ихтиологии. Т. 59. № 3. С. 369. <https://doi.org/10.1134/S0042875219020103>
- Лукьяненко В.И., Васильев А.С., Лукьяненко В.В.* 1991. Гетерогенность и полиморфизм гемоглобина рыб. Санкт-Петербург: Наука.
- Никольский Г.В.* 1971. Частная ихтиология. Москва: Наука.
- Рыбинское водохранилище и его жизнь. 1972. Ленинград: Наука.
- Рыбы Рыбинского водохранилища: популяционная динамика и экология. 2015. Ярославль: Филигрань. ISBN 978-5-906682-31-4.
- Северцов А.С.* 2005. Теория эволюции. Москва: Владос. ISBN 5-691-01354-8.
- Строганов Н.С.* 1962. Экологическая физиология рыб. Т. I. Москва: Москов. гос. ун-т.
- Судаков Г.А.* 2012. Популяция рыб как динамическая система с элементами саморегуляции // Юг России: экология, развитие. № 7(2). С. 56. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2012-2-56-59>
- Хочачка П., Сомеро Дж.* 1977. Стратегия биохимической адаптации (Peter W Hochachka, George N. Somero Strategies of Biochemical Adaptation. Saunders, 1973) Москва: Мир.
- Яблоков А.В.* 1980. Фенетика: эволюция, популяция, признак. Научно-популярная серия АН СССР. Москва: Наука.
- Andersen Ø.* 2020. Multiplicity and Polymorphism of Fish Hemoglobins. In: Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins. Eds. Hoeger U., Harris J.R. Switzerland: Springer Nature. P. 323–344. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-41769-7>
- Val A.L., Paula-Silva M. de N., Almeida-Val V.M.F., Wood C.M.* 2016. In vitro effects of increased temperature and decreased pH on blood oxygen affinity of 10 fish species of the Amazon // J. Fish Biol. V. 89. P. 264. <https://doi.org/10.1111/jfb.13009>
- Weber R.E., Campbell K.L.* 2010. Temperature dependence of haemoglobin-oxygen affinity in heterothermic vertebrates: mechanisms and biological significance // Acta Physiologica. V. 202. P. 549.

## Functional Properties of Hemoglobin and Heterogeneity of Fish Populations

I. M. Kamshilov\*

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,  
Borok, Nekouzskii raion, Yaroslavl oblast, Russia*

\*e-mail: kim@ibiw.ru

The functional properties of hemoglobin were studied in some representatives of the populations of roach *Rutilus rutilus* L., ide *Leuciscus idus* L., and bream *Abramis brama* (L.). For the first time in the studied populations, the presence of several groups of fish with different functional properties was found, namely, in the roach population, two groups were found, ide – two groups and bream – four groups of fish, which indicates the heterogeneity of the studied fish populations in terms of these vital parameters.

*Keywords:* affinity of hemoglobin for oxygen, P<sub>50</sub>, Bohr effect, roach *Rutilus rutilus* L., ide *Leuciscus idus* L., bream *Abramis brama* (L.), population