

КРАТКИЕ
СООБЩЕНИЯ

УДК 597.554.3.591.111.2

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ГЕМОГЛОБИНА ЛЕЩА
ABRAMIS BRAMA И КАРАСЯ *CARASSIUS CARASSIUS* ПРИ ГИПОКСИИ

© 2019 г. И. М. Камшилов¹, *, Т. Б. Камшилова¹

¹Институт биологии внутренних вод РАН – ИБВВ, пос. Борок, Ярославская область, Россия

*E-mail: kim@ibiw.yaroslavl.ru

Поступила в редакцию 02.04.2018 г.

После доработки 23.05.2018 г.

Принята в печать 23.05.2018 г.

Исследовано влияние внешней гипоксии на функциональные свойства гемоглобинов карася *Carassius carassius* и леща *Abramis brama*. Выявлено увеличение сродства гемоглобина к кислороду и величины эффекта Бора под воздействием внешней гипоксии.

Ключевые слова: карась *Carassius carassius*, лещ *Abramis brama*, гипоксия, сродство гемоглобина к кислороду, эффект Бора.

DOI: 10.1134/S0042875219020103

Гипоксия – это такое состояние, когда к тканям не поступает достаточное количество кислорода, что приводит к угнетению жизненных процессов и нередко к гибели. В работах, посвящённых изучению этого состояния, объектом, как правило, являются представители семейства Salmonidae (Gold et al., 2015) и рассматриваются в основном проблемы, либо связанные с внешней гипоксией, а именно низким pO_2 в водоёме (McKenzie et al., 2004), изменениями в жабрах (Matey et al., 2008) и гематологических показателей (Gaulke et al., 2014), либо связанные с действием органических фосфатов (Val et al., 1984, 2015; Monteiro et al., 1987; Val, 2000; Rutjes et al., 2007) и катехоламинов (Thomas, Gilmour, 2012). А исследований влияния гипоксии на функциональные свойства гемоглобинов рыб практически нет.

Цель работы – изучить влияние внешней гипоксии на функциональные свойства и спектральные характеристики гемоглобинов карася *Carassius carassius* и леща *Abramis brama*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа проведена на особях карася (массой 80–120 г) и леща (250–350 г), отловленных в естественном водоёме. Контрольную пробу крови (норма) брали непосредственно на берегу сразу после отлова. Экспериментальных рыб содержали в бассейнах объёмом 600–700 л в течение двух недель с нормальной продувкой воздухом, затем подачу воздуха прекращали для карася и уменьшали для леща. Концентрация кислорода в бассейнах с карасём и лещом снижалась соответ-

ственно до ~ 2.5 и 3.5 мг/л. Карася выдерживали в таких условиях 40 сут., леща – 20 сут. Отбор проб крови и получение гемоглобина проводили по стандартной методике, кривые кислородного равновесия получали спектрофотометрически по разработанной ранее методике (Камшилов, 2001).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Под воздействием гипоксии форма кривой кислородного равновесия гемоглобина карася изменяется, переходя от S-образной к гиперболической, что особенно хорошо заметно при pH 7.2 и обеих молярностях буферной системы 0.005 и 0.05 М (рис. 1). Несколько иная картина наблюдается у леща. В норме при pH 6.6 и молярности 0.05 М эта кривая имеет практически прямую форму, при гипоксии становится S-образной, а при pH 7.2 переходит в гиперболу (рис. 2а). При 0.005 М и pH 7.2 у леща нарушается процесс дезоксигенации: гемоглобин дезоксигенируется только на 67% (рис. 2б). Все исследованные кривые неинвариантны, т.е. не могут быть трансформированы друг в друга. У обоих исследуемых видов рыб под воздействием гипоксии значительно увеличивается сродство гемоглобина к кислороду: у карася при 0.005 М и pH 7.2 и 6.6 сродство увеличивается соответственно в 3.4 и 2.5 раза, а при 0.05 М – в 3.1 и 1.5 раза; у леща – соответственно в 3.7 и 1.5 и в 3.9 и 1.9 раза.

Величина эффекта Бора у исследованных видов рыб под воздействием гипоксии увеличивается по-разному. У карася при 0.005 М происходит незначительное увеличение, тогда как при 0.05 М эф-

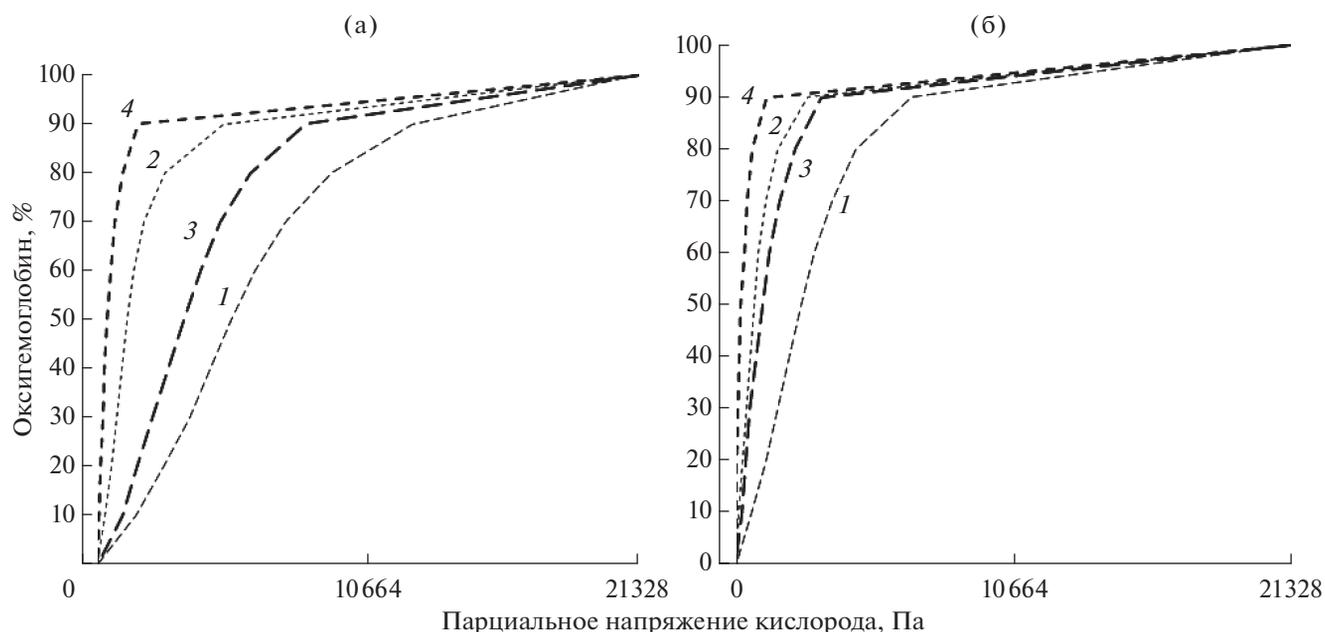


Рис. 1. Кривые кислородного равновесия гемоглобина карася *Carassius carassius* в нормальных условиях и под воздействием гипоксии при молярности буферного раствора 0.05 М (а) и 0.005 М (б): 1 – норма, рН 6.6; 2 – норма, рН 7.2; 3 – гипоксия, рН 6.6; 4 – гипоксия рН 7.2.

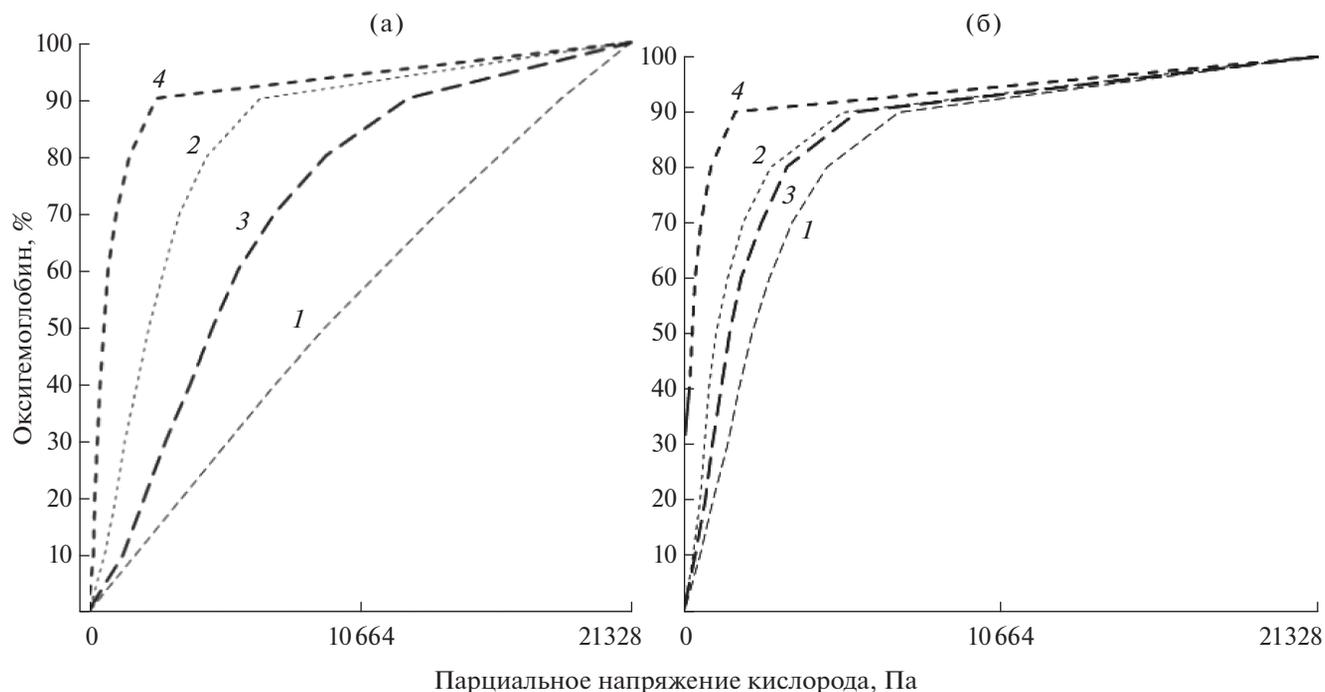


Рис. 2. Кривые кислородного равновесия гемоглобина леща *Abramis brama* в нормальных условиях и под воздействием гипоксии при молярности буферного раствора 0.05 М (а) и 0.005 М (б); обозначения см. на рис. 1.

фект увеличивается в 1.8 раза (рис. 3). При этом в норме изменение молярности не оказывает значимого влияния на величину эффекта Бора гемоглобина карася – кривые практически полностью сов-

падают. Несколько иная картина наблюдается у кривых эффекта Бора гемоглобина леща (рис. 4). При обеих молярностях буферного раствора воздействие гипоксии приводит к увеличению эффек-

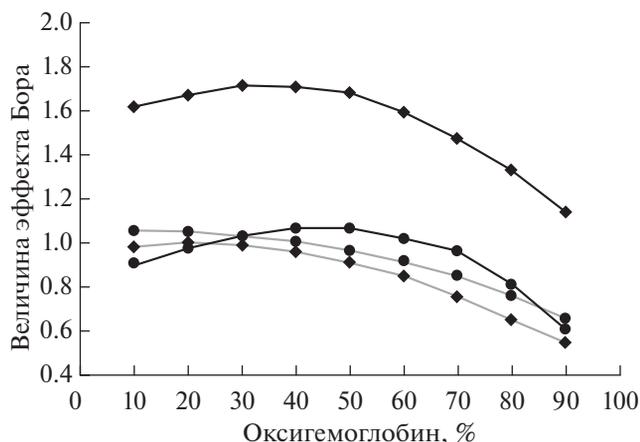


Рис. 3. Величины эффекта Бора гемоглобина карася *Carassius carassius* в нормальных условиях (—) и под воздействием гипоксии (—) при молярности буферного раствора 0.05 М (◆) и 0.005 М (●).

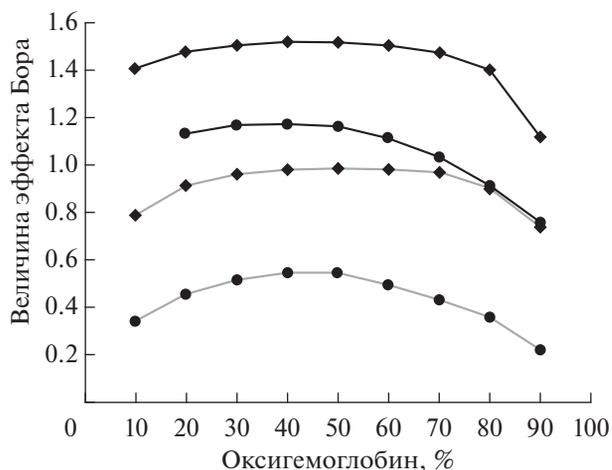


Рис. 4. Величины эффекта Бора гемоглобина леща *Abramis brama*; обозначения см. на рис. 3.

та Бора тем более выраженному, чем меньше молярность: при 0.005 М эффект увеличился в 2.1 раза, а при 0.05 М – в 1.5 раза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Карась населяет болотистые пруды, заросшие водной растительностью озёра, участки рек с медленным течением; может жить при очень низком содержании кислорода в воде (Никольский, 1971; Вилер, 1983; Шатуновский и др., 1988). Кроме того, хорошо переносит низкую температуру и загрязнение водоёмов органическими сточными водами (Вилер, 1983). Лещ также населяет водоёмы со слабым течением. В реках живёт в омутах или заливах, в водохранилищах придерживается наиболее глубоких русловых участков. Обычно встречается у дна на илистых и песчанно-илистых грунтах. Ведёт оседлый образ жизни, совершая лишь ограниченные перемещения, связанные с нагулом, нерестом и зимовкой (Шатуновский и др., 1988). Если карась может жить в водоёмах с очень низким (0.5–2.0 мг/л) содержанием кислорода (Садыкова, 2016) и даже переходить на анаэробный тип энергообеспечения (Гулевский и др., 2007), то лещ выживает только при содержании кислорода в придонных слоях не ниже 3.5–4.0 мг/л летом и 2.5 мг/л зимой (Кожина, 1956).

Пертнер и Кнуст (Pörtner, Knust, 2007) обнаружили, что крупные рыбы более чувствительны к недостатку кислорода, чем мелкие особи. В нашем случае исследованные караси были значительно меньше лещей. Известно также (Wells, 2009), что более активные рыбы менее приспособлены к внешней гипоксии, обитают в хорошо активированных водоёмах и способны испытывать внутреннюю или функциональную гипоксию,

происходящую при длительных чрезмерных нагрузках; как правило, они обладают высокой способностью получать кислород при относительно низком сродстве гемоглобина к кислороду, которое модулируется при помощи АТФ. Противоположная картина наблюдается у рыб, ведущих спокойный образ жизни и обитающих в условиях гипоксии.

У карася, находящегося в близком к гибели состоянии, происходит резкое снижение сродства гемоглобина к кислороду (величина P_{50} при рН 7.2 увеличивается почти в 3.0 раза, при рН 6.6 – более чем в 1.6 раза), что, по-видимому, свидетельствует о смещении равновесия между ионами магния и АТФ в сторону увеличения последнего (Камшилов, 2017). Однако гипоксия оказывает совершенно противоположное действие. Это свидетельствует о том, что у гемоглобина карася имеются некоторые механизмы, при помощи которых он может относительно долгое время находиться в условиях дефицита кислорода. Об этом свидетельствует высокое сродство гемоглобина к кислороду. Если при уменьшении молярности буферного раствора в 10 раз у гемоглобина леща при гипоксии наблюдается нарушение процесса дезоксигенации, то у карася таких нарушений нет, хотя сродство гемоглобина выше, чем у леща (P_{50} 1.6 против ~ 293.3 Па). Следует также отметить, что в процессе акклимации к низкому содержанию кислорода рыбы долгое время оставались без пищи, что привело к постепенному расходованию АТФ и в конце концов к значительному смещению равновесия между содержанием ионов магния и макроэргом в сторону Mg^{2+} . Примечательно, что у гемоглобина леща, как и у большинства исследованных нами ранее видов рыб, величина эффекта Бора при гипоксии при обеих молярностях статистически значимо увеличивается, тогда

как у гемоглобина карася при 0.005 М он практически не изменяется.

Таким образом, воздействие гипоксии на функциональные свойства гемоглобинов карася и леща вызывает значительное увеличение сродства гемоглобина к кислороду и возрастание величины эффекта Бора.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вилер А. 1983. Определитель рыб морских и пресных вод североевропейского бассейна. М.: Лег и пищ. пром-сть, 432 с.
- Гулевский А.К., Релина Л.И., Жегунова Е.Г. и др. 2007. Роль гликолиза при холодовой адаптации карася серебряного *Carassius auratus gibelio* // Проблемы криобиологии. Т. 17. № 1. С. 64–70.
- Камшилов И.М. 2001. Методика определения функциональных свойств у рыб (влияние метгемоглобина и АТФ) // Биология внутр. вод. № 1. С. 96–101.
- Камшилов И.М. 2017. Функциональные свойства гемоглобина карася *Carassius auratus* перед гибелью // Вопр. ихтиологии. Т. 57. № 6. С. 755–758.
- Кожина Е.С. 1956. Наблюдения над ранними стадиями жизни леща в Миккельском озере и Крошнозере // Тр. Карел. филиала АН СССР. Т. 2. С. 164–187.
- Никольский Г.В. 1971. Частная ихтиология. М.: Высш. шк., 427 с.
- Садыхова И.А. 2016. Санитарные условия для рыбохозяйственных водоемов. Уфа: БашГАУ, 18 с.
- Шатуновский М.И., Огнев Е.Н., Соколов Л.И. и др. 1988. Рыбы Подмосковья. М.: Наука, 143 с.
- Gaulke G.L., Dennis C.E., Wahl D.H. et al. 2014. Acclimation to a low oxygen environment alters the hematology of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) // Fish Physiol. Biochem. V. 40. № 1. P. 129–140. doi 10.1007/s10695-013-9830-6
- Gold D.K., Loirat T., Farrell A.P. 2015. Cardiorespiratory responses to haemolytic anaemia in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* // J. Fish Biol. V. 87. № 4. P. 848–859. doi 10.1111/jfb.12742
- Matey V., Richards J.G., Wang Y. et al. 2008. The effect of hypoxia on gill morphology and ionoregulatory status in the Lake Qinghai scaleless carp, *Gymnocypris przewalskii* // J. Exp. Biol. V. 211. P. 1063–1074.
- McKenzie D.J., Wong S., Randall D.J. et al. 2004. The effects of sustained exercise and hypoxia upon oxygen tensions in the red muscle of rainbow trout // Ibid. V. 207. P. 3629–3637.
- Monteiro P.J.C., Val A.L., Almeida-Val V.M.F. 1987. Biological aspects of Amazonian fishes. Hemoglobin, hematology, intraerythrocytic phosphates and whole blood Bohr effect of *Mylossoma duriventris* // Can. J. Zool. V. 65. P. 1805–1811.
- Pörtner H.O., Knust R. 2007. Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance // Science. V. 315. P. 95–97.
- Rutjes H.A., Nieveen M.C., Weber R.E. et al. 2007. Multiple strategies of Lake Victoria cichlids to cope with lifelong hypoxia include hemoglobin switching // Amer. J. Physiol. V. 293. P. 1376–1383.
- Thomas J.B., Gilmour K.M. 2012. Low social status impairs hypoxia tolerance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // J. Comp. Physiol. V. 182B. № 5. P. 651–662. doi 10.1007/s00360-012-0648-9
- Val A.L. 2000. Organic phosphates in the red blood cells of fish // Comp. Biochem. Physiol. V. 125A. P. 417–435.
- Val A.L., Almeida-Val V.M.F., Schwantes A.R. et al. 1984. Biological aspects of Amazonian fishes I. Red blood cell phosphates of schooling fishes (genus *Semaprochilodus*: Prochilodontidae) // Ibid. V. 78B. P. 215–217.
- Val A.L., Gomes K.R.M., Almeida-Val V.M.F. 2015. Rapid regulation of blood parameters under acute hypoxia in the Amazonian fish *Prochilodus nigricans* // Ibid. V. 184A. P. 125–131.
- Wells R.M.G. 2009. Blood-gas transport and hemoglobin function: adaptations for functional and environmental hypoxia // Fish Physiology. V. 27. Hypoxia / Eds. Farrell A.P., Brauner C.J.N. Y.: Acad. Press. P. 255–299.