

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ОРДЕНА ЛЕНИНА ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМ. А. Н. БАХА

На правах рукописи

СИДОРОВ ВИКТОР СЕРГЕЕВИЧ

УДК 577.115+597.05+591.5+
+597.553+577.151+574.24

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
БИОХИМИИ РЫБ

03.00.04 - биологическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
на соискание ученой степени
доктора биологических наук

МОСКВА 1986

Работа выполнена в лаборатории биохимии Института биологии Карельского филиала АН СССР (г.Петрозаводск).

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор Ю.Б.ФИЛИППОВИЧ
доктор биологических наук,
профессор П.А.КАЛИМАН
доктор биологических наук
Ю.Г.ЮРОВИЦКИЙ

Ведущая организация: Институт эволюционной физиологии и биохимии им.И.М.Сеченова АН СССР.

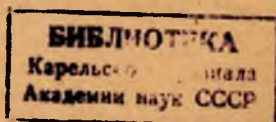
Защита диссертации состоится ".....*декабрь*..... 1986 г.-
в 10 часов на заседании специализированного совета Д002.96.01
по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора
наук при Институте биохимии им.А.Н.Баха АН СССР (117071,
Москва, Ленинский проспект, 33, корпус 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке биологической литературы АН СССР (Москва, Ленинский проспект, 33, корпус 1).

Автореферат разослан "....." 1986 года.

124197к

Ученый секретарь
специализированного совета
доктор химических наук



К.Л.ГЛАДИЛИН

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Постановка проблемы и ее актуальность. Экологическая биохимия и эволюционная биохимия тесно связаны между собой, поскольку предметом их изучения являются те биохимические принципы, которые лежат в основе механизмов адаптации различных организмов к меняющимся условиям среды и которые выработывались на протяжении длительной эволюции, придавая каждому виду определенное своеобразие на фоне каких-то общих, постоянных для каждого крупного таксона химических особенностей. Иначе говоря, эволюционная и экологическая биохимия имеют одни и те же главные задачи: объяснить возникновение, природу и целесообразность биохимических адаптаций. Если эволюционная биохимия рассматривает в основном генетически устойчивые, отобранные в процессе эволюции, характерные для многих видов, входящих в крупный таксон, биохимические особенности, позволяющие этим таксонам существовать в широко масштабной экологической нише, то экологическая биохимия имеет дело прежде всего с фенотипической изменчивостью биохимического статуса и динамики живых организмов, адекватно соответствующей любым изменениям внешней среды и определяющей нормальные пределы их адаптивных возможностей на биохимическом уровне (Крепс, 1981; Хочачка, Сомеро, 1977). Однако конкретных данных, развивающих эти направления в биохимии применительно к классу рыб еще очень мало. Поэтому сравнительно-эволюционные и сравнительно-экологические исследования в области биохимии рыб еще долгие годы будут иметь актуальный характер (Крепс, 1981; Love, 1970, 1980).

Как известно, рыбы – древнейшие позвоночные животные на Земле. Количество семейств, родов и видов в классе рыб заметно превышает эти значения у других позвоночных. Из 40 тыс. позвоночных, известных к настоящему времени, на долю рыбообразных и рыб приходится 20 тысяч видов. Как отмечал Н.С.Строганов (1972), эволюция в классе рыб методом "проб и ошибок" отбирала многие из тех морфологических и физиологических принципов, которые затем развились и приобрели окончательное выражение в других классах позвоночных. Этот вы-

вод можно распространить и на возникновение и эволюцию химической организации позвоночных животных, так как современные достижения биологии позволяют считать, что в основе морфологии и физиологии живых существ лежит определенное своеобразие их "химической организации во времени и пространстве" (Опарин, 1977).

Эволюционному подходу в изучении биохимии живых организмов уделяли внимание многие известные отечественные и зарубежные исследователи (Благовещенский, 1950; Крепс, 1932, 1967, 1981; Пасынский, 1959; Красновский, 1959; Белозерский, 1959; Павловская, 1960, 1975; Егоров, 1975; Коржнев, 1964, 1971; Кулаев, 1975; Мосолов, 1971; Лызлова, 1974; Ванюшин, 1972; Поглазов, 1970; Антонов, 1973, 1974; Островский, 1973; Медников, 1974, 1980; Аврора, 1980; Florkin, 1945; Haelewood, 1967; Margulis, 1981; Подчеркнуты фамилии тех ученых, которые занимались эволюционной биохимией рыб). Традиционен интерес советских биохимиков к проблемам экологической биохимии растений (Иванов, 1928; Кретович, 1945, 1973; Курсанов, 1938, 1976; Сисякян, 1940, 1954; Бокучава, 1958; Джемухадзе, 1958; Прокошев, 1947; Шмук, 1951; Вартапетян, 1970; Кулаева, 1973 и др.), в то время как зарубежные ученые большее предпочтение отдавали проблемам экологической биохимии животных (Lovegn, 1934-1941; Love, 1970, 1980; Prosser, 1975; Hochachka, Somero, 1973 et al.).

Биохимия рыб (особенно эволюционная и экологическая) интенсивно используется в настоящее время при решении различных теоретических и практических вопросов в ихтиологии и гидробиологии (Строганов, 1962; Романенко, 1978; Шатуновский, 1980; Шульман, 1972; Наточин, 1976, 1982 и др.). С другой стороны, в связи с усилением антропогенного влияния на природу наблюдается "экологизация" многих биологических наук, в том числе и биохимии (Барбье, 1978; Харборн, 1985; Лукьяненко, 1983).

ИПСС и Советское правительство наметило в своих решениях по Продовольственной Программе и охране природы те мероприятия, которые способствовали бы дальнейшему подъему рыбного хозяйства страны. Необходимость более энергичного

проведения их в жизнь подтверждена в итогах XXII съезда КПСС.

В советской науке, занимающейся изучением рыб и других водных организмов, большое внимание при этом отводится биохимическому тестированию физиологического состояния организма рыб при искусственном выращивании (Романенко и др., 1980; 1982; Сорвачев, 1982; Баранникова, 1975; Щербина, 1973; Рыжков, 1976; Воробьев, 1979; Аминова, Яржомбек, 1984 и др.), при действии разнообразных токсикантов (Лукьяненко, 1967; 1980; Маляревская, 1973, 1979; Биргер, 1979; Флеров, 1979; Путинцев, 1981 и др.), при различных заболеваниях, в том числе и гельминтозах (Шишова-Касаточника, Леутская, 1979; Факторович, 1984 и др.). Однако действительному решению многих проблем практической ихтиологии мешает слабое еще развитие фундаментальных исследований в области биохимии рыб, в частности, недостаточно интенсивно используются для изучения рыб теоретические и методические достижения современной биохимии. Эти недостатки отмечались практически на всех всесоюзных конференциях по экологической физиологии и биохимии рыб (Москва, 1973; Киев, 1976; Астрахань, 1979; Севастополь, 1982; Паланга, 1985).

Цель и задачи работы. Главной целью работы является обнаружение причинно-следственных связей между действующим фактором (экологическим, эколого-физиологическим или патогенным) и количественной изменчивостью отдельных компонентов биохимического статуса пресноводных рыб, относящихся к разным семействам, а также выяснение адаптационного смысла найденных зависимостей, что должно составить основу для разработки главных принципов эволюционной и экологической биохимии рыб.

На методической основе, включающей последовательное применение единой системы методов, было задумано провести широкое сравнительное изучение количественной изменчивости некоторых статических показателей липидного и азотистого обмена (суммарных липидов, запасных липидов - триацилглицеринов и эфиров холестерина, мембранных липидов - суммарных фосфолипидов и отдельных их групп, холестерина, высших жирных и желчных кислот, свободных и связанных аминокислот, во-

дорастворимых и мембранных белков, активности лизосомальных ферментов, изоферментов лактатдегидрогеназы) под влиянием: 1) таксономического положения рыб; 2) их физиологических особенностей (размера, веса, пола, стадий жизненного цикла — эмбриогенеза и зрелости гонад), 3) экологических факторов (сезонности, типа водоема, годовых гидрологических и гидро-биологических флуктуаций в водоеме), 4) рыбоводных факторов (условий содержания рыб при их искусственном выращивании), 5) патогенных факторов (гельминтозы, некроз плавников), 6) факторов антропогенного происхождения (загрязненности водоемов отходами целлюлозно-бумажного производства, действия отдельных токсических компонентов, входящих в эти отходы, в условиях острого, подострого и хронического аквариального эксперимента).

При этом мы исходили из допущения, что оценка количественной изменчивости разных биохимических компонентов, отражающих состояние липидного и азотистого обмена, при изучении одного фактора, и, наоборот, изучение одного биохимического показателя при действии многих факторов позволит лучше понять адаптационное значение и смысл эколого-физиологической и таксономической вариабельности биохимического статуса рыб.

Теоретическая значимость и научная новизна. Впервые проведено по единой методической схеме систематическое исследование изменчивости химического состава пресноводных рыб Севера в зависимости от их филогенетического положения и действия экологических, эколого-физиологических, рыбоводных и патогенных факторов. В результате сформулированы следующие выносимые на защиту основные положения.

По степени фенотипической изменчивости содержания в организме все изученные в работе вещества делятся на две группы: более изменчивые (запасные липиды — триацилглицерины и эфиры холестерина, желчные кислоты, жирные кислоты запасных и мембранных липидов, свободные аминокислоты, водорастворимые белки, множественные формы кислой фосфатазы, изоферменты лактатдегидрогеназы, лизосомальные ферменты — кислые ДНКазы, РНКазы, фосфатаза, катепсины), адекватно

реагирующие на эколого-физиологические факторы, и менее изменчивые (мембранные липиды и белки, связанные аминокислоты), заметно изменяющие свое содержание лишь при сильной патологии. Постулируется, что вторая группа веществ имеет более древнее происхождение, чем первая.

Установлено, что широкая экологическая и эколого-физиологическая изменчивость содержания триацилглицеринов и эфиров холестерина определяется их ролью как запасных энергетических источников. Триацилглицерины имеют более древнее происхождение, чем эфиры холестерина, что вытекает из их преобладания у филогенетически более молодых рыб и их важного значения как источника холестерина, идущего на синтез желчных кислот и стероидных гормонов.

Подтверждается общая закономерность (ранее установленная для мембран клеток нервной системы) об уменьшении в мембранах лизосом доли фосфатидилхолина при соответствующем увеличении доли сфингомиелина в эволюционном ряду позвоночных — от рыб к млекопитающим. Хотя и отмечается достаточно высокая стабильность в соотношениях отдельных фосфолипидов, что характеризует высокий консерватизм биомембран, впервые для пресноводных рыб установлено незначительное, но достоверное изменение содержания некоторых фосфолипидов (например, фосфатидилэтаноламина) при изменении условий внешней среды. Особенно сильные изменения в фосфолипидном составе (с появлением лизофосфолипидов) отмечены при экстремальных экологических и патогенных воздействиях.

Впервые обращено внимание на то, что структурное единство соотношений жирных кислот в тканях рыб и в ее кормовых организмах, характерное для природных условий и отвечающее постулату — чем ниже температура среды, тем выше общая насыщенность липидов, нарушается при выращивании рыбы в искусственных условиях, что может ухудшать физиологическое состояние рыбы и быть причиной появления у нее разнообразных заболеваний. Обнаружены новые факты, когда с понижением температуры среды у эктотермных организмов не наблюдается адекватного повышения насыщенности мембранных липидов (у плероцеркоидов широкого лентеца и др.), что находит экологи-

физиологическое обоснование в целесообразности такой необычной реакции организма.

Сформулирована общая зависимость состава желчных кислот от типа питания животного: чем однообразней состав пищи, тем монотоннее состав желчных кислот в желчи или применительно к рыбам — тем выше доля холевой кислоты в желчи. На основе собственного и литературного материала по распространению желчных кислот у животных выдвигается гипотеза об эволюционных путях происхождения их разнообразия.

Проведено широкое сравнительно-биохимическое изучение лизосом (белкового и фосфолипидного составов их мембран, свободной и общей активности кислых гидролаз) у животных, относящихся к разным типам и классам (черви, позвоночные — рыбы, птицы, млекопитающие). Большое сходство их химических составов у разных животных свидетельствует об очень древнем происхождении лизосом. Высокая и адекватная действующим факторам изменчивость свободной и общей активности лизосомальных ферментов (независимая друг от друга) говорит в пользу важного значения лизосом как высоко специализированных внутриклеточных надмолекулярных инструментов адаптации клеток к меняющимся условиям среды. Дано экспериментальное и теоретическое обоснование принципиальной возможности использования инкубирования изолированных из клеток органелл (например, лизосом) в присутствии токсических веществ в качестве теста для определения их ПДК (предельно-допустимых концентраций).

Впервые показана для рыб Карелии и их гельминтов широкая вариабельность пула свободных аминокислот по сравнению с пулом связанных аминокислот под влиянием самых разнообразных экологических факторов. Установлено, что в участках ткани, окружающих паразитического гельминта, уменьшается содержание свободных незаменимых аминокислот, что при сильном заражении паразитами может нанести вред хозяину. Показано, что химический состав гельминта реагирует не только на среду I порядка (хозяина), но среду II порядка (внешнюю среду для хозяина). Найденные закономерности могут иметь важное значение для понимания интимных взаимоотношений между паразитом и хозяином, а также для поиска антигельминтных

препаратов и средств, смягчающих отрицательное воздействие паразита на организм хозяина (рыбы).

Практическое значение работы. Сформулированные в диссертации положения и результаты могут быть использованы для решения широкого круга практических вопросов в рыбоводстве, ихтиотоксикологии, водной таксикологии, паразитологии (гельминтологии) и охране природы. Перспективным этом отношении представляется определение соотношения жирнокислотных остатков в запасных и мембранных липидах, отражающих полноценность кормов особенно по содержанию в них незаменимых жирных кислот и степень модификации экзогенных соотношений жирных кислот организмом применительно к температурным условиям; лизолецитина как неспецифического теста на многие стрессовые воздействия (токсические вещества, патогенные факторы - гельминты и др.); свободной и общей активности лизосомальных ферментов как показателей физиологического состояния организма рыбы при нерестовом голодании, зимовке, реакции на токсические вещества (особенно детергентной природы); множественных форм кислой фосфатазы, изоферментов ЛДГ и соотношений катепсинов как показателей отклонений в процессе оогенеза и эмбриогенеза, а также степени развития токсикозов и других заболеваний у рыб; триацилглицерина и эфиров холестерина в качестве теста при оценке "качества" икры в рыбоводных работах; коэффициента вариабельности холатного показателя для оценки физиологического состояния рыб в естественных водоемах, загрязненных сточными водами целлюлозно-бумажного и, возможно, других производств.

Практическая реализация полученных результатов осуществлялась через отраслевые институты Министерства рыбного хозяйства СССР (СевРыбНИИПроект, г.Петрозаводск; ПИРО, г.Мурманск; ВНИО по рыбоводству, г.Дмитров; Астраханский РыбВТУЗ, г.Астрахань; Осетровый институт, г.Астрахань) путем выполнения хозяйственных и договоров о содружестве. Практиковалось также внедрение разработанных методов в практику путем обучения представителей университетов, отраслевых и академических институтов биохимическим методам, апробированным применительно к рыбам. Так, методическую

стажировку в лаборатории биохимии прошли сотрудники СевРыбНИИПроекта, Калининградского и Астраханского РыбВТУЗов, ГосНИОРХа (г. Ленинград), ПИПРО (г. Мурманск), Осетрового института (г. Астрахань), института биологии АН Латвийской ССР, Польской народной республики, студенты биофака Петрозаводского и Ярославского университетов, естественно-географического факультета Петрозаводского педагогического института. Результаты настоящей работы оказались полезными и при оперативном решении острых вопросов, с которыми к нам обращались рыбохозяйственные организации Карелии (выяснение причин массовой гибели молоди радужной форели на Крошнозерском рыбокомбинате; появление налета на поверхности скумбрии при ее засолке, мешающего копчению и ухудшающего товарный вид рыбы; в арбитражных спорах, выясняющих степень виновности предприятий, выбрасывающих токсические продукты в водоемы, что приводило к массовой гибели рыбы). Полученные в диссертации и опубликованные в статьях и монографии материалы широко используются в курсах физиологии и биохимии рыб в Астраханском и Калининградском РыбВТУЗах, биофаке Калининградского и Петрозаводского университетов, на кафедре гидробиологии биофака МГУ, на заочных курсах повышения квалификации рыбоводов.

Апробация работы. Материалы диссертации в виде докладов и сообщений были представлены и обсуждались на научных симпозиумах, съездах, конференциях, конгрессах и совещаниях. Основные из них: II, III, IV и V Всесоюзные биохимические съезды (Ташкент, 1969; Рига, 1974; Ленинград, 1979; Киев, 1986), II, III, IV, V и VI Всесоюзные конференции по экологической физиологии и биохимии рыб (Москва, 1973; Киев, 1976; Астрахань, 1979; Севастополь, 1982; Паланга, 1985), Всесоюзные конференции по липидам биологических мембран (Львов, 1978; Ташкент, 1980; Пущино-на-Оке, 1984), II и III всесоюзные симпозиумы по структуре, биосинтезу и превращению липидов в организме животных и человека (Москва, 1975; Ленинград, 1978), I и II всесоюзные симпозиумы по структуре и функциям лизосом (Москва, 1976; Новосибирск, 1980), всесоюзные конференции по эволюционной биохимии и происхождению жизни

(Ереван, 1978; Петрозаводск, 1984); III и IV всесоюзные конференции по биохимии мышц (Ленинград, 1978; 1981), всесоюзная конференция по окислительным ферментам (Горький, 1978); III всесоюзный симпозиум по циклическим нуклеотидам (Канев, 1980), 16 конференция федерации европейских биохимических обществ (Москва, 1984), симпозиум по энергетическим аспектам роста и обмена водных животных (Севастополь, 1972), совещание по энергетическому обмену рыб (Суздаль, 1986), II всесоюзное совещание по биологии и биотехнике разведения сиговых рыб (Петрозаводск, 1981), XVI, XVII, XVIII и XX научные конференции по изучению внутренних водоемов Прибалтики (Петрозаводск, 1971; Таллин, 1973; Вильнюс, 1975; Рига, 1979), 7, 8, 9, II сессии ученого совета по проблеме: "Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Карелии" (Петрозаводск, 1968, 1969, 1974, 1981), всесоюзная конференция по биологии промысловых рыб и беспозвоночных на ранних стадиях развития (Мурманск, 1974), конференция по проблемам рыбохозяйственных исследований внутренних водоемов Карелии (Петрозаводск, 1974), всесоюзное совещание по морфологии и структуре популяций и проблеме рационального использования лососевидных рыб (Ленинград, 1983), III и IV всесоюзные конференции по водной токсикологии (Петрозаводск, 1975; Рига, 1983), всесоюзное совещание по влиянию загрязнителей на морские организмы (Дальние Зеленцы, 1978), всесоюзный симпозиум по норме и патологии в водной токсикологии (Байкальск, 1977), всесоюзное совещание по теоретическим вопросам биотестирования (Борок, 1981); третья национальная конференция по паразитологии (Албена, Болгария, 1977), IV международный конгресс паразитологов (Варшава, Польша, 1978), IX конференция Украинского паразитологического общества (Киев, 1980), IV международный симпозиум гельминтологического института в г.Кошице (Высокие Татры, Чехословакия, 1976), IV и V всесоюзные совещания эмбриологов (Москва, 1981; Ленинград, 1986), всесоюзная конференция по экологической физиологии (Сыктывкар, 1982), VI и X симпозиумы по биологическим проблемам Севера (Петрозаводск, 1976; Магадан, 1983), II всесоюзное совещание по генетике, селек-

ции и гибридизации рыб (Ростов-на-Дону, 1981), У всесоюзное совещание по путям реализации Продовольственной программы на Крайнем Севере (Петропавловск Камч., 1984), отчетные и юбилейные конференции института биологии Карельского филиала АН СССР (Петрозаводск, 1967, 1968, 1970, 1972, 1974, 1978).

Публикации. По темэ диссертации опубликовано 73 статьи, одна монография (В.С.Сидоров "Экологическая биохимия рыб. Липиды", Наука, 1983, 17,8 п.л.) и 98 тезисов докладов, сделанных на различных конференциях.

Объем диссертации. Диссертация изложена на 540 страницах, из них 299 стр. машинописного текста, 85 рисунков и 95 таблиц. Список литературы состоит из 753 названий, из них 483 на русском и 270 на иностранном языках.

СО Д Е Р Ж А Н И Е Р А Б О Т Ы

Часть. I. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эта часть диссертации содержит описание методов сбора, фиксации, транспортировки объектов исследования, а также различных методов, применяемых для выделения, разделения, идентификации и количественного определения различных липидов, аминокислот, белков, лизосом и их ферментов. Дана краткая характеристика материалов исследования: 28-и видов рыб и 15-и видов их паразитов - гельминтов. Приведены краткие сведения по методам выделения суммарных липидов, фосфолипидов, желчных и жирных кислот, их разделения посредством тонкослойной и газожидкостной хроматографии, количественного определения с использованием колориметрических, спектрофотометрических, радиохроматографических методов. Особое внимание уделено инфракрасной спектроскопии желчных кислот, разработанному автором диссертации радиохроматографическому методу анализа смоляных и желчных кислот. Дана краткая характеристика методов выделения лизосом и определения активности лизосомальных ферментов - кислых фосфатазы, ДНКазы, РНКазы, β -глюкозидазы, катепсинов В и D, фракционирования количественных форм кислой фосфатазы на ДЭАЭ-целлюлозе и сефадексе G-100 и 200, разделения изоферментов ЛДГ методом

дискелектрофореза в полиакриламидном геле и количественного определения их активности с помощью самодельного и других денситометров. Приведены также краткие сведения по методам разделения аминокислот на бумаге и их количественного определения колориметрическим способом, а также приемы гельхроматографии и дискелектрофореза водорастворимых тканевых и мембранных (плохо растворимых в воде) белков.

Часть 2. ЛИПИДЫ

Суммарное содержание липидов

Изучение распределения суммарных липидов по 15 органам у 10 видов лососевых рыб в летний (нагульный) период показало отсутствие заметных различий между гомологичными органами (тканями) у разных рыб. В то же время наблюдается очень сильная разница в содержании липидов в разных органах у одного и того же вида (от 2% в чешуе до 70–80% к сухой массе в спинном мозге). У рыб была также обнаружена широкая вариабельность содержания суммарных липидов (перекрывающая таксономические особенности жиროнакопления) под влиянием различных эколого-физиологических факторов.

Таксономические особенности выявляются лишь при сравнении группы филогенетически древних рыб (осетровые и лососевые) с более молодыми (щуковые, окуневые, карповые и тресковые): для первых типичным является более значительное накопление липидов в мышцах. Скорее всего это связано с тем, что большинство из изученных нами древних рыб относятся к группе проходных рыб, совершающих длительные нерестовые миграции, на которые требуется большой запас энергетических веществ. Однако высокое содержание липидов в мускулатуре характерно и для тех рыб этой группы (например, ряпушки и пресноводного сига), которые не совершают в настоящую эпоху продолжительных миграций. Возможно, у этих рыб способность к высокому жирунакоплению является атавистическим признаком, хотя и несущим определенную адаптационную нагрузку, связанную с необходимостью обеспечения половых продуктов (икры) жировыми запасами, составляющими главные энергетические ресурсы у лососевых рыб, эмбриональное и личиночное

развитие которых проходит в холодной воде в течение нескольких месяцев (с осени до весны) и требует больших энергетических затрат (Крыжановский, 1948; 1949; Шатуновский, 1980). Этим можно объяснить и одновершинный характер сезонной динамики (с максимумом в августе-сентябре) суммарных липидов у сиговых и лососевых рыб, установленный нами. Однотипная картина динамики суммарных липидов наблюдается во всех без исключения органах.

Запасные липиды - триацилглицерины и эфиры холестерина

Накопление в тканях рыб запасных липидов регулируется не только нервными, гормональными, экологическими (например, условиями питания), но и наследственными факторами. Однако выделить роль генетического фактора из-за разнообразия и сложности путей регуляции жиронакопления представляет чрезвычайно трудную задачу. По-видимому, значение генетической компоненты в общей сумме этих регуляторных факторов наиболее четко могло бы быть выявлено при сравнении рыб с хорошо различимыми генотипами. Именно этого мы и достигаем при сравнительно-эволюционном подходе к решению данного вопроса.

Установлено, что суммарные липиды более древних в филогенетическом отношении рыб (осетровые и лососевые) содержат в большинстве органов (мускулатуре, почках, плавательном пузыре, гонадах) большую долю триацилглицеринов, чем липиды менее древних рыб. С другой стороны, для филогенетически более молодых рыб (щуковые, окуневые, карповые, тресковые) характерна более высокая доля в суммарной липидной фракции эфиров холестерина. Расчет на сухую массу тканей показал, что для триацилглицеринов эта закономерность сохраняется для мускулатуры, плавательного пузыря, головного мозга и гонад, а для эфиров холестерина - только для почек и спинного мозга. По-видимому, существует своеобразный антагонизм между триацилглицеринами и эфирами холестерина как запасными веществами. Представляется логичным, что эфиры холестерина являются по сравнению с триацилглицеринами более универсальными запасными веществами, так как в их молекулах в нейтральной, нетоксичной для организма форме сохраняются

запасы как структурных элементов - жирных кислот и холестерина, необходимых для образования биомембран, простагланцинов, стероидных гормонов, желчных кислот, так и энергетических (жирные кислоты). Более того, именно в тех тканях, где роль холестерина особенно велика (почки, печень, спинной мозг), мы наблюдаем и более высокую концентрацию эфиров холестерина. Может быть, повышенная чувствительность лососевых рыб к резкой смене температур, действию токсикантов и другим стрессовым воздействиям (Дукьяненко, 1967; Проссер, 1977) связана с отсутствием достаточных резервов холестерина, необходимого при перестройке их мембран (холестерин их упрочняет) или активизации обмена веществ, чему предшествует образование кортикостероидов из холестерина (Селье, 1960; Покровский, Тутельян, 1976; Пдаев и др., 1976).

Совершенно ясно, что сформулированная таксономическая зависимость обуславливается не только наследственной предрасположенностью к жиронакоплению, но и отшлифованными в процессе эволюции эколого-физиологическими особенностями сравниваемых рыб и прежде всего их кормовой базой, о чем говорят наши данные по сезонной динамике запасных липидов у рыб и изменчивости их содержания в зависимости от условий нагула в разных водоемах.

В частности, практически для всех органов ряпушки наблюдается один и тот же характер сезонной динамики триацилглицеринов с максимумом в летний период. Однако абсолютная величина этого максимума сильно меняется от года к году или от условий биопродуктивности в водоемах. Так, например, из трех сравниваемых озер (Уросозеро, Насоновское оз. и Вендорское оз.) наихудшие гидробиологические показатели были в Вендорском озере, что в 1968 году привело к сильному (в 5-10 раз) уменьшению накопления триацилглицеринов во всех органах вендорской ряпушки, в том числе и в гонадах. Это отрицательно сказалось на качестве (размерах, численности) потомства, полученного от вендорской ряпушки в этот неблагоприятный год (Потапова, 1978). Из этого следует, что определение содержания триацилглицеринов в теле рыб в период нагула может служить хорошим тестом для оценки физиологическо-

го состояния популяции и подготовленности ее к нересту. Этот же тест с успехом можно использовать для оценки качества зрелой икры, что в конечном итоге определяет последующее благополучие популяции. Этот вывод подтверждается данными о широкой вариабельности содержания триацилглицеринов в зрелой икре по сравнению с запасными фосфолипидами желтка (табл. I).

Еще большая экологическая вариабельность у лососевых рыб наблюдается для эфиров холестерина, что характерно не только для половых продуктов (табл. I), но и для многих других органов. Например, были обнаружены сильные различия в содержании эфиров холестерина в тканях озёрного лосося, вылавливаемого в разные годы (1969 и 1972 гг.) в оз. Куйто на севере Карелии. Высокое содержание эфиров холестерина было найдено и у лососей, выловленных в один и тот же год из р. Писта, входящей в бассейн оз. Куйто, по сравнению с лососями из р. Пяльма (бассейн Онежского озера).

Таким образом, примечательной особенностью сезонной и популяционной динамики липидов у половозрелых рыб является ее зависимость от пола рыбы не только в гонадах, но и в других тканях (например, печени). Все это является отражением специфики процессов оогенеза и сперматогенеза, что, в свою очередь, может быть причиной разной пищевой потребности у самок и самцов в период интенсивного созревания гонад.

Таблица I

Вариабельность содержания липидов в зрелых молоках и икре ряпушки (А - число проб. Б - содержание липидов в % к сухой массе, В - содержание липидов в % к сырой массе, СУ - коэффициент вариации)

Липиды	М о л о к и				И к р а			
	А	Б	В	СУ	А	Б	В	СУ
Общие липиды	35	24,4	5,6	12	78	26,4	9,8	13
Триацилглицерины	35	4,1	0,9	32	73	8,9	3,3	30
Эфиры холестерина	35	1,4	0,3	43	78	3,5	1,3	29
Фосфолипиды	35	15,2	3,5	7	78	12,9	4,8	11

Сильная зависимость накопления запасных липидов от условий обитания была подтверждена нами в наблюдениях и экспериментах над молодью лосося, выращиваемой на рыбоводных заводах, а также над взрослой рыбой в естественных водоемах, загрязненных сточными водами целлюлозно-бумажных комбинатов (ЦБК). Так, содержание запасных липидов в мышцах и печени молоди семги сильно колеблется на разных заводах, заметно превышая таковое у молоди, обитающей в естественных условиях, что вызывается ее перекормом, дисбалансом пищевых ингредиентов (незаменимых жирных кислот и др.) и, возможно, нехваткой холина и метионина, а также уменьшением подвижности молоди в условиях искусственного выращивания.

Действие токсических веществ, входящих в промстоки ЦБК, может быть связано как с ухудшением кормовой базы, так и с прямым эффектом токсикантов на организм рыб. В любом случае токсическое воздействие реализуется в рыбе через механизм стрессовой реакции, что, как известно, сопровождается усилением гидролиза липидов, белков и полисахаридов. Возможно и прямое разрушение клеточных мембран (лизосом, как это показано нами) сильными детергентами, входящими в отходы ЦБК (смоляными и жирными кислотами), что, освобождая различные липазы из лизосом, способствует гидролизу запасных липидов в клетках. Анализ содержания запасных липидов в печени сигов и лещей, выловленных из чистых и загрязненных стоками ЦБК участков водоема, подтверждает это предположение (табл.2).

Таблица 2

Содержание триацилглицеринов и эфиров холестерина в печени самок сигов и лещей, выловленных из чистой (I) и загрязненной (II) зон озера, в % к сухой массе

Липиды	С и г		Л е щ	
	I	II	I	II
Триацилглицерины	1,4 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1	2,6 $\pm$ 0,2	1,7 $\pm$ 0,03
Эфиры холестерина	0,3 $\pm$ 0,06	0,6 $\pm$ 0,02	1,1 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,06

Липиды биологических мембран - фосфолипиды и холестерин

В отличие от запасных липидов для мембранных липидов наблюдается значительно меньшая таксономическая и эколого-физиологическая вариабельность их содержания в органах рыб. По общему содержанию фосфолипидов и холестерина различные органы любого вида рыбы отличаются друг от друга более заметно, чем гомологичные органы рыб, относящихся к разным семействам. По содержанию липидов, относящихся к группе фосфолипидов (при расчете на сухую массу), их можно разделить на три категории: 1) головной и спинной мозг (35-40%), 2) печень, почки, гонады (10-25%), 3) мышцы и плавательный пузырь (5-10%). У филогенетически древних семейств в органах последней группы (за исключением плавательного пузыря миноговых и осетровых) содержание фосфолипидов заметно увеличено (в 2-4 раза) по сравнению с обычной. Что касается холестерина, то по его содержанию органы рыб различных семейств можно разделить на четыре группы. В первую группу (или категорию), характеризующуюся наивысшей концентрацией холестерина (от 5 до 10%), входят нервные ткани, причем в среднем в головном мозгу количество холестерина, мало меняясь от семейства к семейству, составляет около 5%, а в спинном мозгу - в два раза больше. Вторую группу образуют мышцы, печень и почки, в которых количество холестерина в среднем варьирует от 1,0 до 2,5%. Близки к этой группе гонады рыб, в которых содержание холестерина находится в пределах от 1,0 до 3,0%, причем в ядре и молоках лососевых и других древних рыб эта величина примерно одинакова, а у филогенетически более молодых рыб (карповые, щуковые и окуневые) содержание холестерина преобладает в молоках. Особую группу, как и в случае фосфолипидов, составляет плавательный пузырь, который у лососевых и близких к ним рыб (хариусовых и корюшковых) содержит относительно высокое количество холестерина (около 5%).

По таксономической и экологической изменчивости индивидуальных фосфолипидов, за исключением фосфолипидов мозга (Крепс, 1981), накапливается лишь первичная информация. Как и в случае нервных тканей, основными в количественном отношении в других тканях и органах рыб являются фосфатидилхолин

и фосфатидилэтаноламин, остальные фосфолипиды встречаются в заметно меньших количествах. Отличительной особенностью по сравнению с мозгом многих других тканей и органов является более высокая вариабельность содержания индивидуальных фосфолипидов в зависимости от таксономического положения рыб и условий их жизни. Например, каждый орган ряпушки характеризуется определенным своеобразием фосфолипидных соотношений, причем имеются четкие половые различия в гонадах и печени. Соответствующие результаты были получены и для сига. Было также показано, что в отличие от суммарных фосфолипидов относительное содержание отдельных фосфолипидов в гонадах пресноводных рыб, относящихся к 6 семействам, слабо зависит от таксономического положения. Так, для икры всех 10 изученных в этом отношении видов рыб характерно приблизительно одинаковое соотношение индивидуальных фосфолипидов с существенным преобладанием фосфатидилхолина (75% от суммы всех фосфолипидов), далее в пределах 10-15% присутствует фосфатидилэтаноламин и сфингомиелин и в минорных количествах (до 10%) остальные фосфолипиды - лизофосфатидилхолин, кардиолипид и др.. Для молок сравниваемых рыб (лосось, ряпушка, корюшка, щука, лещ, плотва, судак, окунь, ерш, налим) также свойственно достаточно близкое количественное соотношение фосфолипидов, но в отличие от икры главными компонентами является не один, а три фосфолипида - фосфатидилхолин (около 33%), сфингомиелин (30%) и фосфатидилэтаноламин (25%). Остальные фосфолипиды присутствуют в незначительном количестве (3-4%), причем доля кардиолипидина в молоках, как правило, в 2 раза выше, чем в икре. Разное количественное соотношение фосфолипидов в икре и молоках связано с характерными структурными особенностями ооцитов и сперматозоидов - главных компонентов гонад. Высокая эволюционная стабильность фосфолипидного состава икры вероятнее всего вызвана слабой изменчивостью в процессе эволюции ововителлина - главного компонента желтка икры рыб. В частности, известно, что при эволюции яйцекладущих позвоночных гены, ответственные за вителлогенез, сохранялись без существенных изменений (Юдаев и др., 1976). Имеются сведения о высокой степени сходства как бел-

ковой, так и фосфолипидной компоненты оовителлинов разного происхождения – костистых рыб, амфибий и птиц (Ando , 1965; Lunge , 1981). По-видимому, все это имеет приспособительное и важное для выживания позвоночных видов значение, истинный смысл которого нам еще не совсем понятен. В связи с этим уместно привести широко известное высказывание: "Если природа нашла удачное химическое решение биологической задачи, то она сохраняет его в дальнейшей эволюции" (Крепс, 1967).

К настоящему времени накопилось достаточно много данных, показывающих существование у рыб (в основном морских) сезонной, популяционной и межгодовой вариабельности суммарного содержания фосфолипидов и холестерина. Следует отметить, что к началу выполнения данной диссертации таких работ практически не было. Гораздо меньше информации имеется в этом плане об отдельных группах фосфолипидов. На основании накопленного (как литературного, так и собственного) материала можно постулировать значительно меньшую вариабельность мембранных липидов по сравнению с запасными в зависимости от эколого-физиологических факторов. Она связана прежде всего с количественными изменениями в соотношениях различных внутриклеточных мембран, а то время как в каждой специализированной мембране соотношение фосфолипидов сохраняется более или менее постоянным. Например, соотношение индивидуальных фосфолипидов в мембранах мозга практически не реагирует на изменение эколого-физиологической обстановки у рыб (Крепс, 1981). Знание же норм естественной (встречающейся в природных условиях) изменчивости содержания отдельных мембранных липидов может иметь важное практическое значение, так как отдельные заметные отклонения от нормы можно связать с отрицательным воздействием экологических и антропогенных факторов. Именно поэтому в своей работе мы уделяли большое внимание этому последнему аспекту.

На примере ряпушки было показано отсутствие заметных изменений в содержании суммарных фосфолипидов и отдельных их групп в различных тканях рыб в зависимости от условий обитания в разных озерах или флуктуации этих условий в одном и том же озере от года к году. Явные изменения в содержании

фосфолипидов наблюдались уже в первые часы после переноса рыбы (леща) из чистой воды в садки, помещенные в сильно загрязненные сточными водами ЦБК участки водоема. При этом было установлено резкое повышение концентрации лизофосфатидилохолина в лизосомальной и митохондриальной фракциях печени леща уже в первые часы (3-18) действия токсических веществ и соответствующее уменьшение содержания других фосфолипидов, главным образом фосфатидилохолина. Такая зависимость содержания фосфолипидов от времени при одной токсической концентрации была идентична изменению этих веществ в зависимости от дозы токсиканта при одном времени выдерживания рыб в токсических растворах. Как видно из табл.3, с уменьшением разбавления "ливневого" стока ЦБК, содержащего разнообразную смесь токсических веществ (фенол, сульфатный щелок, меркаптаны, смоляные и жирные кислоты, их соли, метанол и др.), наблюдается интенсивное накопление в жабрах окуня лизофосфатидилохолина при одновременном и соответствующем по размерам уменьшении количества фосфатидилохолина. Аналогичные результаты были получены нами при выдерживании карпа и плотвы в аквариумах, содержащих различные концентрации жирных кислот или их натриевых солей, а также при инкубации изолированных лизосом и митохондрий из печени сига, лосося, окуня, плотвы и леща с различными токсикантами, входящими в сточные воды ЦБК (сульфатным щелоком, абиетиновой кислотой, фенолом).

Таблица 3

Зависимость содержания отдельных фосфолипидов в жабрах окуня от дозы токсиканта, в % к общей сумме фосфолипидов

Фосфолипид	Контроль	Степень разбавления "ливневого стока ЦБК"		
		I : 50	I : 25	I : 10
Лизофосфатидилолин	0,0	8,2 $\pm$ 0,9	12,0 $\pm$ 1,2	20,3 $\pm$ 2,3
Сфингомиелин	33,6 $\pm$ 1,6	33,6 $\pm$ 2,0	43,5 $\pm$ 2,7	44,3 $\pm$ 2,1
Фосфатидилолин	36,9 $\pm$ 1,2	31,5 $\pm$ 3,5	18,8 $\pm$ 3,6	13,1 $\pm$ 1,8
Фосфатидилэтаноламин	16,1 $\pm$ 2,4	14,5 $\pm$ 1,9	14,6 $\pm$ 1,5	12,0 $\pm$ 0,9
Кардиолипин	14,4 $\pm$ 1,7	12,2 $\pm$ 1,4	11,1 $\pm$ 0,8	10,3 $\pm$ 1,2

В экспериментах, которые будут приведены в разделе по лизосомам, показано, что во всех этих случаях происходит лабильзация лизосомальной мембраны. По-видимому, освободившиеся из лизосом гидролазы (в том числе и фосфолипазы) усиливают гидролиз липидных и белковых компонентов клетки. Образовавшийся лизофосфатидилхолин, в силу большой детергирующей способности, в свою очередь содействует деградации лизосом и других биологических мембран. При продолжающемся действии токсикантов, вызывающем истощение сил организма, описанный процесс приобретает необратимый характер, приводя к некрозам тканей и в конце концов гибели организма.

Другой пример резкого изменения мембранных липидов в тканях рыб касается гельминтозов. В частности, было показано, что в участках тканей рыб, находящихся рядом с цистами или свободными плероцеркоидами широкого лентеца и других гельминтов, происходит сильное изменение фосфолипидного статуса. Так, общее содержание липидов при заражении лентецами в печени колюшки уменьшалось с 25,8 до 21,4%, в печени налима — с 60,1 до 55,4% (от сухой массы). Совместное паразитирование нескольких видов гельминтов увеличивало эти сдвиги. Еще более четко действие гельминтов сказывалось на соотношении отдельных фосфолипидов в тканях хозяина. При этом наиболее характерным являлось значительное (в 5–7 раз) увеличение доли лизофосфатидилхолина при соответствующем уменьшении доли фосфатидилхолина, что приводило к уменьшению проницаемости мембран хозяина и, следовательно, увеличивало доступ питательных веществ для паразитов — ленточных червей, не имеющих ротового отверстия и поглощающих пищу поверхностью тела.

Жирные кислоты

К началу настоящей работы количество публикаций по экологической биохимии жирных кислот (в отличие от других липидов) у рыб было довольно велико. Уже были сформулированы главные постулаты экологической вариабельности жирных кислот. В частности, было установлено, что у всех водных эктотермных организмов (фито- и зоопланктона, бентосных организмов, рыб), обитающих в более или менее близких условиях среды, отмечает-

ся структурное единство ненасыщенных жирных кислот (Askman, 1964; Tsuchiya, 1961). Определяющим фактором при этом является температура среды. Практически у всех пойкилотермных (эктотермных) организмов с изменением температуры меняется степень ненасыщенности жирных кислот. Путем увеличения или снижения степени ненасыщенности жирнокислотных радикалов, входящих в состав мембранных липидов, осуществляется адаптация живых существ к изменению температуры среды, позволяющая им существовать в пределах ареала (Проссер, 1964; Hazel, 1973). Корреляция между температурой среды и жирнокислотным составом липидов проходит через всю пищевую цепь рыб и выражается в увеличении ненасыщенности липидов при более низких температурах (Kauyama et al., 1963; Holton et al., 1964; Farcas, Herodes, 1969; Барашков, 1972; Акулин и др., 1975; Крепс, 1981). Было найдено, что во многих тканях (за исключением мозга) у различных видов рыб состав жирных кислот зависит не только от температуры, но и от качественного и количественного состава жирных кислот в пище. В каждый определенный момент жизни любого организма наблюдается широкая мозаика соотношений жирных кислот как в отдельных органах и тканях, так и различных группах липидов (нейтральных, полярных, отдельных фосфолипидов и других сложных липидах). Так, в исследованиях Е.М.Крепса (1981) и его сотрудников убедительно показано, что каждая группа фосфолипидов, ганглиозидов и сульфоллипидов, входящих в состав мозга рыб и других позвоночных животных, имеет свой, отличающийся определенным своеобразием, жирнокислотный состав. Таким образом, количественные соотношения жирных кислот, особенно ненасыщенных, в тканях рыб в различные периоды их жизненного и годового циклов, отличающиеся температурным режимом и качеством кормов, не могут быть постоянными и зависят от различных эколого-физиологических факторов (вида, пола, возраста, степени зрелости гонад, гидробиологических и гидрологических условий в водоеме и др.).

Что касается сведений такого рода применительно к пресноводным рыбам Севера нашей страны, то они до настоящей работы практически отсутствовали, что и инициировало наши исследования.

Наши данные по дикой молодежи лосося показали адаптационное изменение количественных соотношений жирных кислот, направленное на увеличение доли полиненасыщенных жирных кислот (20:5 и 22:6) при более низкой температуре воды. Так, увеличение средней температуры воды в р.Пяльма с 10-12°C (в июне) до 17-20°C (в августе) вызывало уменьшение в мышцах и печени доли 20:5 кислоты приблизительно в 1,5, а доли 22:6 кислоты в 2 раза. Очень близкую картину мы получили и при сравнении содержания жирных кислот в липидах мышц молодежи лосося, отловленной из рек, различающихся своей средней температурой воды. Более холодная вода в р.Кереть (по сравнению с р.Пяльма) способствовала увеличению в липидах мышц доли полиненасыщенных жирных кислот (20:5 и 22:6) и уменьшению доли моноеновых кислот (16:1 и 18:1).

Другой пример, подтверждающий общую закономерность, состоящую в соответствии состава жирных кислот условиям существования (температуре) клеток, получен нами при сравнении жирнокислотных радикалов фосфатидилхолина лизосомальной мембраны гепатоцитов эктотермных и эндотермных позвоночных. В фосфатидилхолине рыб (лещ, налим) преобладают такие жирные кислоты как пальмитиновая (16:0), пальмитоолеиновая (16:1), арахидоновая (20:4), олеиновая (18:1), эйкозапентаеновая (20:5) и докозагексаеновая (22:6), в то время как в фосфатидилхолине амфибий (лягушка), птиц (чайка) и млекопитающих (крыса) главными в количественном отношении являются пальмитиновая, стеариновая (18:0), линолевая (18:2), олеиновая и арахидоновая кислоты. Общая доля ненасыщенных жирных кислот в фосфатидилхолине составила у рыб 80%, а у птиц и млекопитающих - 45-50%.

В диссертации приведены новые данные (по развивающейся икре карпа и лосося; по гельминтам теплокровных и холоднокровных животных), свидетельствующих в пользу того, что конкретный характер изменений, с помощью которых происходит адаптационная подгонка в организме физико-химического состояния биомембран к температурным условиям среды, может сильно варьировать от вида к виду и иногда не соответствовать главному постулату, говорящему об увеличении ненасыщенности липи-

дов с понижением температуры среды. В частности, хотя иодные числа, отражающие общую ненасыщенность липидов гельминтов в большинстве случаев соответствует главному постулату, каждый вид паразитического червя "решает" проблему соответствия общей ненасыщенности жирнокислотного пула температуре по-своему. Так, у гельминтов из палии главными жирными кислотами являются 16:2, 18:1, 22:6, из сига - 18:1 и 20:5, из чайки - 16:0, 16:1, 18:0, 20:4 и 22:6, а у гельминтов из песка - 18:0 и 18:1, т.е. даже по спектру главных жирных кислот, участвующих в обеспечении общей ненасыщенности липидов, у разных (как близких в таксономическом отношении, так и далеких) гельминтов нет сходства.

Особняком в этом отношении стоят гельминты из чайки. Казалось, иодное число липидов дифиллоботриумов (взрослая форма), паразитирующих в птице (чайке), которая, как известно, имеет более высокую температуру тела, чем млекопитающие, должно быть таким же или даже несколько меньше, чем иодное число липидов из гельминтов песка. Наблюдается же иная картина: иодное число липидов из гельминтов чайки равно 180, а из гельминтов песка - 140. Возможным объяснением этого факта может служить содержание половых продуктов (яиц) в зрелых члениках лентецов из чаек. Дальнейшее развитие яиц гельминта проходит во внешней среде за счет резервов, полученных от родительского организма. Поскольку температура внешней среды значительно ниже той, в которой обитает взрослые формы, логично предположить, что в процессе эволюции у гельминта выработались особые механизмы, регулирующие формирование состава жирных кислот яиц, отвечающего тем температурным требованиям, в которых будет проходить эмбриональное развитие паразита.

Еще более показательным в этом отношении является наличие низкого иодного числа и высокого содержания насыщенных жирных кислот в липидах личиночных форм лентецов (плероцеркоидов), паразитирующих в печени колюшки - промежуточного хозяина этих гельминтов. По количественному соотношению жирных кислот плероцеркоид проявил значительное сходство со взрослой формой, которая паразитирует в чайке (окончатель-

ный хозяин). В паразите (в их липидах) содержалось раза в полтора больше насыщенных жирных кислот и во столько же раз меньше полиеновых кислот, чем в липидах печени коллюшки. Несомненно, что это связано с экологическими особенностями жизни плероцеркоидов и объясняется целесообразностью "замораживания" их ростовой активности посредством несоответствия жидкостности биомембран температуре ради выживания вида. Ведь для личиночной формы важно пережить в промежуточном хозяине как можно больше времени до попадания в конечного хозяина, а это легче сделать, когда обмен несколько заторможен и организм находится как бы в полуанабиотическом состоянии. Кроме того, смена хозяина происходит скачкообразно (птица заглатывает рыбу с паразитом) и плероцеркоид в считанные минуты из среды с низкой температурой в 10–15°C (рыба) попадает в условия с высокой температурой около 40°C (чайка), где и развивается во взрослую форму. Не вызывает сомнений то, что в данном случае мы наблюдаем своеобразное явление преадаптации на молекулярном уровне.

Как мы уже отмечали выше, все члены одного и того же природного сообщества, занимающего более или менее однородный по температурным условиям географический район, будут иметь достаточно близкие составы жирных кислот, определяемые, с одной стороны, активной температурной адаптацией организмов, а с другой, — пассивным "давлением" соотношений жирных кислот в пище. В естественных условиях оба эти фактора действуют однонаправленно, так как все организмы, входящие в единую пищевую цепь, живут приблизительно в одних и тех же условиях и вынуждены вырабатывать, приспособляя свои мембраны к этим условиям, в значительной степени сходные конstellации жирных кислот. Разделить оба эти фактора и понять вклад каждого из них в определение жирнокислотного состава любого гидробионта на материале, собранном в природе, трудно, а зачастую и просто невозможно.

При искусственном выращивании рыб с использованием необычных для них кормов с непривычными соотношениями жирных кислот оба фактора (температура и питание) могут вступать в противоречивые взаимодействия, и тогда значимость биохими-

ческих механизмов, активно приспосабливающих жирнокислотную структуру мембран к температуре, с одной стороны, и пассивно внедряющих в фосфолипиды те жирные кислоты, которые поступают с пищей, с другой, — становится более понятной.

В качестве примера в диссертации приведены материалы, показывающие заметное отклонение сезонной динамики соотношений жирных кислот в мышцах молоди лосося от теоретически ожидаемой (вытекающей из данных по сезонной динамике констелляций жирных кислот у дикой молоди лосося). В отличие от дикой молоди лосося, у которой, как и у большинства рыб, обитающих в холодных водах, наибольшее значение в адаптации к низким температурам имеют полиненасыщенные жирные кислоты (20:5 и 22:6), у заводской молоди большую роль в этих процессах приобретают моно- и диеновые кислоты (18:1 и 18:2). Таким образом, характер соотношений жирных кислот в пище сильно сказывается на том участии, которое принимают отдельные жирные кислоты в адаптационных перестройках биомембран соответственно температуре среды. Обращает на себя внимание очень близкое сходство составов жирных кислот кормов и полостного жира как у заводской, так и дикой молоди лосося. "Давление" соотношений жирных кислот в пище сказывается на составе не только полостного жира, но и мембранных липидов (фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина) мышц и печени у заводской молоди. Необходимо отметить, что в кормах и тканях заводской молоди (по сравнению с дикой) содержится очень низкое (иногда в 50 раз меньше) количество линоленовой кислоты (18:3). В то же время имеются сообщения о том, что для лососевых рыб именно линоленовая кислота является абсолютно необходимым жирнокислотным компонентом в кормах (Yu et al., 1979). По-видимому, низкая выживаемость и многие виды патологий у молоди рыб, выращиваемой в искусственных условиях, (некроз плавников, поражающей в отдельные годы до 95% всей выпускаемой молоди лососевых; высокая смертность — до 80-90% — сеголетков карпа в процессе зимовки и т.д.) связаны с нехваткой, дисбалансом отдельных жирных кислот в кормах или наличием в них токсических продуктов, возникающих при окислении жирных кислот.

Желчные кислоты

Желчные кислоты (специфические продукты экскреции печени) являются веществами изопреноидной природы, обнаружены пока исключительно у позвоночных животных. Выполняют они в основном пищеварительную функцию, хотя в последнее время было показано участие этих веществ в регуляции многих процессов на разных уровнях (молекулярном, клеточном и тканевом), а также в подавлении роста и размножения патогенных бактерий. Желчные кислоты представляют наиболее характерную составную часть желчи — чрезвычайно сложного в химическом отношении продукта деятельности печени.

В последние 30 лет изучение желчных кислот посвящено значительное количество работ, которые рассмотрены в нескольких литературных обзорах (Bergstrom, 1959; Haslewood, 1962; 1964, 1967; Hoshita, Kazuno, 1968, 1977; Small et al., 1972; Физер, Физер, 1964; Хефтман, 1972; Сидоров и др., 1977; Ганиткевич, 1980). Однако исследований по желчным кислотам рыб в экологическом плане еще очень мало (Романенко, 1978; Сидоров, 1983).

Общее направление эволюции желчных кислот шло от многоатомных желчных спиртов 5 α - типа у миног, миксин и низших рыб (латимерия, двоякодышащие) и земноводных к диокси- и триоксихолановым кислотам с *цис*-сочением колец А и В у костистых рыб и млекопитающих. Особенностью эволюции желчных кислот является единообразный и монотонный качественный состав желчных спиртов и кислот у рыб по сравнению с наземными позвоночными. В частности, у костистых рыб, в том числе и лососевых, практически встречаются лишь две желчные кислоты — холевая и хенодезоксихолевая, причем в основном в виде конъюгатов с таурином. Это было установлено нами с помощью тонкослойной хроматографии и УФ- и ИК-спектрофотометрии. Отсутствие большого разнообразия желчнокислотных и желчноспиртовых дериватов не только у рыб — истинно водных животных, но и в какой-то степени у черепах и крокодилов может быть связано с тем, что рыбы защищены от воздействия жестких ультрафиолетовых и рентгеновских лучей солнца водной средой, в черепахи и крокодилы,

ведущие полуводный образ жизни, имеют дополнительный щит от мутагенного действия этих лучей в виде мощных внешних покровов. Появление большого разнообразия желчных кислот у земноводных, пресмыкающихся (кроме черепах и крокодилов), птиц и млекопитающих могло быть вызвано высокой частотой мутаций генов, ответственных за их биосинтез, в наземных, менее защищенных от прямого воздействия солнечного света, условиях. Закрепление появившихся новых желчных кислот в эволюции истинно наземных видов обеспечивалось резким темпом изменения питания у животных, осваивавших сушу, связанного с энергичным прогрессивным видообразованием наземной флоры и фауны по сравнению с водной. Этому также способствовало то обстоятельство, что у наземных животных кишечная микрофлора стала приобретать в процессе эволюции более разнообразные пищеварительные функции, среди которых была и специфическая модификация желчных кислот. (Bergstrom, Danielsson, 1963; Midtvedt, Norman, 1968).

Характер питания мог явиться одним из факторов, определяющих закрепление новообразных мутационным путем или в результате бактериальной модификации желчных кислот также и у рыб. По-видимому, большинство этих изменений имеет адаптивный характер. Кажется очевидным, исходя из пищеварительной функции желчных кислот, что между качественным составом и количественным содержанием желчных кислот в желчи рыб (и, наверное, вообще всех позвоночных), с одной стороны, и характером питания рыб, с другой, должна существовать корреляция. Однако несмотря на то, что в настоящее время желчно-кислотный состав обследован приблизительно у 400 видов животных, ясности в этом вопросе нет. В какой-то степени это связано с тем, что до сих пор отсутствует истинное понимание механизмов участия различных желчных кислот в процессе пищеварения в зависимости от характера пищи. Частично это объясняется недостаточностью материалов по количественному анализу желчных кислот у животных с разным типом питания. Именно поэтому нами было проведено изучение количественного содержания различных желчных кислот в желчи целого ряда рыб, птиц и млекопитающих, отличающихся разнообразием и видовым

составом пищи (Рипатти, Сидоров, 1973; Рипатти, 1975, 1978; Попова и др., 1989, 1980). Главным итогом этой работы является вывод в пользу существования четкой зависимости между типом питания и количественным составом желчных кислот в пределах достаточно широких групп животных. В диссертации приводятся данные только по рыбам. Показано, что чем уже спектр питания рыб, тем однообразнее (монотоннее) количественное соотношение желчных кислот в их желчи, т.е. наблюдается количественное преобладание какого-то одного из желчнокислотных компонентов и меньшее участие других (как правило, минорных) желчных кислот. Так, у типичных хищников (нельма, налим, форель, лосось, пука, окунь) с достаточно однообразным типом питания холатный показатель (относительное содержание холевой кислоты, выраженное в процентах к общей сумме желчных кислот в желчи) варьирует от $92,5 \pm 4,3$ до $84,4 \pm 2,8$. У рыб с более разнообразным типом питания (сиг, муксун, судак, пелядь, хариус) этот показатель находится в пределах от $81,2 \pm 2,0$ до $78,5 \pm 5,0$. Для типичных же бентофагов и планктофагов с еще более разнообразным типом питания (сиг. сямозерский, ряпушка, чир, корюшка, пыжьян) холатный показатель имеет наименьшие значения (от $70,7 \pm 3,4$ до $55,7 \pm 8,0$).

Вполне возможно, что выявленная нами популяционная, межгодовая и половая вариабельность холатного показателя связана с изменениями в кормовом режиме рыб из разных водоемов, в разные годы или в физиологическом состоянии и пищевой потребности у разных полов. Из разнообразного материала полученного нами, здесь приведем лишь данные по популяционной изменчивости холатного показателя (рис. I). Видно, что у каждого из семи видов пресноводных рыб холатный показатель заметно изменяется от водоема к водоему, что может быть объяснено прежде всего различиями в их кормовых базах. Интересно отметить, что коэффициент вариации холатного показателя у рыб из озера, загрязненного сточными водами ЦБК, был в среднем в 2 раза выше, чем у рыб из чистых водоемов. Представляется, это связано с тем, что каждая отдельная рыба в популяции будет по-своему реагировать на действие

токсикантов в зависимости от индивидуальной чувствительности, времени пребывания в загрязненной зоне, количества токсикантов, полученных через пищевую систему, жабры, кожу. Иначе говоря, увеличение вариабельности холатного показателя у рыб следует ожидать как при слабой, так и сильной загрязненности водоема, в то время как изменение его абсолютной величины будет происходить лишь при достаточно значительной концентрации токсикантов в воде. С другой стороны, если в том или ином водоеме у обитающих в нем стад различных видов рыб наблюдается завышенная вариабельность холатного показателя (по сравнению с нормальной, которая для чистых водоемов не превышает 10–15%), мы вправе говорить о биологическом неблагополучии в нем. Такой биохимический подход к оценке экологического состояния водных биоценозов имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционными, так как он будет работать на фоне внешней морфологической и ихтиологической (подразумевается динамика численности популяций) нормы. Однако для практического применения этого метода требует бо-

$X/\text{жк}$

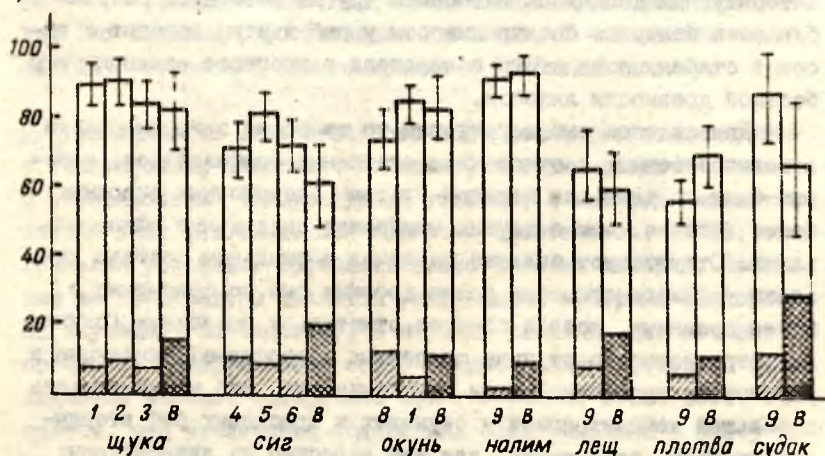


Рис. 1 Холатный показатель и коэффициент вариации холатного показателя (заштрихованные участки столбиков) у рыб из чистых (1–9) и загрязненных промышленными стоками ЦБК (В) водоемов. 1 – р. Писта, 2 – Кимасозеро, 3 – р. Надым, 4 – Сямозеро, 5 – р. Шуя, 6 – р. Пяльма, 8 – Уросозеро, 9 – Онежское озеро.

нее широкая его проверка на различных водоемах в зависимости от степени и характера загрязнений.

Часть 3. ЛИЗОСОМЫ И ЛИЗОСОМАЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ

Белковый и липидный состав мембран лизосом рыб

Белки лизосомальных мембран из печени четырех видов рыб, относящихся к двум семействам (лососевые и щуковые), и одного вида птиц (чайка) разделялись на сефадексе G-200 на четыре фракции, количественное соотношение которых несколько различалось между семействами и особенно классами (рыбами и птицами). Суммарные белки вторичных лизосом из печени радужной форели делились методом электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия на 27, а из печени палии — на 23 фракции, причем различия наблюдались по минорным компонентам, что, возможно, было связано с примесью других мембран. Это подтверждалось анализом белков первичных лизосом, выделенных из печени палии, форели, щуки, пеляди и чайки-клуши, у которых содержание белковых фракций уменьшалось до 14–18 компонентов, что соответствует и литературным данным по лизосомам других животных. Большая близость белковых спектров лизосом у рыб и птиц говорит о высокой стабильности этого показателя в процессе эволюции и о большой древности лизосом.

Для лизосом рыб характерны те же общие закономерности в количественных соотношениях отдельных фосфолипидов, которые были найдены для нервной системы позвоночных животных: более высокое, чем в других мембранах содержание сфингомиелина. Отсутствуют сильные различия в липидном составе лизосом у филогенетически более древних рыб по сравнению с менее древними, хотя и следует отметить у последних (окуневые, тресковые) в отличие от первых (лососевые) тенденцию к увеличению процентной доли сфингомиелина. Это можно связать с большей концентрацией у окуневых и тресковых рыб вторичных лизосом, содержащих, как это известно из литературных данных (Henning, Heidrick, 1974), более высокую долю сфингомиелина, что соответствует активному внутриклеточному обмену веществ у более прогрессивных в эволюционном отношении рыб. Нами было показано, что увеличение доли сфингомие-

элина при соответствующем уменьшении доли фосфатидилхолина в мембранах лизосом наблюдается в ряду позвоночных по мере эволюционного прогресса (табл. 4). При этом происходит и не-

Таблица 4

Содержание фосфолипидов в лизосомах, выделенных из печени различных позвоночных животных, % к сумме фосфолипидов

Вид животного	ЛФХ	СФМ	ФХ	ФФМ	НФЛ	К	СФМ/ФХ
Лосось	0,0	9,9	54,5	28,2	2,2	5,2	0,18
Форель	0,4	12,2	55,2	25,6	4,6	2,2	0,22
Сиг	1,6	10,0	55,8	25,6	4,7	2,3	0,18
Пелядь	3,0	12,2	53,0	22,7	6,3	2,8	0,23
Лещ	0,2	14,2	54,8	24,8	4,0	2,0	0,26
Окунь	0,1	15,1	55,7	23,4	0,1	5,6	0,27
Налим	0,1	16,3	55,7	24,7	1,7	1,5	0,29
Лягушка	0,1	19,5	49,7	23,9	6,7	0,1	0,39
Чайка	4,3	23,7	42,8	23,7	3,2	2,3	0,55
Крыса	0,1	19,3	44,8	24,6	7,0	4,2	0,43
Корова	2,7	23,4	46,1	23,8	2,1	1,9	0,51

Примечание: ЛФХ - лизофосфатидилхолин, СФМ - сфингомиелин, ФХ - фосфатидилхолин, ФФМ - фосфатидилхолин + фосфатидилсерин + фосфатидилинозит, НФЛ - неидентифицированный фосфолипид (по-видимому, фосфатидная кислота), К - кардиолипин, СФМ/ФХ - отношение сфингомиелина к фосфатидилхолину.

которое снижение относительного содержания фосфатидилхолина у теплокровных животных. Возможно, что эти различия связаны с особенностями температурных условий, в которых находятся клетки этих животных. Как известно (Бергельсон, 1975), сфингомиелин усиливает прочность биологических мембран. Повышение же температуры является разрушающим мембраны фактором. Не случайно, по-видимому, в нервных клетках, для которых прочность мембран имеет особо важное значение, обычно наблюдается высокое содержание сфингомиелина. Более того, считается, что увеличение содержания сфингомиелина в мозгу по мере усложнения его морфологии в ходе филогенетического развития представляет собой прогрессивное приобретение нервной системы (Крепс, 1981).

Лизосомальные ферменты

Для десяти видов рыб показано, что, как и у млекопитающих, у рыб внутренние органы (печень, почки, селезенка) отличаются заметно большей активностью лизосомальных ферментов, чем мышцы, гонады и сердце. На примере трех лизосомальных ферментов (кислой фосфатазы, ДНКазы, РНКазы) в эволюционном ряду, состоящем из трех видов гельминтов, одного вида насекомых, девяти видов рыб, относящихся к пяти семействам, двух видов птиц и семи видов млекопитающих, не было обнаружено какой-либо строгой зависимости в их активности от низших к высшим животным. Эти и ниже следующие данные свидетельствуют в пользу представления о преимущественном значении лизосом как адаптационных надмолекулярных инструментов, необходимых для функционирования каждой клетки при разных физиологических состояниях организма в сложных условиях меняющейся среды.

Особенно сильные изменения активности лизосомальных ферментов наблюдались у лососевых рыб в процессе их оогенеза, анадромной миграции и эмбриогенеза. Было установлено, что общая активность лизосомальных ферментов практически во всех органах, кроме сердца и гонад, увеличивается в период с III по IV стадию зрелости у самок озерного лосося, выдерживаемых в садках (без подкармливания) в течение почти трех с половиной месяцев в период преднерестового созревания гонад. При этом в тканях уменьшалось содержание липидов приблизительно на 35–40%, белков – на 20–50%, причем наименьшее изменение в содержании белков отмечалось для красных мышц (на 25%) и сердца (на 10%) и только в гонадах оно оставалось на неизменном уровне: 55 мг на 1 г ткани. Наблюдалась также своеобразная асинхронность (или отсутствие количественной корреляции) в изменении общей активности разных лизосомальных ферментов в процессе оогенеза. Все эти факты можно объяснить генной регуляцией биосинтеза лизосомальных ферментов, опосредованной через действие половых гормонов, а также участие в этих процессах кортикостероидов, так как нерестовое голодание у рыб идет по механизму длительного стресса.

Эти результаты, полученные для лосося, отличающегося особенно интенсивной перестройкой обмена веществ, в определенной степени характерны и для других лососевых и сиговых рыб, причем для каждого изученного в этом отношении вида (пелядь, сиг, радужная форель) характерно некоторое своеобразие, отражающее специфику оогенеза и гаметогенеза каждой рыбы в конкретных условиях внешней среды. Так, у пеляди эти особенности вызваны тем, что популяция этой рыбы, завезенной в Карелию из Сибири, находится в состоянии акклиматизации и встречает какие-то трудности при адаптации к новым условиям, о чем свидетельствует задержка в накоплении белков и соответствующее ей отклонение в динамике общей активности катепсина в гонадах, мышцах и печени у этой рыбы по сравнению с сигом — дикой и естественной формой сиговой рыбы для Карелии. Причиной же слабой изменчивости содержания белков и низкой активности лизосомальных ферментов в мускулатуре радужной форели (доменистированная форма) на всех стадиях созревания гонад (по сравнению с другими видами рыб) может быть ее высокая пищевая активность во все периоды жизненного цикла, вследствие чего у нее нет физиологической потребности переходить на эндогенный тип питания и активизировать в связи с этим работу лизосомального аппарата для утилизации мышечных белков и использования их на рост гонад.

В литературе накапливается все больше данных о том, что лизосомы играют значительную роль в подготовке яйцеклеток к оплодотворению, непосредственно в процессах, сопровождающих оплодотворение, и особенно в ходе самого процесса эмбриогенеза. Однако у рыб этот вопрос изучен крайне слабо. Особенно мало данных по изменению активности катепсинов в процессе эмбриогенеза у рыб, хотя роль в постепенной и специфической деградации запасных белков икры, определяющей нормальный ход эмбриогенеза, может быть велика. Именно поэтому мы и обратили внимание на сравнительное изучение активности катепсинов у пресноводных рыб. Для всех исследованных в этом отношении рыб характерна специфическая для каждого катепсина динамика активности и распределения ее между зародышем и желтком в ходе эмбрионального развития икры. Катеп-

син В более активно работает на самых ранних стадиях эмбриогенеза, в то время как катепсин D — на более поздних стадиях, особенно в период резорбции желточного мешка у выклюнувшихся личинок, а также и в процессе самого выклева. У разных видов эта динамика имеет похожий, хотя и несколько отличающийся характер. Четко обнаруживается приуроченность той или иной протеиназы к отдельным моментам в морфогенезе зародыша, хотя конкретный смысл наблюдающихся достаточно резких смен в активности протеиназ в процессе эмбриогенеза еще предстоит выяснить. Несомненно, что выявленные изменения связаны с разной экспрессией генов на разных стадиях эмбриогенеза, соответствующей как возможному изменению внешней среды, так и в первую очередь сложным процессам происходящей при этом дифференцировки тканей. По крайней мере, это показано для некоторых изоферментов в эмбриональный период у разных животных (Райдер, Тейлор, 1983). Нами также была обнаружена четкая не только качественная, но и количественная изменчивость изоферментных спектров лактатдегидрогеназы у лосося, радужной форели, сига и карпа, состоящая в общем увеличении числа изоферментов и изменении соотношения их активностей по мере эмбрионального развития.

О высоком адаптивном значении изменчивости активности лизосомальных ферментов свидетельствуют и наши результаты по сезонной вариабельности их активности. Особенно показательно в этом отношении данные по сезонной динамике множественных форм кислой фосфатазы. В частности, в печени рыб общая активность кислой фосфатазы в зимне-весенние месяцы (февраль — апрель) в 2–4 раза выше, чем в летние (май — август), причем в летнее время наблюдается увеличение относительной доли активности низкомолекулярной формы (масса около 100 кДа) на фоне снижения доли высокомолекулярной формы (масса около 300 кДа). Все это говорит в пользу определенного функционального значения каждой множественной формы фермента и противоречит представлениям о нейтральном характере мутаций, приводящих к появлению множественных форм ферментативных белков. Вывод об адаптивном значении изоферментов (или множественных форм ферментов) вытекает также и из наших данных по количественной вариабельности

активности отдельных нелизосомальных ферментов – изоферментов ЛДГ в тканях сеголетков лосося в разные сезоны года. В частности, увеличение в зимний период во всех тканях изоферментов группы В' по отношению к группе В" и медленных гетероизоферментов (А-В)_I и (А-В)₂, а в скелетных мышцах активности группы А' по сравнению с группой А" вызвано адаптацией к более низким температурам, что вытекает из кинетических характеристик этих изоферментов, известных из литературы. Сезонная вариабельность активности лизосомальных ферментов может быть также связана с различной прочностью прикрепления лизосомальных ферментов к мембране и разной стабильностью самой биомембраны в различные сезоны года. В частности, весной стабильность лизосомальной мембраны к действию возрастающих концентраций фенола и смоляных кислот значительно меньше, чем зимой, что может быть также следствием и того, что весной в печени рыб в связи с активизацией обменных процессов увеличивается доля вторичных лизосом, которые отличаются по прочности своей мембраны от первичных лизосом.

В диссертации приводятся разнообразные материалы по изучению действия токсических веществ, входящих в сточные воды ЦБК, на лизосомы рыб. В частности, установлен очень сложный характер реакции лизосомального аппарата на действие токсических веществ, зависящий от концентрации и химической природы токсикантов, чувствительности организма и условий окружающей среды. Под влиянием токсикантов на целый организм (в острых аквариальных экспериментах) наблюдается изменение в разных тканях количественных соотношений активности отдельных изоферментов (на примере лактатдегидрогеназы) или множественных форм ферментов (на примере кислой фосфатазы), что находит подтверждение и в полевых наблюдениях. Хронические эксперименты по изучению влияния абиеитиновой кислоты и смеси смоляных кислот на радужную форель показали специфическое для каждого органа количественное изменение активности кислых гидролаз – фосфатаз, ДНКазы, РНКазы и катепсина В при наличии четкой тенденции (различной в разных органах) к уменьшению (сердце, мышцы, селезен-

ка) или увеличению (печень, головной мозг, почки, жабры) общей активности почти у всех (за небольшим исключением) ферментов. По-видимому, существуют как опосредованные (через различные регуляторные факторы: - кортикостероиды и адреналин, выделяемых в кровь при реакции организма на действие токсических веществ, являющимися типичными стресс-факторами; изменение проницаемости биомембран; нарушение биосинтеза ферментов), так и непосредственное влияние токсических веществ на молекулы ферментов, что было нами показано при изучении зависимости активности отдельных изоферментов ЛДГ от концентрации различных фенолов. На рис. 4 приведен один из примеров этому.

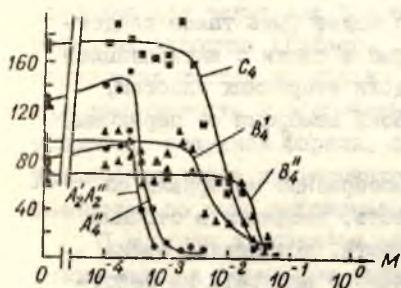


Рис. 2 Зависимость активности отдельных изоферментов лактатдегидрогеназы радужной форели от дозы токсиканта (гидрохинона). На оси ординат: активность ферментов в условных единицах; на оси абсцисс: концентрация гидрохинона в молях/л.

В конечном итоге изменения в работе лизосомального аппарата или в активности других ферментных комплексов в клетках и тканях рыб могут иметь как положительный (адаптационный), так и отрицательный (выходящий за рамки адаптационной нормы) для организма характер.

В диссертации приведены данные, показывающие, что для определения ПДК можно использовать не только традиционный подход, заключающийся в определении активности лизосомальных ферментов в органах рыб при различных дозах токсического воздействия, но и принципиально новый прием, состоящий в инкубации только отдельных частей клеток - изолированных органелл (например, лизосом) с различными концентрациями токсиканта. Концентрация токсиканта, при которой происходит

ингибирование или активирование лизосомальных ферментов слабо зависит при этом от вида рыбы (так как отдельные органеллы в отличие от целых клеток или организма не обладают способностью адаптироваться к экстремальным воздействиям) и является характеристическим свойством органелл (в частности, лизосом) вообще (рис. 3). Эта особенность органелл позволит иметь тест, который по своей чувствительности может быть близок к биотестам, но лишен одного их недостатка — изменять свои свойства (чувствительность) в результате адаптации в ответ на действие токсикантов. Конечно, предлагаемый тест также имеет свои ограничения, связанные с тем, что органеллы являются лишь частью организма и поэтому не могут во всех случаях отражать полностью чувствительность и устойчивость всего организма к токсическим веществам.

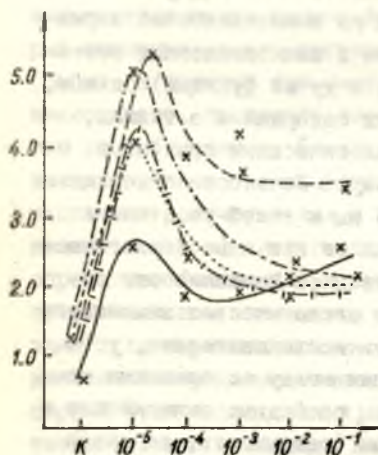


Рис. 3. Свободная активность ДНКазы при инкубации изолированных из печени разных рыб (— окунь, - - - - - сиг, хариус, - плотва, - - - - - лещ) лизосом с абиединовой кислотой. На оси абсцисс: концентрация абиединовой кислоты (в М/л), на оси ординат: активность фермента в E_{260} на 1 г ткани за 1 мин. при 37°C .

Часть 4. АМИНОКИСЛОТЫ

Сравнение двумерных хроматограмм гидролизатов суммарных белков и пулов свободных аминокислот разных тканей рыб, относящихся к различным семействам, показало отсутствие качественных различий между ними, хотя количественные различия особенно между разными тканями и между пулами свободных и связанных (белковых) аминокислот можно было заметить уже

визуально.

Количественный анализ аминокислот подтвердил наличие четких различий (правда, по связанным аминокислотам не очень значительных) относительного содержания (в процентах к общей сумме) почти каждой аминокислоты в суммарных белках или пуле свободных аминокислот между гомологичными тканями (на примере, мышц и печени) разных видов (муксун, пыжьян, сиг, пелядь, нельма, семга, щука, налим, колошка), так и между разными тканями (мышцы, печень, спинной мозг, кожа) одного и того же вида рыб. Приведенный в диссертации собственный материал, иллюстрирующий эти положения, полностью соответствует аналогичным данным, известным по другим видам рыб в литературе. На основании литературных сведений по аминокислотному составу отдельных чистых белков и их содержанию в тканях можно объяснить наши данные по аминокислотной вариативности как некоторыми различиями в аминокислотных составах гомологичных (выполняющих одну и ту же функцию) белков, так и прежде всего изменчивостью их содержания в тканях, связанную с экологическими и физиологическими причинами. Следовательно, по количественной вариативности содержания связанных аминокислот в тканях рыб мы в какой-то степени можем судить о реакции организма на те или иные экологические факторы. Что касается количественной изменчивости содержания свободных аминокислот, то экологическая значимость этого показателя признается многими исследователями, установившими различного рода корреляции между содержанием отдельных аминокислот или общей суммы свободных аминокислот и некоторыми экологическими факторами (сезонность, характер питания, содержание солей в воде, температура, характер и интенсивность загрязнения водоема и д.).

Действительно, нами обнаружено, что аминокислотный состав как суммарных белков, так и особенно свободного пула заметно отличается у стад одного и того же вида рыб, выловленных из водоемов с различными гидрохимическими и гидробиологическими условиями. Так, в печени сига и мышца пеляди особенно заметны были различия по связанным аминокислотам: глутаминовой кислоте, аланину, валину и лейцинам (сравнивались сига, выловленные из Выгозера и Онежского

озера, и пелядь - из Крошнозера и Святозера). Пул свободных аминокислот в мышцах речной (из р. Кереть) и заводской (с Выгского рыбоводного завода) молоди семги различился (в 1,5-4,0 раза) по глутаминовой кислоте, аланину, лизину, гистидину, глицину. Пока мы можем только констатировать сам факт влияния условий обитания на статус как свободных, так и связанных аминокислот тканей рыб.

По-видимому, для того, чтобы понять и затем применить в качестве тестов для оценки физиологического состояния рыбы в той или иной экологической ситуации определение содержания свободных и связанных аминокислот рыб необходимо иметь удобную эколого-биохимическую модель, с помощью которой можно было бы однозначно разобраться в причинах вариабельности содержания аминокислот. В поисках такой модели мы обратили внимание на почти точное копирование полостными гельминтами рыб аминокислотного состава суммарных белков тканей хозяина (рыбы), в которых они паразитируют. Что касается свободных аминокислот, то такого соответствия между паразитом и хозяином не наблюдается. По-видимому, механизмы, определяющие концентрацию в тканях отдельных свободных аминокислот, более адекватно реагируют как в паразите, так и в хозяине на изменение эколого-физиологической обстановки, чем те, которые определяют белковый пул аминокислот. Так или иначе, но нам представлялось заманчивым использовать модель "паразит-хозяин" для изучения причин аминокислотной вариабельности в зависимости от экологических условий. Пока завершен только первый этап исследований, в котором констатируется перспективность такого подхода не только с вышеприведенной точки зрения, но и с других позиций (изучения вреда, наносимого гельминтом хозяину; тонких механизмов взаимосвязей между хозяином и паразитом).

В частности, приводятся материалы, показывающие широкую вариабельность содержания свободных аминокислот и в значительно меньшей степени связанных аминокислот (как в хозяине, так и в гельминте) от типа ткани, вида рыбы, в которых паразитирует гельминт, от сезона года, гидрохимических и гидробиологических условий водоема, в котором обитает

хозяин, т.е., от условий среды первого и второго порядка. Примером же того, какой вред может нанести гельминт хозяину (рыбе), могут явиться наши данные по изучению содержания свободных аминокислот в тканях рыб, подвергнутых и неподвергнутых гельминтной инвазии. Под влиянием гельминтов наблюдается достаточно сильное (в два раза) уменьшение абсолютного содержания свободных аминокислот, причем заметно (почти в три раза) уменьшается содержание незаменимых аминокислот – в первую очередь таких, как лизин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, валин и метионин (рис. 4).

Не вызывает сомнений то, что наблюдаемое уменьшение фонда свободных аминокислот в тканях инвазированных гельминтами рыб является результатом утилизации их паразитами. Однако не совсем еще ясными представляются возможные механизмы, приводящие к преимущественному уменьшению в тканях, пораженных гельминтами, именно незаменимых аминокислот. Вызвано ли это тем, что гельминт избирательно поглощает в первую очередь незаменимые аминокислоты или это связано с неспособностью клеток хозяина компенсировать потерю незаменимых аминокислот с такой же скоростью, с какой это происходит в отношении заменимых (учитывая внутриклеточный синтез последних). Правда, имеются литературные данные, подтверждающие первый механизм (Chappel, Read, 1973).

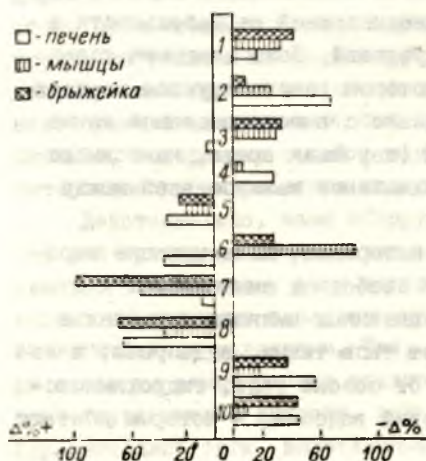


Рис. 4 Изменение свободных аминокислот в органах налима, пораженных плероцеркоидными лентецов *Diphyllobothrium latum* и *Triacanthopus nodulosus* (в % к непораженным тканям). 1 – фенилаланин, 2 – лейцин + изолейцин, 3 – валин + метионин, 4 – аланин, 5 – глутаминовая кислота, 6 – серин, 7 – гликокол, 8 – аспарагиновая кислота, 9 – гистидин, 10 – лизин + аргинин

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1) По степени фенотипической изменчивости содержания в организме все изученные в работе химические вещества в первом приближении делятся на две группы: более изменчивые (жирные и желчные кислоты, триацилглицерины, эфиры холестерина, свободные аминокислоты, лизосомальные ферменты, многочисленные формы кислой фосфатазы, изоферменты лактатдегидрогеназы), адекватно реагирующие на эколого-физиологические факторы, и менее изменчивые (мембранные белки и фосфолипиды, связанные аминокислоты), заметно изменяющие свою концентрацию лишь при сильной патологии или экстремальных воздействиях факторов внешней среды.

2) На примере 28 видов рыб, относящихся к 10 семействам, и около 25 видов других животных (земноводные, птицы, млекопитающие, паразитические черви, насекомые) показано, что для первой группы веществ характерна более широкая филогенетическая вариабельность их содержания в организме, обнаруживаемая уже при сравнении родов и семейств (а иногда и видов!), в то время как для второй группы веществ филогенетическая изменчивость становится четкой лишь на уровне классов. Предполагается, что вторая группа веществ имеет более древнее происхождение, чем первая.

3) Установлено, что филогенетически более древние семейства рыб (осетровые, лососевые) в качестве запасных липидов накапливают в основном триацилглицерины, в то время как филогенетически более молодые семейства рыб (окуневые, щуковые, карповые, тресковые) наряду с триацилглицеринами приобретают способность накапливать в заметных количествах и эфиры холестерина, являющихся более прогрессивной формой запасных липидов, так как в своей молекуле они содержат как энергетические, так и структурные элементы (жирные кислоты и холестерин), значение которых как источников для синтеза половых гормонов, кортикостероидов и простагландинов особенно велико для выживания вида в стрессовых условиях. Показано также, что эфиры холестерина накапливаются у более молодых в эволюционном отношении рыб именно в почках, печени и мозгу, т.е. в тех органах, для которых холестерин

имеет наибольшее биохимическое и физиологическое значение. Предполагается, что эфиры холестерина возникли в процессе эволюции гораздо позднее, чем триацилглицерины.

4) Выявлена высокая эколого-физиологическая изменчивость содержания в тканях запасных липидов – триацилглицеринов и эфиров холестерина. Наибольшее количество запасных липидов в большинстве тканей пресноводных рыб Карелии обнаруживается в середине или конце "нагульного" периода. Количество запасных липидов варьирует от типа водоема, степени загрязненности его промышленными отходами, сезона года, межгодовых климатических флуктуаций, условий кормления и содержания на рыбоводных заводах.

5) Показана относительно высокая консервативность соотношений отдельных фосфолипидов в различных тканях рыб, в силу чего они не могут служить хорошим таксономическим признаком. Однако общее количество мембранных липидов – фосфолипидов и холестерина варьирует, хотя и в меньшей степени, чем запасные липиды, в зависимости от различных эколого-физиологических факторов, что свидетельствует в пользу того, что содержание биомембран в клетках не остается постоянным и адекватно реагирует на меняющиеся условия внешней среды соответственно физиологическому состоянию организма. При сильных, отрицательно действующих на организм экологических и патогенных воздействиях (токсикозы, зараженность гельминтами, болезни и др.) в тканях рыб появляется аномально высокая концентрация лизофосфатидилхолина (сильного детергента).

6) На разных уровнях (мембранном и тканевом) у различных видов пресноводных рыб и некоторых других позвоночных (амфибии, птицы, млекопитающие) и беспозвоночных (гельминты) показана четкая зависимость количественного состава жирных кислот суммарных липидов, триацилглицеринов и фосфолипидов от температуры среды и подтверждена общая закономерность, обнаруживаемая многими авторами: чем ниже температура, при которой функционируют живые клетки, тем выше общая ненасыщенность липидов их биомембран. У северных рыб регуляция ненасыщенности мембран осуществляется в основном за счет изменения в их фосфолипидах доли пента- и гексае-

новых жирных кислот.

Однако указанный общий закон действует не всегда и встречаются экологические ситуации (для плероцеркоидов лентецов, половозрелых члеников лентецов, эмбрионов карповых и лососевых рыб, у зимующей молоди карпа), что обнаружено впервые, когда наблюдается неадекватная изменению температуры среды модификация состава жирных кислот биомембран, имеющая в каждом конкретном случае понятный адаптационный смысл.

7) Показана четкая зависимость состава жирных кислот прежде всего запасных и в меньшей степени мембранных липидов практически всех органов (за исключением мозга) от содержания отдельных жирных кислот в кормах. Установлено, что, если в естественных условиях обе главные зависимости состава жирных кислот тканей рыб — от температуры и кормов — находятся в структурном единстве, так как рыба и ее кормовые организмы живут в одних и тех же температурных условиях, то при искусственном выращивании рыб на рыбоводных заводах и в прудах это единство нарушается, что вызывает напряжение биохимических систем, участвующих в регуляции составов жирных кислот соответственно температуре организма, и может приводить к появлению различных заболеваний у рыб.

8) Выявлено для II видов пресноводных рыб, относящихся к 6 семействам, что в их желчи содержатся главным образом две желчные кислоты — таурохолевая и таурохенодезоксихолевая. Желчнокислотный состав желчи рыб зависит от общего типа их питания: чем однообразнее состав пищи (у хищников), тем выше у них холатный показатель (отношение холевой кислоты к общей сумме желчных кислот, выраженное в процентах). Холатный показатель постепенно снижается от хищников к бентофагам, а затем к планктофагам (последние имеют наиболее разнообразный характер питания). Коэффициент вариации холатного показателя у всех видов рыб из загрязненных отходами целлюлозно-бумажного производства водоемов в несколько раз (2-5) превышает таковой у соответствующих видов рыб из чистых водоемов. Этот эффект имеет несколько причин: ухудшение под действием токсических веществ кормовой базы рыб; разной индивидуальной чувствительности рыб к токсикам; различного попадания токсических веществ в отдельные экземпляры

рыб.

9) Показано, что по белковому спектру и фосфолипидному составу лизосомальные мембраны разных животных слабо отличаются друг от друга, что свидетельствует о древнем происхождении лизосом и о важном функциональном значении химического устройства их мембран, даже незначительное изменение которого приводит к отрицательным последствиям для организма, что и не позволяет этим изменениям закрепиться в генотипе.

10) Установленная широкая тканевая, видовая и экологическая (в зависимости от сезона года, загрязненности водоемов и др.) вариабельность активности лизосомальных ферментов логически увязывается с адаптацией организма на молекулярном уровне к меняющимся условиям среды. Важно отметить, что активность каждого лизосомального фермента при этом изменяется и, следовательно, контролируется независимо друг от друга.

11) Показана адекватная изменениям физиологического состояния рыб (при нерестовом голодании и созревании гонад, на разных стадиях оогенеза и эмбриогенеза) динамика активности лизосомальных ферментов. В частности, в мышцах и многих внутренних органах (печень, почки, селезенка) общая и свободная активность лизосомальных ферментов при нерестовом голодании лосося увеличивается, соответствуя процессам утилизации запасных веществ этих органов, направленное на созревание гонад. Несмотря на определенное сходство, каждый вид рыбы, даже относящийся к одному и тому же семейству, отличается некоторым своеобразием динамики активности лизосомальных ферментов (например, катепсинов) в разных тканях в процессе оогенеза, связанных с экологическими и физиологическими особенностями этих рыб. То же самое наблюдается и при сравнении эмбриогенеза у разных видов рыб: четко обнаруживается приуроченность той или иной лизосомальной протеиназы к различным у разных рыб, хотя и близким моментам в морфогенезе зародыша при преимущественной работе катепсина В на ранних, а катепсина D на поздних стадиях эмбриогенеза у всех изученных в этом отношении видов рыб.

12). Установлена эколого-физиологическая (в зависимости от сезона года, загрязненности водоемов промышленными

отходами, концентрации токсических веществ, температуры, стадии эмбриогенеза, возраста, вида патологии и др.) изменчивость активности отдельных множественных форм кислой фосфатазы и изоферментов лактатдегидрогеназы, что свидетельствует в пользу адаптивного значения такого рода изменений.

13) Показано, что пул свободных аминокислот тканей рыб гораздо четче по сравнению с пулом связанных аминокислот реагирует на изменение эколого-физиологических факторов. В частности, под влиянием гельминтов в тканях хозяина уменьшается общее количество свободных аминокислот и прежде всего незаменимых, в то время как соотношение связанных аминокислот в тканях хозяина при этом слабо изменяется. Изменение внешних условий (среды первого порядка для паразита) также прежде всего действует на соотношение и общее количество свободных (но не связанных) аминокислот как в гельминте, так и в хозяине.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1) Обоснованная в диссертации на основе комплексного эколого-биохимического подхода оценка нормальной вариабельности липидного, ферментного, белкового и аминокислотного статуса тканей рыб позволяет предложить в природо-охранные и рыбохозяйственные органы ряд биохимических тестов, по которым можно судить о характере (норма или патология) физиологического состояния пресноводных рыб в естественных водоемах или при искусственном выращивании. В частности:

а) Определение содержания лизофосфатидилхолина в тканях рыб (мышцах, печени и др.), повышенные концентрации которого свидетельствуют о глубоких патологических изменениях в организме рыб, вызываемые сильными стрессами, действием паразитов, высоких концентраций токсических веществ, различного рода болезнями.

б) Определение вариабельности холатного показателя в нескольких видах рыб с разной экологией для общей оценки биологического благополучия водоема или в более частном случае для оценки токсикогенной обстановки в водоеме.

в) Определение содержания триацилглицеринов в икре лососевых рыб (для оценки ее "качества" для рыбодоводных целей)

и в мышцах молоди карпа перед зимовкой (для оценки ее подготовленности к зимовке).

г) Определение свободной и общей активности лизосомальных ферментов в разных тканях рыб как показателей физиологического состояния организма рыб при нерестовом голодании, зимовке, реакции на токсические вещества.

д) Определение соотношений жирных кислот в запасных и мембранных липидах для оценки полноценности кормов по содержанию в них незаменимых жирных кислот и степени модификации экзогенных соотношений жирных кислот организмом рыбы применительно к температурным условиям.

е) Определение активности отдельных множественных форм кислой фосфатазы, изоферментов лактатдегидрогеназы и катепсинов как показателей отклонений в процессе оогенеза и эмбриогенеза, а также степени развития токсикозов и других (особенно плавникового некроза у молоди лосося) заболеваний у рыб.

2) Рекомендуется использовать для определения ПДК (предельно-допустимых концентраций токсикантов в водоеме) принципиально новый подход: инкубацию изолированных из организма нативных органелл (в частности, лизосом) с различными концентрациями токсических веществ с последующей оценкой их биохимической активности по небольшому, но специфическому числу показателей (для лизосом, например, по соотношению свободной и общей активности нескольких гидролаз).

3). Выявленные в диссертации общие и частные закономерности экологической и эволюционной биохимии липидов, белков, аминокислот, лизосом и лизосомальных ферментов рыб, а также результаты критического анализа и обобщения имеющейся научной литературы в этой области позволяет включить их в курсы лекций по физиологии и биохимии рыб в Астраханском и Калининградском РыбВТУЗах, биофаках Калининградского, Петрозаводского и Ярославского университетов, на кафедрах гидробиологии и ихтиологии биофака МГУ, на заочных курсах повышения квалификации рыбоводов, а также использовать материалы диссертации для ведущейся подготовки к печати учебников по физиологии и биохимии рыб.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Смирнов В.П., Сидоров В.С. Хроматография на бумаге смоляных кислот сосны и ели. - Журн. прикл. химии. 1960, т. XXXIII. с. 1192-1203.
2. Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Болгова О.М., Нефедова З.А. Липиды рыб. I. Методы анализа. Тканевая специфичность липидов ряпушки *Coregonus albula*. - В кн.: Лососевые (Salmonidae) Карелии. Петрозаводск, 1972, с. 150-161.
3. Сидоров В.С., Высоцкая Р.У., Быховская-Павловская И.Е. Аминокислотный состав некоторых паразитических гельминтов рыб. - В кн.: Лососевые (Salmonidae) Карелии. Петрозаводск, 1972, с. 142-145.
4. Высоцкая Р.У., Сидоров В.С. О содержании липидов у некоторых гельминтов пресноводных рыб. - Паразитология, 1973, т. 7, с. 51-57.
5. Лизенко Е.С., Сидоров В.С. О содержании липидов в гонадах ряпушки (*Coregonus albula* L.) Уросозера. - Вопр. ихтиол., 1973, т. 13, с. 303-313.
6. Рипатти П.О., Сидоров В.С. Количественный состав желчных кислот некоторых позвоночных в связи с характером их питания. - Докл. АН СССР, 1973, т. 212, с. 770-773.
7. Фрезе В.И., Сидоров В.С., Гурьянова С.Д. Аминокислотный состав плероцеркоидов рода *Diphyllobotrium* и их хозяев. - *Helminthologia*, том XV, 1974, с. 487-495.
8. Болгова О.М., Сидоров В.С., Смирнов В.А. Состав жирных кислот мышц дикой и заводской молоди лосося (*Salmo salar* L.). - В кн.: Лососевые (Salmonidae) Карелии. Петрозаводск, 1976, с. 163-167.
9. Сидоров В.С. Сравнительное изучение липидного состава у некоторых пресноводных рыб и их гельминтов. - В кн.: Рефераты науч. сообщ. на III Всесоюз. съезде биохимиков. Рига, 1974, т. I, с. 14.
10. Лизенко Е.И., Сидоров В.С., Потапова О.И. Сезонные изменения липидного состава органов и тканей крупной ряпушки озер Карелии. - Вопр. ихтиол., 1975, т. 15, с. 519-526.
11. Сидоров В.С., Высоцкая Р.У., Руоколайнен Т.Р. Влияние фенола и смоляных кислот на изолированные лизосомы

печени рыб. - В кн.: Структура и функции лизосом. М., 1976, с. 130-131.

12. Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Богдан В.В., Нефедова З.А. Лизофосфолипиды как возможные индикаторы стрессового состояния рыб. - В кн.: Экологическая физиология рыб. Киев, 1976, т. I, с. 107-109.

13. Болгова О.М., Сидоров В.С., Смирнов Ю.А., Сорвачев К.Ф. Жирнокислотный состав полостного жира молоди лосося *Salmo salar* L. в естественных условиях и при заводском выращивании. - Вopr. ихтиол., 1977, т. 17, с. 1090-1096.

14. Гурьянова С.Д., Сидоров В.С. Содержание липидов в плероцеркоидах лентеца широкого. - В кн.: Новое в физиологии и биохимии пушных зверей. Петрозаводск, 1977, с. 110-114.

15. Высоцкая Р.У., Руоколайнен Т.Р., Сидоров В.С. Влияние различных концентраций фенола на активность лизосомальных ферментов печени животных. - В кн.: Сравнительная биохимия рыб и их гельминтов. Петрозаводск, 1977, с. 73-77.

16. Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Рипатти П.О., Болгова О.М. Липиды рыб (Литературный обзор). - В кн.: Сравнительная биохимия рыб и их гельминтов. Петрозаводск, 1977, с. 3-56.

17. Сидоров В.С., Попова Р.А. Липидный состав рыб в зависимости от изменения условий обитания, вызванных антропогенными факторами. - В кн.: Экологическая биохимия животных. Петрозаводск, 1978, с. 6-14.

18. Сидоров В.С., Груздев А.И. Действие фенола на изоферменты лактатдегидрогеназы рыб. - В кн.: Экологическая биохимия рыб. Петрозаводск, 1978, с. 61-69.

19. Сидоров В.С., Лизенко Е.И. Сравнительно-эволюционное исследование липидов у пресноводных рыб. - В кн.: Эволюционная биохимия и происхождение жизни. Ереван, 1978, с. 67-68.

20. Сидоров В.С., Груздев А.И. Влияние фенолов на активность изоферментов лактатдегидрогеназы. - В кн.: Окислительные ферменты клетки и регуляция их активности Горький, 1978, с. 135-136.

21. Высоцкая Р.У., Руоколайнен Т.Р., Сидоров В.С. Изменение активности кислых гидролаз при действии на изолирован-

ные лизосомы рыб сульфатного щелока. - В кн.: Гидробиология Выгозерского водохранилища. Петрозаводск, 1978, с.156-164.

22. Смирнов Л.П., Сидоров В.С. Жирнокислотный состав цестод *Eubothrium crassum* и *Diphyllbothrium dendriticum*. - Паразитология, 1979, т. 13, с. 522-529.

23. Сидоров В.С., Лизенко Е.И. Влияние стрессовых условий на липидный состав лизосомальной и митохондриальной мембраны у рыб. - В кн.: Экспериментальные исследования влияния загрязнителей на водные организмы. Апатиты, 1979, с. 108-113.

24. Сидоров В.С., Смирнов Л.П. Изучение жирнокислотного состава некоторых гельминтов. - В кн.: IV Всесоюзный биохимический съезд, т. I, Ленинград, 1979, с. 85-86.

25. Груздев А.И., Сидоров В.С. Влияние фенолов на активность отдельных изоферментов лактатдегидрогеназы у рыб. - В кн.: Экспериментальные исследования влияния загрязнителей на водные организмы. Апатиты, 1979, 117-121.

26. Лизенко Е.И., Сидоров В.С., Нефедова З.А., Поталова О.И. О содержании липидных компонентов в икре и молоках ряпушки. - Вopr. ихтиол., 1979, т.19, с. 369-370.

27. Попова Р.А., Рипатти П.О., Сидоров В.С. Желчнокислотный состав некоторых рыб Карелии. - В кн.: Современные вопросы экологической физиологии рыб. Москва, 1979, с. 206 - 210.

28. Сидоров В.С., Смирнов Л.П. Жирнокислотный состав некоторых гельминтов холоднокровных и теплокровных позвоночных. - Журн. эвол. биохим. и физиол., 1980, т. 16, с. 551-556.

29. Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Нефедова З.А. Фосфолипидный состав зрелых гонад пресноводных рыб. - Журн.эвол. биохим. и физиол., 1981, т. 17, с. 222 (РЕФ. рукописи № 5161-80, депонированной в ВИНИТИ 8 декабря 1980 года).

30. Богдан В.В., Смирнов Л.П., Сидоров В.С. Изучение белкового состава лизосомальных мембран печени рыб методом электрофореза в полиакриламидном геле. - В кн.: Биохимия пресноводных рыб Карелии. Петрозаводск, 1980, с. 74-81.

31. Болгова О.М., Сидоров В.С., Чеченков А.В. Зависимость жирнокислотного состава липидов молоди семги от ха-

рактера пищи. - Рыбн. хоз-во. 1980, № I, с. 74-75.

32. Сидоров В.С., Высоцкая Р.У., Костылев Ю.А. Активность лизосомальных ферментов у взрослых самок озерного лосося в период преднерестового созревания. - Вопр. ихтиол., 1980, т. 20, с. 713-718.

33. Груздев А.И., Сидоров В.С., Воробьев В.И. Изоферменты лактатдегидрогеназы на эмбриональной и предличиночной стадиях развития карпа. - В кн.: Биохимия пресноводных рыб Карелии. Петрозаводск, 1980, с. 61-67.

34. Немова Н.Н., Сидоров В.С., Рипатти П.О. Лизосомальное переваривание белков органов лосося *Salmo salar* L. при голодании в условиях содержания в садках в преднерестовый период. - Вопр. ихтиол., 1980, т. 20, с. 180-182.

35. Немова Н.Н., Сидоров В.С. Внутриклеточное распределение и активность катепсина В и D в яйцах сига до и после оплодотворения. - Онтогенез, 1980, № I, с. 85-87.

36. Болгова О.М., Рипатти П.О., Сидоров В.С. О жирно-кислотном составе икры некоторых видов рыб. - В кн.: Сравнительные аспекты биохимии рыб и некоторых других животных. Петрозаводск, 1981, с. 113-115.

37. Высоцкая Р.У., Сидоров В.С. Участие лизосомального аппарата в ответной реакции организма на воздействие антропогенных факторов внешней среды. - В кн.: Сравнительные аспекты биохимии рыб и некоторых других животных. Петрозаводск, 1981, с. 5-18.

38. Груздев А.И., Сидоров В.С., Полина А.В. Сезонные различия в изоферментном составе лактатдегидрогеназы молоди лосося. - В кн.: Сравнительные аспекты биохимии рыб и некоторых животных. Петрозаводск, 1981, с. 69-73.

39. Лизенко Е.И., Сидоров В.С., Болгова О.М. Сравнительное изучение липидного состава лизосомальной фракции печени позвоночных. - Журн. эвол. биохим. и физиол., 1981, т. 17, с. 254-258.

40. Сидоров В.С. Экологические аспекты биохимии рыб. - В кн.: Физиолого-биохимические аспекты адаптаций. Часть I. Киев, Наукова Думка, 1982, с. 145-147.

41. Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Болгова О.М. Методы выделения, тонкослойной и газожидкостной хроматографии липи-

дов рыб. - В кн.: Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах их ареалов. Вильнюс, 1981, ч.4, с. 58-68.

42. Сидоров В.С., Гурьянова С.Д. Содержание свободных аминокислот в печени налима и колюшки при инвазии плероцеркоидом цестод рода *Diphyllobothrium*. - Паразитология, 1981, т. 15, с. 126-130.

43. Груздев А.И., Сидоров В.С., Смирнов М.А., Чеченков А.В. Активность изоферментов лактатдегидрогеназы при некрозе плавников у молоди семги *Salmo salar* L. - Вопросы ихтиол., 1983, т. 23, с. 661-666.

44. Груздев А.И., Сидоров В.С. Изменчивость лактатдегидрогеназы у лососевых рыб. - В кн.: Генетика промысловых рыб и объектов аквакультуры. - Москва, Легкая и пищев.пром. 1983, с. 15-18.

45. Нефедова З.А., Лизенко Е.И., Кошелев В.В., Сорокин В.П., Сидоров В.С. Липидный состав сига в процессе эмбриогенеза. - В кн.: Сравнительная биохимия водных животных. Петрозаводск, 1983, с. 43-52.

46. Руоколайнен Т.Р., Высоцкая Р.У., Сидоров В.С. Влияние смоляных кислот на молекулярную гетерогенность кислой фосфатазы печени форели. - В кн.: Теоретические вопросы биотестирования. Волгоград, 1983, с. 60-64.

47. Руоколайнен Т.Р., Сидоров В.С., Болотников А.С. Распределение множественных молекулярных форм кислой фосфатазы в тканях радужной форели. - В кн.: Сравнительная биохимия водных животных. Петрозаводск, 1983, с. 92-98.

48. Рипатти П.О., Сидоров В.С. Эколого-физиологическая роль желчных кислот у рыб. - В кн.: Сравнительная биохимия водных животных. Петрозаводск, 1983, с. 17-28.

49. Сидоров В.С. Значение биохимического изучения нормы и патологии органелл животной клетки для водной токсикологии. - В кн.: Теоретические основы водной токсикологии. Норма и патология. М., Наука, 1983; с. 110-120.

50. Сидоров В.С. Экологическая биохимия рыб. Липиды. Ленинград, Наука, 1983, 240 с.

51. Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Нефедова З.А. Генетическая стабильность соотношений индивидуальных классов фос-

фолипидов половых продуктов пресноводных рыб. - В кн.: Генетика промысловых рыб и объектов аквакультуры. Легкая и пищев. пром., Москва, 1983, с. 15-18.

52. Сидоров В.С., Шатуновский М.И. Теоретические и практические аспекты экологической биохимии рыб. - В кн.: Сравнительная биохимия водных животных. Петрозаводск, 1983, с. 5-17.

53. Смирнов Л.П., Сидоров В.С., Болгова О.М., Гурьянова С.Д. К вопросу о качественной и количественной изменчивости жирнокислотных спектров эктотермных животных. - В кн.: Генетика промысловых рыб и объектов аквакультуры. Москва, 1983, с. 15-18.

54. Попова Р.А., Бехтерева З.А., Рипатти П.О., Сидоров В.С. Влияние кормовой базы на состав желчи у рыб. - В кн.: Сравнительная биохимия водных животных. Петрозаводск, 1983, с. 145-150.

55. Немова Н.Н., Сидоров В.С. Лизосомальные протеиназы в эмбриогенезе лосося *Salmo salar* L. - Журн. эвол. биохим. и физиол., 1984, т. XX, № 6, с. 576-580.

56. Сидоров В.С. Фенотипическая изменчивость химического состава рыб. - 16 конференция ФЕБО, Москва, 1984, с. 247.

57. Сидоров В.С. Лизосомы и лизосомальные ферменты рыб. - В кн.: Биологические основы рыбоводства. Актуальные проблемы физиологии и биохимии рыб. Москва, Наука, 1984, с. 98-116.

58. Сидоров В.С. Экологические идеи в эволюционной биохимии. - В кн.: Современные проблемы эволюционной биохимии и происхождения жизни. Петрозаводск, 1984, с. 131-132.

59. Сидоров В.С., Яржомбек А.А., Ананьев В.И. Использование достижений экологической биохимии для решения задач в области рыбного хозяйства в северных регионах СССР. - В кн.: Сельское и промышленное хозяйство Крайнего Севера. Секция "Рыбное хозяйство, охрана и увеличение биоресурсов водоемов Севера", Новосибирск, Петропавловск-Камчат., 1984, с. 89-90.

60. Смирнов Л.П., Сидоров В.С. Сравнительное изучение белковых спектров цестод и их хозяев методами гель-хроматографии и диск-электрофореза. - Паразитология, 1984, т. 18, с. 430-435.

61. Болгова О.М., Сидоров В.С., Рипатти П.О. Жирнокислотный спектр лосося *Salmo salar* L. на эмбрионально-ли-

чиночном этапе развития. - Журн. эволюц. биохим. и физиол., 1985, т. 21, с. 122-125.

62. Гурьянова С.Д., Сидоров В.С. Влияние некоторых цес-
тод на липидный состав тканей налима и колюшки. Паразитоло-
гия, 1985, т. 19, с. 152-156.

63. Крупнова М.Ю., Сидоров В.С. Активность лизосомаль-
ных гидролаз в конце зимовки карпа. - В кн.: Биохимия моло-
ди пресноводных рыб. Петрозаводск, 1985, с. 53-58.

64. Лизенко Е.И., Ваятинский В.Ф., Сидоров В.С., Креп-
кина М.Н. Изменение содержания лизолецитина при различных
заболеваниях карпа. - В кн.: Биохимия молоди пресноводных
рыб. Петрозаводск, 1985, с. 67-73.

65. Немова Н.Н., Сидоров В.С. Кислая протеиназа из ик-
ры радужной форели. - Украинский биохим. журн., 1985.

66. Немова Н.Н., Сидоров В.С. Гельхромотография белков
и катепсинов из икры рыб в процессе оогенеза и эмбриогенеза.
- В кн.: Биохимия молоди пресноводных рыб. Петрозаводск,
1985, с. 67-73.

67. Сидоров В.С., Болгова О.М., Яржомбек А.А., Лизен-
ко Е.И. Жирнокислотный состав фосфатидилхолина у "слабых"
и "сильных" годовиков карпа в конце зимовки. - В кн.: Био-
химия молоди пресноводных рыб. Петрозаводск, 1985, с. 5-14.

68. Сидоров В.С., Аминокислоты рыб. - В кн.: Биохимия
молоди пресноводных рыб. Петрозаводск, 1985, с. 103-137.

69. Руоколайнен Т.Р., Высоцкая Р.У., Немова Н.Н., Круп-
нова М.Б., Рипатти П.О., Сидоров В.С. О возможной роли ли-
зосомального аппарата в механизмах реакции рыб на поверх-
ностные вещества. - В кн.: Экспериментальная водная токси-
кология. Вып. 10, Рига, Зинантне, 1985, с. 103-109.

70. Гурьянова С.Д., Сидоров В.С. Изменение белкового
состава в мышцах карпов в процессе зимовки. - В кн.:
Энергетический обмен рыб. Москва, 1986, с. 15.

71. Сидоров В.С., Сорвачев К.Ф., Иванова Р.П. Некото-
рые итоги и перспективы изучения аминокислот рыб. - В кн.:
VI Всесоюзная конференция по экологической физиологии и
биохимии рыб. Вильнюс, 1985, с. 221-222.

72. Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Рипатти П.О., Болго-
ва О.М., Гурьянова С.Д., Нефедова Э.А., Богдан В.В., Зе-

кина Л.М. К вопросу о происхождении и эволюции липидов. - В
кн.: У Всесоюзный биохимический съезд. Том. 3, М., Наука,
1986, с. 131-132.

Н. Гигор