

УДК 504.37.054:597-1.111.2

ЭФФЕКТ БОРА В ХАРАКТЕРИСТИКЕ БУФЕРНЫХ СВОЙСТВ ГЕМОГЛОБИНА РЫБ

И. М. Камшилов, Р. А. Запруднова

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН

Впервые изучали связь кислотоустойчивости рыб с функциональными свойствами гемоглобина (на представителях 15 видов из 6 семейств пресноводных костистых и проходных осетровых). Установлена связь между устойчивостью рыб к закислению воды, эффективностью гемоглобиновой буферной системы и величиной эффекта Бора. Последний показатель предлагается в качестве характеристики двух предыдущих.

К л ю ч е в ы е с л о в а : рыбы; гемоглобин; эффект Бора; кислотоустойчивость.

I. M. Kamshilov, R. A. Zaprudnova. THE BOHR EFFECT IN THE CHARACTERISTICS OF THE BUFFER PROPERTIES OF FISH HEMOGLOBIN

Correlations between acid-resistance and hemoglobin functional properties in fish were studied for the first time (using representatives of 15 species and 6 families: freshwater bony fishes and migratory sturgeons). A new finding is the correlation between the resistance of fish to high water acidity, performance of the hemoglobin buffer system, and the value of the Bohr effect. We suggest that the latter is used as a characteristic of the former two.

К e y w o r d s : fish, hemoglobin, the Bohr effect, acid resistance.

Введение

У рыб, как и у высших позвоночных, на долю гемоглобиновой буферной системы приходится до 70–75 % буферной емкости крови [Иванов, 2003]. Однако в настоящее время нет сведений об участии этой системы в адаптации рыб к изменению pH среды. В связи с увеличением закисления воды, главным образом под влиянием антропогенных факторов, наибольший интерес представляет определение кислотоустойчивости рыб и механизмов их адаптации к изменениям кислотности водоемов.

В настоящей работе у представителей 15 видов рыб (6 семейств) с различной устойчивостью к закислению среды изучали величину эффекта Бора. Этот показатель отражает об-

ратное отношение между pH и P_{50} (величиной полунасыщения гемоглобина кислородом), то есть снижение сродства гемоглобина к кислороду с понижением pH крови.

Материалы и методы

Изучали рыб, различающихся по экологии и систематике. Пресноводные костистые рыбы: семейство *Cyprinoidae* (карповые) – *Carassius auratus* (карась серебряный), *Tinca tinca* (линь), *Cyprinus carpio* (сазан), *Rutilus rutilus* (плотва), *Abramis brama* (лещ), *Leuciscus idus* (язь), *Blicca bjoerknna* (густера), *Pelecus cultratus* (чехонь); сем. *Gadidae* (тресковые) – *Lota lota* (налим); сем. *Percidae* (окуневые) – *Perca fluviatilis* (окунь); сем. *Salmonidae* (лососи) – *Salmo*

gairdneri (радужная форель); сем. *Esocidae* (щуковые) – *Esox lucius* (щука). Проходные осетровые: сем. *Acipenseridae* (осетровые) – *A. guldendaedtii* (русский осетр), *A. stellatus* (севрюга), *Huso huso* (белуга). Рыб отлавливали в бассейне Волги, форель взята с рыбоводного завода. Использовали свежее пойманных половозрелых особей. Величина pH в водоемах обитания рыб колебалась в диапазоне 7,5–8,2.

Функциональные свойства гемоглобина определяли спектрофотометрически при дезоксигенации инертным газом (N₂, He) уравновешенного с воздухом раствора гемоглобина в калий-фосфатной буферной системе с pH 6,6 и 7,2 и ионной силой 0,05M, имеющим экстинкцию E = 1,000 при длине волны 430 нм. Величину эффекта Бора определяли графически для 50%-го насыщения гемоглобина кислородом в соответствии с уравнением Дилла: $\Delta \lg P_{50} / \Delta \text{pH}$. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента ($p < 0,05$).

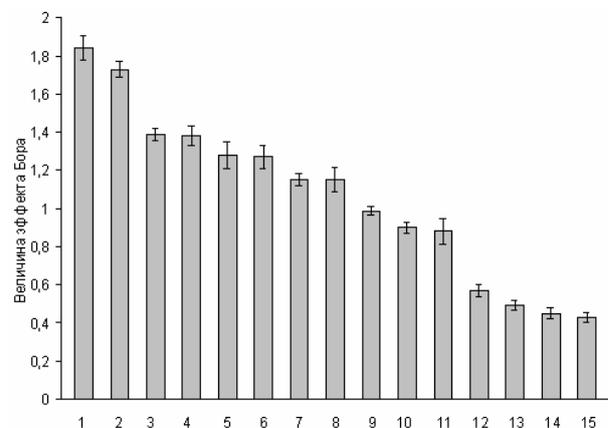
Результаты и обсуждение

На рисунке в порядке убывания представлена величина эффекта Бора у исследуемых рыб. Наибольшие значения этого показателя – у щуки и окуня. Наименьшие – у осетровых (между ними нет достоверных различий), к осетровым приближена форель (различия с которой достоверно значимы). Карповые занимают промежуточное положение между перечисленными видами рыб. Однако среди карповых диапазон колебаний величины эффекта Бора достаточно широк. Наиболее высокие значения этого показателя у линя и плотвы, несколько ниже (но достоверно не отличаются) у карася и сазана. Самые низкие (достоверно различаются) – у чехони, густеры и леща. Промежуточное положение по величине эффекта Бора между карповыми занимает язь, который достоверно отличается от леща и недостоверно – от карася и сазана. Одинаковые с яззем значения исследуемого показателя имеет налим.

По результатам многочисленных исследований [EIFAC, 1986; Almer et al., 1974; Lee et al., 1983; Виноградов, 2000; Токсикозы..., 2006 и др.], проводимых как в природных, так и в лабораторных условиях, для большинства проанализированных рыб кислотоустойчивость известна, и определялась она по величине pH, вызывающей массовую гибель определенного процента рыб (LC50). Среди изучаемых нами рыб самыми устойчивыми к закислению воды являются щука и окунь: в кислых озерах они встречаются при pH 3,5. Карповые (наиболее изучены плотва,

линь, карп, карась, менее – лещ) относятся к среднеустойчивым: в природной среде могут обитать при pH 4,2–4,4. Налим также считается умеренно кислотоустойчивым видом рыб. Лососевые признаются наиболее чувствительными к кислотному загрязнению: для большинства из них (и форели в том числе) нижний предел безопасного уровня pH воды – 5,0. В литературе практически нет информации о кислотоустойчивости осетровых. Только в работе Н. С. Строганова [1968] указывается, что сеголетки осетра (длиной тела 5–8 см) погибали через 20 суток при pH 6,6. Общеизвестно, что с возрастом сопротивляемость рыб к крайним значениям pH увеличивается. Поэтому можно предположить, что взрослые особи осетра могли переносить закисление воды до pH 6,0 и немного ниже.

Исследуемые нами рыбы (рис.) по мере снижения величины эффекта Бора располагались в последовательности, аналогичной снижению кислотоустойчивости: щука, окунь > карповые, налим > лососевые > осетровые. Сужение границы толерантности (от щуки и окуня до осетровых) к низким pH среды почти в 2 раза сопровождалось уменьшением величины эффекта Бора почти в 5 раз (коэффициент корреляции $r = -0,94$).



Величина эффекта Бора у разных видов рыб:

1 – щука, 2 – окунь, 3 – линь, 4 – плотва, 5 – сазан, 6 – карась, 7 – налим, 8 – язь, 9 – лещ, 10 – густера, 11 – чехонь, 12 – форель, 13 – русский осетр, 14 – севрюга, 15 – белуга

В литературе межвидовые различия величины эффекта Бора связываются с экологией, главным образом с кислородными потребностями рыб, точнее – с ацидозом периферической крови из-за гипоксии. Принято считать, что активные пловцы отличаются более высокими значениями эффекта Бора, чем малоактивные, устойчивые к недостатку кислорода [Хочачка, Сомеро, 1977; Кляшторин, 1982 и др.]. Однако в природе встречается немало

исключений из этого правила. Например, у активного пловца форели эффект Бора значительно ниже, чем у менее подвижных и высокоустойчивых к гипоксии карася, линя, а также других представителей карповых и налима, уступающих форели в подвижности и превосходящих ее в устойчивости к недостатку кислорода. Щука и окунь, обладающие сходными высокими величинами эффекта Бора, существенно различаются по образу жизни. Эти примеры могут быть продолжены, в том числе и с включением представителей морских костистых [Парфенова, 2006].

Повышение величины эффекта Бора у рыб указывает на увеличение чувствительности гемоглобина к закислению крови. Наибольшей чувствительностью к закислению внутренней среды и более тонкой регуляцией величины pH в области низких значений обладают гемоглобиновые буферные системы рыб, наиболее устойчивых к закислению воды (щука, окунь). Таким образом, чем выше устойчивость рыб к низкому pH воды, тем сильнее гемоглобиновая буферная система противодействует закислению внутренней среды, то есть эффективность гемоглобиновой буферной системы повышается с повышением кислотоустойчивости рыб. Следовательно, полученные нами данные позволяют рассматривать эффект Бора в качестве важнейшей характеристики буферных свойств гемоглобина (или эффективности гемоглобиновой буферной системы) и как показатель кислотоустойчивости рыб.

На основании полученных результатов можно рекомендовать по величине эффекта Бора определять устойчивость рыб к низкому pH воды, для которых таковая не известна, и уточнять имеющиеся сведения по кислотоустойчивости, определенной традиционными способами, т. е. по основной токсикологической характеристике: LC50.

В адаптации рыб к низкому pH среды участвуют несколько буферных систем. Самым изученным является Na^+/H^+ обмен через жабры [Виноградов, 2000]. Нарушения в ионном обмене у устойчивого к закислению среды окуня наблюдались при величине pH воды, близкой к 3, у неустойчивых лососевых – при pH 5–6, у умеренно устойчивых карповых – в диапазоне pH, близком к 4. Таким образом, в отличие от гемоглобиновой буферной системы, чувствительность которой к низкому pH крови повышается с увеличением кислотоустойчивости рыб, чувствительность жаберной буферной системы к низкому pH воды с повышением кислотоустойчивости рыб, напротив, снижается. Известно также [Запруднова, Камшилов, 2008],

что устойчивые к закислению щука и окунь в сравнении с другими рыбами обладали самым интенсивным обменом Na^+/H^+ через мембрану эритроцитов, за счет которого происходит защелачивание внутриклеточной среды. Отсюда следует, что эффективность других буферных систем, как и гемоглобиновой, максимальна у наиболее кислотоустойчивых рыб.

Выводы

В настоящей работе впервые изучали связь кислотоустойчивости рыб с функциональными свойствами гемоглобина. Выявлена прямая зависимость между устойчивостью рыб к низкому pH среды и величиной эффекта Бора. На основании полученных данных эффект Бора предлагается в качестве характеристики буферных свойств гемоглобина и кислотоустойчивости рыб. Эффективность гемоглобиновой буферной системы снижалась с понижением устойчивости рыб к закислению среды.

Литература

- Виноградов Г. А. Процессы ионной регуляции у пресноводных рыб и беспозвоночных. М.: Наука, 2000. 216 с.
- Запруднова Р. А., Камшилов И. М. Межвидовые различия дыхательных функций эритроцитов некоторых пресноводных рыб // Вопросы ихтиол. 2008. Т. 48, № 4. С. 553–562.
- Иванов А. А. Физиология рыб. Учебник. М.: Мир, 2003. 284 с.
- Кляшторин Л. Б. Водное дыхание и кислородные потребности рыб. М.: Легкая и пищевая пром-ть, 1982. 168 с.
- Парфенова И. А. Функциональное состояние гемоглобина и эритроцитов морских рыб, устойчивых к внешней гипоксии: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Симферополь: Таврич. национал. ун-т. 2006. 20 с.
- Строганов Н. С. Акклиматизация и выращивание осетровых рыб в прудах. М.: МГУ, 1968. 377 с.
- Токсикозы рыб с основами патологии. Справочная книга / Авторы-составители Н. М. Аршаница, М. А. Перевозников. СПб.: ГОСНИОРХ, 2006. 179 с.
- Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир, 1977. 398 с.
- Almer B. W., Dickson W., Ekstrom G., Hornstrom E., Miller U. Effects of acidification on Swedish lakes. // Ambio. 1974. Vol. 3, N 3. P. 30–36.
- EIFAC. Water quality criteria for European freshwater fish. Report on extreme pH values and inland fisheries // Techn. Paper, Rome, 1968. N 4. P. 1–18.
- Lee R. M., Gerking S. D., Jezierska B. Electrolyte balance and energy mobilization in acid-stressed rainbow trout, *Salmo gairdneri* and their relation to reproductive success // Environ. Biol. Fishes. 1983. Vol. 8, N 2. P. 115–123.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Камшилов Игорь Михайлович

Институт биологии внутренних вод
им. И. Д. Папанина РАН
а/я 9, п. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл.,
Россия, 152742
эл. почта: kim@ibiw.yaroslavl.ru
тел.: (48547) 24111

Запруднова Римма Анатольевна

Институт биологии внутренних вод
им. И. Д. Папанина РАН
а/я 9, п. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл.,
Россия, 152742
эл. почта: rimma@ibiw.yaroslavl.ru
тел.: (48547) 24124

Kamshilov, Igor

I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters,
Russian Academy of Sciences
POB 9, 152742 Borok, Yaroslavl Region, Russia
e-mail: kim@ibiw.yaroslavl.ru
tel.: (48547) 24111

Zaprudnova, Rimma

I. D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters,
Russian Academy of Sciences
POB 9, 152742 Borok, Yaroslavl Region, Russia
e-mail: rimma@ibiw.yaroslavl.ru
tel.: (48547) 24124