

В. И. ЛУКЬЯНЕНКО, П. П. ГЕРАСКИН

**ДИНАМИКА ФОРМИРОВАНИЯ ФРАКЦИОННОГО СОСТАВА
ГЕМОГЛОБИНА В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ РУССКОГО ОСЕТРА
(*ACIPENSER GÜLDENSTADTI BRANDT*)**

(Представлено академиком Е. М. Крепом 11 VIII 1970)

Многочисленными исследованиями последнего десятилетия (^{1,6}) установлена электрофоретическая гетерогенность гемоглобинов крови у многих представителей различных классов позвоночных животных. Согласно полученным данным, гемоглобины теплокровных и холоднокровных животных имеют фракционный состав различной степени сложности — чаще всего от 2 до 5 компонентов. Не представляют в этом отношении исключения и многие виды рыб, гемоглобины которых также гетерогенны и обнаруживают от 2 до 3 компонентов (⁷⁻⁹). Правда эти данные получены при помощи электрофореза в агаре или на бумаге, характеризующегося, как известно, довольно низкой разрешающей способностью.

Использование для этих целей современных методов электрофоретического анализа, в частности дискэлектрофореза в полиакриламидном геле (ПАГ), позволило нам (^{4,5}) установить значительно более высокую гетерогенность гемоглобинов у осетровых рыб (5—7 компонентов), чем это было известно ранее (3 компонента). Дальнейшее развитие наших исследований привело к необходимости изучить динамику формирования фракционного состава гемоглобина «взрослого» типа у рыб, поскольку уже у 3—4-месячной молодежи число компонентов примерно одинаково с половозрелыми рыбами, хотя электрофоретическая подвижность этих компонентов заметно ниже, чем у взрослых рыб (²).

Актуальность поставленной задачи определяется еще и тем обстоятельством, что в литературе отсутствуют какие-либо сведения о динамике формирования фракционного состава гемоглобинов в раннем онтогенезе у рыб, несмотря на очевидное теоретическое значение и практический интерес этого вопроса. Для экспериментального решения поставленного вопроса мы избрали одного из представителей хрящевых ганоидов, расположенных, как известно, в основном стволе филогенетического дерева позвоночных.

Материал и методика. Объектом исследования служили 15-, 20- и 30-дневные личинки и 40-, 60- и 90-дневные мальки русского осетра (*Acipenser guldénstadti Brandt*), выращенные на Волжском экспериментальном осетровом рыболовном заводе. Компонентный состав гемоглобина крови у исследуемой молодежи сопоставляли с составом гемоглобина неполовозрелых и половозрелых осетров, выловленных в дельте Волги и в Северном Каспии. Кровь у взрослых рыб брали из жаберных сосудов, а у личинок и мальков — из хвостовой артерии путем отсечения хвостового стебля. Личинок или мальков при этом помещали в чашку Петри, в которой находился охлажденный раствор гепарина. Собранный таким образом кровь центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 мин. при 4°. Полученные эритроциты трижды отмывали 10-кратным объемом физиологического раствора, отмывые эритроциты лизировали 7—10-кратным объемом дистиллированной воды + 0,4 объема хлороформа, а строму осаждали центрифугированием при 15 000 об/мин и температуре 4° в течение 30 мин. Приготовленный таким образом гемоглобин растворяли в буфере В (соотношение 1:1),

смешивали с 20% раствором сахарозы и добавляли Сефадекс Г-200 (1 : 10), после чего суспензированный раствор заливали в трубки. Фракционирование гемоглобина проводили по схеме, описанной нами ранее (5).

Результаты. Гемоглобин крови 15-дневных личинок при электрофорезе в ПАГ делится на 5 компонентов (см. рис. 1А), один из которых, а именно компонент II (второй по подвижности) выявляется только у этой возрастной группы рыб. Наиболее высокое относительное содержание гемоглобина приходится на компонент III и на I (т. е. самый подвижный). Значительно меньше относительное содержание компонентов V и IV. Компонент IV выявляется нерегулярно.

Наиболее сложные изменения в фракционной структуре гемоглобина личинок осетра происходят с 15 по 20 день со времени выклева, когда гемоглобин начинает приобретать черты «взрослого» типа и становится возможным в соответствии с предложенной нами ранее (4, 5) схемой выделить: быстро движущуюся фракцию (б.д.ф.), представленную 1 компонентом, умеренно движущуюся фракцию (у.д.ф.), состоящую из 3 компонентов, и медленно движущуюся фракцию (м.д.ф.), представленную 2 компонентами (рис. 1Б). В м.д.ф. 20-дневных личинок выявляется 2 компонента, примерно равных по относительному содержанию, но 1-й из них более подвижен. Этот первый компонент соответствует единственному компоненту м.д.ф. у мальков старших возрастных групп и половозрелых рыб. На 3 компонента у.д.ф. у 20-дневных личинок приходится около 80% общего количества гемоглобина, т. е. сходно с тем, что имеет место у взрослых рыб. При этом наиболее высокое относительное содержание гемоглобина приходится на 2-й (по подвижности) компонент, представленный, кстати, и у 15-дневных личинок. Несколько меньше содержание впервые появляющегося у 20-дневных личинок 1-го компонента у.д.ф., характеризующегося наиболее высокой, в сравнении с двумя другими компонентами, электрофоретической подвижностью. Этот компонент отсутствует у 15-дневных личинок.

Компонентный состав гемоглобина 30-дневных личинок (рис. 1В) весьма сходен с гемоглобином предыдущей возрастной группы. Несколько увеличивается содержание компонента I у.д.ф. и резко снижается содержание единственного компонента в б.д.ф.

В следующих трех возрастных группах (рис. 1Г—Е) личинок и мальков осетра компонентный состав гемоглобина остается постоянным и происходит лишь перераспределение относительного содержания между тремя компонентами у.д.ф.: увеличивается относительное содержание наиболее подвижного в этой фракции компонента I и уменьшается — компонента II.

У неполовозрелых (от 2 до 7 лет) и половозрелых осетров фракционный состав гемоглобина по числу компонентов, относительному содержанию и электрофоретической подвижности практически идентичен

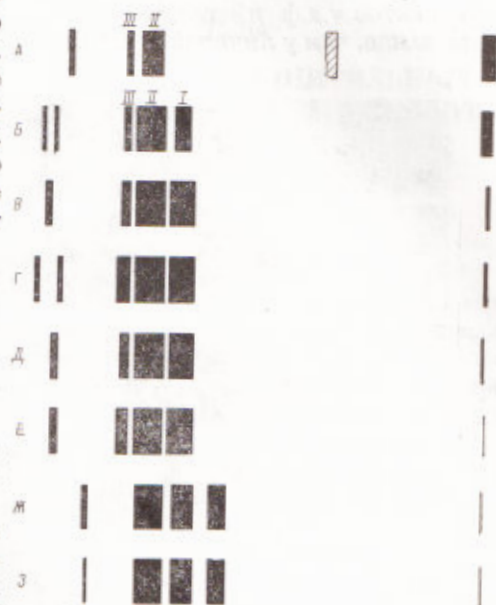


Рис. 1. Компонентный состав гемоглобинов русского осетра. А — 15-дневная личинка; Б — 20-дневная, В — 30-дневная, Г — 2-месячная молодь, Д — 3-месячная, Е — 4-месячная, Ж — неполовозрелая особь, 1, II, III — компоненты у.д.ф.

(рис. 1 Ж, З), но отличается от гемоглобина 20-дневных личинок и 3-месячных мальков содержанием отдельных компонентов в у.д.ф. В частности, наиболее высокое содержание гемоглобина у неполовозрелых и половозрелых рыб приходится на компонент III у.д.ф., а наименьшее — на компонент I, т. е. обратно тому, что имело место у 30-, 60- и 90-дневных мальков. Кроме того, относительная электрофоретическая подвижность всех трех компонентов у.д.ф. и единственного компонента м.д.ф. у взрослых рыб заметно выше, чем у личинок и мальков (рис. 2).

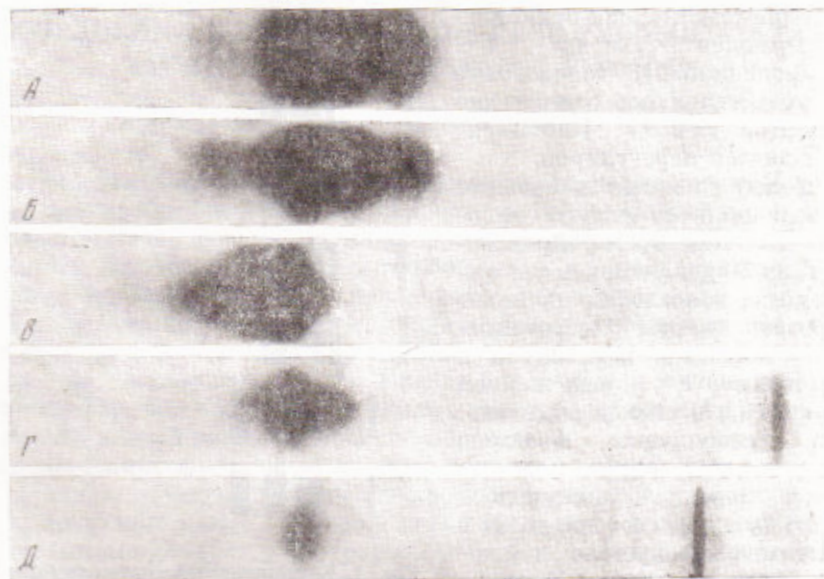


Рис. 2. Дискаэлектрофореграммы гемоглобинов русского осетра. А — половозрелая особь, В — неполовозрелая, В — 2-месячная молодь, Г — 20-дневная личинка, Д — 15-дневная личинка

Таким образом, высокая электрофоретическая гетерогенность гемоглобина у русского осетра возникает уже в самом раннем онтогенезе (15-дневные личинки и, вероятно, еще раньше), а компонентный состав «взрослого» типа, характеризующийся определенной подвижностью отдельных компонентов и их относительным содержанием, отмечается уже на 20 сутки после выклева. В дальнейшем происходит лишь перераспределение относительного содержания отдельных компонентов и увеличение их электрофоретической подвижности.

В заключение считаем своим приятным долгом сердечно поблагодарить Б. Б. Каратаеву и Э. А. Мишину, принимавших участие в сборе материала на осетровом рыбноводном заводе.

Центральный научно-исследовательский
институт осетрового хозяйства
Астрахань

Поступило
29 VII 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ К. Бальони, В кн.: Молекулярная генетика, 1, М., 1964. ² П. П. Гераскин, В сборн. Разработка биологических основ и биотехника развития осетрового хозяйства в водоемах СССР, Астрахань, 1969. ³ Л. Ф. Голованенко, ДАН, 151, № 5 (1963). ⁴ В. И. Лукьяненко, Г. А. Ермолин и др., ДАН, 174, № 1 (1967). ⁵ В. И. Лукьяненко, П. П. Гераскин, ДАН, 185, № 5 (1969). ⁶ А. П. Стрекалов, Журн. эволюцион. биохим. и физиол., 3, № 3 (1967). ⁷ N. Chandrasekhar, Nature, 184, № 4699, 1652 (1959). ⁸ O. Shumann, Inst. of Freshwater Research Drottningholm, Report, № 40 (1959). ⁹ K. Sick, Nature, 192, № 4805, 894 (1961).