

ИТОГИ ИССЛЕДОВАНИЙ ГЕМОГЛОБИНА РЫБ НА БАЗЕ ЦНИОРХ МРХ СССР (г. АСТРАХАНЬ) И ИБВВ РАН (п. БОРОК)

А. С. Васильев, В. В. Лукьяненко

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: Vasil`ev@ibiw.ru*

Поступила в редакцию 30.04.2025

Обобщены результаты исследований гетерогенности и полиморфизма, спектральных характеристик, структурной организации и функциональных свойств гемоглобина у разных по высоте организации и экологии групп рыб, выполненных в лабораториях физиологии и биохимии осетровых рыб ЦНИОРХ МРХ СССР и экологической биохимии водных животных ИБВВ АН СССР (с 1991 г. ИБВВ РАН) под руководством д.б.н. В.И. Лукьяненко (1964–1999 гг.) и в период 2000–2022 гг.

Ключевые слова: гемоглобин, гетерогенность, спектральные характеристики, функциональные свойства, костистые рыбы, хрящевые ганоиды, хрящевые рыбы.

DOI: 10.47021/0320-3557-2025-32-43

ВВЕДЕНИЕ

Обзор посвящен исследованиям гемоглобина в двух лабораториях, организованных д.б.н. Лукьяненко Владимиром Ивановичем, — физиологии и биохимии осетровых рыб ЦНИОРХ МРХ СССР (1964–1978 гг.) и экологической биохимии водных животных ИБВВ АН СССР (РАН) (1979–1999 гг. и далее), и является данью памяти В.И. Лукьяненко, для которого этот белок был любимым объектом исследования.

Белки занимают центральное место в эколого-биохимических исследованиях животных, так как именно с их помощью организм адаптируется к условиям среды. Особое место среди них занимают белки крови как часть жидкой среды организма, отвечающей за поддержание гомеостаза всех его функций. Среди специализированных белков крови особую роль играет гемоглобин — основной белок эритроцитов всех позвоночных, переносящий кислород к тканям организма и участвующий в выведении углекислого газа из клеток. Один из основоположников науки о дыхательной функции крови Джозеф Баркрофт [Barcroft, 1925; 1928] называл гемоглобин “интереснейшим веществом в мире”, целенаправленное изучение структурных и функциональных свойств которого у человека и животных продолжается уже более века. Свой вклад в изучение этого белка у низших водных позвоночных внесли и сотрудники лабораторий физиологии и биохимии осетровых рыб ЦНИОРХ Министерства рыбного хозяйства СССР и экологической биохимии водных животных ИБВВ АН СССР (РАН) под руководством д.б.н. Владимира Ивановича Лукьяненко [Лукьяненко, Гераскин, 1969 (Luk`yanenko, Geraskin, 1969); Гераскин, Лукьяненко, 1972 (Geraskin, Luk`yanenko, 1972); Лукьяненко и др., 1976, 1978, 1991, 2002

(Luk`yanenko et al., 1976, 1978, 1991, 2002); Андреева, 1987, 2006 (Andreeva, 1987, 2006); Andreeva, Ryabtseva, 2011; Kamshilov, Kamshilova, 2019; Kamshilov, 2022 и др.].

У рыб как низших водных позвоночных, имеющих пойкилотермную природу, гемоглобин ожидаемо должен быть представленным множественными молекулярными вариантами. Поэтому усилия В.И. Лукьяненко по исследованию гемоглобина рыб были направлены, прежде всего, на оценку степени структурно-функциональной разнокачественности этого белка, покрывающей все потребности тканей рыб в кислороде для обеспечения метаболических процессов в организме в разных условиях среды обитания. В свете изложенного становится очевидным особое место гемоглобина в эколого-биохимических исследованиях различных групп позвоночных, в первую очередь рыб. Успешное функционирование молекул гемоглобина рыб в силу чрезвычайно широкого разнообразия условий среды их обитания возможно лишь при использовании различных стратегий биохимических адаптаций — изменения функциональной активности, количества и типов молекул, каждая из которых эффективно работает при определенном сочетании факторов среды. Поэтому изучение гетерогенности молекул гемоглобина рыб, различающихся не только по структуре, но и по свойствам, позволяющим функционировать этим молекулам при разных температурах, содержании кислорода и величине рН, имеет ключевое значение для оценки адаптационного потенциала того или иного вида или разных популяций одного вида рыб.

Стратегии исследования гемоглобина рыб, определенные В.И. Лукьяненко, включали ряд задач:

(1) определение уровня гетерогенности и внутривидовой изменчивости фракционного состава гемоглобина у хрящевых, хрящевых ганоидов и костистых рыб; у пресноводных и проходных видов осетровых рыб; у проходных видов осетровых рыб в морской и речной периоды жизни;

(2) спектральные характеристики гемоглобина у хрящевых, хрящевых ганоидов и костистых рыб в физиологическом диапазоне и при изменениях температуры и pH;

(3) сравнительный анализ функциональных свойств гемоглобинов (сродство гемоглобина к кислороду, эффект Бора, кооперативное взаимодействие субъединиц) у осетровых и костистых рыб и (3) структурная организация гемоглобина в разных группах рыб.

За период 1964–2019 гг. двумя лабораториями были исследованы множественность и структурно — функциональная организация гемоглобина 45 видов рыб из 10 отрядов, 19 семейств, 34 родов из акваторий рек — Волги,

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕМОГЛОБИНА РЫБ

Работы по исследованию фракционного состава гемоглобина рыб начаты в 1970-х годах XX века в лаборатории физиологии и биохимии осетровых рыб ЦНИОРХ МРХ СССР В.И. Лукьяненко и П.П. Гераскиным. Сравнительное электрофоретическое изучение (трубочный вариант дискэлектрофореза в ПААГ) гемоглобина крови 9 видов осетровых рыб позволило выявить его высокую гетерогенность и видоспецифичность [Лукьяненко, Гераскин, 1969 (Luk'yanenko, Geraskin, 1969); Гераскин, Лукьяненко, 1971 (Geraskin, Luk'yanenko, 1971); Лукьяненко и др., 1976, 1978 (Luk'yanenko et al., 1976, 1978)]. Обнаруженная множественность гемоглобина осетровых выявлена уже на самых ранних стадиях индивидуального развития, причем степень гетерогенности у личинок и мальков осетровых рыб значительно выше (9–12 компонентов) в сравнении с взрослыми особями (4–9 компонентов). Выявлены 3 основных фенотипа гемоглобина: личиночный, мальковый и взрослый, а также переходный тип гемоглобина полувзрослого организма, который функционирует у осетровых, обитающих в море, в первые 3–4 года жизни [Лукьяненко, Гераскин, 1969 (Luk'yanenko, Geraskin, 1969); Гераскин, Лукьяненко, 1971 (Geraskin, Luk'yanenko, 1971)]. Формирование гемоглобина взрослого типа происходило в два этапа: исходный личиночный тип сменялся мальковым, а затем мальковый тип гемоглобина — взрослым. Если первый этап проходил в довольно сжатые сроки, то второй этап был значительно более растянут во времени и зависел от условий,

Оки, Камы, Урала, Днепра, Дона, Кубани, Аму-Дарьи, Оби, Енисея, Лены, Белой (Иркутская обл.), Селенги, Амура, Тумнина (Хабаровский край), из оз. Байкал, Каспийского, Азовского и Черного морей. Для изучения множественности и структурной организации гемоглобина использовали методы электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) — диск-электрофореза, электрофореза в градиенте концентраций ПААГ, СДС-электрофореза, электрофореза с мочевиной и изоэлектрического фокусирования (ИЭФ). Анализ структурной устойчивости (к кислотам и дегидратации) проводили с помощью методов кислотных эритрограмм и высаливания. Анализ спектральных характеристик и функциональных свойств гемоглобина проводился спектрофотометрическими методами и с помощью установки, собранной замечательным экспериментатором и сотрудником лаборатории экологической биохимии Чаловым Юрием Павловичем.

определяющих нормальный ход развития организма в речной и морской периоды жизни. Фактически у осетровых имеет место постепенное формирование фракционного состава гемоглобина взрослого типа, начиная с первых дней после выклева и кончая третьим годом жизни, когда он становится идентичным гемоглобину половозрелых рыб.

Цикл многолетних исследований гемоглобина у разных по высоте организации и экологии групп рыб был продолжен сотрудниками лаборатории экологической биохимии водных животных ИБВВ АН СССР начиная с 1980-х годов XX века. Методом диск-электрофореза в ПААГ (блоковый вариант) показано, что гемоглобин представлен множеством молекулярных вариантов у каждой особи всех исследованных видов рыб независимо от уровня их организации и экологических особенностей. Чрезвычайно высокий уровень гетерогенности гемоглобина (несколько десятков компонентов) выявлен нами методом ИЭФ в градиенте pH у хрящевых, хрящевых ганоидов и костистых рыб [Лукьяненко и др., 1986, 1991 (Luk'yanenko et al., 1986, 1991); Васильев, 1987, 1988a, 1988b (Vasil'ev, 1987, 1988a, 1988b)]. Степень гетерогенности гемоглобина у эволюционно древних хрящевых рыб и хрящевых ганоидов примерно одинакова, однако у филогенетически более древних сельдеобразных и лососеобразных заметно выше в сравнении с более молодыми карпообразными и окунеобразными. Этот вывод согласуется с данными, полученными методом диск-электрофореза в ПААГ.

Применение метода ИЭФ показало, что полиморфизм фракционного состава гемоглобина, использованный в качестве биохимического маркера для выявления полиморфизма популяций, встречается у рыб значительно чаще, чем это казалось ранее по данным, полученным методами электрофореза с низким разрешением. Так, среди исследованных нами 25 видов, где число особей каждого вида составляло от 50 до нескольких сотен, полиморфными оказались 15 видов, или 60%. Фракционный состав гемоглобина всех исследованных видов проходных каспийских осетровых полиморфен, а различных популяций туводной волжской стерляди, представленной в наших исследованиях несколькими сотнями экземпляров — мономорфен. Описаны 3 типа полиморфизма фракционного состава гемоглобина рыб. Наиболее часто (6 видов из 15) один из фенотипов гемоглобина является основным (у 75–95% исследованных рыб), а остальные (от 1 до 4) имеют более низкую частоту встречаемости. Этот тип полиморфизма выявлен у белуги, шипа, севрюги, сельди-черноспинки, плотвы (тарани, воблы) и серебряного карася. Второй тип полиморфизма проявляется в том, что в популяциях присутствуют 2 фенотипа гемоглобина с частотами встречаемости близкими 3:1 (каспийский пузанок, ряпушка, белоглазка, чехонь, окунь). Уникальный тип полиморфизма выявлен нами у русского осетра, гемоглобин которого методом ИЭФ удалось разделить на 34–43 компонента. Полученные гемоглобинограммы поражают своим разнообразием. Индивидуальная изменчивости фракционного состава гемоглобина настолько велика, что практически каждая особь имеет индивидуальный спектр компонентов гемоглобина [Лукьяненко и др., 1987 (Luk`yanenko et al., 1987)].

Результаты выполненного сравнительного изучения фракционного состава гемоглобина на примере различных популяций сибирского осетра и стерляди впервые позволили обнаружить существование моно- и полиморфных по гемоглобиновым локусам популяций одного вида рыб. Анализ гетерогенности гемоглобина 4 популяций сибирского осетра показал, что фракционный состав гемоглобина сибирского осетра ленской и байкальской популяций мономорфен, енисейской и обской — полиморфен (7 и 5 фенотипов соответственно) [Лукьяненко, 1986а, б (Luk`yanenko, 1986а, б); Лукьяненко, Лукьяненко, 1984 (Luk`yanenko, Luk`yanenko, 1984)]. Изучение гетерогенности гемоглобина у 8 популяций стерляди позволило обнаружить полиморфизм фракционного состава гемоглобина у окской и енисейской

стерляди (4 и 5 фенотипов соответственно) и мономорфизм фракционного состава гемоглобина у 4 популяций волжской (верхне-, средне- и нижеволжской, дельтовой), донской и камской стерляди [Лукьяненко, Васильев, 1985 (Luk`yanenko, Vasil`ev, 1986); Лукьяненко и др., 1991 (Luk`yanenko et al., 1991)]. Необходимо отметить, что внутривидовая изменчивость рыб по фракционному составу гемоглобина подчас превосходит межвидовую и сопоставима с межвидовой. Таким образом, полученные нами данные позволяют утверждать, что один и тот же биохимический признак, в данном случае фракционный состав гемоглобина, может быть мономорфен в одних популяциях вида и полиморфен в других.

Методом ИЭФ подтверждена ярко выраженная видоспецифичность фракционного состава гемоглобина в пределах всех исследованных отрядов рыб. Доказано, что фракционный состав гемоглобина рыб не зависит от пола, стадии зрелости гонад и размерно-весовых показателей особей. Особо следует подчеркнуть, что полиморфизм фракционного состава гемоглобина не является препятствием для безошибочного определения видовой принадлежности особи по ИЭФ спектру.

Сопоставляя результаты сравнительного изучения степени гетерогенности гемоглобина у одних и тех же видов хрящевых, хрящевых ганноидов и костистых рыб (20 видов) методами диск-электрофореза и ИЭФ необходимо подчеркнуть более высокие разрешающие способности второго (в 3–7 раз). Полученные каждым из этих двух методов гемоглобинограммы одного и того же вида рыб, хотя и различаются по общему числу компонентов, но в обоих случаях сохраняют видоспецифичность фракционного состава гемоглобина, одинаковый уровень гетерогенности у хрящевых и хрящевых ганноидов, более высокую гетерогенность гемоглобина у сельдевых и лососевых в сравнении с карповыми и окуневыми, уникальный полиморфизм фракционного состава гемоглобина русского осетра и мономорфизм у различных популяций туводной волжской стерляди. Принципиальное значение имеет и тот факт, что оба вида гемоглобинограмм высоковоспроизводимы. Следовательно, выявляемый каждым из двух методов уровень гетерогенности гемоглобина у одного и того же вида не зависит от года, сезона и места отлова исследованных особей отражает объективную картину, т.е. реальное существование множества молекулярных вариантов гемоглобина, которые разными методами электрофоретического фракционирования разделяются по разным физико-

химическим параметрам [Лукьяненко и др., 1991 (Luk'yanenko et al., 1991)].

По мнению Л.В. Богданова [1983 (Bogdanov, 1983)], трансферины отражают видовую, а гемоглобины, миоглобины и альбумины — родовую специфичность. Данные, полученные нами методом ИЭФ, приводят к выводу, что ответ на этот вопрос более сложен, и мы имеем дело с многоуровневой специфичностью.

Первый уровень — это видоспецифичность, проявляющаяся у представителей разных видов и семейств в пределах отряда. У видов с мономорфным гемоглобином это находит свое отражение в строго определенном количестве компонентов гемоглобинограмм в целом, числе компонентов в отдельных фракциях, а также идентичности значений изоэлектрических точек аналогичных компонентов. У видов с полиморфным гемоглобином видоспецифичность проявляется в наличии общевидовых компонентов, характерных для всего вида с идентичными изоэлектрическими точками.

Второй уровень — это общий план фракционного состава гемоглобина (фокусирование определенными фракциями в определенном диапазоне рН) различных видов отдельных отрядов в пределах класса. Он выявлен нами: а) у видов семейства осетровых и веслоносовых,

которые входят в отряд осетрообразных; б) у сельдевых и лососевых рыб — подотрядов отряда сельдеобразных; в) у видов семейства карповых и вьюновых — представителей отряда карпообразных г) у европейского сома представителя семейства обыкновенных сомов и пятнистого хоплостернума — представителя семейства каллихтовых сомов, оба входят в отряд сомообразных. Методом ИЭФ выявляются видоспецифичность и отрядоспецифичность фракционного состава гемоглобина, т.е. резко раздвинуты рамки использования электрофоретических методов для выявления специфичности гемоглобинограмм от вида до отряда.

При этом следует иметь в виду, что метод ИЭФ существенно расширил возможности для изучения внутривидовой и внутривидовой изменчивости фракционного состава гемоглобина (полиморфизм). Методом ИЭФ не выявлена специфичность фракционного состава гемоглобина на уровне рода (родоспецифичность) ни в одном из исследованных отрядов, в то время как методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле она выявляется. Этот факт подчеркивает необходимость использования того или иного метода фракционирования гемоглобина, руководствуясь конкретной задачей.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФРАКЦИОННОГО СОСТАВА ГЕМОГЛОБИНА РЫБ

У осетровых рыб выявлены четко выраженные экологические особенности фракционного состава гемоглобина [Лукьяненко и др., 1991 (Luk'yanenko et al., 1991)]. Установлена гетерогенность проходных видов осетровых и наличие у них трех типов фракционного состава гемоглобина: “пресноводного”, “морского” и “переходного”:

- характерной особенностью “пресноводного” типа фракционного состава гемоглобина является резкое (3–10-кратное) превышение доли медленных компонентов в основной умеренно движущейся фракции (УДФ) гемоглобинограмм над быстрыми и наличие среди медленных одного доминантного компонента (стерлядь, сибирский осетр, большой амударьинский лопатонос, белуга, шип).

- специфической чертой фракционного состава гемоглобина “морского” типа служит значительное (2–8 кратное) преобладание быстрых компонентов над медленными и локализацией среди быстрых одного доминантного компонента (севрюга, калуга, амурский осетр).

- “переходный” тип фракционного состава гемоглобина характеризуется более высоким (в 1.6–1.8 раза) удельным весом медленных компонентов в сравнении с быстрым и наличие 1–2 доминирующих в группе медленных

компонентов основной УДФ гемоглобинограмм (русский осетр, сахалинский осетр).

Показано, что изменение условий существования, в частности переход осетровых рыб (белуга, севрюга, русский осетр) из морской воды в пресную и обратно, не приводит к появлению новых вариантов гемоглобина или к изменению удельной массы белка, приходящегося на имеющиеся компоненты. Методом ИЭФ также не выявлено различий фракционного состава гемоглобина русского осетра и севрюги, отловленных в море и в реке, ни по степени гетерогенности, ни по относительному содержанию белка в отдельных компонентах гемоглобинограмм. Это один из стратегических путей биохимической адаптации к факторам внешней среды. Другой путь, характерный для некоторых видов лососевых рыб при переходе производителей из моря для размножения в реки состоит в изменении удельной массы между быстрыми и медленными компонентами гемоглобина в пользу медленных, обладающих более высоким сродством к кислороду, а затем при возвращении молоди из реки в море на нагул происходит появление новых компонентов (или усиление их синтеза [Hashimoto, Matsuura, 1960; Захаров, 1983 (Zakharov, 1983)]).

Выявленные эколого-биохимические особенности фракционного состава гемоглобина проходных осетровых находятся в соответствии со степенью их привязанности к опресненной и даже пресной воде в различные периоды жизненного цикла, а также уровнем солеустойчивости на ранних этапах онтогенеза [Лукьяненко, Металлов, 1974 (Luk'yanenko, Metallov, 1974); Наточин и др., 1995 (Natochin et al., 1995)]. Фракционный состав гемоглобина современных осетровых сочетает в себе эволюционную и экологическую компоненты. В результате многократной смены экологической обстановки (в первую очередь осолонение и распреснение вод) в процессе их исторического развития сложился постоянный набор молекулярных вариантов белка, приспособленный для функционирования в определенном диапазоне температур, концентрации кислорода и солености. Такой комплект изогемоглобинов “на все случаи жизни” весьма выгоден каждой особи и вида в целом, обеспечивая выживание и даже процветание в условиях регулярной смены среды обитания при переходе из моря в реки и обратно в море.

Полученные нами данные по эколого-физиологическим особенностям фракционного состава гемоглобина у осетровых в совокупности с литературными данными о специфике осморегуляции у этих видов в морской период жизни имеют практическое значение для прогнозирования численности того или иного вида в меняющихся экологических условиях (распреснение — осолонение), а следовательно, и для научно обоснованного согласования в области заводского разведения осетровых с тенденциями изменения экологической обстановки в водоеме.

Заслуживают внимания результаты сравнительного изучения фракционного состава гемоглобина методом ИЭФ у 2 экоформ плотвы: полупроходных воблы и тарани и пресноводной плотвы [Васильев, 1987, 1988 (Vasil'ev, 1987, 1988)]. Несомненный интерес, на наш взгляд, представляет полное совпадение числа компонентов (по 42) и значений их изоэлектрических точек у наиболее часто встречаемых фенотипов гемоглобина тарани и плотвы. Сходство этих 2 фенотипов гемоглобина значительно превосходит сходство каждого из них с фенотипами гемоглобина своего же подвида.

Различия фракционного состава гемоглобина тарани и воблы, обитающих в сходных экологических условиях, определяются, на наш взгляд, приуроченностью подвидов к обитанию в среде с различным уровнем солености. Так,

азовская тарань нагуливается в Таганрогском заливе и в прикубанском районе в наиболее опресненных (до 7‰) мелководных зонах, занимая даже меньший ареал чем азовский лещ [Карпевич, 1955 (Karpevich, 1955)]. Большая численность тарани обычна при солености 2–5‰, а при 11‰ она вообще не обнаружена, тогда как вобла даже наиболее “пресноводной” северокаспийской популяции при солености 11‰ встречается в промысловых количествах [Берг, 1949 (Berg, 1949)], не говоря уже о южнокаспийских популяциях воблы, постоянно обитающей при 12–13‰. Таким образом, тарань и вобла находятся по разные стороны солевого “критического барьера” (соленость 5–8‰) [Хлебович, 1974 (Hlebovich, 1974)], т.е. тарань более “пресноводна”, а вобла ближе к типичным полупроходным и, следовательно, у них могли возникнуть различия по фракционному составу гемоглобина.

Обнаруженные нами высокая гетерогенность и полиморфизм гемоглобина, а также сходство отдельных фенотипов гемоглобина различных экологических форм плотвы наряду с известной экологической пластичностью свидетельствуют о широких адаптационных возможностях вида.

Остановимся еще на одном вопросе проблемы экологических особенностей фракционного состава гемоглобина. Полученные нами данные методом ИЭФ позволили выявить более высокую гетерогенность гемоглобина у высокоподвижных рыб (активные хищники, мигранты) в сравнении с менее подвижными внутри отдельных филогенетических групп. Так, гемоглобин черноморского катрана — активного хищника, совершающего значительные вертикальные перемещения, представлен 46 компонентами против 33, 35 компонентов у скатов — морской лисицы и морского кота, ведущих придонный, малоактивный образ жизни.

Связь между уровнем подвижности и степенью гетерогенности гемоглобина прослеживается и у костистых рыб. Активные хищники, пелагические виды и мигранты (лососевые, сиговые, сельдевые) имеют более гетерогенный гемоглобин (46–91 компонент), чем менее подвижные мирные виды семейства карповых (планктоно- и бентосоядные), гемоглобин которых представлен 35–55 компонентами. У представителей близкого к карпообразным отряда сомообразных — европейского сома и пятнистого хоплостернума, — активность которых обычно низка, зафиксирован наименее гетерогенный гемоглобин среди исследованных нами костистых рыб: 24 и 32 компонента соответственно. Все эти материалы свидетельствуют

о более высоком уровне гетерогенности гемоглобина у высокоподвижных видов, представленных активными хищниками, пелагическими формами, рыбами, совершающими значительные сезонные миграции и суточные перемещения, в сравнении с менее подвижными видами.

Мониторинговые наблюдения позволили зафиксировать изменения генетической структуры волго-каспийской популяции русского осетра по частотам встречаемости фенотипов гемоглобина [Luk'yanenko et al., 1999]. За десятилетний период наблюдений отмечено примерно двукратное снижение фенотипического разнообразия русского осетра по фракционному составу гемоглобина. Снижение внутрипопуляционного разнообразия происходит, главным образом, за счет исчезновения редких фенотипов гемоглобина и определяется, по-видимому, совокупным действием нескольких факторов:

- влиянием искусственного разведения, вследствие чего рыбы с редкими фенотипами не попадают в ограниченное число используемых на заводах производителей;

- последствиями массового заболевания и гибели осетровых в Волге. В случае пониженной жизнеспособности в данных условиях рыб с редкими фенотипами гемоглобина (что вполне вероятно) они также будут исчезать из нашего поля зрения;

- последствиями чрезвычайно интенсивного, истребительного промысла осетровых, ведущего к снижению общей численности русского осетра, в том числе и рыб с редкими фенотипами гемоглобина.

Установлена четко выраженная межгодовая изменчивость частоты встречаемости практически всех фенотипов гемоглобина русского осетра. Этот факт ставит под сомнение правомерность использования различий по частоте встречаемости того или иного биохимического признака без проведения специального изучения межгодовой изменчивости этого признака внутри сопоставляемых аллопатрических или симпатрических популяций [Лукьяненко и др., 1991 (Luk'yanenko et al., 1999)].

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА И СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГЕМОГЛОБИНОВ РЫБ

Ключевую роль в налаживании исследований функциональных свойств гемоглобина сыграл сотрудник лаборатории экологической биохимии ученый-экспериментатор, врач — Юрий Павлович Чалов. Благодаря ему были получены интереснейшие результаты по функциональным свойствам гемоглобинов рыб [Васильев, Лукьяненко, 2000 (Vasil'ev, Luk'yanenko, 2000); Лукьяненко и др., 2002 (Luk'yanenko et al., 2002); Васильев, Камшилов, 2002 (Vasil'ev, Kamshilov, 2002); Vasil'ev, Kamshilov, 2003; Kamshilov, 2022 и др.].

Юрий Павлович Чалов создал оригинальную установку из спектрофотометра, кислородомера и источника питания для изучения спектральных характеристик мет-, окси- и дезоксиформ гемоглобина, влияния различных факторов на сродство гемоглобина к O₂, кооперативным взаимодействием субъединиц в процессе оксигенации. С помощью математического аппарата были рассчитаны эффекты Бора, Холдена и Рута. Эти работы были продолжены его учеником — к.б.н. Камшиловым Игорем Михайловичем.



Работа на установке по оценке функциональных свойств гемоглобина. Фото: Юрий Павлович Чалов (слева) (1987 г.); Камшилов Игорь Михайлович (справа) (2016 г.).



Обработка данных и денситометрия гелей. Фото (слева направо): Юрий Павлович Чалов, Владимир Владимирович Лукьяненко, Владимир Иванович Лукьяненко (1986) и Алексей Станиславович Васильев (1987).

Сродство гемоглобина к кислороду (P_{50}) при pH 7.2 находится в пределах 19.9–25.9 мм рт. ст. у осетровых рыб и в диапазоне 16.3–48.0 мм рт. ст. у костистых рыб. Снижение pH буферного раствора до 6.6 вызывает сдвиг кривых кислородного равновесия вправо от исходных, что свидетельствует о наличии эффекта Бора у гемоглобинов всех исследованных видов рыб. Данные о величине сдвига P_{50} свидетельствуют о более низкой величине эффекта Бора у осетровых рыб по сравнению с костистыми.

Кривые кислородного равновесия гемоглобинов всех исследованных видов рыб имеют выраженную S-образную форму, что свидетельствует о кооперативном характере взаимодействия субъединиц гемоглобина в процессе окси- дезоксигенации. При снижении pH и повышении молярности буферной системы кривые диссоциации оксигемоглобина костистых рыб теряют свою S-образность, в отличие от кривых диссоциации оксигемоглобина осетровых, остающихся неизменными, что говорит о более широкой норме реакции гемоглобина осетровых рыб. Константа Хилла (n), которая служит показателем степени кооперативности субъединиц гемоглобина у осетровых рыб ниже, чем костистых. Закисление среды приводит к более выраженному нарастанию константы Хилла гемоглобинов костистых рыб по сравнению с осетровыми.

Выявлены различия процесса дезоксигенации оксигемоглобина у хрящевых рыб с одной стороны и хрящевых ганоидов и костистых рыб с другой. Неполная дезоксигенация

оксигемоглобина катрана связана, по-видимому, с наличием двух фракций гемоглобина, различающихся по величине эффекта Бора.

Гемоглобин, как и другие дыхательные пигменты, содержащие гем, имеет характерный спектр поглощения. Спектры поглощения гемоглобинов хрящевых, хрящевых ганоидов и костистых рыб лишены отчетливых черт специфичности по уровню положений максимумов полос поглощения, их количества и экстинкций (Васильев, Лукьяненко, 2000; Лукьяненко, Васильев, Камшилов; 2002; Васильев, Камшилов, 2002) [Васильев, Лукьяненко, 2000 (Vasil'ev, Luk'yanenko, 2000); Лукьяненко и др., 2002 (Luk'yanenko et al., 2002); Васильев, Камшилов, 2002 (Vasil'ev, Kamshilov, 2002)]. В спектрах поглощения всех исследованных форм гемоглобина (окси-, дезокси-, мет-, карбокси-) выявлена только одна γ_1 -полоса, впервые описанная Сорэ [Коржуев, 1964 (Korguev, 1964)], простетической группы пигмента, которая для каждого типа спектра имеет определенную величину максимума, что позволяет использовать ее в качестве индикаторного параметра для контроля исходного состояния растворов гемоглобина, анализа конформационного состояния пигмента, изучения лигандированных производных гемоглобина. Соотношение экстинкций α - и β -полос коррелирует с положением максимума γ -полосы и отражает содержание метгемоглобина.

Изменение pH в обе стороны от физиологического диапазона и повышение температуры вызывает изменение спектров

поглощения гемоглобинов осетровых рыб, связанные с образованием и деструкцией метгемоглобина [Лукьяненко и др., 2002 (Luk'yanenko et al., 2002); Васильев, Камшилов, 2002 (Vasil'ev, Kamshilov, 2002); Vasil'ev, Kamshilov, 2003]. Установлено, что устойчивость гемоглобинов осетровых рыб в щелочном диапазоне pH выше, чем в кислом. Продемонстрирован ярко выраженный криопротекторный эффект глицерина с увеличением его концентрации до 5% для гемоглобинов осетровых рыб [Лукьяненко и др., 2002 (Luk'yanenko et al., 2002)].

С 2004 г. исследования гемоглобина рыб проводились также на базе Центра “Молекулярные технологии” ИБВВ РАН под руководством д.б.н. Андреевой А.М. В 2013 г. Центр вошел в состав объединенной лаборатории экологической биохимии. В исследованиях гемоглобина в период 2004–2013 гг. принимали участие асп. Рябцева И.П., к.б.н. Лукьяненко В.В. и к.б.н. Камшилов И.М. В ходе исследований были выявлены различия в размерах и сингонии кристаллов гемоглобинов у представителей хрящевых (акулы, скаты), хряще-костных (осетровые) и костистых рыб; выявлена дифференциация по данным признакам туводных и проходных видов осетровых рыб; у хрящевых рыб обнаружены отсутствующие у костных рыб олигомерные формы гемоглобина [Андреева, 2006 (Andreeva, 2006)]. Рябцевой Ириной Павловной в рамках

аспирантуры (рук. д.б.н. Андреева А.М.) было протестировано более 20 видов пресноводных и морских видов костистых рыб по параметрам устойчивости гемоглобина (к дегидратации; по связи гем-глобин) и резистентности эритроцитов (осмотической; кислотной); изучена динамика данных параметров в онтогенезе леща и плотвы на потомстве внутривидовых скрещиваний этих видов. Результаты работы показали наличие у рыб *in vivo* (1) разнокачественности эритроцитов и гемоглобинов по тестируемым признакам, (2) взаимосвязь компенсаторного типа между устойчивостью гемоглобина и резистентностью эритроцитов с инверсией типа связи в онтогенезе (лещ, плотва), (3) у пресноводных видов выявлены более широкий диапазон всех параметров и их зависимость от экологии: у активных хищников гемоглобин и эритроциты отличает устойчивость, у других видов отмечены перманентный гемолиз эритроцитов и быстрое разрушение гемоглобинов, (4) у морских видов обнаружена сверхустойчивость гемоглобинов, возможно, по причине общей стратегии на прочность макромолекул у морских видов, (6) обнаружен не описанный ранее в литературе механизм поддержания гомеостаза при стрессе в виде единовременной замены пула эритроцитов [Andreeva, 2006, 2012; Andreeva, Ryabtseva, 2011].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гемоглобины традиционно относятся к наиболее исследованным белкам, интерес к которым не ослабевает со временем, судя по количеству публикаций в PubMedNCBI. Первые работы по электрофорезу гемоглобинов, сделанные в 1950-е годы прошлого столетия показали не только их диагностическую ценность для обнаружения патологических вариантов белка, но и дали начало массовым исследованиям гемоглобина у низших водных позвоночных — рыб. Генетический полиморфизм гемоглобинов у рыб, как и у многих других животных и человека, согласно Кирпичникову В.С. [1987 (Kirpichnikov, 1987)], достаточно ограничен (на что указывают и данные нашей лаборатории, полученные с помощью диск-электрофореза), что, вероятно, связано с “тонкой и точной пригнанностью молекул гемоглобина к выполнению своих функций и с малой вероятностью появления новых полезных мутаций” [Кирпичников, 1987 (Kirpichnikov, 1987)].

Однако использование в нашей лаборатории метода изоэлектрофокусирования позволило еще в 1980-е гг. выявить высочайшую молекулярную множественность этого белка, что

указывало на способность рыб поддерживать окислительные процессы в организме при любых условиях среды и колебаниях ее факторов. Именно высокая молекулярная множественность гемоглобина лежит в основе поддержания обменных процессов и их адаптации у рыб к разнообразным условиям среды, так как гетерогенность гемоглобина по структуре лежит в основе его функциональной гетерогенности, благодаря чему расширяется реактивная способность гемоглобиновой системы. Как показали наши исследования, у одних видов рыб она складывается из меняющегося соотношения отдельных фракций при тех или иных экологических условиях, у других — гемоглобин представлен постоянным набором молекулярных вариантов белка, приспособленных для работы в широком диапазоне температур, концентрации кислорода, солености, величины pH.

Представленные в данном обзоре результаты изучения гемоглобина сотрудниками лабораторий физиологии и биохимии осетровых рыб ЦНИОРХ МРХ СССР и экологической биохимии водных животных ИБВВ РАН были получены либо под руководством Лукьяненко В.И. либо были инициированы им, даже если были

продолжены после его ухода из лаборатории экологической биохимии в 1999 г. Несомненно,

все они внесли свой посильный вклад в научные исследования этого белка у рыб.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания №124032500015-7.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андреева А.М. Влияние дестабилизирующих факторов на структурно-функциональные показатели гемоглобина туводных и проходных рыб // Журн. эвол. биохимии и физиологии. 2006. Т. 42. № 6. С. 537–543.
- Андреева А.М. О структуре гемоглобина некоторых видов семейства Acipenseridae // Биология внутренних вод: Информ. Бюл. 1987. № 75. С. 33–35.
- Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. М., Л.: Изд-во Акад. наук СССР, 1949. Ч. 2. 466 с.
- Богданов Л.В. Анализ биохимического полиморфизма в естественных популяциях // Биологические основы рыбоводства: проблемы генетики и селекции. Л.: Наука, 1983. С. 70–83.
- Васильев А.С. Гетерогенность и полиморфизм гемоглобина плотвы (*Rutilus rutilus* L.) // Биология внутренних вод: Информ. Бюл. 1987. № 76. С. 49–53.
- Васильев А.С. Изоэлектрическое фокусирование — новый высокоэффективный метод фракционирования гемоглобина рыб // Биология внутренних вод: Информ. Бюл. 1987. № 75. С. 64–67.
- Васильев А.С. Фракционный состав гемоглобина воibly *Rutilusr. caspicus* J. и тарани *Rutilusr. heckeli* Nordm. // Биология внутренних вод: Информ. Бюл. 1987. № 77. С. 48–53.
- Васильев А.С. Сравнительное изучение изофоретического спектра гемоглобина некоторых видов карповых рыб // Биология внутренних вод: Информ. Бюл. 1988а. № 78. С. 38–41.
- Васильев А.С. Хрящевые рыбы — обладатели высоко гетерогенного гемоглобина // Биология внутренних вод: Информ. Бюл. 1988б. № 79. С. 64–67.
- Васильев А.С., Камшилов И.М. Количественная идентификация функционально активного гемоглобина рыб // Биология внутренних вод. 2002. № 2. С. 94–99.
- Васильев А.С., Лукьяненко В.И. Спектрофотометрические параметры конформационных состояний макромолекул гемоглобина и его лигандированных производных у осетровых рыб // Журнал эволюц. биохим. и физиол. 2000. Т. 36. № 1. С. 7–9.
- Гераскин П.П., Лукьяненко В.И. Видоспецифичность фракционного состава гемоглобина крови осетровых рыб // Журнал общей биологии. 1972. Т. 33. № 4. С. 478–483.
- Гераскин П.П., Лукьяненко В.И. Возрастная динамика фракционного состава гемоглобина крови белуги // Известия АН СССР (серия биологическая). 1971. № 5. С. 718–723.
- Захаров А.Б. Электрофоретический анализ гемоглобина у печорской семги *Salmo salar* L. // Тр. Коми фил. АН СССР. 1983. № 57. С. 126–142.
- Карпевич А.Ф. Экологическое обоснование прогноза изменений ареалов рыб и состава ихтиофауны при осолонении Азовского моря. Реконструкция рыбного хозяйства Азовского моря // Тр. Всесоюз. НИИ рыб. хоз-ва и океанографии. 1955. Т. 31. Вып. 2. С. 3–85.
- Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. Л.: Наука, 1987. 519 с.
- Лукьяненко В.В. Особенности фракционного состава гемоглобина двух видов сибирских осетровых // Биология внутренних вод: Информ. Бюл. 1986а. № 69. С. 40–44.
- Лукьяненко В.В. Полиморфизм гемоглобина крови амурских осетровых // Биология внутренних вод: Информ. Бюл. 1986б. № 70. С. 62–66.
- Лукьяненко В.В., Васильев А.С. Сравнительный электрофоретический анализ гемоглобина туводной стерляди // Биология внутренних вод: Информ. Бюл. 1986. № 69. С. 44–48.
- Лукьяненко В.В., Лукьяненко В.И. О полиморфизме и мономорфизме двух популяций сибирского осетра // ДАН СССР. 1984. Т.278. № 5. С. 1254–1257.
- Лукьяненко В.И., Васильев А.С., Камшилов И.М. Гемоглобины рыб: спектральные характеристики и функциональные свойства. Ярославль: ВВО РЭА, 2002. 187 с.
- Лукьяненко В.И., Васильев А.С., Лукьяненко В.В. Гетерогенность и полиморфизм гемоглобина рыб. Санкт-Петербург: Наука, 1991. 392 с.
- Лукьяненко В.И., Васильев А.С., Лукьяненко В.В. Новые данные о степени гетерогенности гемоглобина крови осетровых рыб // ДАН СССР. 1986. Т. 289. № 6. С. 1508–1510.
- Лукьяненко В.И., Васильев А.С., Лукьяненко В.В. Полиморфизм гемоглобина осетровых рыб // ДАН СССР. 1986. Т. 290. № 1. С. 254–256.
- Лукьяненко В.И., Васильев А.С., Лукьяненко В.В. Уникальный полиморфизм гемоглобина русского осетра // Изв. АН СССР. Сер. Биол. 1987. № 3. С. 370–376.
- Лукьяненко В.И., Гераскин П.П. Динамика формирования фракционного состава гемоглобина в раннем онтогенезе русского осетра // Доклады АН СССР. 1971. Т. 198. № 5. С. 1242–1244.
- Лукьяненко В.И., Гераскин П.П. Новые данные о фракционном составе гемоглобинов у хрящевых ганоидов // Доклады АН СССР. 1969. Т. 185. № 5. С. 1185–1188.
- Лукьяненко В.И., Гераскин П.П., Баль Н.В. Гетерогенность и полиморфизм гемоглобина у двух видов рода *Huso* // Доклады АН СССР. 1978. Т. 237. № 4. С. 994–998.

- Лукьяненко В.И., Гераскин П.П., Суриаль А.И. Фракционный состав гемоглобина крови у анадромных и туводных видов осетровых рыб // Экология. 1976. № 6. С. 71–77.
- Наточин Ю.В., Лукьяненко В.И., Шахматова Е.И. и др. Двадцатилетний мониторинг (70–90-е годы) физико-химических параметров сыворотки крови русского осетра // Вопр. Ихтиол. 1995. Т. 35. № 2. С. 253–257.
- Хлебович В.В. Критическая соленость биологических процессов. Л.: Наука, 1974. 236 с.
- Andreeva A.M. Structural and functional organization of fish blood proteins. Hauppauge, New York: Nova Science Publisher Inc., 2012. 187 p.
- Andreeva A.M., Ryabtseva I.P. Adaptation mechanisms of respiratory blood function in Teleostei // Journal of Ichthyology. 2011. Vol. 51(9). P. 799–808. DOI: 10.1134/S0032945211050018.
- Barcroft J. The respiratory function of blood. Part I. Lesson from high altitudes. Cambridge: Univ. press, 1925. 274 p.
- Barcroft J. The respiratory function of blood. Part II. Haemoglobin. Cambridge: Univ. press, 1928. 285 p.
- Hashimoto K., Matsuura F. Multiple hemoglobins in fish. II // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1960. Vol. 26. № 3. P. 354–360.
- Hochachka P.W., Somero G. Strategies of biochemical adaptation. W.B. Saunders Company. 1973. 358 p.
- Kamshilov I.M. Functional properties of hemoglobin and heterogeneity of fish populations // Inland Water Biol. 2022. Vol. 15. № 5. P. 701–705. DOI: 10.1134/s199508292205011x.
- Kamshilov I.M., Kamshilova T.B. Functional properties of hemoglobin in bream *Abramis brama* and in crucian carp *Carassius carassius* at hypoxia // Journal of Ichthyology. 2019. Т. 59. № 3. P. 444–447. DOI: 10.1134/S0042875219020103.
- Luk'yanenko V.I., Vasil'ev A.S., Luk'yanenko V.V., Khabarov M.V. On the increasing threat of extermination of the Caspian sturgeon populations and urgent measures required to save them // Journal of Applied Ichthyology. 1999. № 3. P. 18–24.
- Vasil'ev A.S., Kamshilov I.M. Composition and properties of hemoglobins of the russian sturgeon of the Volga-Caspian population // Modern problems of bioindication and biomonitoring. Syktyvkar: Komi nauch. centr UrO RAN, 2003. С. 408–418.

REFERENCES

- Andreeva A.M. O strukture gemoglobina nekotoryh vidov semejstva Acipenseridae [On the structure of hemoglobin of some species of the Acipenseridae family]. *Biologiya vnutrennix vod: Inform. Byul.*, 1987, no. 75, pp. 33–35. (In Russia)
- Andreeva A.M. Structural and functional organization of fish blood proteins. Hauppauge, New York, Nova Science Publisher Inc., 2012. 187 p.
- Andreeva A.M. Vliyanie destabiliziruyushchih faktorov na strukturno-funkcional'nye pokazateli gemoglobina tuvodnyh i prohodnyh ryb [The influence of destabilizing factors on the structural and functional indices of hemoglobin in migratory and anadromous fish]. *Journal Evol. Biochem. Physiol.*, 2006, vol. 42, no. 6, pp. 537–543. (In Russia)
- Andreeva A.M., Ryabtseva I.P. Adaptation mechanisms of respiratory blood function in Teleostei. *Journal of Ichthyol.*, 2011, vol. 51(9), pp. 799–808. doi: 10.1134/S0032945211050018.
- Barcroft J. The respiratory function of blood. Part I. Lesson from high altitudes. Cambridge, Univ. press, 1925. 274 p.
- Barcroft J. The respiratory function of blood. Part II. Haemoglobin. Cambridge, Univ. press, 1928. 285 p.
- Berg L.S. Ryby presnyh vod SSSR i sopredel'nyh stran [Freshwater fishes of the USSR and adjacent countries]. M., L., Izdvo Akad. nauk SSSR, 1949. Ch. 2. 466 p. (In Russia)
- Bogdanov L.V. Analiz biohimicheskogo polimorfizma v estestvennyh populyaciyah [Analysis of biochemical polymorphism in natural populations]. *Biologicheskie osnovy rybovodstva: problemy genetiki i selekcii*. L., Nauka, 1983, pp. 70–83. (In Russia)
- Geraskin P.P., Luk'yanenko V.I. Vidospecifichnost' frakcionnogo sostava gemoglobina krovi osetrovyh ryb [Species specificity of the fractional composition of hemoglobin in the blood of sturgeon fish]. *Zhurnal obshchej biol.*, 1972, vol. 33, no. 4. pp. 478–483. (In Russia)
- Geraskin P.P., Luk'yanenko V.I. Vozrastnaya dinamika frakcionnogo sostava gemoglobina krovi belugi [Age dynamics of fractional composition of hemoglobin in beluga blood]. *Izvestiya AN SSSR (seriya biologicheskaya)*, 1971, no. 5, pp. 718–723. (In Russia)
- Hashimoto K., Matsuura F. Multiple hemoglobins in fish. II. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 1960, vol. 26(3), pp. 354–360.
- Hlebovich V.V. Kriticheskaya solenost' biologicheskikh processov [Critical salinity of biological processes]. L., Nauka, 1974. 236 p. (In Russia)
- Hochachka P.W., Somero G. Strategies of biochemical adaptation. W.B. Saunders Company, 1973. 358 p.
- Kamshilov I.M. Functional properties of hemoglobin and heterogeneity of fish populations. *Inland Water Biol.*, 2022, vol. 15, no. 5, pp. 701–705. doi: 10.1134/s199508292205011x.
- Kamshilov I.M., Kamshilova T.B. Functional properties of hemoglobin in bream *Abramis brama* and in crucian carp *Carassius carassius* at hypoxia. *Journal of Ichthyol.*, 2019, vol. 59, no. 3, pp. 444–447. DOI: 10.1134/S0042875219020103.
- Karpevich A.F. Ekologicheskoe obosnovanie prognoza izmenenij arealov ryb i sostava ihtiofauny pri osolonenii Azovskogo morya. Rekonstrukciya rybnogo hozyajstva Azovskogo morya [Ecological substantiation of the forecast of changes in fish habitats and the composition of ichthyofauna during the salinization of the Azov Sea]. *Tr. Vsesoyuz. NII ryb. hoz-va i okeanografii*, 1955, vol. 31(2), pp. 3–85. (In Russia)
- Kirpichnikov V.S. Genetika i selekciya ryb [Genetics and selection of fish]. L., Nauka, 1987. 519 p. (In Russia)

- Luk'yanenko V.I., Vasil'ev A.S., Luk'yanenko V.V., Khabarov M.V. On the increasing threat of extermination of the Caspian sturgeon populations and urgent measures required to save them. *Journal of Applied Ichthyology*, 1999, no. 3, pp. 18–24.
- Luk'yanenko V.I., Geraskin P.P. Dinamika formirovaniya frakcionnogo sostava gemoglobina v rannem ontogeneze russkogo osetra [Dynamics of formation of fractional composition of hemoglobin in early ontogenesis of Russian sturgeon]. *DAN SSSR*, 1971, vol. 198(5), pp. 1242–1244. (In Russia)
- Luk'yanenko V.I., Geraskin P.P. Novye dannye o frakcionnom sostave gemoglobinov u hryashchevyh ganoidov [New data on the fractional composition of hemoglobins in cartilaginous ganoids]. *DAN SSSR*, 1969, vol. 185(5), pp. 1185–1188. (In Russia)
- Luk'yanenko V.I., Geraskin P.P., Bal' N.V. Geterogenost' i polimorfizm gemoglobina u dvuh vidov roda Huso [Heterogeneity and polymorphism of hemoglobin in two species of the genus Huso]. *DAN SSSR*, 1978, vol. 237(4), pp. 994–998. (In Russia)
- Luk'yanenko V.I., Geraskin P.P., Surial' A.I. Frakcionnyj sostav gemoglobina krovi u anadromnyh i tuvodnyh vidov osetrovyyh ryb [Fractional composition of blood hemoglobin in anadromous and aquatic species of sturgeon fish]. *Ekologiya*, 1976, no. 6, pp. 71–77. (In Russia)
- Luk'yanenko V.I., Vasil'ev A.S., Kamshilov I.M. Gemoglobiny ryb: spektral'nye harakteristiki i funkcional'nye svoystva [Fish hemoglobins: spectral characteristics and functional properties]. Yaroslavl, VVO REA, 2002. 187 p. (In Russia)
- Luk'yanenko V.I., Vasil'ev A.S., Luk'yanenko V.V. Geterogenost' i polimorfizm gemoglobina ryb [Heterogeneity and polymorphism of fish hemoglobin]. Sankt-Peterburg, Nauka, 1991. 392 p. (In Russia)
- Luk'yanenko V.I., Vasil'ev A.S., Luk'yanenko V.V. Novye dannye o stepeni geterogenosti gemoglobina krovi osetrovyyh ryb [New data on the degree of heterogeneity of hemoglobin in the blood of sturgeon fish]. *DAN SSSR*, 1986, vol. 289(6), pp. 1508–1510. (In Russia)
- Luk'yanenko V.I., Vasil'ev A.S., Luk'yanenko V.V. Polimorfizm gemoglobina osetrovyyh ryb [Polymorphism of hemoglobin of sturgeon fishes]. *DAN SSSR*, 1986, vol. 290(1), pp. 254–256. (In Russia)
- Luk'yanenko V.I., Vasil'ev A.S., Luk'yanenko V.V. Unikal'nyj polimorfizm gemoglobina russkogo osetra [Unique polymorphism of hemoglobin of Russian sturgeon]. *Izv. AN SSSR. Ser. Biol.*, 1987, no. 3, pp. 370–376. (In Russia)
- Luk'yanenko V.V. Osobennosti frakcionnogo sostava gemoglobina dvuh vidov sibirskikh osetrovyyh [Features of the fractional composition of hemoglobin of two species of Siberian sturgeon]. *Biologiya vnutrennih vod: Inform. Byul.*, 1986a, vol. 69, pp. 40–44. (In Russia)
- Luk'yanenko V.V. Polimorfizm gemoglobina krovi amurskikh osetrovyyh [Polymorphism of hemoglobin in the blood of Amur sturgeons]. *Biologiya vnutrennih vod: Inform. Byul.*, 1986b, vol. 70, pp. 62–66. (In Russia)
- Luk'yanenko V.V., Luk'yanenko V.I. O polimorfizme i monomorfizme dvuh populyacij sibirskogo osetra [On polymorphism and monomorphism of two populations of Siberian sturgeon]. *DAN SSSR*, 1984, vol. 278(5), pp. 1254–1257. (In Russia)
- Luk'yanenko V.V., Vasil'ev A.S. Sravnitel'nyj elektroforeticheskij analiz gemoglobina tuvodnoj sterlyadi [Comparative electrophoretic analysis of hemoglobin of tuvodnaya sterlet]. *Biologiya vnutrennih vod: Inform. Byul.*, 1986, vol. 69, pp. 44–48. (In Russia)
- Natochin Yu.V., Luk'yanenko V.I., Shahmatova E.I. i dr. Dvadcatiletnij monitoring (70-90-e gody) fiziko-himicheskikh parametrov syvorotki krovi russkogo osetra [Twenty-year monitoring (70-90s) of physicochemical parameters of blood serum of Russian sturgeon]. *Vopr. Ihtiol.*, 1995, vol. 35(2), pp. 253–257. (In Russia)
- Vasil'ev A.S., Kamshilov I.M. Composition and properties of hemoglobins of the Russian sturgeon of the Volga-Caspian population. *Modern problems of bioindication and biomonitoring*. Syktyvkar, Komi nauch. centr UrO RAN, 2003, pp. 408–418.
- Vasil'ev A.S. Frakcionnyj sostav gemoglobina vobly *Rutilus caspicus* J. i tarani *Rutilus heckeli* Nordm [Fractional composition of hemoglobin in roach *Rutilus caspicus* J. and ram *Rutilus heckeli* Nordm]. *Biologiya vnutrennih vod: Inform. Byul.*, 1987, no. 77, pp. 48–53. (In Russia)
- Vasil'ev A.S. Geterogenost' i polimorfizm gemoglobina plotvy (*Rutilus rutilus* L.) [Heterogeneity and polymorphism of hemoglobin of roach (*Rutilus rutilus* L.)]. *Biologiya vnutrennih vod: Inform. Byul.*, 1987, no. 76, pp. 49–53. (In Russia)
- Vasil'ev A.S. Hryashchevye ryby — obladateli vysoko geterogenogo gemoglobina [Cartilaginous fishes — possessors of highly heterogeneous hemoglobin]. *Biologiya vnutrennih vod: Inform. Byul.*, 1988b, no. 79, pp. 64–67. (In Russia)
- Vasil'ev A.S. Izoelektricheskoe fokusirovanie — novyj vysokoeffektivnyj metod frakcionirovaniya gemoglobina ryb [Isoelectric focusing — a new highly effective method for fractionation of fish hemoglobin]. *Biologiya vnutrennih vod: Inform. Byul.*, 1987, no. 75, pp. 64–67. (In Russia)
- Vasil'ev A.S. Sravnitel'noe izuchenie izoforeticheskogo spektra gemoglobina nekotoryh vidov karpovyh ryb [Comparative study of the isophoretic spectrum of hemoglobin of some species of carp fish]. *Biologiya vnutrennih vod: Inform. Byul.*, 1988a, no. 78, pp. 38–41. (In Russia)
- Vasil'ev A.S., Kamshilov I.M. Kolichestvennaya identifikaciya funkcional'no aktivnogo gemoglobina ryb [Quantitative identification of functionally active hemoglobin of fish]. *Biologiya vnutrennih vod*, 2002, no. 2, pp. 94–99. (In Russia)
- Vasil'ev A.S., Luk'yanenko V.I. Spektrofotometricheskie parametry konformacionnyh sostoyanij makromolekul gemoglobina i ego ligandirovannyh proizvodnyh u osetrovyyh ryb [Spectrophotometric parameters of conformational states of hemoglobin macromolecules and its liganded derivatives in sturgeon fish]. *Journal Evol. Biochem. Physiol.*, 2000, vol. 36, no. 1, pp. 7–9. (In Russia)

Zaharov A.B. Elektroforeticheskiy analiz gemoglobina u pechorskoj semgi *Salmo salar* L. [Electrophoretic analysis of hemoglobin in Pechora salmon *Salmo salar* L.]. *Tr. Komi fil. AN SSSR*, 1983, no. 57, pp. 126–142. (In Russia)

RESULTS OF FISH HEMOGLOBIN STUDIES AT THE CENTER OF RIORKH OF THE USSR MRKH (ASTRAKHAN) AND THE IBIW RAS (BOROK)

A. S. Vasil'ev, V. V. Luk'yanenko

*Papanin Institute of Biology of Inland Waters of the Russian Academy of Sciences,
152742 Borok, Russia; e-mail: Vasil'ev@ibiw.ru*

Revised 30.04.2025

The article summarizes the results of studies of heterogeneity and polymorphism, spectral characteristics, structural organization and functional properties of hemoglobin in fish groups with different levels of organization and ecology, carried out in the laboratories of sturgeon physiology and biochemistry of the Central Research Institute of Sturgeon Farming (SRIAF) (Astrakhan) and ecological biochemistry of aquatic animals of the IBIW RAS under the supervision of Dr. V.I. Luk'yanenko (1964–1999) and in the period 2000–2022.

Keywords: hemoglobin, heterogeneity, spectral characteristics, functional properties, bony fish, cartilaginous ganoids, cartilaginous fish