

О СЕЗОННЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ СООТНОШЕНИЙ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ РЫБ

А. КИРСИПУУ

Как известно, количество белка, жира, минеральных веществ и воды в тканях рыб подвергается сильным сезонным колебаниям, вызванным изменениями интенсивности и направления процессов жизнедеятельности. Разностороннее изучение этих изменений представляет собой большой теоретический интерес для сравнительной физиологии и является очень важным для практики рыбоводства. Как показал Шульман (1961), изменения в обменных процессах рыб хорошо характеризуются изменением содержания белка и перемещением белков в организме рыб. Лучшему пониманию этих процессов, по нашему мнению, может способствовать и изучение изменений в белковой системе крови рыб. Данные медицинской физиологии доказывают, что состояние белковой системы крови человека и теплокровных животных довольно тесно связано с изменениями в обмене веществ и хорошо отражает некоторые аспекты физиологического состояния организма. Что касается рыб (а также других холоднокровных животных), то белки их крови пока изучены в основном с точки зрения систематики. Некоторые сведения об изменениях в белковой системе крови рыб в связи с питанием (Drilhon, 1954; Lysak, Wojcik, 1960) и сезонами года (Хайлов, 1962), к сожалению, малочисленны и довольно поверхностны и не разрешают сделать более основательных выводов об участии белков крови в обменных процессах у рыб. Поэтому подобные исследования, по нашему мнению, являются еще очень нужными.

Нами были изучены сезонные изменения в соотношениях белковых фракций сыворотки крови леща, красноперки, щуки, судака и окуня. Материал собран в течение трех лет (1961—1963) из озера Выртъярв и Пярнуского залива. Так как серии анализов проведены с перерывами, то невозможно дать точной схемы сезонных изменений в белковых фракциях сыворотки крови названных видов рыб, однако некоторые общие выводы все же сделать можно.

Общее количество белка в сыворотке крови мы нашли через определение показателя преломления при помощи рефрактометра. Но так как в крови рыб содержание других оптически активных веществ, кроме белка, вероятно отличается от содержания этих же веществ в крови человека (для которого созданы таблицы для определения количества белка через показатель преломления сыворотки крови), наши данные о содержании белка в сыворотке крови рыб не могут быть рассмотрены как абсолютные, а только как относительные.

Фракции белков сыворотки крови мы разделяли методом электрофореза на бумаге, их процентные величины определяли после элюации каждой фракции в 3 мл едкого натрия при помощи фотоколориметра.

Материал обработан статистически по общеизвестной схеме для маленьких выборок, разницы средних величин определены по *t*-тесту Стьюдента при 2%-ном уровне значимости (Бейли, 1962).

При описании половых различий в белковых фракциях сыворотки крови рыб нами было показано (Кирсипуу, 1964), что летом и осенью различия почти отсутствуют, но они очень заметны зимой и весной, т. е. в течение некоторого времени до нереста и во время его. Выяснилось, что различия возникают благодаря увеличению количества (как относительного, так и абсолютного) α_2 -глобулинов и уменьшению количества альбуминов и α_1 -глобулинов в крови самок. Следовательно, количество этих белков в крови самок рыб претерпевает значительные сезонные изменения. Но какова величина этих изменений? В какое время происходят сдвиги? Охватывают ли сезонные изменения и другие фракции? Как обстоит дело у самцов и неполовозрелых рыб? Наш материал позволяет в некоторой степени осветить эти вопросы.

Общее количество белка изменялось по сезонам одинаково в крови самок, самцов и неполовозрелых рыб. У всех видов оно было зимой в среднем на 1—2% больше, чем летом, достигая в некоторых случаях значительных величин (у некоторых судаков и щук свыше 10%). Соответственно изменялось в разные времена года и количество белка во фракциях. Но здесь нужно учесть то, что сезонное изменение количества белка в крови рыб — это отчасти вторичное явление, возникающее за счет уменьшения концентрации воды в крови рыб зимой (см. Велдре, 1958), что в значительной мере затрудняет определение амплитуды колебания содержания белка в крови. Поэтому нам думается, что при изучении сезонных изменений в белковой системе крови рыб целесообразно оперировать процентными величинами, а к изменениям абсолютного количества белка во фракциях придется относиться с известной осторожностью.

У самцов и неполовозрелых рыб белковая система крови оказалась довольно стабильной — процентные величины фракций мало изменялись в течение года. Только у судака и окуня значение альбуминов в крови уменьшалось в течение зимы в среднем на 4—5%. Повышения количества α -глобулинов, что обычно сопровождается снижением количества альбуминов у теплокровных, не наблюдалось. Так как по мнению многих авторов количество альбуминов в крови отражает изменения количества запасных белков в организме (Капланский, 1962), названный сдвиг в белковой системе крови самцов и неполовозрелых рыб вероятно отражает уменьшение количества резервных белков в их организме в течение зимы. В крови самцов и неполовозрелых особей леща вышеуказанная динамика количества альбуминов выделилась менее отчетливо, что, может быть, объясняется большими запасами белков у этого вида.

В крови самок наблюдалось более заметное уменьшение количества альбуминов в течение зимы. У самок судака процент альбуминов снижался в среднем на 10% в Пярнуском заливе и на 6% в озере Виртсъярв, у самок щуки на 5% (рис. 1) и у самок леща на 4—5% (рис. 2). Уменьшение количества альбуминов у самок оказалось не только относительным (в процентном выражении), но и абсолютным, так как количество белка в этой фракции было у самок всех видов значительно меньше, чем у самцов. Более значительное по сравнению с самцами и неполовозрелыми рыбами уменьшение количества альбуминов, очевидно, объясняется усиленной затратой резервных белков, вызванной продуцированием икры.

Несколько изменяется по сезонам в крови самок и количество α_1 -гло-

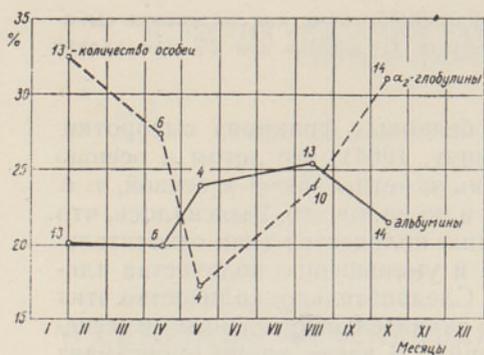


Рис. 1. Сезонные изменения уровней альбуминов и α_2 -глобулинов в крови самок щуки. (На основе данных трех лет.)

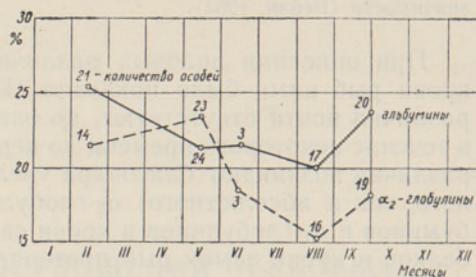


Рис. 2. Сезонные изменения уровней альбуминов и α_2 -глобулинов в крови самок леща. (На основе данных трех лет.)

булинов. Направление изменений аналогично изменениям количества альбуминов — зимой α_1 -глобулинов немного меньше, чем летом. Амплитуда колебаний незначительна (не превышает 2—3%) и часто статистически недоказуема. Но регулярность и ясная направленность этих колебаний, по нашему мнению, исключает возможность случайности.

Самые заметные сезонные колебания в крови самок рыб претерпевает количество α_2 -глобулинов (рис. 1 и 2). Минимальным оно оказалось в начале лета, в июне. Начиная с июля наблюдалось небольшое повышение количества α_2 -глобулинов и уже в октябре-ноябре оно статистически достоверно различается от количества этих же белков в июне. У леща, судака и окуня увеличение значения этой фракции продолжается до самого нереста, у щуки только до февраля, а дальше начинается опять уменьшение. Амплитуда колебаний у каждого вида разная: самая значительная она у щуки — до 20% (рис. 1), самая минимальная у леща — до 8% (рис. 2). Так как количество β - и γ -глобулинов в крови самок по сезонам изменилось мало (некоторые статистически достоверные различия не имели определенного направления и не повторялись регулярно в разные годы, поэтому мы склонны их считать случайными), то выяснилось, что увеличение α_2 -глобулинов в их крови уравнивается только уменьшением количества альбуминов и в меньшей мере α_1 -глобулинов. Исключением является щука, у которой количество α_2 -глобулинов в крови самок увеличивается настолько, что уменьшается и процент β - и γ -глобулинов.

Это же подтверждается и при рассмотрении изменений абсолютных количеств белка во фракциях. Как указано выше, общее количество белка в крови самок и самцов во все времена года существенно не различается, но количество белка во фракции α_2 -глобулинов в крови самок зимой и весной значительно больше (у леща до 1,5 раза). Равновесие достигается и здесь в основном за счет альбуминов и α_1 -глобулинов, абсолютное количество которых в крови самок заметно меньше. А абсолютные количества β - и γ -глобулинов, как и их процентные количества, мало различались у самок и самцов. Щука и в этом аспекте является исключением. Зимой в крови самок щуки α_2 -глобулинов до 3 раз больше, чем в крови самцов (соответственно свыше 3% и приблизительно 1%), а β - и γ -глобулинов немного меньше.

Нам представляется, что увеличение зимой количества белка в крови рыб зависит не от пола, а от специфики вида, и определяется в основном изменениями концентрации воды в крови рыб. А увеличение коли-

чества белка в одной из фракций, вызванное специфическими для пола изменениями в обменных процессах, должно быть уравновешено внутри самой белковой системы.

Вышеуказанные сезонные изменения в белковой системе крови рыб по своему объему различались в разные годы. Причиной этих изменений, очевидно, являются различия в метеорологических и гидрологических условиях, влияющих на питание, созревание гонад (Pihu, 1960) и на другие процессы жизнедеятельности рыб.

Авторы единственных нам известных исследований, касающихся сезонных изменений в соотношениях белковых фракций сыворотки крови рыб (Drilhon, 1954; Хайлов, 1962), связывают эти изменения только с питанием. Дрилон пишет, что у самок карпа эти изменения (касающиеся альбуминов и β -глобулинов), очевидно, связаны с упитанностью и наступление половой зрелости (следовательно, и созревание икры у половозрелых рыб — А. К.) на соотношения белковых фракций сыворотки крови не влияет. Нашими данными это предположение подтверждается только частично. Если уменьшение количества альбуминов в течение зимы в крови самцов и неполовозрелых рыб действительно может быть объяснено прекращением питания, то у самок это отчасти вызвано и затратой резервных белков на продуцирование икры. А динамика количества α_2 -глобулинов в крови самок, очевидно, прямо связана с продуцированием икры. В пользу этого говорят следующие факты:

1) Сезонные колебания количества α_2 -глобулинов наблюдались только в крови половозрелых самок, а не в крови неполовозрелых рыб и самцов. По-видимому, продуцирование молок не требует глубоких перестроек в белковом обмене.

2) Динамика количества α_2 -глобулинов в крови самок прямо связана с исходом созревания икры. Его повышение начинается именно в то время, когда в условиях Эстонии начинается накопление желтка в яйцеклетках — в июле, и продолжается у леща и судака до самого нереста, как и созревание икры. Очевидно, такое же явление наблюдается и у красноперки и окуня. Мы не имеем зимних анализов крови этих видов, но весной количество α_2 -глобулинов в крови их самок значительно выше, чем осенью. У щуки икра созревает к февралю, и, как отмечено, к этому времени достигает максимума и количество α_2 -глобулинов в их крови, а дальше оно уже постепенно снижается (данные об исходе созревания икры см. Pihu, 1960).

3) У самок тех видов, коэффициент зрелости (процент веса гонады от веса тела без внутренностей) которых в течение полового цикла изменялся больше, оказались большими и сезонные колебания количества α_2 -глобулинов. Так, у самок щуки коэффициент зрелости в течение полового цикла увеличивается в среднем в 40 раз (предельные величины 0,30 и 45,60%), у самок леща — в среднем в 10 раз (предельные величины 0,77 и 27,40%) (Pihu, 1960). Значение же α_2 -глобулинов в течение полового цикла увеличивается, по нашим данным, у самок щуки в среднем на 15,2%, а у самок леща — на 8,1% (предельные величины соответственно 16,0—40,4 и 10,7—31,0%).

Как нами уже отмечено (Кирсипуу, 1964), мы предполагаем, что изменения количества α_2 -глобулинов в крови самок рыб в связи с созреванием икры в действительности отражают изменения количества особого, связанного с интенсивными белкообразовательными процессами белка — α_3 -глобулинов, который у млекопитающих был описан Успенской (1959) и Хейм (Heim, 1962). Эта фракция, по-видимому, при обычных условиях электрофореза на бумаге плохо отделяется от α_2 -глобулинов. Но в некоторых случаях на фореграммах сыворотки крови самок

щуки и леща мы могли ясно различить две фракции α_2 -глобулинов. Возможно, что более медленную из них составляли α_3 -глобулины. А у судака и окуня, в связи с большим количеством быстродвижущихся белков, образующих много фракций, фракция, связанная с созреванием икры (по нашей номенклатуре α_2 -глобулиновая) занимает на фореграмме сравнительно среднее положение. Возможно, что мы имеем здесь дело с чистой фракцией α_3 -глобулинов, а настоящие α_2 -глобулины переходили в группу α_1 -глобулинов, которая у судаков очень гетерогенна и разделяется иногда на 3 подфракции.

Успенская с сотрудниками (1963) доказала, что α_3 -глобулины у собак — это гаптоглобины. Последние, как известно, являются очень индивидуализированными белками, специфичными для генетической линии. Возможно, что подобные белки содержатся и в названной нами α_2 -глобулиновой фракции белков сыворотки крови рыб и участвуют в синтезе белков икры, а изменения их количества в крови вызывают динамику количества α_2 -глобулинов. И так как повышение количества α_2 -глобулинов в крови самок рыб предшествует снижению количества альбуминов и α_1 -глобулинов, следует думать, что уменьшение количества альбуминов не сопровождается увеличением количества α_2 -глобулинов (как это обычно предполагается у теплокровных), а именно увеличение количества вышеназванных специфических белков вызывает включение альбуминов как резервных белков в процесс синтеза белков икры.

ЛИТЕРАТУРА

- Бейли Н., 1962. Статистические методы в биологии. ИЛ. М.
 Велдре И. Р., 1958. О сезонных изменениях свойств красной крови плотвы и окуня. Автореферат дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук. Тарту.
 Капланский С. Я., 1962. Вестн. Акад. мед. наук СССР, 9.
 Кирсипуу А., 1964. Изв. АН ЭССР. Сер. биол., 1, 45—54.
 Успенская В. Д., 1959. Актуаль. вопр. совр. биохим., 1.
 Успенская В. Д., Трапезникова С. С., Исаулова М. В., Зыкова В. П., 1963. Докл. АН СССР, 152, 3.
 Хайлов К. М., 1962. Тр. Мурманск. морск. биол. ин-та, вып. 4(8).
 Шультман Г. Е., 1961. Вопр. ихтиологии, вып. 17.
 Drihlon A., 1954. Compt. rend. Soc. Biol., 148, p. 1218.
 Heim W. A., 1962. Nature, 193, No. 4814.
 Lysak A., Wojcik K., 1960. Acta Hydrobiol., 2, fasc. 1.
 Pihu E. R., 1960. Võrtsjärve töõnduskalade sigimisest. Диссертация на соискание ученой степени канд. биол. наук. Рукопись в Ин-те зоологии и ботаники АН ЭССР.

Институт зоологии и ботаники
 Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
 23. VII 1964

SESOONSETEST MUUTUSTEST KALADE VERESEERUMI VALGUFRAKTSIOONIDES

A. Kirsipuu

Resüme

Uuriti sesooneid muutusi latika, koha, ahvena, haugi ja roosärje vereseerumi valgufraktsioonides.

Valgufraktsioonid eraldati paberelektroforeesi meetodil, valgu kontsentratsioon veres määrati refraktomeetri abil.

Üldine valgu hulk uuritud kalade veres suurenes talvel keskmiselt 1—2 g% võrra. Selle põhjuseks on peamiselt vee hulga vähenemine kalade veres.

Isaste ja mitesuguküpsete kalade verevalkude fraktsioonid püsivad aasta läbi enam-vähem muutumatuna. Ainult albumiinide protsent väheneb neil talve jooksul mõningal määral. Arvatavasti peegeldab see reservvalkude üldise hulga vähenemist organismis nende ärakasutamise tõttu elutegevuseks.

Emaste kalade veres väheneb albumiinide protsent talve jooksul märksa rohkem, mis osutab osa reservvalkude kasutamisele marja valmistamiseks. Mõnevõrra väheneb emaste kalade veres talve jooksul ka α_1 -globuliinide protsent. Sedamööda aga, kuidas rebu ladestub marjateradesse, hakkab suurenema, nii suhteliselt kui ka absoluutselt, α_2 -globuliinide hulk. See suurenemine kestab kuni marja valmimiseni ja on oletatavasti tingitud marja valkude sünteesiga seotud spetsiifilise valgu hulga suurenemisest veres.

β - ja γ -globuliinide protsent ei muutu regulaarselt seoses aastaegadelega ka emaste kalade veres.

Erinevatel aastatel on muutuste ulatus nii suhtelistes kui ka absoluutsetes hulkades erinev, sõltudes arvatavasti meteoroloogilistest ja hüdrooloogilistest tingimustest, mis mõjustavad kalade toitumist ja suguproduktide valmimist.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Zooloogia ja Botaanika Instituut

Saabus toimetusse
23. VII 1964

ON SEASONAL CHANGES IN BLOOD SERUM PROTEIN FRACTIONS OF FISHES

A. Kirsipuu

Summary

Seasonal changes in blood serum protein fractions in bream, pike, pikeperch, perch and rudd were studied.

Protein fractions were separated by paper-electrophoresis, the concentration of protein in blood was determined by refractometer.

The concentration of protein in the blood of examined fishes increased in winter by 1—2 g%. It is mainly due to the diminishing of the amount of water in the blood of fishes in winter.

The blood serum protein fractions in males and immature fishes are more or less stable all the year. Only the percentage of albumens in their blood was noticed to diminish a little during the winter. It is probably caused by the diminishing of the total amount of reserve proteins in the organism.

In the blood of females, the percentage of albumens decreases during the winter more noticeably. This indicates that a part of reserve proteins was utilized for preparing the hard roe. In winter the level of α_1 -globulins also decreases a little in the blood of females. But the amount of α_2 -globulins begins to increase in their blood at the same time when the formation of yolk in the eggs begins. The increasing continues until the hard roe is ripe. We assume that this is caused by the increasing, in the blood, of the amount of a specific protein which is connected with the synthesis of new proteins for hard roe.

The percentage of β - and γ -globulins do not regularly alter all the year in the blood of females, either.

In different years amplitudes of seasonal changes in percentages as well as in absolute amounts of proteins are different. It is obviously due to different meteorological and hydrological conditions influencing the feeding and maturing of gonads of fishes.

Academy of Sciences of the Estonian S.S.R.,
Institute of Zoology and Botany

Received
July 23rd, 1964