

Академия наук СССР

Редколлегия "Гидробиологического журнала"

№6438-85 *Flu*

УДК 577.112.382 + 597.554.3 + 556.531.4

Б.В.Яковенко, В.В.Грубинко, А.А.Жиденко, А.Ф.Явоненко

Сезонная динамика глицина в водоёмах и мышечной ткани
карпа

Киев - 1985

Ранее проведенные нами исследования, а также данные ряда авторов показали, что в мышечной ткани карповых рыб (карп че-шуйчатый, белый амур и толстолобик) в отдельные периоды накапливается значительное количество свободного глицина [6, II, 13].

Однако остаётся не выясненным до конца ни физиологическая целесообразность этого процесса, ни источники его накопления. Отдельные сообщения последних лет указывают на его многогранную роль в организме пойкилотермных животных, в частности рыб. Так, в зимний период в крови и коллагене ротана сильно возрастает концентрация этой аминокислоты, в связи с чем температура кристаллизации воды там снижается на десятки градусов, предохраняя тем самым организм бычка от замерзания [2]. В процессе адаптации костистых рыб к солёной воде наряду с таурином значительно возрастает у них концентрация глицина в мышцах [16]. Авторы делают вывод о причастности его к поддержанию осмотического давления в клетках. Аналогичная картина наблюдается в мышечной ткани *Palaeomon* [15]. Обнаружено также, что глицин является ингибитором глутаминсинтетазы [17, 19, 27]. Обсуждается гипотеза и о том, что глицин служит медиатором для ряда нейронов сетчатки глаза золотой рыбки [18].

Наряду с этим установлено, что данная аминокислота содержится в значительных количествах в организме морских и пресноводных животных. Так, глицин является доминирующей аминокислотой у шести видов брюхоногих моллюсков [29], в мускулатуре стенки тела *Argemone* [20], у зоопланктона [28]. Высокие концентрации глицина обнаружены в белковом гидролизате

Isoparagochis Kurbelovargi, полученного из плавательного пузыря рыб [25]. Поскольку у разных видов рыб такое явление наблюдается с другими аминокислотами (у линя преобладает лейцин [5], у осетра, щуки и судака пролин [6], у сельдевых и кракских рыб - гистидин [14]), нами был сделан вывод о том, что кроме вышеперечисленных функций отдельные аминокислоты служат своеобразным депо азота в организме, накапливаемого в мышечной ткани в летне-осенний период и используемого по мере необходимости в период вынужденного зимнего голодания. Кроме того, было сделано предположение о том, что глицин, обнаруженный в значительных количествах в мышечной ткани указанных

видов рыб имеет скорее всего экзогенное происхождение. К такому выводу нас привёл анализ литературных данных о содержании и динамике аминокислот в отдельных водоёмах. В натуральной морской воде, например, концентрация свободных аминокислот составляет 2,06 мкМ/л [21], а в порых морского дна достигает 96 мкМ/л [26]. Концентрация свободных аминокислот в р. Воронеж зависит от времени года. Максимум (в среднем 26 мкг M^{I} /л) отмечен в летне-осенний период и в зимнюю межень, минимум (12 мкг M^{I} /л - во время паводка [9]. В воде плеса Киевского водохранилища концентрация этих соединений колеблется в пределах 2,4 - 11,6 мкг M^{I} /л, а в среде интенсивно развивающейся синезелёной водоросли в отдельные периоды обнаруживается до 74,8 мкг M^{I} /л [3]. В значительных количествах свободные аминокислоты встречаются в илах - 0,31 - 0,68 мг на 100 г [4]. Среди азотсодержащих продуктов, выделяемых ежедневно зоопланктоном 20% приходится на долю свободных аминокислот [28]. Однако, необходимо подчеркнуть, что во всех случаях указывается суммарное количество свободных аминокислот и не приводится их качественный состав, в частности количество глицина. Поэтому была поставлена задача изучить динамику содержания этой аминокислоты в двух различных водоёмах, а также динамику её в мышечной ткани карпа, обитающего в них.

Материал и методика исследований. Изучение данного вопроса проводили на протяжении года на базе рыбхоза "Борщовка" Тернопольской области и "Водоснабжающего пруда" Черниговского рыбопитомника.

Для определения концентрации глицина в воде ежемесячно брали пробы в количестве 2 л. С целью концентрирования аминокислот воду пропускали через колонку (1=1 м, D=2 см), заполненную катионитом КУ-2-8 в H^+ -форме со скоростью 1 капля в сек. Тщательно промывали дистиллированной водой. Адсорбированные аминокислоты элюировали 2 н NH_4OH . Элюат упаривали досуха. Сухой остаток растворяли в небольшом объёме 0,1 н NaOH и вновь упаривали. Далее растворяли в 0,1 н HCl и таким образом получали раствор свободных аминокислот.

Параллельно исследовали содержание глицина в мышечной

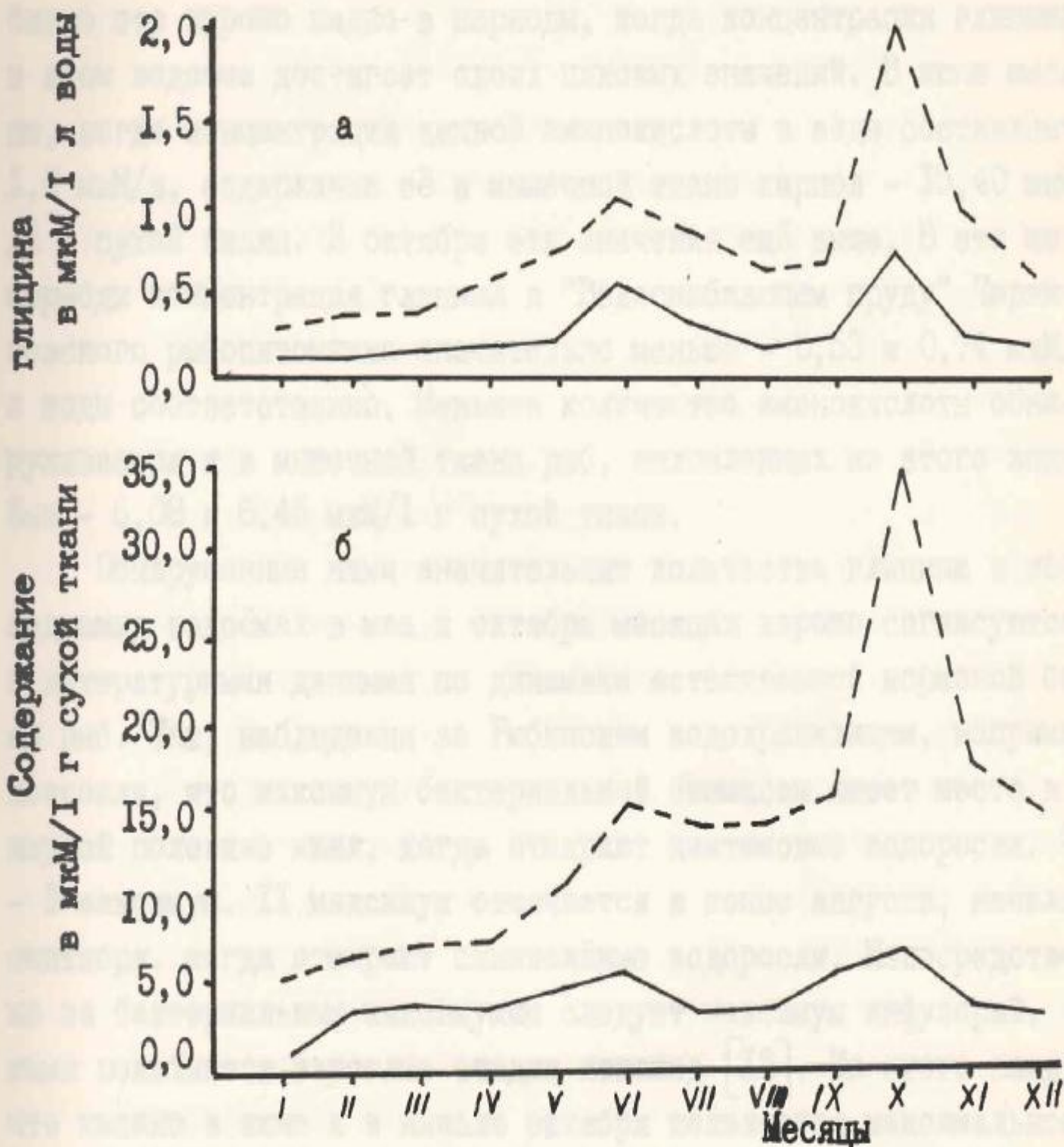
ткани годовиков карпа, обитающих в исследуемых водоёмах. Экстракцию свободных аминокислот и их очистку осуществляли по методу [7]. Разделение аминокислот проводили с помощью бумажной хроматографии. Бумага производства ГДР, ГИ - I. Для полного разделения глицина от серина использовали метод и систему растворителей, предложенных в работе [8]. На хроматограмму наносили объём полученного раствора аминокислот, соответствующий 200 мл исследуемой воды или 100 мг сырой ткани.

Результаты анализа выражали в мкМ глицина на 1 л воды или на 1 г сухой ткани.

Результаты исследований и их обсуждение. Как показали полученные данные содержание глицина в исследуемых водоёмах колеблется в течении года в широких пределах: от 0,3 до 2,06 мкМ/л в водоёме рыбхоза "Борщовка" и 0,1 - 0,74 мкМ/л в "Водоснабжающем пруду" Черниговского рыбопитомника. Характерной особенностью в динамике глицина обоих водоёмов является появление двух пиков - меньшего в июне и большего в октябре. Особенно наглядно это проявилось в водоёме рыбхоза "Борщовка". Наименьшее количество данной аминокислоты в двух исследуемых водоёмах наблюдается в зимние месяцы (январь и февраль), после чего происходит постепенное увеличение её концентрации в течении марта, апреля и мая, достигая своего первого пика в июне. В июле и августе наблюдается небольшое снижение концентрации данной аминокислоты. Затем следует довольно резкое повышение её количества в октябре месяце. По сравнению с июнем в водоёме рыбхоза "Борщовка" в 1,7 раза, а в "Водоснабжающем пруду" Черниговского рыбопитомника в 1,4 раза.

Что касается мышечной ткани карпа, то кривые содержания в ней глицина практически отображают динамику последнего в воде исследуемых водоёмов. Наибольшее количество аминокислоты обнаруживается в июне и октябре, то есть в те периоды, когда концентрация её в воде тоже увеличивается.

Необходимо также отметить, что между концентрацией глицина в воде и содержанием его в мышечной ткани карпа наблюдается прямая зависимость. Как отмечалось выше, в течении года в воде рыбхоза "Борщовка" концентрация глицина выше, чем в "Водоснабжающем пруду" Черниговского рыбопитомника. Соответ-



Динамика глицина в воде (а) и мышечной ткани карпа (б) рыбхоза "Борщовка" (-----) и Черниговского рыбпитомника (—), $n = 5$

ственно и содержание аминокислоты в мышечной ткани карпов, обитающих в пруду рыбхоза "Борщовка" значительно больше. Особенно это хорошо видно в периоды, когда концентрация глицина в этом водоёме достигает своих пиковых значений. В июне месяце, когда концентрация данной аминокислоты в воде составляет 1,2 мкМ/л, содержание её в мышечной ткани карпов - 15,40 мкМ/1 г сухой ткани. В октябре эти значения ещё выше. В эти же периоды концентрация глицина в "Водоснабжающем пруду" Черниговского рыбопитомника значительно меньше - 0,53 и 0,74 мкМ/л воды соответственно. Меньшее количество аминокислоты обнаруживается и в мышечной ткани рыб, выловленных из этого водоёма - 6,08 и 6,45 мкМ/1 г сухой ткани.

Обнаруженные нами значительные количества глицина в исследуемых водоёмах в мае и октябре месяцах хорошо согласуются с литературными данными по динамике естественной кормовой базы рыб. Так, наблюдения за Рыбинским водохранилищем, например, показали, что максимум бактериальной биомассы имеет место в первой половине июня, когда отмирают диатомовые водоросли. Это - I максимум. II максимум отмечается в конце августа, начале сентября, когда отмирают синезелёные водоросли. Непосредственно за бактериальным максимумом следует максимум инфузорий, за ними появляются взрослые стадии копепод [12]. Из этого следует, что именно в июне и в начале октября появляется максимальное количество макрозоопланктона - источника питания для рыб. Не исключено, что в периоды, когда происходит отмирание фитопланктона (первая половина июня - диатомовые водоросли, начало сентября - синезелёные) усиливается протеолитическая активность грунтов и илов. Как следствие этого - появление в воде значительных количеств глицина. Показано, например, что суммарная активность протеаз минимальна весной (60,20 мг аминокислот/10 г грунта) и достигает максимума осенью (87,40 мг). Интенсивность гидролиза белковых соединений в грунтах повышается по мере увеличения трофности и заиленности [1]. Кроме того, источником данной аминокислоты могут быть продукты прижизненных выделений различных видов водорослей, среди которых имеются свободные аминокислоты. Причём, максимальное их количество отмечается летом [3]. Поставщиком глицина может быть и

зоопланктон, в котором среди всех азотсодержащих соединений, выделяемых этими организмами 20% приходится на долю таурина, глицина и аргинина [28]. Возможно также, что появление глицина в воде в значительных количествах связано с деятельностью различных бактерий, как это имеет место в воде пор морских отложений, где концентрация свободных аминокислот достигает 96 мкМ/л. Наличие в исследуемых образцах аланина, глицина, глутаминовой и аспарагиновой кислот авторы связывают с деятельностью аэробных и факультативных анаэробных бактерий [26].

Таким образом, полученные нами данные, а также литературные сообщения, подтверждают выдвинутое ранее предположение о том, что глицин мышечной ткани карповых рыб имеет экзогенное происхождение. Это прежде всего глицин, растворённый в воде.

Пути поступления его в организм карповых рыб могут быть различны. Он может всасываться кишечником, проникать через жабры, а также через кожные покровы. Подтверждением этому служат ряд исследований. Всасывание глицина кишечником показано у *Orfioserphalus punctatus* и *Heteropneustes fossilis*, у которых скорость всасывания увеличивалась пропорционально концентрации его в воде [23], у леща и щуки [10]. Прямая абсорбция аминокислот околожаберной полостью имеет место у фильтрующих организмов бентоса, где концентрация этих соединений увеличивается в несколько сотен раз [22]. В последнее время обнаружено, что глицин в условиях *in vitro* поглощается и чешуёй рыб [24]. Источником глицина может быть и потреблённый рыбами естественный корм — бактериальная масса, инфузории, копеподы, максимальное количество которых в воде хорошо коррелирует с содержанием данной аминокислоты в мышечной ткани карпа.

Однако, не исключено, что некоторая часть глицина в организме карповых рыб имеет и эндогенное происхождение.

1. Бертова О.И., Багнюк В.М. Протеолитическая активность грунтов Киевского водохранилища. - Гидробиол. журн., 1970, т. УІ, №1, с. 23-30.
2. Еловенко В.Н. Почему не мёрзнет ротан? - Химия и жизнь, 1981, №1, с. 30.
3. Бнаки Г.А. О качественном составе органического вещества вод Днепровских водохранилищ. - Гидробиол. журн., 1972, т. УІІІ, №1, с. 26-31.
4. Кузьменко М.И. Роль илов в развитии *Microcystis Aeruginosa*. Гидробиол. журн., 1972, т. УІІІ, №1, с. 38-43.
5. Дясаускене Л.Б. Обмен свободных аминокислот в кишечнике, печени и мышцах 3-леток белого амура и линя при искусственном кормлении. - Lict. TSR Mokslu Acad. darbai, Tr. AN Lit. ССР, 1977, С, №4/80, с. 97-102.
6. Мелькова Л.А. Содержание свободных аминокислот в мышцах основных промысловых рыб Волго-Каспийского бассейна. - В кн.: Обмен веществ и биохимия мышц рыб. М.: Наука, 1967, с. 258-260.
7. Пасхина Т.С. Количественное определение аминокислот при помощи хроматографии на бумаге. - В кн.: Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1964, т. I, с. 168-169.
8. Починюк Х.П. Хроматографирование аминокислот. - В кн.: Методы биохимического анализа растений. К.: Наукова Думка, с. 105-109.
9. Розиноер И.М., Сапрыкина А.П., Поройская С.М., Бакина Л.И. Содержание и динамика органических веществ в воде р. Воронеж. - Гидробиол. журн., 1970, т. УІ, №3, с. 23-29.
10. Смирнова Л.Ф. О некоторых особенностях всасывания аминокислот у костистых рыб. - Ж. эволюц. биохим. и физиол., 1981, т. 17, №1, с. 94-95.
11. Сорвачёв К.Ф. Азотистые экстрактивные вещества мышц рыб. - В кн.: Основы биохимии питания рыб. М.: Лёгкая и пищевая пром-сть, 1982, с. 98-100.
12. Сорокин Ю.И. Роль бактерий в продуктивности пресных водоёмов. В кн.: Роль бактерий в жизни водоёмов. М.: Знание, серия Биология, 1974, №4.
13. Яковенко Б.В., Курант В.З., Явоненко А.Ф. Влияние голода-

- ния на белковый обмен в мышечной ткани карповых рыб.-Гидро-
биол.журн., 1982, т. XVIII, с. 100-105.
14. Al-Habbib Omar A.M., Al-Habbib M.S. Nutritive value of some
Iragi fish. Part I. Free amino acids of the skeletal muscle
of *varicorhinus trutta* (Heckel) and *Chondrostomata regium*
(Heckel).- Zbl. Veterinarmed, 1977, A 24, № 8, p. 625-628.
15. D'Amiello A. Free amino acids in some tissues of marine
crustacea.- Experient, 1980, 36, № 4, p. 392-393.
16. Assen H., Hanke W. The significance of the amino acids du-
ring osmotic adjustment in teleost fish. I. Changes in the
eryhaline *Sarotherodon mossabicus*. 1983, A 74, № 3, p. 531-
536.
17. Bhandari Basant, Vairinhos Franklin, Nicholas D.J.D. Some
properties of glutamine synthetase from *Rhizobium japonicum*
strains CC 705 and CC 723.- Arch. Microbiol., 1983, 136,
№ 2, p. 84-88.
18. Chin Chen-An, Lam Dominic Man-Kit. The uptake and release
of [^3H] glycine in the goldfish retina.- J. Physiol. (Gr.
Brit.), 1980, 308, p. 186-195.
19. Donohue T.J., Bernalohr R.W. Properties of the *Bacillus li-*
chemiformis A 5 Glutamine synthetase purified from cells
grown in the presence of ammonia or nitrate.- J. Bacteriol.,
1981, 147, № 2, p. 589-601.
20. Felbeck Horst. Investigation on the role of the amino
acids in anaerobic metabolism of the lugworm *Arenicola ma-*
rina L.- J. Comp. Physiol., 1980, B 137, № 2, p. 183-192.
21. Ferguson John C. Fluxes of dissolved amino acids between
sea water and *Echinaster*.- Comp. Biochem. and Physiol.,
1980, A 65, № 3, p. 291-295.
22. Fiala-Medioni A., Peynignat E. Direct absorption of amino
acids and glucose by the branchial sac and the digestive
tract of benthic filter-feeders (Ascidians).- J. Zool.,
1980, 192, № 3, p. 403-419.
23. Garg V.K., Agrawal V.P. Species differences in the response
of sugar and amino acids transport.- Acta physiol. Acad.
Sci. nung., 1979, 53, № 3, p. 337-343.
24. Goolish Edward M., Adelman Ira R. Effects of fish growth

- rate, acclimation temperature and incubation temperature on in vitro glycine uptake by fish scalls.- *Comp. Biochem. and Physiol.*, 1983, A 76, №1, p. 127-134.
25. Gupta A.K., Nijogi A., Chetty S.R., Ganr A.S., Agarwal S. M. Free amino acids and protein hydrolysates of *Isoparorchis hypselobargi* (Billet), respectively from swim bladder of *wallagonia attu* and body cavities of *W.attu* and *C. punctatus*.- *Riv. parassitol.*, 1982, 43 №3, p. 353-359.
26. Henriche Susan M., Farrington John W. Amino acids in interstitial waters of marine sediments: a comparison of results from varied sedimentary environments.- *Phys. and Chem. Earth.*, 1979, 12, p. 1135-1143.
27. Nautiyal Chandra Shekhar, Modi Vinod V. Regulation of glutamine synthetase I from *Rhizobium melilot*.- *Curr. Microbiol.*, 1981, 5, №6, p. 329-331.
28. Nival p., Malara G. Le metabolism azote du zooplancton.- *Bull. Union oceanogr. France*, 1974, 6, №4, p. 53.
29. Senatore Felice, Zollo Franco, Gaglione Cira. Aminoacidi liberi nel tessuto muscolare di sci specie di gasteropodi marini.- *Boll. Soc. natur. Napoli*. 1978(1979), 87, p. 23-26.

Черниговский государственный пединститут

им. Т.Г. Шевченко, кафедра химии

г. Чернигов

Дата 1/10

№ 32492

- 11 -

Печатается в соответствии с решением Редколлегии
"Гидробиологического журнала" от 13 июня 1985 г.

№ 07 29.7.85

Цена 1-10

Зак. 32792

Производственно-издательский комбинат ВИНТИ

Льберцы, Октябрьский пр., 403
