

9. Мордухай-Болтовской Ф. Д., Грезе И. И., Василенко С. В. 1969. Отряд амфиподы, или разноногие. «Определитель фауны Черного и Азовского морей», 2, изд-во «Наукова думка», К.

Поступила 21 V 1971 г.

УДК 577.1+59

К ХАРАКТЕРИСТИКЕ ВОЗРАСТНЫХ РАЗЛИЧИЙ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА БЕЛКОВ ГЕМОЛИМФЫ *LYMNAEA STAGNALIS* (L., 1758)

А. П. СТАДНИЧЕНКО

(Астраханский технический институт рыбной промышленности и хозяйства)

Для характеристики белков гемолимфы пресноводных брюхоногих моллюсков важно знать их аминокислотный состав. Однако внимание этому вопросу стали уделять сравнительно недавно [3, 4, 6, 8, 11—17]. Представляет, в частности, интерес выяснение качественного состава и количественного содержания аминокислот белков гемолимфы пресноводных брюхоногих моллюсков в связи с возрастными различиями.

Материал и методика. Рассмотрен широко распространенный в континентальных водоемах СССР голарктический вид прудовика озерного (*Lymnaea stagnalis* L.). С целью получения пригодного для сравнения материала и для того, чтобы на результатах исследования не отразились сезонные и экологические изменения, моллюски были собраны в сжатые сроки (конец мая—начало июня 1968 г.) и в одном биотипе (пруд в окрестностях г. Львова).

Гемолимфу от мелких особей получали по методике Таргетта [16], от крупных — по ранее описанной нами методике [8]. При этом все органы животных обследовали на зараженность партенитами и личиночными формами (метацеркариями) трематод, руководствуясь методическими указаниями В. И. Здуна [2]. В данном сообщении приводятся результаты биохимического исследования гемолимфы, полученной только от незараженных моллюсков.

Белки выделяли общепринятым методом. Гидролиз и очистку гидролизата проводили по методике Пасхиной [7]. Хроматограммы ставили одномерные нисходящие, для них использовали бумагу марки «Ленинградская медленная». Для разделения семи аминокислот — глицина, серина, треонина, метионина, валина, глутаминовой и аспарагиновой — растворителем служила смесь 1-н. раствора бутилового спирта, ледяной уксусной кислоты и воды в отношении 8:3:1. Остальные десять аминокислот разделяли при помощи растворителя, составленного из тех же компонентов, но в соотношении 4:1:5. Для проявления аминокислот хроматограммы обрабатывали 0,5%-ным раствором нингидрина в 95%-ном растворе, содержащем 1% ледяной уксусной кислоты. Содержание аминокислот определяли на СФ-4 при длине волны 510, качественный состав — по калибровочным графикам, составленным для стандартных растворов аминокислот. Каждую аминокислоту выявляли отдельно, за исключением метионина и валина, а также лейцина и изолейцина, определявшихся суммарно. Пролин, содержащийся в белках гемолимфы в ничтожно малых количествах, подлежал только качественному определению. Триптофан не выявляли.

В настоящее время отсутствуют бесспорные критерии, позволяющие с достаточной степенью точности устанавливать возраст большинства брюхоногих моллюсков. О нем чаще всего судят по высоте раковины животного. Мы исследовали моллюсков двух возрастных групп: с высотой раковины $17,69 \pm 0,55$ мм (молодые особи) и $39,23 \pm 0,63$ мм, (старые).

Всего проанализировано 20 биологических проб в трехкратной повторности. Цифровые материалы обрабатывали методами вариационной статистики [1].

В кислотном гидролизате водорастворимых белков гемолимфы прудовика озерного выявлено 17 аминокислот: цистин, лизин, гистидин, аргинин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, серин, глицин, треонин, аланин, тирозин, пролин, метионин, валин, фенилаланин, лейцин и изолейцин. Качественных различий в составе связанных аминокислот

белков, обусловленных возрастом животных, не установлено, однако, количественное содержание отдельных аминокислот было различным. В белках гемолимфы моллюсков первой размерной группы преобладали лейцин и изолейцин, фенилаланин, аспарагиновая кислота и цистин (табл. 1). В среднем в исследованных пробах содержалось лейцина и изолейцина 34,7%, фенилаланина 12,2%, аспарагиновой кислоты 8,2%, цистина 7,7%. Удельный вес 13 остальных аминокислот был относительно невысок (1,6%—7,7%).

Таблица 1

Содержание аминокислот (мг/100 мг белка) в гидролизате белков гемолимфы прудовика озерного различных возрастных групп

| Аминокислоты | I группа | | | | II группа | | | |
|-----------------------|----------|------|-------|-------|-----------|------|------|-------|
| | М | σ | т | С | М | σ | т | С |
| Цистин | 2,42 | 1,18 | 0,59 | 48,76 | 4,25 | 1,83 | 0,57 | 43,08 |
| Лизин | 0,65 | 0,52 | 0,26 | 80,00 | 3,99 | 2,13 | 1,07 | 55,89 |
| Гистидин | 1,08 | 0,20 | 0,10 | 1,85 | 4,50 | 0,76 | 0,24 | 16,89 |
| Аргинин | 0,83 | 0,15 | 0,08 | 18,08 | 1,30 | 0,91 | 0,28 | 70,00 |
| Аспарагиновая кислота | 2,58 | 0,32 | 0,16 | 12,40 | 9,55 | 2,64 | 0,83 | 27,64 |
| Серин | 1,70 | 0,35 | 0,18 | 20,59 | 5,35 | 0,43 | 0,13 | 8,04 |
| Глицин | 1,65 | 0,46 | 0,23 | 27,88 | 5,11 | 1,19 | 0,38 | 23,29 |
| Глутаминовая кислота | 1,00 | 0,23 | 0,12 | 23,00 | 4,60 | 0,42 | 0,13 | 9,13 |
| Треонин | 1,27 | 0,29 | 0,15 | 22,82 | 4,64 | 0,70 | 0,25 | 15,09 |
| Аланин | 1,85 | 0,01 | 0,005 | 0,54 | 2,64 | 0,67 | 0,23 | 8,71 |
| Тирозин | 0,55 | 0,20 | 0,10 | 36,36 | 1,84 | 0,43 | 0,15 | 23,26 |
| Метионин+валин | 1,07 | 0,86 | 0,43 | 80,38 | 3,01 | 0,49 | 0,17 | 16,28 |
| Фенилаланин | 3,83 | 0,56 | 0,28 | 14,62 | 5,63 | 1,63 | 0,54 | 27,17 |
| Лейцин+изолейцин | 10,88 | 0,43 | 0,22 | 22,87 | 10,88 | 1,31 | 0,46 | 12,04 |

В белках моллюсков второй размерной группы отмечены в основном те же аминокислоты. Однако удельный вес некоторых из них был значительно меньше. Так, лейцин и изолейцин составляли 16,2%, фенилаланин — 8,4%, в то же время на долю цистина приходилось 14,2%.

Молодые животные отличались более низким абсолютным содержанием аминокислот по сравнению со старыми. Это согласуется с данными о возрастном содержании общего белка в гемолимфе рассматриваемого вида. При рефрактометрическом определении уровня содержания общего белка у первых он составлял всего лишь $1,25 \pm 0,01\%$, у вторых — $2,47 \pm 0,08\%$ [10].

Таким образом, белки прудовика озерного весьма богаты дикарбоновыми аминокислотами, оксиаминокислотами и изомерами основного ряда моноаминонакокарбоновых аминокислот.

Большое количество щелочных аминокислот выявлено также у некоторых морских двусторчатых моллюсков, в том числе у мидий *Mytilus galloprovincialis* [12]. Этот факт объясняют преобладанием в рационе моллюсков растительной пищи, белки которой, как известно, являются щелочными.

Учитывая, что аргинином особенно богаты растущие ткани, можно было ожидать, что в белках гемолимфы моллюсков первой группы содержание этой аминокислоты будет значительно выше, чем у особей второй группы. Однако исследования показали отсутствие статистически достоверных различий в содержании аргинина у моллюсков обеих групп. Уровень его содержания был весьма невысок как у молодых, интенсивно растущих особей, так и у старых, растущих медленно.

Таблица 2

Результаты биометрического сравнения содержания аминокислот в гидролизате белков гемолимфы у прудовика озераго обоих возрастных групп

| Аминокислоты | Коэффициент Стьюдента | Степень достоверности различий | Аминокислоты | Коэффициент Стьюдента | Степень достоверности различий |
|-----------------------|-----------------------|--------------------------------|----------------------|-----------------------|--------------------------------|
| Цистин | 2,23 | 88,5 | Глютаминовая кислота | 20,0 | 99,9 |
| Лизин | 3,0 | 94,2 | Треонин | 11,6 | 99,9 |
| Гистидин | 13,2 | 99,9 | Аланин | 3,4 | 95,8 |
| Аргинин | 1,6 | 79,2 | Тирозин | 8,6 | 99,9 |
| Аспарагиновая кислота | 8,1 | 99,9 | Метионин+валин | 4,3 | 97,7 |
| Серин | 16,5 | 99,9 | Фенилаланин | 2,9 | 93,7 |
| Глицин | 7,7 | 99,9 | Лейцин+изолейцин | 17,7 | 99,9 |

В то же время при биометрическом сравнении были установлены статистически достоверные различия между молодыми и старыми особями прудовиков озерных в содержании 10 аминокислот: гистидина, аспарагиновой и глютаминовой кислот, серина, треонина, глицина, аланина, тирозина, метионина и валина (табл. 2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Деркач М. П. 1963. Элементы статистичної обробки результатів біологічного експерименту. Вид-во ЛДУ.
2. З дун В. И. 1961. Обследование моллюсков на зараженность личинками трематод. В сб.: «Метод. изуч. паразитол. ситуации и борьба с паразитами с/х животных», изд-во «Урожай», К.
3. Зикеев Б. В. 1949. Об использовании моллюсков. «Природа», 3.
4. Его же. 1950. Переработка водного нерыбного сырья. Пищепромиздат, М.
5. Кизеветтер И. В., Калетина Е. И. 1939. Техно-химическая характеристика нерыбных объектов Приморья. Изв. ТИПРО, 18.
6. Николаева Н. Е. 1965. Аминокислотный состав белков черноморских мидий и устриц. «Изв. высш. уч. завед.», пищев. технол. 2.
7. Пасхина Т. С. 1954. Количественное определение аминокислот на хроматограммах при помощи реакции с нингидрином. «Биохимия», 19, 6.
8. Стадниченко А. П. 1969. Половой диморфизм аминокислотного состава растворимых белков крови озерной живородки. «Тез. научн. докл. конф. по итогам научн. раб. за 1968 г.», 2, секц. биол., Астрахань.
9. Ее же. 1970. Возрастные различия аминокислотного состава растворимых белков крови *Lymnaea stagnalis* L. В сб.: «Биол. проц. в морских и контин. водоемах», Кишинев.
10. Ее же. 1970. О возрастной изменчивости белкового состава крови *Lymnaea stagnalis* L. «Гидробиол. ж.», 6, 2.
11. Ее же. 1971. Содержание аминокислот белков крови прудовика озерного — *Lymnaea stagnalis* (L., 1758) (Gastropoda, Pulmonata) — в норме и при инвазии личиночными формами трематод. «Вестн. зоол.», 2.
12. Степанюк И. А. 1967. Биохимический состав донных беспозвоночных северо-западной части Черного моря. В сб.: «Биохим. морск. орган.», К.
13. Bierbaum V. M. 1964. Oyster chromatogram. «Nautilus», 78, 2.
14. Kiecol T., Michejda I. 1960. Biochemical bases for the taxonomy of snails. Qualitative analysis of NH-positive substances in the foot muscle of *Viviparus fasciatus*. «Bull. Soc. Amis et Lettres», Poznań, 1.
15. Lins M., Borges S., Ghermann L. 1955. Composição em aminoácidos da ostra e do aráu. «An. Fac. med. Univ. Recife», 79, 2.
16. Targett G. A. T. 1962. A study of amino-acids present in *Lymnaea stagnalis*, *Planorbis corneus* and *Australorbis glabratus* before and after infection with *Schistosoma mansoni*. «Ann. Trop. Med. and Parasitol.», 56, 2.
17. Targett G. A. T. 1962. The amino-acid composition of blood from snail hosts of schistosomiasis, «Ann. Trop. Med. and Parasitol.», 56, 1.

Поступила 14. IX 1971 г.