

УДК 597-1.05 : [597.562 + 597.587.9]

Исследование сезонных, половых и видовых особенностей биоэнергетического состояния белых мышц трески и морской камбалы

С.И. Овчинникова, Л.И. Тимакова

Биологический факультет МГТУ, кафедра биохимии

Аннотация. В статье приведен анализ сезонной динамики адениловых нуклеотидов в белых мышцах северных рыб. Сравнивался энергетический обмен трески и морской камбалы одного возраста. Результаты показывают, что количество макроэргических соединений зависит от жизненного периода, пола и различных факторов окружающей среды. Установлено, что в мышечной ткани более активной трески содержится больше АТФ.

Abstract. In the paper the analysis of seasonal dynamics of adenine nucleotides in north fish white muscle has been given. The authors have compared energy metabolism of *Gadus morhua morhua L.* and *Pleuronectes platessa (L.)* of the same age. The results have shown that the quantity of macroergic compounds depends on life's stage, the sex (male or female), and different environmental factors. It has been established that there is more ATP in the muscle tissues of more active cod.

1. Введение

Рыбы, как представители низших позвоночных, отличаются очень высокой пластичностью обмена веществ. Необходимость оценки состояния популяций в естественных условиях и прогнозирования его изменений обуславливают поиск физиолого-биохимических показателей, определяющих жизнедеятельность водных организмов в различные периоды годового цикла и при многообразных условиях обитания (Шатуновский, 1980; Шульман, 1972). Изучение особенностей энергетического обмена у рыб на уровне макроэргических соединений представляет в этом отношении значительный интерес.

Известно, что макроэргические соединения являются источником энергии для осуществления всех физиологических функций организма. Уникальная энергетика метаболизма у всех видов живого реализуется на основе предварительно запасенной электрической энергии при участии аденозинтрифосфата (АТФ), который занимает центральное место среди макроэргов. Кроме того, адениловые нуклеотиды (АТФ, АДФ, АМФ) играют особую роль в регуляции обмена веществ, являясь важнейшими факторами, обеспечивающими сопряжение между процессами, генерирующими энергию и использующими ее, и тем самым связывающими различные пути обмена (Хочачка, Сомеро, 1977). Уровень содержания АТФ, а также соотношение компонентов фракции адениловых нуклеотидов оказывает определяющее влияние на характер, интенсивность и пути ресинтеза АТФ и метаболизма в целом, поэтому анализ динамики содержания макроэргических соединений в тканях является одной из важных задач при изучении энергетических процессов в организме (Трусевич, 1978).

Исследования кислоторастворимых фосфатов мышечных тканей рыб при их хранении после гибели начаты в 50-е годы (Saito, 1959; Tarr, 1958). В дальнейшем определялась динамика этих показателей при мышечной нагрузке в различных экспериментальных условиях (Трусевич, 1978; Романенко, 1982). Объектами исследований обычно служили удобные для содержания аквариумные виды. Экологический аспект проблемы – динамика содержания макроэргических соединений тканей рыб в естественных условиях обитания – очень мало освещен в литературе (Маляревская и др., 1984; Трусевич, 1978). Не представлены в доступных источниках систематизированные данные по изменению содержания адениловых нуклеотидов в тканях рыб Кольского Севера в отдельные периоды годового биологического цикла с учетом образа жизни и половой принадлежности объектов.

Таким образом, актуальность работ в области биоэнергетики рыб определяется, прежде всего, необходимостью создания комплексной системы показателей для изучения особенностей энергетического обмена гидробионтов Северного бассейна, учитывающей многочисленные факторы различной природы.

В качестве объектов исследования были выбраны важнейшие представители семейства Тресковые и семейства Камбаловые: арктическая треска *Gadus morhua morhua L.* и морская камбала *Pleuronectes platessa (L.)*. Выбор данных рыб во многом обусловлен их ключевой ролью в экосистеме Баренцева моря и сопредельных вод: популяции трески и морской камбалы характеризуются высокой численностью и имеют большое промысловое значение. Для нашего исследования существенны и экологические особенности этих видов рыб, различия в образе жизни и уровне естественной активности.

Целью работы является исследование сезонных изменений биоэнергетического состояния белых мышц морской камбалы и трески, а также оценка половых и межвидовых различий обмена адениловых нуклеотидов у данных рыб.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1) Определить содержание АТФ, АДФ, АМФ, величину аденилатного энергетического заряда АЭЗ и процентное соотношение компонентов фракции адениловых нуклеотидов в белых мышцах самцов и самок морской камбалы и трески в различные периоды годового цикла.

2) Охарактеризовать особенности сезонной динамики содержания адениловых нуклеотидов, величины АЭЗ и процентного соотношения АТФ:АДФ:АМФ в белых мышцах исследуемых объектов.

3) Выявить половую специфику и возможные причины различий в обмене адениловых нуклеотидов у самцов и самок морской камбалы и трески.

4) Провести сравнительный анализ энергетического состояния тканей рыб в зависимости от видовой принадлежности.

Научная новизна работы заключается в том, что впервые проведен сравнительный анализ годовой динамики содержания и соотношения основных компонентов фракции адениловых нуклеотидов в белых мышцах самцов и самок изученных видов рыб.

2. Материалы и методы исследования

Эксперимент по определению содержания макроэргических соединений проводился в лабораториях кафедры биохимии МГТУ. Для исследования брали самцов и самок двух видов половозрелых рыб 7-9-летнего возраста: трески и морской камбалы, отловленных судами рыбных флотов в период с ноября 2005 по ноябрь 2006 г. Возраст рыб определялся по отолитам. Объекты с момента вылова до анализа хранили в морозильной камере при температуре -20°C . Белые мышцы отбирали всегда в определенном месте (выше боковой линии возле головы).

Всего было исследовано 50 экземпляров морской камбалы и 50 экземпляров трески.

В работе использовались методы тонкослойной хроматографии на пластинках и спектрофотометрический метод (Калинин, 1971; Практикум по биохимии, 1989; Маляревская и др., 1984).

3. Результаты и обсуждение

Было проведено исследование изменения содержания адениловых нуклеотидов в белых мышцах трески и морской камбалы в течение годового жизненного цикла рыб.

Определение содержания АТФ, АДФ, АМФ, общее содержание адениловых нуклеотидов (АД), расчет АЭЗ и процентного содержания АТФ:АДФ:АМФ осуществлялись последовательно в различные периоды годового жизненного цикла, соответствующие разным физиологическим состояниям рыб.

Сравнительный анализ полученных результатов показал, что сезонная динамика содержания адениловых нуклеотидов в белых мышцах обоих видов рыб имела общий характер.

Наименьшее содержание АТФ и суммарное содержание адениловых нуклеотидов наблюдалось в преднерестовый период, что, видимо, объясняется истощением рыб после зимовки, невысокой температурой воды, оказывающей значительное влияние на интенсивность потребления пищи и уровень обменных процессов у пойкилотермных животных, а также на развитие кормовой базы. В этот же период установлены очень низкие значения аденилатного энергетического заряда. Преднерестовый период также характеризуется наибольшим содержанием АМФ в белых мышцах рыб.

Ближе к нересту отмечено значительное повышение уровня АТФ в мышцах самцов морской камбалы – в 3,2 раза, самок – в 2,5 раза по сравнению с преднерестовым периодом. Для трески в период нереста характерно увеличение содержания АТФ в 2,4 раза у самцов и в 1,6 раза у самок по сравнению с преднерестовым периодом.

Содержание АДФ и АМФ – продуктов разложения АТФ в ферментативных реакциях использования энергии макроэргических фосфатных связей для биосинтетических и других физиологических процессов, связанных с использованием энергии, следовательно, было снижено. У самцов морской камбалы в период нереста уровень АДФ и АМФ понизился в 1,5 раза и в 10 раз, у самок – в 1,4 раза и 3,4 раза соответственно. Для трески уменьшение содержания АДФ и АМФ во время нереста составило соответственно 1,7 раза и 13 раз у самцов, 1,4 раза и 2,9 раза у самок. Это может свидетельствовать об усилении по сравнению с преднерестовым периодом фосфорилирования как окислительного, так и гликолитического, играющего значительную роль в энергетическом обеспечении мышечной ткани.

После нереста, который, как известно, связан со значительными затратами энергии, следует восстановительный период. Начало его характеризуется пониженным содержанием АТФ по сравнению с предыдущими значениями: в 2,4 раза у самцов и в 2,1 раза у самок морской камбалы, в 2 раза у самцов и

1,3 раза у самок трески. Большую амплитуду колебаний уровня АТФ у самцов можно объяснить большими энергетическими тратами последних в период размножения.

Содержание АДФ в посленерестовый период возрастает: в 1,7 раза и 2 раза у самцов и самок морской камбалы, в 2 раза у самцов трески и 2,2 раза у самок этого вида. В посленерестовом периоде зафиксированы максимумы содержания АДФ у морской камбалы и трески обоих полов. АМФ в белых мышцах самцов и самок морской камбалы и трески также больше, чем в период нереста: у самцов соответственно в 9,8 раза и 13,5 раза, у самок в – 3 и 2,8 раза.

Наблюдаемые закономерности проиллюстрированы на примере морской камбалы (рис. 1).

Именно в преднерестовый, нерестовый и посленерестовый периоды выявлены различия в энергетическом обеспечении мышечной ткани самцов и самок, связанные, вероятно, с их разной ролью в репродуктивном процессе и особенно выраженные в период нереста. Так, содержание АТФ у самок в эти периоды было ниже, чем у самцов: для морской камбалы в преднерестовый период разница составила 21,6 %, в период нереста – 37,5 %, в посленерестовый период – 30,2 %. В аналогичные периоды для трески показатели содержания АТФ у самок были ниже, чем у самцов соответственно на 19,8 %, 45,4 % и 18 %.

В преднерестовый период для самцов характерно также содержание АДФ в белых мышцах: значения этого показателя у них превосходили таковые для самок морской камбалы на 11,6 %, для самок трески – на 18,5 %. Однако после нереста содержание АДФ было достоверно выше у самок – на 14,4 % у экземпляров морской камбалы и на 12,3 % у образцов трески.

Наиболее значительная разница в содержании АМФ зафиксирована лишь в нерестовый период и характеризуется повышенными величинами у самок: по сравнению с самцами своего вида в белых мышцах самок морской камбалы адениловой кислоты больше на 66 %, в образцах ткани самок трески – на 80 %.

Суммарное содержание адениловых нуклеотидов достоверно отличалось у особей разного пола перед нерестом и в большей степени во время нереста – у самцов морской камбалы в эти периоды показатели АД выше таковых для самок на 13,1 % и 23,1 %, у самцов трески – соответственно на 25,8 % и 32,4 %. Как видно из представленных данных, у самцов обоих видов в нерестовый период отмечено существенное повышение значений АД. В дальнейшем суммарное содержание адениловых нуклеотидов изменялось синхронно и характеризовалось повышением (рис. 2).

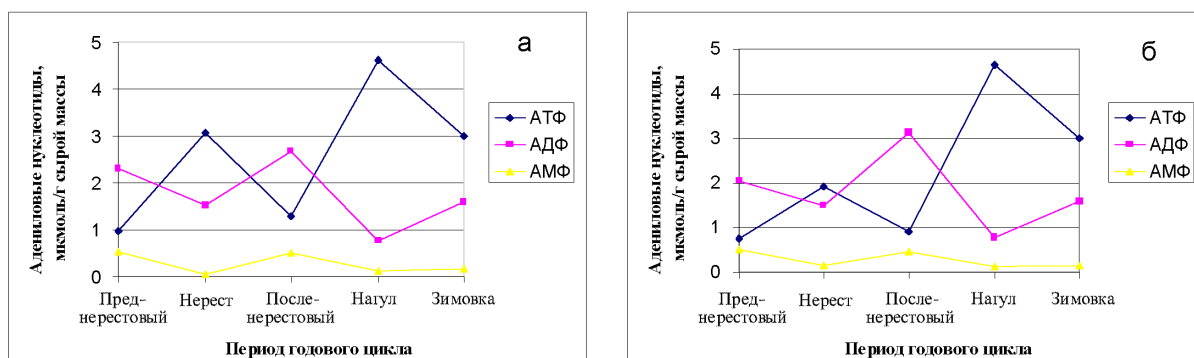


Рис. 1. Содержание адениловых нуклеотидов в белых мышцах морской камбалы (а – самцы, б – самки) в различные периоды годового цикла

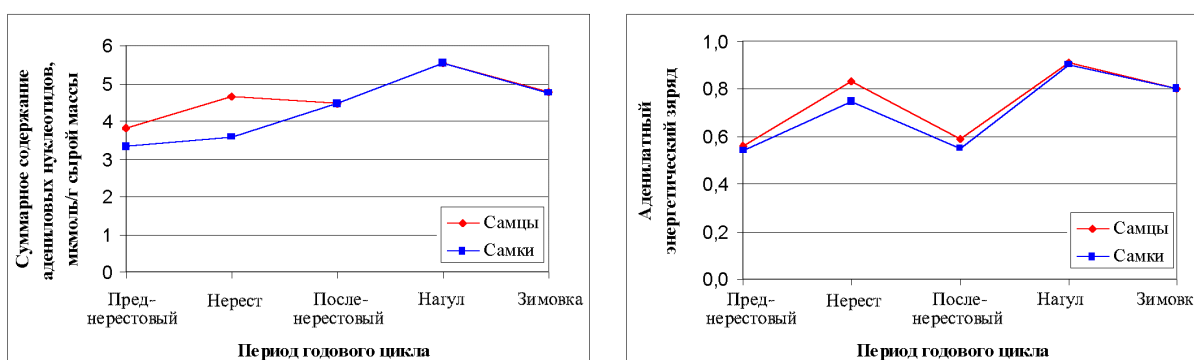


Рис. 2. Суммарное содержание адениловых нуклеотидов АТФ+АДФ+АМФ в белых мышцах морской камбалы в различные периоды годового цикла

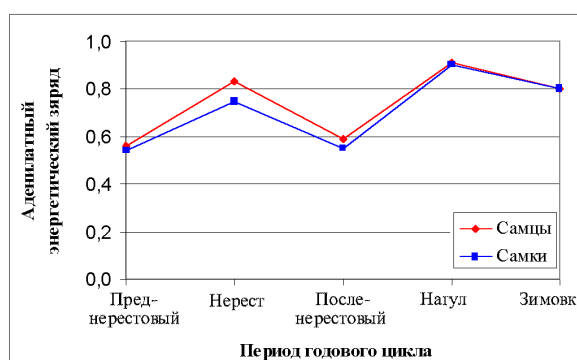


Рис. 3. Аденилатный энергетический заряд в белых мышцах морской камбалы в различные периоды годового цикла

Зависимость аденилатного энергетического заряда от пола и сезона года представлена на рис. 3. Достоверные отличия установлены в преднерестовый период, во время нереста и в восстановительный период и характеризуются пониженными величинами у самок – АЭЗ у них меньше, чем у самцов в среднем на 3,6 %, 9,6 %, 6,8 % для морской камбалы и на 3,0 %, 10,2 %, 6,1 % для трески. В дальнейшем статистически достоверных отличий между особями разного пола в энергетическом обмене белых мышц не наблюдалось.

Наблюдаемые половые различия обмена адениловых нуклеотидов, вероятно, во многом обусловлены поведением рыб в период размножения, во время которого самцы чрезвычайно агрессивны, подвижны и раздражительны, а самки флегматичны и спокойны.

Максимальные содержания АТФ, АД и значения аденилатного энергетического заряда обнаружены летом в период нагула, когда хорошая обеспеченность пищей и высокая температура обусловили большую интенсивность обменных процессов. Уровень АТФ по сравнению с посленерестовым периодом возрос в среднем в 3,6 раза у самцов и в 5,2 раза у самок морской камбалы, в 3,4 раза у самцов и в 4,1 раза у самок трески. Это самое значительное увеличение содержания АТФ во всем годовом цикле.

В период нагула отмечено и наиболее существенное колебание уровня АДФ: по сравнению с периодом после нереста содержание АДФ упало в 3,5 раза и 4 раза у самцов морской камбалы и трески, в 3,8 раза и 4 раза у самок изученных рыб.

Осенью содержания АТФ, АД и АЭЗ снизились, но уровень АТФ оставался достаточной высоким. Этот факт свидетельствует о том, что физиологические ритмы размножения вызывают гораздо большие сдвиги в энергетическом метаболизме мышечной ткани, чем колебания температуры воды в зависимости от времени года.

Все выявленные в ходе экспериментов сезонные закономерности энергетического обмена белых мышц изученных рыб можно наглядно отобразить, рассчитав процентное соотношение компонентов фракции адениловых нуклеотидов (см. таблицу).

Таблица. Соотношение компонентов фракции адениловых нуклеотидов в белых мышцах самцов и самок морской камбалы и трески, АТФ : АДФ : АМФ, %

Период	Морская камбала		Треска	
	самцы	самки	самцы	самки
Преднерестовый	25,4 : 60,7 : 13,9	22,9 : 61,7 : 15,4	40,4 : 53,3 : 6,3	39,2 : 52,6 : 8,2
Нерест	66,2 : 32,7 : 1,1	53,8 : 42,0 : 4,2	75,5 : 24,1 : 0,4	60,2 : 35,8 : 4,0
Посленерестовый	29,0 : 60,0 : 11,0	20,1 : 69,8 : 10,1	43,2 : 51,5 : 5,3	34,5 : 59,9 : 5,6
Нагул	83,7 : 13,9 : 2,4	83,0 : 14,1 : 2,9	90,5 : 8,9 : 0,6	90,4 : 8,8 : 0,8
Зимовка	63,2 : 33,4 : 3,4	63,4 : 33,3 : 3,4	75,8 : 23,0 : 1,2	75,4 : 23,2 : 1,4

Применение такого параметра наряду с АЭЗ также позволяет сделать обоснованный вывод об интенсивности обмена у рыб в тот или иной период годового цикла. Хорошо прослеживается, как, например, возрастает процентное содержание АТФ в периоды нереста и нагула и уменьшается количество АДФ и АМФ на этих стадиях годового цикла. Видно также, что помимо меньших абсолютных величин содержания АТФ в преднерестовый, нерестовый и посленерестовый периоды для самок морской камбалы и трески характерно в основном и меньшее процентное содержание этого макроэрга по сравнению с самцами своего вида. Относительное же содержание АДФ и АМФ в указанные периоды больше у самок.

Кроме половых различий в содержании адениловых нуклеотидов, величинах АЭЗ и процентном соотношении АТФ : АДФ : АМФ, были установлены и значительные видовые различия в уровне макроэргических фосфатов и адениловой кислоты для морской камбалы и трески.

Выявленные в результате проведенного сравнения закономерности отражены графически на примере самцов исследованных видов.

Анализ результатов экспериментов показал, что содержание АТФ для всех периодов годового цикла достоверно выше у самцов и самок трески – в среднем соответственно на 35,18 % и 35,1 % (рис. 4А). Относительно содержания АДФ и АМФ наблюдалось обратное соотношение (рис. 4Б, 4В). Содержание этих адениловых нуклеотидов на протяжении годового жизненного цикла у трески было ниже, чем у морской камбалы. Разница в содержании АДФ равна в среднем 8,4 % у самцов и 9,5 % у самок. Содержание АМФ в белых мышцах самцов морской камбалы больше на 54,3 %, в тканях самок – на 43,5 %.

Для трески характерно более высокое суммарное содержание адениловых нуклеотидов АД и значения аденилатного энергетического заряда АЭЗ (рис. 4Г, 5). Значения АД для самцов трески превышают таковые у самцов морской камбалы в среднем на 19,4 %, для самок трески АД в среднем больше, чем у самок морской камбалы на 13,9 %. Величина АЭЗ для всех изученных периодов определенно больше у трески – на 10 % у самцов и на 10,4 % у самок.

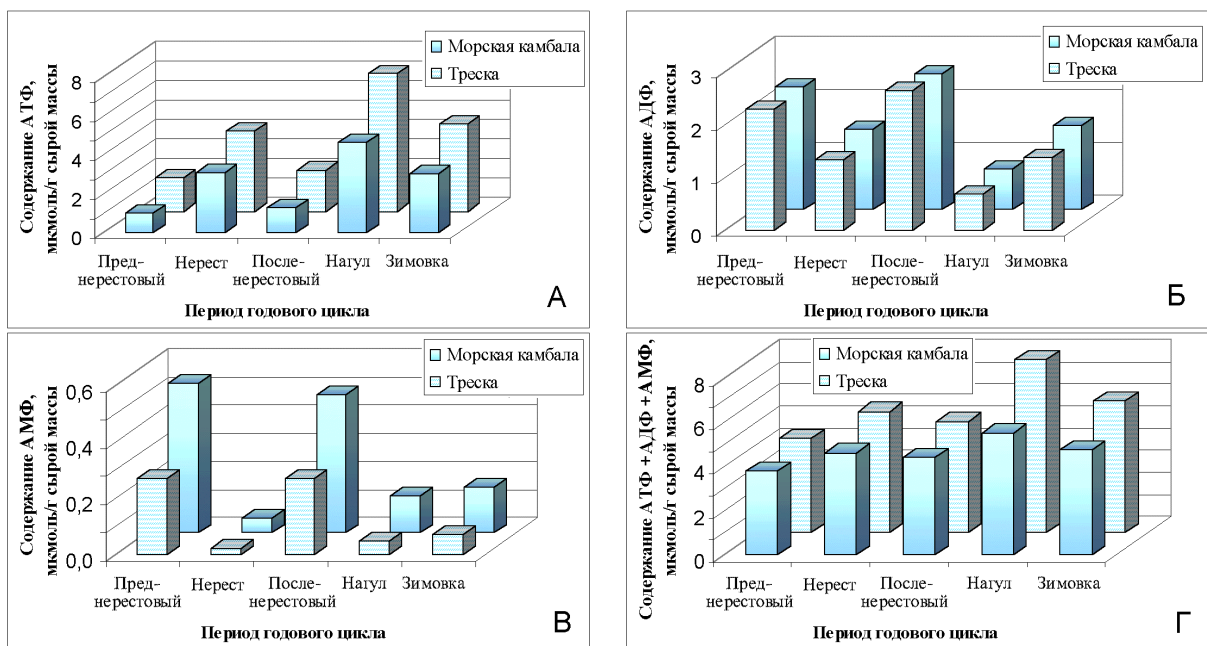


Рис. 4. Сравнение содержания адениловых нуклеотидов в белых мышцах самцов трески и морской камбалы в различные периоды годового цикла: А – АТФ, Б – АДФ, В – АМФ, Г – суммарное содержание адениловых нуклеотидов АТФ+АДФ+АМФ

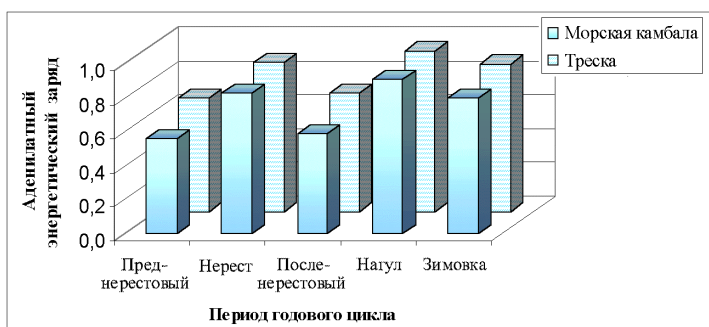


Рис. 5. Сравнение аденилатного энергетического заряда в белых мышцах самцов трески и морской камбалы в различные периоды годового цикла

Кроме того, для самцов и самок трески свойственно более высокое процентное содержание АТФ и пониженное по сравнению с морской камбалой относительное содержание фракций АДФ и АМФ.

Таким образом, обработка результатов анализа позволяет выявить заметное преимущество образцов мышечной ткани трески по таким показателям, как абсолютное и относительное содержание АТФ, суммарное содержание адениловых нуклеотидов и величина аденилатного энергетического заряда АЭЗ. Явное отклонение указанных параметров в сторону больших значений свидетельствует о более высоком уровне энергетического обмена у самцов и самок трески по сравнению с экземплярами морской камбалы.

4. Выводы

Сезонные изменения физиологического состояния у половозрелых рыб заключаются в глубоких сдвигах в обмене веществ и поведении под сложным интегративным влиянием изменений в характере созревания гонад, в питании, температуре, освещенности. Зависимость химического состава тканей и общего уровня обмена веществ от периода годового жизненного цикла в разное время были рассмотрены многими авторами на примере белкового, углеводного, жирового обмена. Обмен адениловых нуклеотидов, как связующее звено метаболических процессов энергетического обмена, в такой же степени подтверждает эту зависимость.

Анализ полученных данных позволил сделать следующие выводы:

1) Содержание АТФ, АДФ, АМФ, суммы адениловых нуклеотидов (АТФ+АДФ+АМФ), АЭЗ и процентное соотношение изученных компонентов фракции адениловых нуклеотидов в белых мышцах морской камбалы и трески варьируют в течение годового цикла и неразрывно связаны с физиологическими ритмами размножения и с сезонными биохимическими изменениями.

2) У обоих видов рыб обнаружены наименьшие содержания макроэргических соединений в преднерестовый период, повышение интенсивности энергетического обмена ближе к нересту и последующий его спад в восстановительный период. Максимальная заряженность энергетической системы высокоэнергетическими фосфатными связями наблюдается в период нагула.

3) Отличия энергетического обмена у самцов и самок установлены в преднерестовый, нерестовый и посленерестовый периоды и связаны с их разной ролью в осуществлении репродуктивной функции. Для белых мышц самцов морской камбалы и трески в эти периоды характерно более высокое абсолютное и относительное содержание АТФ, количество АД и величины АЭЗ, что свидетельствует о повышенном уровне энергетического обмена у самцов по сравнению с самками своего вида.

4) Для самцов и самок трески установлены повышенные по сравнению с экземплярами морской камбалы показатели абсолютного и относительного содержания АТФ, количества АД и значения АЭЗ в течение всего года, что можно объяснить более активным образом жизни трески. Следовательно, межвидовые различия в содержании адениловых нуклеотидов обусловлены разным уровнем естественной двигательной активности исследованных рыб.

Для итогов исследования намечена область практического приложения. Выявленные в процессе работы закономерности обмена адениловых нуклеотидов наряду с уже известными особенностями динамики основных энергетических веществ (белков, жиров, углеводов) могут использоваться как биохимические индикаторы состояния популяций на разных стадиях годового жизненного цикла при разработке проблемы оптимизации использования естественных популяций. Полученные результаты могут быть внедрены в учебный процесс, поскольку будут способствовать углублению представлений о метаболических процессах в организме рыб, позволят выявить обменные основы сезонных изменений их жизнедеятельности.

Литература

- Saito T.** Studies on the organic phosphates in muscle of aquatic animals – VII. Changes in purine nucleotides of red lateral muscle of fish. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, p.573-575, 1959.
- Tarr L.A.** Biochemistry of fishes. *Annu. Rev. Biochem.*, p.223-228, 1958.
- Калинин Ф.Л.** Справочник по биохимии. Киев, Наук. думка, с.156-160, 1971.
- Маляревская А.Я., Билык Т.И., Шерстюк В.В.** Сезонная динамика макроэргических соединений в мышцах рыб. *Гидробиологический журнал*, т.21, № 4, с.55-62, 1984.
- Практикум по биохимии. Учеб. пособие. Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. М., Изд-во МГУ, 509 с., 1989.
- Романенко В.Д.** Кальций и фосфор в жизнедеятельности гидробионтов. Киев, Наук. думка, 152 с., 1982.
- Трусевич В.В.** Фосфорный обмен при плавании рыб. Элементы физиологии и биохимии общего и активного обмена у рыб. Киев, Наук. думка, с.145-167, 1978.
- Хочачка П., Сомеро Д.** Стратегия биохимической адаптации. М., Мир, 398 с., 1977.
- Шатуновский М.И.** Экологические закономерности обмена веществ морских рыб. М., Наука, 288 с., 1980.
- Шульман Г.Е.** Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб. М., Пищ. пром-сть, 368 с., 1972.