

ОБЩАЯ
БИОЛОГИЯ

УДК 591.1-94:574.24:577.112.3

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АМИНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА ПЛАЗМЫ
КРОВИ У ПЕРЕЛЁТНОГО (*Vespertilio murinus* L., 1758) И ОСЕДЛОГО
(*Myotis dasycneme* B., 1825) ВИДОВ РУКОКРЫЛЫХ ФАУНЫ УРАЛА**

© 2018 г. В. А. Мищенко, Л. А. Ковальчук*, академик РАН В. Н. Большаков,
Л. В. Черная

Поступило 29.01.2018 г.

Представлены результаты впервые проведенного сравнительного анализа содержания свободных аминокислот в плазме крови у представителей насекомоядных рукокрылых (Mammalia: Chiroptera, Vespertilionidae) фауны Урала: прудовой ночницы (*Myotis dasycneme* Boie, 1825) и двухцветного кожана (*Vespertilio murinus* Linnaeus, 1758). Обнаружена видовая изменчивость исследуемых показателей у оседлых и мигрирующих видов летучих мышей, обитающих в разных экосистемах Уральского региона.

DOI: 10.31857/S086956520002112-6

Рукокрылые, или летучие мыши (Chiroptera, Vespertilionidae), — единственная группа млекопитающих, приспособившаяся к активному полёту и обладающая способностью адаптироваться в северных широтах к холодному времени года двумя разными способами — длительной зимней спячкой или миграцией в южные регионы. На Урале среди 13 обитающих видов рукокрылых встречаются 7 зимующих и 6 перелётных [1].

Несмотря на имеющиеся работы по биологии и экологии, летучие мыши в плане стратегии механизмов адаптации к устойчивому поддержанию гомеостаза в экстремальных условиях обитания остаются наименее изученной группой позвоночных [2, 3].

Поскольку известно, что в формировании адаптивных изменений в метаболических и молекулярных механизмах поддержания гомеостаза в организме значимая роль принадлежит полифункциональным свободным аминокислотам [4, 5], целью нашей работы было изучение аминокислотного спектра плазмы крови у экологически различных видов рукокрылых фауны Урала: двухцветного кожана (*Vespertilio murinus* L., 1758) и прудовой ночницы (*Myotis dasycneme* B., 1825).

Институт экологии растений и животных
Уральского отделения Российской Академии наук,
Екатеринбург

*E-mail: kovalchuk@ipae.uran.ru; KLA@isnet.ru

Оба вида достаточно обычны на территории Южного и Среднего Урала. Прудовая ночница наиболее многочисленна в лесной и лесостепной зоне, это типичный зимующий вид в пещерах, трещинах скал и других подземных убежищах. В спячку этот вид впадает в последней декаде сентября — начале октября, а пробуждается, как правило, в конце апреля. Двухцветный кожан — перелётный вид, появляющийся в местах выведения потомства во второй половине мая. Миграции к местам зимовок начинаются у этого вида со второй половины августа [1]. Исследования свободных аминокислот в плазме крови летучих мышей, обитающих на Урале, проводятся впервые.

Животные отловлены во второй декаде июля (период воспроизводства популяций) 2013–2015 гг. на территории Челябинской области. Ночница прудовая отловлена в окрестностях оз. Малое Миассово, двухцветный кожан — на побережье оз. Большой Кисегач. Содержание свободных аминокислот (АК) в плазме крови самок определяли методом ионообменной хроматографии на анализаторе ААА-339М (“Microtechna”, Чехия). Концентрацию свободных АК выражали в мкмоль/л и в процентах от суммарного содержания. Результаты обрабатывали с помощью пакета лицензионных прикладных программ STATISTICA 6.0. Также использовали многомерный непараметрический дисперсионный анализ и метод главных компонент (PCA) в среде R (R 3.1.2, пакеты Vegan и Ade4) [6].

Аминокислотный спектр плазмы крови изученных видов летучих мышей представлен 23 АК (табл. 1). Значимых межвидовых различий по показателю суммарная концентрация свободных аминокислот у прудовой ночницы и у двухцветного кожана мы не зарегистрировали. У обоих видов выявили отсутствие пролина. У двухцветного кожана определили следовые количества цитруллина. В процентном отношении по содержанию метаболитических групп в общих пулах преобладали гликогенные АК: у двухцветного кожана – 70% (1144,2 мкмоль/л) и у прудовой ночницы – 69% (894,0 мкмоль/л). В летний достаточно короткий на Урале период активного роста и развития рукокрылых повышенное накопление этих АК является предиктором активации и процессов синтеза коллагена и эластина, составляющих на 25–35% основу соединительной ткани организма. Так, глицин составляет треть всех аминокислотных остатков коллагена [4]. По нашим данным именно поэтому мы наблюдали наибольший вклад глицина в общий пул свободных АК в плазме крови у двухцветного кожана – 14% и у прудовой ночницы – 17%. Также для этого периода у двухцветного кожана мы зафиксировали очень высокое содержание незаменимых АК (40%, табл. 1). Кратность превышения суммарного содержания незаменимых АК (НА) в плазме крови двухцветного кожана в сравнении с таковым прудовой ночницы составила для треонина – 1,7; метионина – 2,0; изолейцина – 2,3; лейцина – 3,8; гистидина – 2,4; фенилаланина – 2,5; валина – 1,8 раза (табл. 1). По-видимому, повышенная аккумуляция этих аминокислот

служит отражением метаболической стратегии подготовки животных к длительным перелётам к местам зимовки и может быть свойственна всем перелётным видам. Использование многомерного анализа (РСА) для идентификации различий в аминокислотном спектре плазмы крови изученных видов рукокрылых при 95%-м доверительном интервале показало, что 44,57% общей дисперсии аминокислотного фонда плазмы крови рукокрылых пришлось на первую главную компоненту (PC1), а 20,21% – на вторую главную компоненту (PC2, рис. 1). Величины первой и второй главных компонент показали значимые межвидовые различия у летучих мышей в содержании свободных аминокислот крови (рис. 1). Наибольший вклад в межвидовую изменчивость АК по PC1 внесли треонин, тирозин, глутамин и аланин: коэффициент корреляции с PC1 показателей содержания этих АК был равен 0,97; 0,8; 0,79; 0,8 соответственно (рис. 1). Следует отметить высокий вклад (21,21; 12,94; 23,78; 11,49%) и значимый коэффициент корреляции содержания таурина, глицина, цитруллина, аспартата со второй главной компонентой PC2. Мы зарегистрировали высокий вклад гликогенного глицина (22,76%) с наиболее высоким коэффициентом обратной корреляции (–0,53) с третьей главной компонентой PC3. Метод главных компонент позволил визуализировать видовую специфику аминокислотного спектра плазмы крови рукокрылых двух изученных видов уральской фауны, подтвердив результаты статистического анализа содержания АК в плазме крови.

Таблица 1. Содержание свободных аминокислот (мкмоль/л) в плазме крови двух видов летучих мышей

АК	$\bar{X}_{boot} [95\%CI_{boot}]$		Перестановочный тест ANOVA ($p = \Pr(F_{ran} \geq F_{obs})$)
	I. Прудовая ночница ($n = 10$)	II. Двухцветный кожан ($n = 8$)	
Треонин	61,5 [49,7–74,2]	101,3 [80,3–121,8]*	$\Pr(F_{ran} \geq 8,96) = 0,01$
Метионин	5,8 [3,6–8,6]	11,9 [7,7–15,8]*	$\Pr(F_{ran} \geq 5,23) = 0,04$
Изолейцин	20,3 [13–27,6]	45,9 [27,8–63,6]*	$\Pr(F_{ran} \geq 5,62) = 0,03$
Лейцин	29,6 [15,3–44,8]	111,7 [56,5–154,8]*	$\Pr(F_{ran} \geq 9,07) = 0,004$
Гистидин	11,4 [7,7–15,4]	26,9 [20,8–33,6]*	$\Pr(F_{ran} \geq 16,07) = 0,001$
Фенилаланин	36,2 [28,1–43,4]	91,7 [80,5–109,9]*	$\Pr(F_{ran} \geq 34,39) = 0,0001$
Триптофан	42,6 [32,5–51,6]	14,2 [9,5–28,8]*	$\Pr(F_{ran} \geq 18,54) = 0,001$
Аргинин	37,4 [25,9–48,1]	50,9 [34,1–82,7]*	$\Pr(F_{ran} \geq 11,7) = 0,06$
Валин	59,7 [39,1–80,3]	108,8 [67,7–153,6]*	$\Pr(F_{ran} \geq 3,6) = 0,05$
Лизин	69,3 [53,3–88,6]	81,7 [63,3–100,6]	$\Pr(F_{ran} \geq 0,3) = 0,43$
Сумма НА	373,8 [265–477]	645,0 [492,5–855,2]	
Фонд свободных АК	1295,7 [976,5–1640,0]	1634,7 [1240,0–2123,0]	$\Pr(F_{ran} \geq 0,73) = 0,17$

Примечание. НА – незаменимые аминокислоты; * $p < 0,05$ при сравнении I и II; \bar{X}_{boot} – средняя арифметическая уровня АК; n – число животных в группе. $[95\%CI_{boot}]$ – доверительный интервал бутстреп-распределения; $p = \Pr(|F_{ran}| \geq F_{obs})$ – двухфакторный дисперсионный анализ с перестановочным тестом (рандомизация).

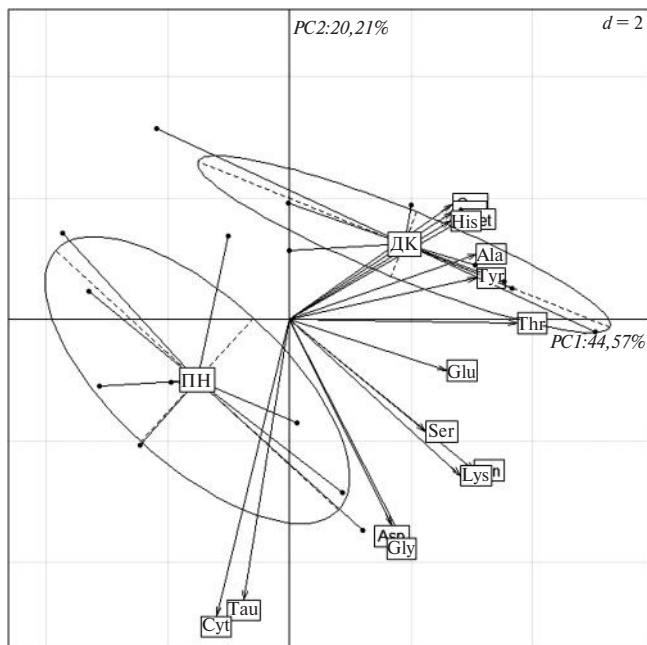


Рис. 1. Содержание свободных аминокислот в плазме крови (мкмоль/л) самок двух видов летучих мышей в пространстве первых двух главных компонент. PC1, PC2 – оси главных компонент, % – процент дисперсии данных, объяснённых главной компонентой; стрелки отражают корреляцию главных компонент с исходными показателями (аминокислоты); эллипсы – 95% CI. ПН – прудовая ночница, ДК – двухцветный кожан.

Результаты проведённых исследований позволили оценить специфичность метаболизма незаменимых и заменимых АК в организме двухцветного кожана и прудовой ночницы и выявили видовую специфику аминокислотного спектра плазмы крови оседлого и перелётного видов рукокрылых.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН и частично поддержана грантом Президиума РАН “Фундаментальные науки — медицине” 12-П-4–1049.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Большаков В.Н., Орлов О.Л., Снитко В.П.* Летучие мыши Урала. Екатеринбург, 2005. 176 с.
2. *Geiser F., Westman W., McAllan B.M., Brigham R.M.* // J. Comp. Physiol. 2006. V. 176. P. 107–116.
3. *Kovalchuk L., Mishenko V., Chernaya L., Snitko V., Mikshevich N.* // Zool. and Ecol. 2017. V. 27. № 2. P. 168–175.
4. *Ленинджер А.* Основы биохимии. М.: Мир, 1985. Т. 1. 956 с.
5. *Черная Л.В., Ковальчук Л.А., Нохрина Е.С.* // ДАН. 2016. Т. 466. № 6. С. 744–747.
6. *Chessel D., Dufour A.B., Thioulouse J.* // R News. 2004. № 4. P. 5–10.