

УДК 574.522: 597.8: 577.112.3

Л.А. КОВАЛЬЧУК, д. б. н, проф., гол. наук. співроб.,
Інститут екології рослин і тварин УрВ РАН,
вул. 8 Березня, 202, Єкатеринбург, 620144, Росія.
e-mail: kovalchuk@ipae.uran.ru; KLA@isnet.ru
ORCID 0000-0003-0467-1461

Л.В. ЧОРНА, к. б. н, ст. наук. співроб.,
Інститут екології рослин і тварин УрВ РАН,
вул. 8 Березня, 202, Єкатеринбург, 620144, Росія.
e-mail: kovalchuk@ipae.uran.ru; Chernaya_LV@mail.ru
ORCID 0000-0002-3386-9824

В.А. МІЩЕНКО, інженер-дослідник,
Інститут екології рослин і тварин УрВ РАН,
вул. 8 Березня, 202, Єкатеринбург, 620144, Росія.
e-mail: kovalchuk@ipae.uran.ru

Н.В. МІКШЕВІЧ, к. х. н, доцент,
Уральський державний педагогічний університет,
просп. Космонавтів, 26, Єкатеринбург, 620017, Росія
e-mail: mikshevich@gmail.com

АМІНОКИСЛОТНИЙ СПЕКТР КРОВІ ОЗЕРНИХ ЖАБ *PELOPHYLAX RIDIBUNDUS*, ІНТРОДУКОВАНИХ У ВОДОЙМИ СЕРЕДНЬОГО УРАЛУ¹

Вперше вивчено амінокислотний спектр плазми крові озерної жаби Pelophylax ridibundus, яка сформувала стійкі популяції за межами нативного ареалу. Плазма крові амфібій містить 25 амінокислот і характеризується високим вмістом гідрофобних: аланіну, лізину, лейцину, валіну, гліцину, проліну і фенілаланіну, що беруть участь в синтезі колагену і еластину у весняний період розмноження і метаморфозу.

Ключові слова: озерна жаба, вільні амінокислоти.

В Україні озерна жаба *Pelophylax ridibundus* (Pallas) (Amphibia, Anura) зустрічається у всіх природних зонах [2, 11, 12, 15]. У гірських районах Закарпаття і у Криму озерна жаба звичайна у багатьох заплавах водоемів, по берегах і затоках річок, досить часто заселяє колишні торф'яні і піщані кар'єри, особливо розташовані в заплавах [16, 18]. Озерна жаба зуст-

¹ Робота виконана за підтримки Міністерства освіти і науки РФ у рамках Державного завдання інституту екології рослин і тварин РАН і частково підтримана грантом Президії РАН «Фундаментальні науки — медицині» 12-П-4-1049.

Ц и т у в а н н я: Ковальчук Л.А., Чорна Л.В., Міщенко В.А., Мікшевіч Н.В. Амінокислотний спектр крові озерних жаб (*Pelophylax ridibundus*) інтродукованих у водоеми Середнього Уралу. Гідробіол. журн. 2021. Т. 57, № 1. С. 85—95.

річається у відстійниках шахт і водоймах вугільно-видобувних районів західного Донбасу [5]. В українській дельті Дунаю в 1960—1980 рр. вона була об'єктом інтенсивного промислу [16]. Популяції озерної жаби у північно-східній частині степового Криму і Керченського півострова можуть населяти водойми з підвищеною солоністю води [15]. На північному сході України, на вододілі Дону і Дніпра, у лісостеповій і степовій природних зонах Харківської області у водоймах переважають чисті популяції *R. ridibunda* [10, 15]. У басейні р. Псел (Курська і Полтавська обл.) *R. ridibunda* є чисельно переважаючим видом зелених жаб [13]. Відзначається поступове розширення її ареалу у північно-західному напрямку.

У водосховищах Верхньо-Тагільської і Рефтинської теплових станцій Середнього Уралу озерна жаба з'явилася у 1969—1970-х рр. у результаті випадкової інтродукції пуголовків при зарибленні мальками білого амуру *Stenopharyngodon idella* і товстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* з водойм України і Краснодарського краю [6, 17]. Виникли географічно ізольовані середньо-уральські популяції, що мають єдиний гаплотип по гену ND3 з українськими особинами *R. ridibunda* з водойм Харківського, Київського, Житомирського, Херсонського, Одеського регіонів [3]. Високотолерантний і пластичний вид *P. ridibundus* є одним з яскравих представників видів-вселенців у водних екосистемах Середнього Уралу.

Уральські дослідники відзначають поширення *R. ridibunda* в екосистемах річок Тагіл, Вогулка, Ісеть, Пишма, Нейва, Сисерть, у водойми-охолоджувачі Серовської ГРЕС і у Білоярському водосховищі [7, 19]. Уральськими зоологами накопичено значний науковий матеріал з біології розвитку озерної жаби, яка активно розширює свій ареал на Середньому Уралі [3, 7]. Однак, і це важливо, вид з високою екологічною пластичністю і гомеостатичними можливостями залишається найменш дослідженим щодо метаболічного забезпечення термінової адаптації до нових умов існування. Відомо, що значну роль у підтримці гомеостазу відіграють метаболічні процеси вільних амінокислот, що забезпечують оптимальний стан пластичного і енергетичного обміну [4, 8, 9, 20, 23—27].

Метою дослідження було вивчити амінокислотний спектр плазми крові озерної жаби *P. ridibundus*, яка сформувала стійкі популяції за межами нативного ареалу.

Матеріал і методика досліджень

Як об'єкти дослідження використані статевозрілі особини озерної жаби *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) з Верхньо-Тагільського водосховища, розташованого у східній частині Середнього Уралу (Свердловська обл., 57°22 N, 59°57 E). Вилів та утримання тварин, доставлених у лабораторію, здійснювали відповідно до правил, прийнятих Європейською Конвенцією із захисту тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей [22].

Клімат району дослідження континентальний, з тривалою холодною зимою і порівняно теплим коротким літом. Температура води у водосховищі на 6,0 °C вище, ніж у природних водоймах регіону, у зимові місяці не

опускається нижче 8,0—12,0 °С, тому озерні жаби, що мешкають у ній, активні більшу частину року. Водоймище відноситься до β-мезосапробного типу, площа заростання акваторії вищими водними рослинами становить 2 %. Спектр харчування личинок безхвостих амфібій представлений переважно бентосними організмами. У раціоні дорослих амфібій переважають членистоногі, молюски, кільчасті черви та дрібні хребетні. Харчової конкуренції озерної жаби з місцевими видами амфібій не виявлено [3, 6]. Дослідження проводили у весняний період розмноження у кінці квітня — першій декаді травня 2014 р. Температура води у водоймі становила в середньому 21±0,3 °С. Вилов тварин ($n = 26$) здійснювали з берега за допомогою риболовецького сачка. Після вилову кожен особину поміщали в окремих мішечок з бавовняної тканини з вологою травою на дні і у той же день доставляли у лабораторію, де проводили камеральну обробку і забір крові на аналіз. Відбирали тварин без ознак захворювань. Середні розміри статевозрілих особин, що перезимували двічі, становили в 68,6±1,6 мм [3, 7]. Масу тіла і органів визначали зважуванням на електронних вагах (Shimadzu BL-2200H) с точністю ±0,01 г. Значних відмінностей у розмірах, загальній масі і масі печінки між самцями і самицями не було, статистично значимо ($p = 0,02$) відрізнялась лише маса серця (табл. 1).

Зразки крові тварин брали з міокарда. Плазму отримували її центрифугуванням у рефрижераторній ультрацентрифузі К-23D (Німеччина) в охолоджених вакуумних «Bekton Dickinson ВР» з ЕДТА протягом 15 хв при 3000 об/хв. Вміст вільних амінокислот (АК) у плазмі крові визначали методом іонообмінної хроматографії на аналізаторі ААА-339М (Microtechna, Чехія). Для кожного досліджуваного зразка на хроматограмі прописували весь спектр АК з визначенням концентрації кожної з них у мкмоль/л і частку у сумарному вмісті (%). Розраховували сумарні концентрації: замінені АК (ЗАК), незамінні АК (НАК), глікогенні АК

Таблиця 1

Морфометричні параметри самців і самиць *P. ridibundus*

| Показники | ♂ ($n = 14$) | ♀ ($n = 12$) | Permutation ANOVA |
|-----------------|---|-----------------------------|-----------------------------------|
| | $\bar{X}_{boot} \pm SE_{boot} [95\% CI_{boot}]$ | | |
| Маса тіла, г | 71,07±4,71 [62,16—80,54] | 61,20±5,89 [50,85—73,39] | $\Pr(F_{ran} \geq 1,43) = 0,25$ |
| Маса печінки, г | 2,12±0,30 [1,65—2,64] | 1,75±0,17 [1,43—2,08] | $\Pr(F_{ran} \geq 1,45) = 0,26$ |
| Маса серця, г | 0,21±0,01 [0,20—0,24] | 0,16±0,02* [0,13—0,19] | $\Pr(F_{ran} \geq 5,99) = 0,02$ |

Примітка. Тут і у табл. 2, 3: * статистично значні відмінності між групами «самці» і «самиці» ($p < 0,05$); $\bar{X}_{boot} \pm SE_{boot}$ — середнє арифметичне і помилка середнього бутстреп-розподілу; $[95\% CI_{boot}]$ — довірчий інтервал бутстреп-розподілу; $p = \Pr(|F_{ran}| \geq F_{obs})$ — дисперсійний аналіз з перестановки тестом Permutation ANOVA.

(ГГАК), сірковмісних АК (СВАК), АК з розгалуженим вуглецевим ланцюгом (АКРВЛ: валін + лейцин + ізолейцин), ароматичних АК (АрАК: фенілаланін + тирозин). Виконано 650 визначень.

Результати оброблені за допомогою пакета ліцензійних прикладних програм Statistica v. 10.0. Аналіз методом головних компонент (РСА) проведено за допомогою статистичного середовища R (R 3.1.2, пакети Vegan і Ade4) [21]. Відмінності між порівнюваними вибірками вважали значимим при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Амінокислотний склад плазми крові самців і самиць озерної жаби включає 25 вільних АК (табл. 2). У самців загальний вміст амінокислот значно вищий, ніж у самиць: відповідно $2417,2 \pm 83,5$ і $1756,9 \pm 61,0$ мкмоль/л ($p = 0,0001$). Зокрема, вміст аргініну у самців був вищим у 3,5 разу, триптофану — у 3,2, глутамінової кислоти і глутаміну — у 2,2, гістидину — у 1,7, лізину — в 1,6 разу ($p < 0,01$). У той же час вміст десяти АК практично не відрізнявся — цистеїнової і аспарагінової кислот, гліцину, аланіну, цитруліну, валіну, цистеїну, фенілаланіну, гамма-аміномаєльної кислоти та орнітину, що вказує на їх загальнобіологічні функції в організмі. Домінуючими компонентами амінокислотного пулу крові жаб є чотири амінокислоти: замінні гліцин і аланін та незамінні лейцин і лізин, сумарна частка яких у самців і самиць становила 40 %. Високий вміст аланіну і гліцину навесні йде як на підтримку азотистого балансу, так і постійного рівня глюкози, що забезпечує організм необхідною кількістю енергії, необхідної для розмноження і життєзабезпечення.

Високий вміст аланіну і гліцину у крові може бути пов'язаний зі збільшеними потребами тварин у фібрилярних білках — колагені і еластині навесні. Відомо, що колаген як основний структурний білок сполучної тканини, містить 33 % гліцину і 13 % аланіну [1]. Еластин на 90 % складений гідрофобними АК, а колаген — на 70 % [1, 25]. В АК-спектрі крові досліджених жаб переважають гідрофобні АК: аланін, лізин, лейцин, валін, гліцин, фенілаланін, пролін, частка яких у самиць досягає 57 %, а у самців — 48 % загального вмісту. Це дозволяє припустити їх підвищену потребу у забезпеченні процесів синтезу еластину і колагену у весняний період під час розмноження і росту.

Слід відзначити, що вміст проліну ($133,4$ мкмоль/л) у плазмі крові самиць у 2,5 рази вище ніж у самців ($p = 0,001$). Протеїногенна АК пролін важлива для синтезу сполучних тканин, особливо у період підготовки самиць до ікрометання. Вміст фенілаланіну у плазмі крові самців і самок (відповідно $119,8$ і $100,6$ мкмоль/л) у весняний період дозволяє припустити його участь у синтезі колагену, який забезпечує міцність і практично нерозтяжність тканин у складі сухожиль, хрящів, кісток і шкіри. Наші попередні дослідження показали, що у самців і самиць влітку (остання декада серпня) відбувається різке зниження концентрації фенілаланіну (у 2,4 разу) і проліну (до слідів) у порівнянні з весняним періодом [9].

Таблиця 2

Концентрація вільних амінокислот у плазмі крові *P. ridibundus*

| Вміст АК, мкмоль/л | Самиці | Самці | <i>p</i> -value Tukey's test |
|-----------------------|---|------------------------------|------------------------------|
| | $\bar{X}_{boot} \pm SE_{boot}$ [95% CI_{boot}] | | |
| Цистеїнова к-та | 13,9±1,0 [12,3—16,1] | 12,9±1,5 [10,1—15,6] | 0,62 |
| Таурин | 7,8±0,6 [6,7—8,9] | 13,9±1,1* [11,9—16,0] | 0,001 |
| Аспарганова к-та | 53,3±6,5 [42,2—67,1] | 61,5±6,6 [48,6—74,1] | 0,41 |
| Треонін | 107,0±8,2 [92,3—123,7] | 154,6±10,5* [134,7—174,2] | 0,01 |
| Серін | 95,3±9,5 [77,7—115,0] | 149,3±5,5* [138,4—160,1] | 0,001 |
| Аспарагін | 18,1±2,5 [13,0—23,0] | 35,1±4,7* [26,5—44,4] | 0,01 |
| Глютамінова к-та | 52,2±4,5 [43,1—60,8] | 116,3±4,2* [107,5—124,0] | 0,001 |
| Глутамін | 53,7±4,4 [45,3—62,4] | 114,0±7,72* [99,4—128,9] | 0,001 |
| Гліцин | 142,2±10,7 [120,3—160,8] | 181,5±13,2 [155,1—207,3] | 0,06 |
| Аланін | 299,2±17,7 [263,8—332,5] | 323,3±15,1 [294,6—352,4] | 0,36 |
| Пролін | 133,4±13,4 [113,1—163,3] | 54,0±6,7* [42,2—68,1] | 0,001 |
| Цитрулін | 4,6±1,1 [2,8—6,9] | 10,1±2,9 [5,5—16,4] | 0,13 |
| Валін | 69,7±3,6 [63,8—77,9] | 94,6±11,2 [75,3—119,1] | 0,05 |
| Цистеїн | 6,3±1,0 [4,7—8,3] | 7,9±0,9 [6,1—9,6] | 0,30 |
| Метіонін | 15,5±1,8 [12,0—19,0] | 23,5±2,2* [19,7—28,2] | 0,03 |
| Ізолейцин | 50,5±2,3 [46,0—55,2] | 67,0±4,9* [57,3—75,7] | 0,02 |
| Лейцин | 125,8±5,8 [114,6—137,7] | 179,5±7,2* [165,3—193,1] | 0,001 |
| Тирозин | 48,5±5,8 [37,8—59,7] | 73,5±5,0* [63,7—82,8] | 0,02 |
| Фенілаланін | 100,6±10,8 [78,5—120,3] | 119,8±8,6 [102,0—135,8] | 0,24 |

Продовження табл. 2

| Вміст АК, мкмоль/л | Самиці | Самці | <i>p</i> -value Tukey's test |
|-----------------------|---|---------------------------------|------------------------------|
| | $\bar{X}_{boot} \pm SE_{boot}$ [95% CI_{boot}] | | |
| ГАМК | 14,8±1,3 [12,5—17,4] | 21,5±2,8 [15,8—26,7] | 0,08 |
| Триптофан | 16,5±2,2 [12,1—20,7] | 53,2±12,0* [34,4—79,5] | 0,02 |
| Орнітин | 71,5±8,6 [56,1—89,4] | 63,4±5,2 [52,8—73,5] | 0,48 |
| Лізин | 134,5±14,3 [105,8—161,0] | 207,9±13,7* [179,1—232,0] | 0,01 |
| Гістидин | 80,0±5,9 [69,0—91,6] | 135,1±7,7* [120,3—149,8] | 0,001 |
| Аргінін | 42,1±5,1 [31,6—51,0] | 145,7±12,9* [125,5—174,5] | 0,0031 |
| Загальний вміст | 1756,9±61,0 [1634,1—1869,3] | 2417,2±83,5* [2271,3—2592,1] | 0,0001 |

Таблиця 3

Метаболічні групи амінокислот (% від сумарного вмісту)
у плазмі крові *P. ridibundus*

| Групи аміно- кислот | Самиці | Самці | Permutation ANOVA |
|------------------------|---|------------------------------|--------------------------------------|
| | $\bar{X}_{boot} \pm SE_{boot}$ [95% CI_{boot}] | | |
| ГГАК | 58,91±0,68 [57,89—60,14] | 63,75±0,39* [62,95—64,47] | $\Pr(F_{ran} \geq 39,22) = 0,003$ |
| ЗАК | 51,27±1,24* [49,15—53,87] | 46,23±0,65 [44,75—47,26] | $\Pr(F_{ran} \geq 10,72) = 0,004$ |
| НАК | 42,27±0,84 [40,35—43,54] | 48,74±0,75* [47,50—50,40] | $\Pr(F_{ran} \geq 26,81) = 0,0001$ |
| СВАК | 2,50±0,22 [2,10—2,93] | 2,41±0,07 [2,29—2,57] | $\Pr(F_{ran} \geq 0,12) = 0,76$ |
| АКРВЛ | 14,08±0,47 [13,20—14,97] | 14,09±0,49 [13,11—15,05] | $\Pr(F_{ran} \geq 0,001) = 0,97$ |
| АрАК | 8,48±0,70 [6,99—9,75] | 8,05±0,49 [7,13—9,03] | $\Pr(F_{ran} \geq 0,183) = 0,67$ |

Підвищений вміст у плазмі крові ЗАК: гліцину, глутамінової кислоти і цистеїну (у самців і самок відповідно 13 і 12%) забезпечує біосинтез трипептиду глутатіону, який бере участь у детоксикації продуктів метаболізму амфібій і процесах їх розмноження [14, 23, 25].

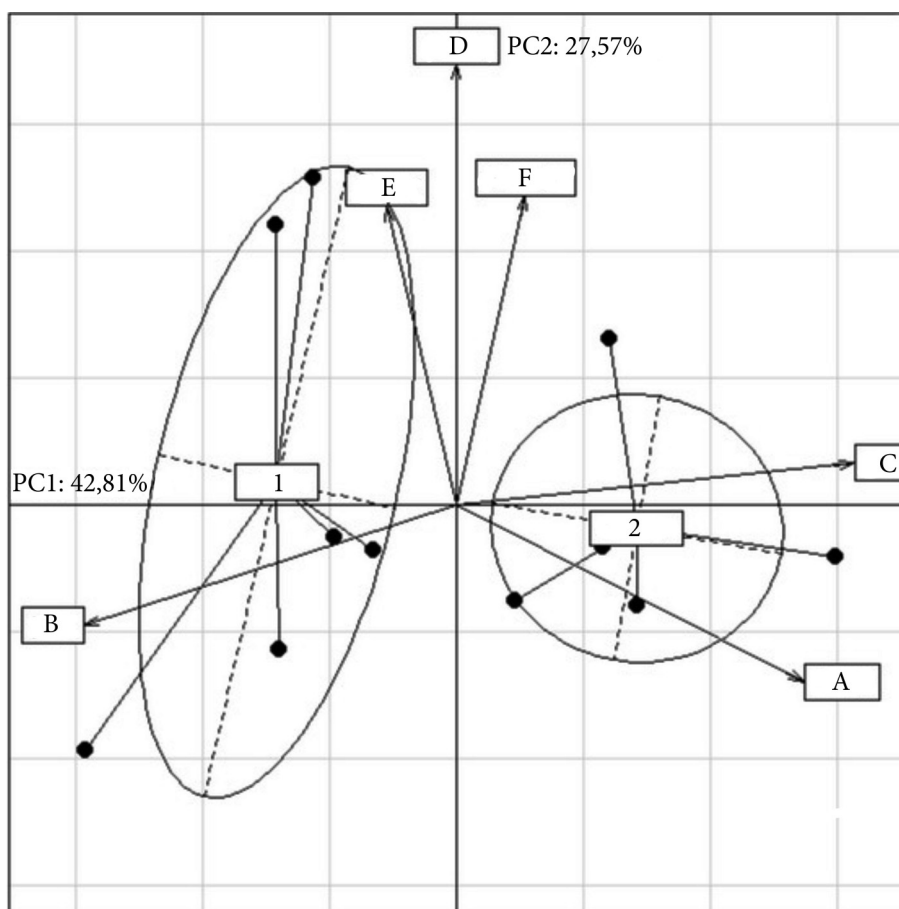


Рисунок. Метаболічні групи амінокислот (% загального вмісту) плазми крові самців і самиць озерної жаби у просторі головних компонент (PCA)

У озерних жаб, як і у теплокровних тварин, міститься повний спектр НАК: треонін, валін, лізин, лейцин, ізолейцин, метіонін, фенілаланін, аргінін, триптофан, гістидин (див. табл. 2). Слід зазначити, що ці АК не можуть бути отримані у процесі біосинтезу і повинні надходити в організм у вигляді харчових білків ззовні, а їх дефіцит загрожує нормальній життєдіяльності. Раніше нами показано, що у самиць і самців у літній період частка НАК значно підвищується (52,02—52,88 %) порівняно з весняним (42,28—48,74 %) [9].

На рівновагу білкового і азотистого обміну в організмі амфібій вказує співвідношення ЗАК і НАК у плазмі — 1,0 і 1,2 відповідно у самців і самиць. Можна припустити, що при стабільно високому вмісті вільних АК у плазмі крові озерної жаби забезпечується їх транспорт як необхідного енергетичного і пластичного фонду, що сприяє успішному існуванню тварин в умовах антропогенно-порушеного середовища.

У плазмі крові самиць виявлено підвищений вміст ЗАК (51,3 %). У самців переважали ГГАК (63,75 %) і НАК (48,74 %) (табл. 3), як беруть участь у інтенсивному нарощуванні м'язової маси і забезпечують гормональну і енергетичну підтримку тварин у весняний період. Частки АКРВЦ (валіну, ізолейцину, лейцину), що захищають м'язові волокна від окислення і деструкції, АРАК (тирозину і фенілаланін), що беруть участь у синтезі біогенних амінів і нейромедіаторів, а також СВАК (цистеїнової кислоти, таурину, цистеїну, метіоніну) як імуномодуляторів і ключових у процесах детоксикації, у самців і самиць не відрізнялись.

Використання багатокомпонентного аналізу (РСА) для ідентифікації статевих відмінностей в амінокислотному складі плазми крові амфібій при 95 %-вому довірчому інтервалі показало, що 42,81 % загальної дисперсії метаболічних груп вільних АК припадало на першу головну компоненту (PC1), а 27,57 % — на другу (PC2) (рисунок, табл. 4).

За представленими змінними перша головна компонента зумовлює значні відмінності самиць і самців за дослідженими метаболічними групами АК крові (див. табл. 4). Найбільший внесок у мінливість АК-пулу за PC1 вносять метаболічні групи НАК, ГГАК і ЗАК. За цими змінними відповідно до PC1 тварини виділені у самостійні групи. Необхідно відзначити високий внесок НАК (36,98 %) і їх сильну кореляцію з PC1 (0,97). Встановлено тісну кореляцію з PC1 ЗАК (-0,91) і ГГАК (0,85). Також слід вказати на внесок СВАК (45,57 %) і їх сильну кореляцію (0,87) з PC2.

Таблиця 4

Коефіцієнти кореляції між метаболічними групами АК плазми крові самців і самиць озерної жаби і основними компонентами: PC1 і PC2 [Ade4 R пакет]

| АК, % (<i>i</i> = 6) | Навантаження (loadings, a_{ij}) | | Внесок в головну компоненту (contribution = $\frac{a_{ij}^2 \cdot 100}{\lambda_j}$, %) | |
|-----------------------|---|--------|--|-------|
| | Головні компоненти (PC), <i>j</i> = 1, 2 | | | |
| | 1 | 2 | 1 | 2 |
| ГГАК (A) | 0,85** | -0,35 | 28,18 | 7,31 |
| ЗАК (B) | -0,91*** | -0,24 | 32,56 | 3,40 |
| НАК (C) | 0,97*** | 0,08 | 36,98 | 0,41 |
| СВАК (D) | 0,00 | 0,87** | 0,00 | 45,57 |
| АрАК (E) | -0,17 | 0,59* | 1,17 | 20,92 |
| АКРВЛ (F) | 0,17 | 0,61* | 1,11 | 22,39 |
| | Власні значення (eigenvalues, λ_j) PC | | Дисперсія, зумовлена PC (%) | |
| | 2,57 | 1,65 | 42,81 | 27,57 |

Примітка. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Аналіз РСА дозволив оцінити і візуалізувати характер розподілу вмісту метаболічних груп вільних АК, що модифікують основні метаболічні процеси у плазмі крові самців і самиць *P. ridibundus*, підтверджуючи результати представленого вище статистичного аналізу.

Заключення

Вперше визначено і проаналізовано амінокислотний спектр плазми крові озерної жаби *Pelophylax ridibundus*, яка сформувала стійкі середньо-уральські популяції за межами нативного ареалу. Амінокислотний фонд представлений 25 АК. Отримані дані дозволяють адекватно оцінити інтегруючу роль вільних амінокислот крові озерної жаби при активних процесах росту і розвитку. Відзначено підвищений вміст гідрофобних АК (аланіну, лізину, лейцину, валіну, гліцину, проліну, фенілаланіну). Їх накопичення передбачає активацію біохімічних ресурсів розмноження і метаморфозу тварин у короткостроковий весняний період. Успішність адаптації та натуралізації *P. ridibundus* на нових територіях забезпечується високим вмістом ГГAK і НАК, що беруть участь як у гормональній і енергетичній підтримці, так і у процесах детоксикації та елімінації у весняний період. Сьогодні залишається актуальною оцінка екологічного стану популяцій і угруповань симпатричних видів тварин у зв'язку зі змінами кліматичних умов середовища, що впливають на динаміку чисельності і популяційний морфогенез земноводних у порушених умовах. Отримані дані можна використовувати як рекомендації при розробці наукових основ і біотехнологій промислового розведення озерних жаб *P. ridibundus* у штучних умовах.

Список використаної літератури

1. Биохимия. Учебник для вузов. Под ред. Е.С. Северина. М.: ГЭОТАР-Мед, 2004. 784 с.
2. Булахов В.Л., Гасо В.Я., Пахомов О.Е. Біологічне різноманіття України. Дніпропетровська область. Земноводні та плазуни (Amphibia et Reptilia). Дніпропетровськ: Вид-во Дніпропетр. ун-ту, 2007. 420 с.
3. Вершинин В.Л. Амфибии и рептилии Урала. Екатеринбург, 2007. 169 с.
4. Гараева С.Н., Редкозубова Г.В., Постолати Г.В. Аминокислоты в живом организме. Кишинев, 2009. 552 с.
5. Єрмоленко С.В., Гасо В.Я. Герпетофауна антропогенних ландшафтів вугільнодобувних районів західного Донбасу (на прикладі Петропавлівського району Дніпропетровської області). *Питання біоіндикації та екології*. 2015. Вип. 20, № 1. С. 216—225.
6. Иванова Н.Л. Особенности экологии озерной лягушки (*Rana ridibunda* Pall.), интродуцированной в водоемы-охладители. *Экология*. 1995. № 6. С. 473—476.
7. Иванова Н.Л., Берзин Д.Л. Формирование популяционной специфики озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus*) в водоемах Среднего Урала. *Там само*. 2019. № 6. С. 471—474.
8. Ковальчук Л.А., Черная Л.В., Нохрина Е.С. Элементный и аминокислотный состав тканей медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis* L.) при хроническом голодании. *Вопр. биол. медицин. и фармацевт. химии*. 2011. № 6. С. 61—64.
9. Ковальчук Л.А., Черная Л.В., Монгуш Х.В., Мищенко В.А. Фонд свободных аминокислот озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771), обитающей в

условиях теплового загрязнения Верхнетагильского водохранилища. *Экология XXI века: синтез образования и науки*. Материалы VI Междунар. оч.-заоч. науч.-практ. конф. Челябинск: Изд-во ЮУрГГПУ, 2020. С. 326—330.

10. Коршунов А.В. Распространение и биотопическое распределение популяционных систем зеленых лягушек (*Rana esculenta* COMPLEX) в Харьковской области. *Вопр. герпетологии*. Материалы Третьего съезда Герпетол. об-ва им. А.М. Никольского. СПб, 2008. С. 198—203.

11. Котенко Т.И. Влияние ирригации на герпетокомплексы в Крымском Присивашье. *Біорізноманіття та роль зооценозу в природних і антропогенних екосистемах*. Матеріали III Міжнар. наук. конф. «Zoocenosis-2005», Дніпропетровськ, 4—6 жовтня 2005 р. Дніпропетровськ: Вид-во Дніпропетров. нац. ун-ту, 2005. С. 392—394.

12. Кукушкин О.В., Иванов А.Ю., Ермаков О.А. О генетической неоднородности населения озерных лягушек Крыма, выявляемой по результатам анализа митохондриальной и ядерной ДНК (*Pelophylax (ridibundus)* complex; Anura, Ranidae). *Изв. высших учеб. заведений. Поволж. регион. Естеств. науки*. 2018. № 3. С. 32—54.

13. Лада Г.А., Боркин Л.Я., Литвинчук С.Н., Розанов Ю.М. Видовой состав и популяционные системы зеленых лягушек, *Rana esculenta* complex (Amphibia: Anura) бассейна реки Псел. *Праці Україн. герпетол. тов-ва*. 2011. № 3. С. 76—83.

14. Мазо В.К. Глутатион как компонент антиоксидантной системы желудочно-кишечного тракта. *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 1998. № 1. С. 47—53.

15. Писанец Е.М. Амфибии Украины (справочник-определитель земноводных Украины и сопредельных территорий). Киев, 2007. 312 с.

16. Писанець Є., Кукушкін О. Земноводні Криму. Київ, 2016. 320 с.

17. Топоркова Л.Я. Новый элемент в герпетофауне горно-таежной зоны Среднего Урала. *Фауна и экология животных УА ССР и прилегающих районов*. Ижевск, 1978. Вып. 2. С. 63—65.

18. Файзулин А.И., Кукушкин О.В., Иванов А.Ю., Ермаков О.А. Предварительные данные о молекулярно-генетической структуре *Pelophylax ridibundus* (Amphibia, Anura, Ranidae) южной части Крымского полуострова по результатам анализа митохондриальной и ядерной ДНК. *Соврем. герпетология*. 2017. Т. 17, вып. 1/2. С. 56—65.

19. Фоминых А.С., Ляпков С.М. Формирование новых особенностей жизненного цикла озерной лягушки (*Rana ridibunda*) в условиях подогреваемого водоема. *Журн. общ. биологии*. 2011. Т. 72, № 6. С. 403—421.

20. Chernaya L.V., Kovalchuk L.A., Nokhrina E.S. Role of the tissue free amino acids in adaptation of medicinal leeches *Hirudo medicinalis* L., 1758 to extreme climatic conditions. *Dokl. Biol. Sciences*. 2016. Vol. 466, N 1. P. 42—44.

21. Chessel D., Dufour A.B., Thioulouse J. The ade 4 package-I: One-table methods. *R News*. 2004. N 4. P. 5—10.

22. European convention on protection of the vertebrate animals used for experiment or in other scientific purposes: <http://cjnventions.coe.int/Treaty/Commun/QueVoulez-Vous>

23. Forman H.J., Zhang H., Rinna A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol. Aspects of Medicine*. 2009. Vol. 30, Iss. 1/2. P. 1—12.

24. Kovalchuk L.A., Mishchenko V.A., Mikshevich N.V. et al. Free amino acids profile in blood plasma of bats (*Myotis dasycneme* Boie, 1825) exposed to low positive and near-zero temperatures. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2018. Vol. 54, N 4. P. 281—291.

25. Samuel C.S. Determination of collagen content, concentration, and sub-types in kidney tissue. *Methods Mol. Biol.* 2009. Vol. 466. P. 223—235.

26. Wu G. Amino acids: metabolism, functions and nutrition. *Amino Acids*. 2009. Vol. 37, N 1. P. 1—17.

27. Ventura M., Catalan J. Variability in amino acid composition of alpine crustacean zooplankton and in relationship with nitrogen-15 fractionation. *J. Plankton Res.* 2010. Vol. 32, N 2. P. 1583—1597.

Надійшла 16.10.2020

L.A. Kovalchuk, Doctor of Biology, Chief Researcher,
Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the RAS,
St. March 8, 202, Yekaterinburg, 620144, Russia,
e-mail: kovalchuk@ipae.uran.ru; KLA@isnet.ru
ORCID 0000-0003-0467-1461

L.V. Chernaya, PhD (Biol.), Senior Researcher,
Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the RAS,
St. March 8, 202, Yekaterinburg, 620144, Russia.
e-mail: kovalchuk@ipae.uran.ru; Chernaya_LV@mail.ru
ORCID 0000-0002-3386-9824

V.A. Mishchenko, research engineer,
Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the RAS,
St. March 8, 202, Yekaterinburg, 620144, Russia.
e-mail: kovalchuk@ipae.uran.ru

N.V. Mikshevich, PhD (Chem.), associate professor,
Ural State Pedagogical University,
26 Kosmonavtov Ave, Yekaterinburg, 620017, Russia
e-mail: mikshevich@gmail.com

AMINO ACID SPECTRUM OF BLOOD OF LAKE FROGS (*PELOPHYLAX
RIDIBUNDUS P.*) INTRODUCED IN THE PONDS ON THE MIDDLE URALS

For the first time the amino acid spectrum of the blood plasma of the lake frog *Pelophylax ridibundus*, which formed stable populations in the Middle Urals outside the native range, has been studied. The amphibian blood plasma fund is represented by 25 free amino acids. It is shown that amphibians are characterized by a high content of hydrophobic amino acids: alanine, lysine, leucine, valine, glycine, proline and phenylalanine. These AA responsible for the synthesis of collagen and elastin in the spring period of reproduction and of metamorphosis.

Key words: lake frog, free amino acids.