

У К-14038
П267970

К-14038

ВІСНИК ХАРКІВСЬКОГО УНІВЕРСИТЕТУ



№ 87

БІОЛОГІЯ

ВИПУСК 4



**ВИДАВНИЦТВО
ХАРКІВСЬКОГО УНІВЕРСИТЕТУ**

1972

66 коп.

V.N. Karazin Kharkiv National University



00289649

2

THE CHINESE
OF THE
SOUTH

THE
SOUTH

THE
SOUTH

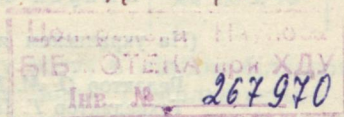
ВІСНИК ХАРКІВСЬКОГО УНІВЕРСИТЕТУ

№ 87

БІОЛОГІЯ

ВИПУСК 4

к-14038



8

ВИДАВНИЦТВО

ХАРКІВСЬКОГО ОРДЕНА ТРУДОВОГО ЧЕРВОНОГО ПРАПORA
ДЕРЖАВНОГО УНІВЕРСИТЕТУ імені О. М. ГОРЬКОГО
Харків 1972

У цьому випуску розглядаються питання вікової фізіології та біохімії тварин, проблеми біохімії і біофізики гетерозису тварин і рослин, деякі наслідки вивчення фауни безхребетних, риб, птахів та ін. Наводяться в ньому і відомості з історії розвитку біологічних досліджень у Харківському університеті.

Збірник розрахований на фахівців у галузі фізіології та біохімії тварин, генетики, біофізики, цитології, гідробіології, ентомології та захисту рослин, орнітології, а також на біологів широкого профілю.

Редакційна колегія:

академік АН УРСР проф. *В. М. Нікітін* (відповідальний редактор), проф. *Г. Л. Шкорбатов* (заступник відповідального редактора), проф. *С. І. Медведєв*, проф. *В. Г. Шахбазов*, канд. біол. наук *В. С. Солодовникова* (відповідальний секретар).

ВЕСТНИК ХАРЬКОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Биология

Выпуск 4

(На украинском языке)

Редактор *О. М. Відмиш*
Техредактор *Г. П. Александрова*
Коректор *Т. О. Жигальцова*

Передано до набору 15/IX 1971 р. Підписано до друку 14/IX 1972 р. БЦ 20391.
Формат 60×90^{1/16}. Обсяг: 6,25 фіз. друк. арк., 6,25 умовн. друк. арк., 6,6 облік.-
вид. арк. Замовлення 2720. Тираж 1000. Ціна 66 коп.

Харківська друкарня № 16 Обласного управління по пресі.
Харків, Університетська, 16.

ВМІСТ β -ЛІПОПРОТЕЇДІВ У ТКАНИНАХ БІЛИХ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

В. І. Горбачов, В. М. Нікітін, А. О. Пашкова

Кафедра фізіології людини і тварин

Ліпопротеїди — важливі ліпідні компоненти тканин тваринного організму. Тому цілком природний той інтерес, який виявляють до них дослідники останнім часом. Найбільше відомо про склад ліпопротеїдів у сироватці крові. Доскональне їх вивчення сучасними методами (електрофорез, ультрацентрифугування, імунохімічний аналіз) показало, що до ліпопротеїдів входить дві фракції: α - і β -ліпопротеїди. Вони, як вважає ряд авторів [1, 2, 3], мають подібні складові елементи, але в різному кількісному відношенні (табл. 1).

Таблиця 1

Хімічний склад α - і β -ліпопротеїдів сироватки крові людини, %.

Склад та властивості	α -ліпопротеїди	β -ліпопротеїди	Хіломікрони
Тригліцериди	5—13	13—56	88
Вільний холестерин . .	6—10	8—10	—
Фосфоліпіди	43—46	20—18	8
Білок	35—57	7—21	2,5
Дисперсність	1,063—1,21	1,063—1,019	1,019—0,96
Швидкість флоатації . .	—	0—400	400
Молекулярна вага . . .	до 2×10^5	до $1,3 \times 10^6$	—

При збільшенні вмісту жиру в ліпідно-білковому комплексі зменшується його питома вага і збільшується флотованість у гравітаційному полі. Таким чином, високий вміст жиру у молекулах β -ліпопротеїдів може привести до того, що вони втрачуть властивість розчинятись у плазмі і будуть утворювати нерозчинні грубодисперсні частки — хіломікрони.

У різних видів тварин концентрація ліпопротеїдів у крові різна: у свиней α -ліпопротеїдів — 112 мг%, β -ліпопротеїдів —

172; у кролів відповідно — 121 і 102; у курчат — 104 і 385; у щурів — 41 і 140; у людини — 180 і 600 мг% [4].

На вміст ліпопротеїдів у сироватці крові впливають вік тварин [6], ендокринні фактори [5] та інші фізіологічні стани [6, 7]. Основна фізіологічна функція сироваткових β -ліпопротеїдів — транспорт ліпідів в організмі. Адсорбційна природа зв'язку білка з ліпідами в цьому комплексі сприяє легкій віддачі ліпіда, який транспортується в тканини [2]. Про ліпопротеїди решти тканин тваринного організму відомостей зовсім мало, але Ф. Л. Лейтес вважає, що більшість тканинних ліпідів, як і ліпіди плазми крові, знаходиться у зв'язку з білками, і ці комплекси мають важливе значення для обміну тканинних ліпідів [8].

Ми досліджували вміст одного виду ліпопротеїдів, а саме β -ліпопротеїдів, у різних тканинах в онтогенезі білих щурів.

Для визначення β -ліпопротеїдів був використаний турбидиметричний метод у модифікації М. К. Климова і співробітників [10]. Його основою є здатність β -ліпопротеїдів давати помутніння розчину в присутності гепарину та Ca^{++} . β -Ліпопротеїди виділялись мединалово-вероналовим буфером (рН 8,6; $\mu=0,1$) з гомогенатів тканин (4:1), а потім визначались так, як у сироватці. Дослідження проведено на тканинах печінки, серця, епідіміального жиру та сироватки білих щурів чотирьох вікових груп (табл. 2). У табл. 2 наведено середні дані 6—10 дослідів.

Таблиця 2

Кількість β -ліпопротеїдів у тканинах білих щурів різного віку,
мг на 1 г тканини

Тканина	Вік			
	1 місяць	3 місяці	12 місяців	24 місяці
Печінка	$8,53 \pm 0,8$ $p < 0,05$	$16,34 \pm 0,5$ $p < 0,05$	$13,23 \pm 0,8$ $p < 0,05$	$6,33 \pm 0,9$ $p < 0,05$
Серце	$6,30 \pm 0,6$ $p < 0,05$	$9,13 \pm 0,3$ $p > 0,05$	$8,46 \pm 0,5$ $p > 0,05$	$9,33 \pm 0,5$ $p > 0,05$
Епідіміус	$0,30 \pm 0,07$ $p > 0,05$	$0,62 \pm 0,3$ $p > 0,05$	$0,25 \pm 0,07$ $p > 0,05$	
Сироватка	$0,91 \pm 0,9$ $p < 0,05$	$0,43 \pm 0,1$ $p > 0,05$	$0,33 \pm 0,1$ $p > 0,05$	$0,23 \pm 0,06$ $p > 0,05$

Як свідчить табл. 2, вміст β -ліпопротеїдів, по-перше, різний в різних органах тварин, по-друге, в кожному органі змінюється у зв'язку з віком.

Найбільше β -ліпопротеїдів знаходиться в тканинах печінки, що цілком природно, бо в печінці відбувається їх синтез. Тут же спостерігаються і найрізкіші вікові зміни в цьому напрям-

ку: вміст β -ліпопротеїдів зростає майже вдвічі у тварин від одного до трьох місяців і трохи знижується у 12-місячних, потім знову зменшується майже в два рази до двадцяти чотирьох місяців. Можливо, ці зміни пов'язані з віковими змінами здатності тканини печінки до синтезу згаданих сполук. У тканині серця вміст β -ліпопротеїдів досить високий. Він підвищується до тримісячного віку, а далі залишається на такому ж рівні протягом досліджуваного відрізка онтогенезу. У жировій тканині кількість β -ліпопротеїдів приблизно на один порядок нижча, ніж у перших двох, і наближається до такого у сироватці. Тут існує така вікова залежність: максимальний вміст β -ліпопротеїдів у тримісячних тварин і відсутність їх у жировій тканині 24-місячних.

Сироватка крові має найбільше β -ліпопротеїдів у тварин місячного віку. Потім кількість їх знижується, але найбільше до трьох місяців. Про вікові зміни концентрації β -ліпопротеїдів у сироватці крові існує багато даних [5], які не збігаються, але всі вони отримані на людях. Більшість авторів вважає, що концентрація β -ліпопротеїдів у сироватці крові людей зростає від 20 до 60 років. Потім може дещо знижуватись. Проте у крові людей вміст β -ліпопротеїдів у кілька разів вищий, ніж у крові білих щурів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Oncley J. Z. et al. «J. Amer. Chem. Soc.», **72**, 458 (1960).
2. Г. В. Троицкий. «Успехи биол. химии», **3**, 152, 1958.
3. А. А. Покровский. Биохимические методы в клинике. М., «Медицина» (1969).
4. Fried M. et al. «Compar Biochem and Physiol». **25**, 2 (1968).
5. Е. В. Парина. Возраст и обмен белков. Изд-во Харьковск. ун-та, (1967).
6. Л. Г. Лейбсон. Сахар крови. М., Изд-во АН СССР (1962).
7. Walton K. W., Scott P. J. «J. Clin Pathol», **17**, 6, 627 (1964).
8. Ф. Л. Лейтес. «Успехи соврем. биологии», **59**, 226 (1965).
9. Burstein M., Samail J. «Presse med», **66**, 43 (1958).
10. Н. К. Климов и др. «Лабораторное дело», **5**, 276 (1966).

ВПЛИВ ВІКУ НА ШВИДКІСТЬ СИНТЕЗУ ЛАБІЛЬНОЇ Д-РНК ЯДЕР ПЕЧІНКИ БІЛИХ ЩУРІВ

Г. С. Тупчієнко

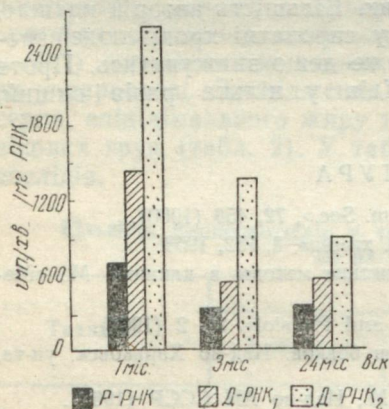
Кафедра фізіології людини і тварин

Як відомо, в ядрах тваринних клітин знаходиться значна кількість РНК, подібної до ДНК за нуклеотидним складом (Д-РНК) [1, 2].

Встановлено, що до складу Д-РНК входить матрична РНК (Д-РНК₁), яка транспортується в цитоплазму і функціонує там як матриця (м-РНК) для синтезу білка [3]. Кількість Д-РНК та швидкість її синтезу в ядрах печінки щурів різко зменшуються з віком [4].

У складі новоутвореної Д-РНК (див. рис.) знайдено фракцію, яка не досягає цитоплазми і має певну функцію на місці синтезу в ядрі [5]. Цю фракцію від Д-РНК₂ було виділено і досліджено. Виявилось, що на відміну від Д-РНК вона лабільна і швидко розпадається в умовах актиноміцинового чейзу [6].

Ми прагнули визначити, чи відбуваються з віком у ядрах печінки білих щурів зміни у швидкості синтезу Д-РНК₂, яка безумовно має відношення до регуляції транскрипції. Досліди проводились на білих щурах віком 1, 3 та 24 місяці. Досліджувані фракції новоутвореної РНК ядер позначали за допомогою фосфору. Останній вводили тваринам внутрішньочеревно



Питома активність фракцій новоутвореної РНК ядер печінки білих щурів.

у вигляді розчину $\text{KN}_2\text{P}^{32}\text{O}_4$ в дозі $0,5 \mu\text{Ci}$ на 1 g ваги. Час експозиції — 30 хвилин. Фракції новоутвореної РНК ядер (рибосомальної Р-РНК, стабільної Д-РНК—Д-РНК₁ та лабільної Д-РНК—Д-РНК₂) виділяли методом термічного фенольного фракціонування [6]. Кількість РНК у кожній фракції визначали методом, описаним у роботі [7]. Аліквоти одержаних фракцій осаджували на міліпорові фільтри «Ф-5». Питома радіоактивність (ПА) обчислювали для кожної фракції і виражали в імпульсах за хвилину на 1 mg РНК.

Відносну питому активність ВПА визначали як відношення ПА фракції РНК до ПА загального фосфору тканини. Фосфор знаходили за методом Фіске і Суббароу [8]. Звертає на себе увагу, що питома активність Д-РНК₂ значно вища від ПА фракцій Р-РНК і Д-РНК. Це погоджується з даними інших авторів [6]. Ми виявили, що така тенденція зберігається у кожному дослідженому віці з хорошою достовірністю ($p < 0,05$). У віці від одного до двадцяти чотирьох місяців спостерігається достовірне зменшення ($p < 0,05$) питомої активності всіх трьох досліджених фракцій. Найбільш чіткі вікові зміни виявлено для Д-РНК (див. таблицю).

[2] (XIV-1)

**ВПА фракцій новоутвореної РНК ядер печінки білих щурів
(середні дані, %)**

Фракції	Вік		
	1 місяць	3 місяці	24 місяці
Р-РНК	0,380	0,075	0,118
Д-РНК	0,728	0,165	0,244
Д-РНК	1,350	0,506	0,326

Зміни ВПА з віком підтверджують закономірність, яка виявлена для ПА досліджених фракцій новоутвореної РНК.

Одержані результати дають можливість припустити, що в онтогенезі поряд із зменшенням швидкості синтезу попередника цитоплазматичної м-РНК відбуваються істотні зміни в процесі транскрипції в ядрі, про що свідчить різке зниження швидкості синтезу лабільної Д-РНК. Це можна розглядати у світлі запропонованої Г. П. Георгієвим гіпотези структурної організації оперона [9].

ЛІТЕРАТУРА

1. Г. П. Георгієв. «Биохимия», 26, 1095 (1961).
2. Г. П. Георгієв, В. Л. Мантьєва. «Биохимия», 27, 949 (1962).
3. О. П. Самарина, М. И. Лерман, В. Г. Туманян, Л. Н. Ананьева, Г. П. Георгієв. «Биохимия», 30, 880 (1965).
4. Ц. М. Шерешевская. «Цитология», т. IX, № 5 (1967).
5. В. Я. Арион, Г. П. Георгієв. «ДАН СССР», 172, 719 (1967).
6. В. Я. Арион, В. Л. Мантьєва, Г. П. Георгієв. «Молекулярная биология», № 1, вып. 5, 689 (1967).
7. M. Deken—Grenson a. R. Deken. «Biochim. et biophys. acta», 31, 195 (1959).
8. C. H. Fiske, Subbarow. «J. biol. chem», 66, 375 (1952).
9. Г. П. Георгієв. «Молекулярная биология», т. 4, вып. 1, 17 (1970).

ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕЯКИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АМІНОАЦИЛ-РНК-СИНТЕТАЗ У ПЕЧІНЦІ БІЛИХ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

Г. І. Дерев'янка, Ф. С. Леонтєва

Кафедра біохімії

Процес активації амінокислот, який вважається початковою ланкою білкового синтезу у тканинах, відбувається за участю аміноацил-РНК-синтетаз (АРС, К. Ф. 6. 1. 1.), активність яких значною мірою залежить від рН, концентрації субстрату, АТФ та іонів двовалентних металів [1, 2].

Характер впливу цих факторів на активність АРС, одержаних в різні періоди онтогенезу, може дати цінні відомості про

становище даних ферментів залежно від віку тварин. Раніше ми показували, що спорідненість з субстратом у деяких АРС печінки білих щурів змінюється у процесі їх індивідуального розвитку [3].

Метою цього дослідження було визначення дії різних концентрацій АТФ та іонів Mg^{++} на активність проліл-, метіоніл-, глутаміл-РС, а також на сумарну АРС-азну активність рН 5-фракції печінки білих щурів різного віку.

РН 5-фракцію печінки білих щурів у віці 1, 3, 12 місяців одержували за методом Хогланда [4] у модифікації В. А. Гвоздева [5].

АРС-азну активність препарату визначали гідроксамовим методом після інкубації протягом години при $37^{\circ}C$ та постійному струшуванні суміші, яка містила 0,3 мг рН 5-фракції (~ 4 мг білка), АТФ, $MgSO_4$, 0,4 мкмоль відповідної амінокислоти, а в разі визначення сумарної активності — суміш 14 амінокислот (по 4 мкмоль кожної), 1000—1500 мкмолів вільного гідроксиламіну, одержаного методом Байнерта [6]. При визначенні впливу АТФ та йонів Mg^{++} проводили інкубацію у присутності різних концентрацій згаданих компонентів (5—40 мкмоль) при рН 7,4. Вплив рН визначали на фоні додавання АТФ та $MgSO_4$ по 20 мкмоль. Статистичну обробку здобутих даних проводили за методом Стьюдента — Фішера.

Аналіз одержаних даних показує, що значення рН, а також концентрації Mg^{++} , АТФ, при яких спостерігається максимальна активність, деякою мірою варіюють у індивідуальних АРС. Разом з тим, існують і вікові особливості цих характеристик для даних ферментів.

Розглядаючи вплив різних рН середовища (табл. 1), можна бачити, що для глутаміл-РС тримісячних щурів оптимум рН становить 7,0, в той час як у одномісячних та однорічних він дорівнює 6,6 — 6,8. Для метіоніл-РС печінки щурів віком 1, 3 та 12 місяців оптимум рН відповідно становить 7,4; 7,6; 7,2. Аналогічна залежність від віку спостерігається також при визначенні активності проліл-РС.

Характер вікових змін оптимуму рН, що стосується сумарної АРС-азної активності, не відбиває закономірностей, властивих індивідуальним АРС. Спостерігається лише деяке зміщення оптимальних значень рН у тримісячних щурів при порівнянні з одномісячними та однорічними. Це явище цілком зрозуміле у зв'язку з різними значеннями рН-оптимумів індивідуальних АРС. При накладанні цих показників вікові зміни, виявлені внаслідок дослідження сумарного препарату, нівелюються.

Оптимальні концентрації $MgSO_4$ для АРС печінки щурів також залежать від віку тварин (табл. 2). Характер цієї залежності для кожного з використаних субстратів (амінокислот) має неоднозначну спрямованість. Проліл-РС одномісячних щурів

Таблиця 1

Вплив рН на активність деяких АРС печінки білих щурів різного віку (Е-аміноацилгідроксаматів, 0,3 мл рН 5-фракції).

Вік, в міся- цях	рН								
	6,4	6,6	6,8	7,0	7,2	7,4	7,6	7,9	8,3
Проліл-РС									
1	0,034	0,045	0,066	0,078	0,088	0,099	0,081	0,069	0,059
3	0,042	0,056	0,069	0,079	0,070	0,084	0,072	0,053	0,047
12	0,040	0,064	0,067	0,079	0,076	0,072	0,064	0,050	0,039
Метіоніл-РС									
1		0,036	0,041	0,049	0,059	0,073	0,063	0,046	0,037
3		0,049	0,074	0,084	0,088	0,095	0,108	0,097	0,080
12	0,030	0,035	0,039	0,044	0,052	0,048	0,039	0,032	0,030
Глутаміл-РС									
1	0,067	0,090	0,094	0,092	0,079	0,076	0,070	0,062	0,050
3	0,081	0,094	0,105	0,112	0,101	0,091	0,082	0,074	0,069
12	0,084	0,093	0,101	0,088	0,082	0,089	0,060	0,047	0,034
Сумарна АРС									
1		0,087	0,092	0,100	0,104	0,112	0,097	0,094	
3		0,106	0,109	0,114	0,124	0,110	0,108	0,096	
12		0,071	0,075	0,089	0,101	0,111	0,103	0,078	

має максимальну активність при вищій концентрації MgSO_4 порівняно з три- та дванадцятимісячними. Залежність активності метіоніл-РС від концентрації Mg^{++} у місячних та однорічних тварин однакова. Оптимальний рівень концентрації Mg^{++} для щурів цього віку дорівнює 15—20 $\mu\text{моль}$, в той час як у тримісячних тварин активність ферменту не змінюється у широкому діапазоні концентрацій. Оптимальні значення MgSO_4 (20—30 $\mu\text{моль}$) для глутаміл-РС і сумарної активності АРС рН 5-препарату не змінюються з віком.

Вплив віку на оптимальні значення АТФ (табл. 3) виявлено не для всіх досліджених АРС. Так, для проліл-РС не відзначено зв'язку між віком тварин та оптимумом концентрації АТФ. Ці ферменти однаково активні в межах концентрацій 10—15 $\mu\text{моль}$. Метіоніл-РС та сумарна АРС молодих щурів менш чутливі до зміни концентрації АТФ порівняно з тваринами інших вікових груп, що виражається у більш широкому діапазоні його оптимальних концентрацій.

Таким чином, зміщення активності, спричинені зміною рН, концентрації АТФ та MgSO_4 , для кожної з досліджених АРС

Таблиця 2

Вплив різних концентрацій іонів Mg^{++} на активність деяких АРС печінки білих щурів різного віку (Е-аміноацилгидроксаматів, 0,3 мл рН 5-фракції)

Вік, у міся- цях	$MgSO_4$, мкмоль						
	10	15	20	25	30	35	40

Проліл-РС

1	0,086	0,092	0,099	0,102	0,092	0,089	0,086
3	0,068	0,079	0,089	0,078	0,074	0,070	0,065
12	0,059	0,067	0,070	0,059	0,055	0,053	0,049

Проліл-РС

1	0,063	0,070	0,075	0,072	0,061	0,058	0,054
3	0,082	0,095	0,095	0,096	0,095	0,095	0,088
12	0,038	0,041	0,049	0,047	0,044	0,044	0,042

Глутаміл-РС

1	0,065	0,077	0,091	0,094	0,087	0,078	0,070
3	0,075	0,086	0,098	0,102	0,092	0,089	0,089
12	0,075	0,080	0,086	0,097	0,084	0,080	0,075

Сумарна АРС

1	0,087	0,093	0,100	0,105	0,099	0,091	0,085
3	0,105	0,128	0,142	0,145	0,150	0,143	0,138
12	0,083	0,098	0,111	0,116	0,088	0,085	0,088

відбивають наявність вікових особливостей у становіщі цих ферментів. У літературі є дані, згідно з якими окремі індивідуальні АРС тканин тваринного походження існують у декількох формах, що відрізняються своїми фізико-хімічними та кінетичними показниками. Так, відзначена гетерогенність треоніл-РС [7], лейцил-РС [8] із печінки щурів, а також тріптофаніл-РС із підшлункової залози великої рогатої худоби [9]. Грунтуючись на цих даних, можна допустити, що зміни властивостей АРС залежно від віку, які ми спостерігали, вказують на існування у тканинах різних форм цих ферментів, співвідношення яких змінюється у процесі індивідуального розвитку тварин.

Таким чином, в роботі показано, що значення рН середовища, концентрації Mg^{++} та АТФ, які є оптимальними для виявлення активності проліл-, метіоніл- та глутаміл-РС печінки, неоднакові у білих щурів віком 1, 3 і 12 місяців. Зміни активності залежно від концентрації Mg^{++} , АТФ, а також рН середовища неоднозначні за своєю спрямованістю для кожної з досліджених синтетаз. Можливо, вікові зміни в умовах, що сприяють

Таблиця 3

Вплив різних концентрацій АТФ на активність деяких АРС печінки білих щурів різного віку
(Е-аміноацилгідроксаматів, 0,3 мл рН 5-фракції)

Вік, в місяцях	АТФ, мкмоль							
	5	10	15	20	25	30	35	40

Проліл-РС

1	0,081	0,095	0,099	0,099	0,097	0,091	0,080	0,073
3	0,080	0,088	0,087	0,089	0,083	0,057	0,054	0,049
12	0,059	0,069	0,073	0,073	0,072	0,061	0,048	0,045

Метіоніл-РС

1	0,053	0,053	0,066	0,075	0,072	0,072	0,061	0,055
3		0,075	0,088	0,095	0,103	0,095	0,088	0,079
12	0,040	0,046	0,047	0,049	0,053	0,047	0,043	0,041

Глутаміл-РС

1	0,066	0,075	0,084	0,091	0,039	0,080	0,073	0,063
3	0,078	0,099	0,102	0,097	0,093	0,086	0,081	0,077
12	0,072	0,078	0,079	0,086	0,087	0,077	0,072	0,068

Сумарна АРС

1		0,083	0,097	0,100	0,091	0,084	0,080	
3		0,122	0,125	0,142	0,162	0,133	0,128	
12		0,078	0,093	0,111	0,101	0,088	0,083	0,072

виявленню найбільшої активності цих ферментів, свідчать про існування їх у кількох формах, неоднаково представлених у різні періоди розвитку організму.

ЛІТЕРАТУРА

1. М. В. Ноагланд. «Biochim et biophys. acta», 16, № 2, 228 (1955).
2. Ю. Шантрен. Биосинтез белков, М., «Мир». 1965.
3. Г. И. Деревянко. «Вестник Харьковского университета». Изд-во ХГУ, № 39, вып. 2, (1970).
4. М. В. Ноагланд, Е. В. Keller, Р. С. Zamecnik. «J. Biol. Chem», 218, № 1, 345 (1956).
5. В. А. Гвоздев. «Биохимия», 25, вып. 5, 920 (1960).
6. Н. Beinert, D. E. Green, P. Hele et al. «J. Biol. Chem.», 203, 35 (1953).
7. C. C. Allende, I. E. Allende, M. Gatica et al. «J. Biol. Chem», 241, № 10, 2245 (1966).
8. A. Vescia. «Biochem and Biophys. Commun», 29, № 4, 496 (1967).
9. А. В. Парин, Л. Л. Киселев. «Молекулярная биология», 3, № 6, 901 (1969).

РОЗПОДІЛ АКТИВНОСТЕЙ КИСЛОЇ РНК-АЗИ ТА СУКЦИНАТДЕГІДРОГЕНАЗИ У МІТОХОНДРІАЛЬНИХ ФРАКЦІЯХ НОРМАЛЬНОЇ ТА РЕГЕНЕРУЮЧОЇ ПЕЧІНКИ ТВАРИН РІЗНОГО ВІКУ

Н. М. Новікова, С. Г. Третяк

Інститут біології та кафедра біохімії

Для дослідження біохімічної гетерогенності мітохондріальних фракцій, виділених диференційним центрифугуванням, важливим є визначення в них рівня активності індикаторних ферментів мітохондрій та лізосом. Особливе значення такі дослідження мають для характеристики вікових змін мітохондрій.

Мета нашої роботи полягала у вивченні активності кислоти РНК-ази та сукцинатдегідрогенази — індикаторних ферментів лізосом та мітохондрій — у мітохондріальних фракціях, виділених з печінки щурів різного віку в нормі та при регенерації, що посилює процеси новоутворення клітинних структур [1].

Білим щурам лінії Вістар віком 1, 3, 12 або 24 місяці робили часткову гепатектомію за методом Хігінса та Андерсона [2]. У видалених частках печінки (норма) та регенераті (48-а година після операції) досліджували активність вказаних ферментів. Із сахарозних гомогенатів печінки, попередньо звільнених від ядер осадженням при 700 g (10 хв.), шляхом послідовних центрифугувань при зростаючих величинах прискорення виділяли 4 фракції мітохондрій (M_1 , M_2 , M_3 , M_4), які осідали відповідно при 2000, 4500, 8000 та 12 500 g. В одержаних фракціях визначали активність кислоти РНК-ази (рН 5,5) за Шапотом та іншими [3]; активність сукцинатдегідрогенази за Покровським та іншими [4]; білок, за Лоурі та іншими [5]. Активність ферментів виражалась у прирості оптичної густини ΔE при відповідній довжині хвилі за 1 хв. інкубації на 1 мг білка фракції. Одержані результати піддані статистичній обробці двома способами [6]: різниця між нормою та регенератом у кожному віці оброблена за методом порівняння зв'язаних груп (ці дані наведено в таблицях). Різниця між серіями дослідів, проведених на тваринах різного віку, оброблена за методом порівняння незв'язаних груп, і в тексті йдеться лише про статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$).

Аналіз активності кислоти РНК-ази у мітохондріальних фракціях печінки щурів віком 1,3 та 12 міс. (табл. 1) показує, що вона мінімальна у найважчих мітохондріях (M_1). В інших фракціях активність її підвищується, досягаючи максимальних значень у фракції M_4 . У місячних тварин активність цього ферменту найвища для M_3 і M_4 .

Таблиця 1

Розподіл активності кислої РНК-ази у мітохондріальних фракціях печінки білих щурів різного віку в нормі та на 48-у годину регенерації (ΔE_{260} за хвилину на 1 мг білка)

Вік, в місяцях	Стан тварин	M_1	M_2	M_3	M_4
1	Норма Регенерація p^1	$0,189 \pm 0,04$ $0,341 \pm 0,05$ <0,05	$0,361 \pm 0,05$ $0,460 \pm 0,10$ >0,1	$0,433 \pm 0,08$ $0,470 \pm 0,17$ >0,1	$0,309 \pm 0,06$ $0,824 \pm 0,06$ >0,05
3	Норма Регенерація p	$0,208 \pm 0,02$ $0,221 \pm 0,06$ >0,1	$0,276 \pm 0,04$ $0,311 \pm 0,04$ >0,1	$0,445 \pm 0,07$ $0,678 \pm 0,12$ >0,1	$1,078 \pm 0,140$ $0,867 \pm 0,210$ >0,1
12	Норма Регенерація p	$0,212 \pm 0,04$ $0,188 \pm 0,03$ >0,1	$0,240 \pm 0,05$ $0,339 \pm 0,06$ >0,1	$0,229 \pm 0,03$ $0,284 \pm 0,06$ >0,1	$0,380 \pm 0,06$ $0,404 \pm 0,11$ >0,1

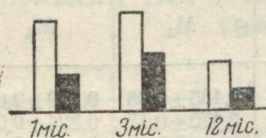
p^1 — рівень вірогідності різниці при порівнянні пар норма-регенерат.

Одержані дані добре погоджуються з існуючими відомостями про переважне співосадження лізосом з легкими мітохондріями [7]. Активність кислої РНК-ази у важких фракціях може бути обумовлена рядом причин: проявом активності інших нуклеаз, оптимум дії яких спостерігається за інших значень рН [8], адсорбцією вільних молекул лізосомального ферменту, що діє за цих умов [9]; співосадженням з важкими мітохондріями лізосом, які перебувають у стані «перетравлення» великих клітинних структур. Проте сталість РНК-азної активності та певний рівень її у важких мітохондріях навряд чи можна віднести за рахунок забруднень, скоріше вона обумовлюється наявністю відповідних ферментів у даних органелах. Виявлення дійсних причин активності кислої РНК-ази у важких фракціях потребує спеціальних досліджень.

Як видно з табл. 1, вікові зміни рівня активності кислої РНК-ази спостерігаються лише у фракції M_4 , де активність ферменту у тримісячних щурів вища, ніж у місячних та одnorічних.

У мітохондріальних фракціях регенеруючої печінки три- та дванадцятимісячних щурів (табл. 1) активність ферменту не змінюється, тоді як у місячних тварин вона істотно підвищується у фракції M_1 та M_4 . Підвищення активності у важких мітохондріях поки що пояснити не можна, але збільшення її в легких мітохондріях може відображати посилене новоутворення лізосом. Щоб з'ясувати, чи зв'язані зміни рівня активності РНК-ази при регенерації з синтезом ферменту *de novo* та ак-

тивацією його, був проведений ряд експериментів, коли частково гепатектомованим щурам вводили актиноміцин D, що блокує білковий синтез [10]. За цих умов відбувається різке пригнічення відновлюваних процесів у регенеруючій печінці, про



Активність кислої РНК-ази у мітохондріальній фракції M_4 регенеруючої печінки щурів різного віку при введенні актиноміцину D (■) та без нього (□). (ΔE_{260} за хв. на 1 мг білка).

що може свідчити зниження у досліджуваних тварин приросту маси органа приблизно на 70%. При цьому активність кислої РНК-ази різко знижується в найлегших мітохондріях, залишаючись незмінною в інших фракціях (див. рис.).

Одержані результати є прямим підтвердженням висловленого вище припущення про посилений синтез лізосомальних ферментів, а значить і самих лізосом, в регенеруючій печінці.

Спираючись на одержані дані, можна припустити, що підвищення рівня активності кислої РНК-ази у статевозрілих тварин також зумовлено посиленням новоутворенням лізосом.

Дослідження сукцинатдегідрогенази в мітохондріальних фракціях печінки білих щурів (табл. 2) свідчать про те, що активність її максимальна і практично однакова в важких мітохондріях і мінімальна в легких. Таку ж картину спостерігали у фракціях мітохондрій мозку [11].

Таблиця 2

Розподіл активності сукцинатдегідрогенази у мітохондріальних фракціях печінки білих щурів у нормі та на 48-у годину регенерації (ΔE_{600} за хв. на 1 мг білка)

Вік, в місяцях	Стан тварин	M_1	M_2	M_3	M_4
1	Норма	$0,199 \pm 0,009$	$0,199 \pm 0,024$	$0,192 \pm 0,009$	$0,142 \pm 0,017$
	Регенерація	$0,179 \pm 0,026$	$0,137 \pm 0,026$	$0,127 \pm 0,028$	$0,130 \pm 0,026$
	<i>p</i>	$>0,1$	$>0,05$	$>0,05$	$>0,1$
3	Норма	$0,163 \pm 0,019$	$0,146 \pm 0,016$	$0,141 \pm 0,017$	$0,158 \pm 0,010$
	Регенерація	$0,188 \pm 0,020$	$0,176 \pm 0,022$	$0,155 \pm 0,024$	$0,163 \pm 0,023$
	<i>p</i>	$>0,05$	$>0,05$	$>0,1$	$>0,1$
	Норма	$0,124 \pm 0,022$	$0,143 \pm 0,010$	$0,105 \pm 0,010$	$0,091 \pm 0,022$
	Регенерація	$0,115 \pm 0,010$	$0,144 \pm 0,022$	$0,126 \pm 0,010$	$0,105 \pm 0,010$
	<i>p</i>	$>0,05$	$>0,1$	$<0,01$	$>0,05$

Низька активність легких мітохондрій, мабуть, пов'язана з гетерогенністю цієї фракції, що містить значну частку лізосом.

Знайдений розподіл є характерним для місячних та дворічних щурів. На відміну від них у статевозрілих тварин активність сукцинатдегідрогенази однакова у всіх фракціях.

З віком рівень активності вказаного ферменту знижується у всіх мітохондріальних фракціях та досягає найнижчих значень у старих тварин. У регенеруючій печінці сукцинатдегідрогеназна активність має тенденцію до зниження тільки у деяких фракціях молодих щурів. Напевно, ця обставина, також як і підвищення активності кислої РНК-ази у регенераті печінки місячних тварин, пов'язана з більш інтенсивним новоутворенням клітинних структур на 48-у годину регенерації у молодих щурів проти статевозрілих та старих [12]. Можливо, що при цьому синтез структурних білків мітохондрій дещо випереджає утворення білків-ферментів, завдяки чому ферментативна активність органел в цей період знижується. Щодо статистично вірогідного підвищення активності в M_3 старих тварин, то пояснити його поки не можна.

Таким чином, розподіл активностей кислої РНК-ази та сукцинатдегідрогенази у мітохондріальних фракціях щурів різного віку має протилежний характер і практично не змінюється в онтогенезі. Але рівень активності цих ферментів залежить від віку тварин та інтенсивності новоутворення клітинних структур.

ЛІТЕРАТУРА

1. В. Ф. Сидорова, З. А. Рябинина, Е. М. Лейкина. Регенерация печени у млекопитающих. М., «Медицина». 1966.
2. G. M. Higgins, R. M. Anderson. «Arch. Path.», 12, 186 (1931).
3. В. С. Шапот, И. А. Чудинова, Г. Д. Кречетова. В зб. «Современные методы в биохимии», М., «Медицина», 267 (1964).
4. А. А. Покровский, А. И. Арчаков. В зб. «Современные методы в биохимии», М., «Медицина», 41 (1968).
5. O. H. Lowry, N. I. Rosenbrough, A. L. Farr, R. I. Rendall. «J. Biol. Chem.», 193, 265 (1951).
6. Н. Бейли. Статистические методы в биологии. М., «Мир» (1964).
7. К. Де Дюв. В зб. «Структурные компоненты клетки». М., ИЛ., 128, (1962).
8. В. С. Шапот. Нуклеазы. М., «Медицина» (1968).
9. К. Де Дюв. В зб. «Структура и функция клетки», М., «Мир», 90 (1964).
10. Э. Рейх, А. Сиреми, Д. Уорд. В зб. «Механизмы действия антибиотиков», М., «Мир», 676 (1969).
11. Я. В. Белік, Я. Т. Терлецька, В. І. Тюленев. «Укр. біохім. ж.», 37, № 6, 839 (1965).
12. Н. М. Новикова. В зб. «Старение клетки». М., 374 (1971).

АКТИВНІСТЬ НЕЙТРАЛЬНОЇ ДНК-АЗИ МІТОХОНДРІЇ НОРМАЛЬНОЇ ТА РЕГЕНЕРУЮЧОЇ ПЕЧІНКИ БІЛИХ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

М. Я. Шевцова

Інститут біології

Важлива роль нуклеїнових кислот у процесі синтезу білка, відтворення і передачі генетичної інформації зумовлює інтерес дослідників до специфічних ферментів нуклеїнових кислот-нуклеаз, що каталізують розклад зв'язків фосфорних ефірів між нуклеотидними групами в нуклеїнових кислотах чи полінуклеотидах.

Раніше нами була вивчена (на рівні гомогенатів) активність нейтральної ДНК-ази, що бере участь у розпаді ДНК тканини печінки щурів різного віку на першому етапі [1]. Ряд авторів, які досліджували внутріклітинний розподіл нуклеаз, установили, що нейтральна ДНК-аза здебільшого зосереджена у мітохондріальній фракції клітин [2—7]. Наша мета і полягала у вивченні активності нейтральної ДНК-ази мітохондріальної фракції печінки щурів в онтогенезі.

Для дослідів брали тварин чотирьох вікових груп: місячних, три-, дванадцяти- та двадцятичотирьохмісячних.

Було проведено дві серії дослідів: з інтактними тваринами і при регенерації через 6, 12, 24 і 48 годин після часткової гепатектомії.

Активність нейтральної ДНК-ази рН 7,0 визначали за методом В. С. Шапота та ін. [8].

Оптична густина супернатанта (екстинція — 260 $m\mu$) визначалась на спектрофотометрі СФ-4А. Активність нейтральної ДНК-ази виражали в одиницях екстинції, віднесеної до 1 mg азоту мітохондрій за 1 хвилину.

Розрахунок проводили за формулою:

$$A = \frac{\Delta E_{260} B}{T a}, \quad [9],$$

де E — екстинція дослідної проби без екстинції контрольних проб;

T — час інкубації, в $хв$;

B — розведення дослідного матеріалу;

a — кількість азоту в пробі.

Азот визначали за К'ельдалем.

Мітохондрії виділяли на холоді методом диференційного центрифугування [10].

Часткова гепатектомія проводилася за методом Хігінса і Андерсона [11].

Результати експериментів були піддані варіаційно-статистичному аналізу. Одержані дані представлено в таблиці.

Активність нейтральної ДНК-ази мітохондріальної фракції печінки білих щурів

Вік, в місяцях	Норма	Регенерація			
		6 год	12 год	24 год	48 год
1	0,117	0,112 $p > 0,05$	0,131 $p > 0,02$	0,116 $p > 0,05$	0,077 $p < 0,001$
3	0,099	0,119 $p > 0,02$	0,116 $p > 0,2$	0,141 $p > 0,002$	0,128 $p > 0,02$
12	0,082	0,087 $p > 0,05$	0,078 $p > 0,05$	0,129 $p < 0,002$	0,055 $p > 0,02$
24	0,063	0,043 $p > 0,05$	0,056 $p > 0,05$	0,052 $p > 0,05$	0,043 $p > 0,05$

З таблиці видно, що активність нейтральної ДНК-ази мітохондріальної фракції з віком падає.

При регенерації спостерігається збільшення активності нейтральної ДНК-ази у щурів віком 1, 3, 12 місяців, що досягає максимуму на 12-у годину у місячних тварин і 24-у в три- і дванадцятимісячних. У двадцятичотирьохмісячних тварин не спостерігається збільшення активності ферменту в межах двох діб після гепатектомії, можливо, в зв'язку з повільнішими метаболічними процесами.

ЛІТЕРАТУРА

1. М. Я. Шевцова. Зб. «Реферативная информация», К., «Вища школа», 4 (1970).
2. А. Д. Скридоренко. Вопросы экспериментальной онкологии, вып. 2, К., 184 (1966).
3. W. C. Schneider, G. H. Hogeboom. «J. Biol. Chem», 198, 155 (1952).
4. C. De Duve et all. «Biochem J.», 60, № 4, 604 (1955).
5. D. S. Beufay and et. «The Biochem. J.», 73, № 4, 628 (1959).
6. S. Shibko, M. Tappel. «Biochem J.», 95, 731 (1965).
7. F. H. Schneider. «Biochem. Pharm», 19, № 3, 819 (1970).
8. В. С. Шапот, И. А. Чудинова, Г. Д. Кречетова. Зб. «Современные методы в биохимии», М., «Медицина», 267 (1964).
9. А. А. Покровский, А. И. Арчаков, О. Н. Любимцева. Зб. «Современные методы в биохимии», М., «Медицина», 46 (1968).
10. E. Weinbach. «Anal Biochemistry», 2, 335 (1969).
11. G. M. Higgins, K. M. Anderson. «Arch. Path.», 12, 186 (1931).

ВМІСТ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ У МОЗКУ БІЛИХ ЩУРІВ, ЯКІ ПЕРЕБУВАЮТЬ НА ЗАТРИМУЮЧІЙ РІСТ ДІЄТІ, В ОНТОГЕНЕЗІ

Н. С. Білоконь

Кафедра фізіології людини і тварин

Дослідження рівня вільних амінокислот у тканинах, зокрема в мозку, в онтогенезі — одне з важливих питань, пов'язаних з старінням організму. Вільні амінокислоти є пластичним матеріалом для синтезу білка, нуклеїнових кислот, гормонів та вітамінів. В. М. Нікітін та інші [1—4] встановили, що тривале утримування тварин (білих щурів) на повноцінній за вмістом білків, вітамінів та солей, але калорійно недостатній дієті, приводить до значного збільшення тривалості життя дослідних тварин. Як свідчать дані ряду авторів [5—7], з віком рівень вільних амінокислот у мозку знижується. У зв'язку з цим було цікаво з'ясувати, який вплив справляє дієта, що затримує ріст, на кількість вільних амінокислот у мозку білих щурів в онтогенезі.

Як об'єкт дослідження використовувались самці білих щурів двох груп: 1) контрольні, що одержували їжу *ad libitum*; 2) дослідні, яким давали калорійно недостатню їжу. Досліджувались новонароджені тварини і віком 1, 3, 12 і 24 місяці. Вільні амінокислоти визначалися за методом Т. С. Пасхіної [8] з деякими модифікаціями. Елюати спектрофотометрувалися на спектрофотометрі СФ-4А. Одержані дані були оброблені варіаційно-статистичним методом за Бейлі [9]. Результати досліджень зведено в таблицю.

Амінокислотами, які найбільш активно обмінюються в мозку, є глутамінова, аспарагінова та ГАМК. Їх вміст змінюється в онтогенетичному аспекті однозначно і в контрольних, і в дослідних тварин: у місячному віці кількість цих амінокислот збільшується у порівнянні з новонародженими, залишається на високому рівні до 12 місяців і падає тільки в старості. Такі дані (відносно норми) узгоджуються з даними ряду авторів [10—13]. При порівнянні кількості аспарагінової, глутамінової та ГАМК амінокислот у контрольних і дослідних тварин бачимо, що вміст не змінюється при переведенні тварин на калорійно недостатню дієту. Однак кількість аспарагінової амінокислоти у старих дослідних тварин залишається на рівні молодого віку.

Вміст гліцину знижується у тримісячних тварин проти місячних, що пов'язано, можливо, з перетворенням його при обміні в інші амінокислоти, компоненти нуклеїнових кислот, вуглеводів і ліпідів, причому кількість гліцину однакова у контрольних і дослідних тварин.

Вік, в місяцях

Амінокислоти, мг % сирові ваги	Новона- роджені	1		3		12		24	
		контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Гістидин	10,4 ± 1,7	8,8 ± 1,2	8,7 ± 1,5	8,4 ± 1,5	8,3 ± 1,0	7,3 ± 0,9	8,9 ± 1,4	6,5 ± 0,8	
Гліцин	7,7 ± 0,9	15,4 ± 2,4	6,9 ± 0,7	7,2 ± 0,7	7,5 ± 1,6	6,7 ± 0,4	6,8 ± 1,4	7,8 ± 0,3	
Серин	7,0 ± 1,8	7,3 ± 1,8	7,8 ± 1,0	3,2 ± 0,2	2,7 ± 0,6	3,4 ± 0,2	3,0 ± 0,4	3,3 ± 0,3	
Глютамінова кислота	54,7 ± 11,3	145,4 ± 11,3	164,3 ± 13,3	156,2 ± 9,4	149,0 ± 11,7	155,4 ± 8,1	129,5 ± 6,6	115,1 ± 8,2	
Аспарагінова кислота	25,8 ± 6,9	34,7 ± 5,0	34,6 ± 6,2	38,5 ± 2,0	32,8 ± 2,8	35,9 ± 1,4	21,8 ± 2,1	32,9 ± 3,8	
Аланін	6,1 ± 1,9	6,9 ± 0,8	8,8 ± 0,8	7,0 ± 1,0	7,3 ± 0,6	4,0 ± 0,2	8,0 ± 0,3	4,2 ± 0,3	
ГАМК	14,1 ± 1,6	20,1 ± 0,6	27,7 ± 0,8	28,4 ± 1,0	27,3 ± 1,0	25,3 ± 0,8	18,6 ± 1,4	18,5 ± 0,7	
Аргінін	9,8 ± 1,8	7,2 ± 1,7	8,7 ± 1,9	7,2 ± 1,4	6,8 ± 0,6	7,4 ± 0,5	7,2 ± 1,0	8,5 ± 0,9	
Лізин	9,1 ± 1,4	9,5 ± 1,7	7,6 ± 1,6	14,3 ± 1,3	8,3 ± 0,7	10,6 ± 2,2	7,7 ± 1,1	8,1 ± 1,1	
Треонін	7,4 ± 0,7	7,5 ± 0,8	11,4 ± 1,4	7,1 ± 1,0	13,2 ± 1,8	7,9 ± 1,3	10,5 ± 2,9	6,6 ± 0,7	
Тирозин	7,1 ± 1,1	2,7 ± 0,7	6,0 ± 1,0	5,6 ± 0,6	2,6 ± 0,3	5,1 ± 0,4	2,8 ± 0,7	3,5 ± 0,4	

Рівень таких амінокислот, як треонін, аланін, тирозин, збільшується у контрольних тварин до тримісячного віку, а потім знижується. У тварин з затриманим ростом кількість треоніну з віком не змінюється, а тирозіну і аланіну зменшується, причому вміст цих амінокислот у дослідних тварин дещо нижчий, ніж у контрольних.

Рівень гістидину і аргініну істотно не змінюється в онтогенезі ні у контрольних, ні у дослідних тварин.

Таким чином, дієта, що затримує ріст, справляє певний вплив на вміст вільних амінокислот мозку, викликаючи збільшення концентрації аспарагінової кислоти, зниження вмісту аланіну і треоніну. Концентрація ж більшості амінокислот мозку істотно не змінюється у тварин з пролонгованим життям. Це свідчить про значну постійність вмісту вільних амінокислот мозку.

ЛІТЕРАТУРА

1. C. M. McCay, M. F. Growell, L. A. Maynard. «J. of nutrition», 10, 63 1935.
2. В. Н. Никитин и Л. И. Ставицкая. «Труды ин-та биологии и биол. ф-та ХГУ», 29, 125—135 (1960).
3. В. Н. Никитин и Л. И. Ставицкая. «Труды ин-та биологии и биол. ф-та ХГУ», 29, 111 (1960).
4. Л. И. Ставицкая. «Труды ин-та биологии и биол. ф-та ХГУ», 33—34, 147 (1962).
5. Е. В. Парина и В. П. Мищенко. «Журнал эволюционной биохимии и физиологии», 2, № 5, 439 (1966).
6. Н. В. Сомкина и А. А. Кричевская. «Журнал эволюционной биохимии и физиологии», 4, № 6, 489 (1968).
7. Э. А. Гордиенко. Материалы симпозиума по основным проблемам возрастной физиологии и биохимии. Харьков, Изд-во ХГУ, 120 (1963).
8. Т. С. Пасхина. В кн. «Современные методы в биохимии», М., 162 (1964).
9. Н. Бейли. Статистические методы в биологии. М., «Мир», (1963).
10. H. C. Agrawal, I. M. Davis, W. S. Himwich. «J. Neurochem», 15, № 9, 917, (1968).
11. I. M. Davis, W. A. Himwich, H. C. Agrawal. «Development Psychobiol», 1, № 1, 24 (1968).
12. H. C. Agrawal, I. M. Davis, W. A. Himwich. «J. Neurochem», 15, № 6, 529 (1968).
13. Theo Gerritsen, A. Harry Waisman. «Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.», 129, № 2, 542 (1968).

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ФРАКЦІЙНОГО СКЛАДУ ГЕМОГЛОБІНУ БІЛИХ ЩУРІВ

О. П. Силін, В. І. Парамейчук

Кафедра фізіології людини і тварин

Ще в 1866 році Кербер [1] показав, що гемоглобін не є однорідним білком. Однак тільки останнім часом внаслідок чис-

ленних досліджень виявилась надзвичайна різноманітність форм гемоглобіну не тільки у різних видів [2], а й у межах одного виду, особливо в людини [3].

Причиною цієї різноманітності насамперед є спадкові фактори, що обумовлюють як амінокислотний склад, так і третинну структуру гемоглобіну. Крім розповсюдженого гемоглобіну *A* (гемоглобін дорослих), відомі також патологічні *S* і *C*, відмінні від гемоглобіну *A* лише однією амінокислотою в шостому положенні. Є гемоглобіни, котрі зустрічаються у невеликого кола осіб. Деякі обмежені однією родиною. Гемоглобін *A* в свою чергу виявився неоднорідним. За допомогою різних методів електрофорезу вдалось показати існування міnorних фракцій, які постійно зустрічаються і на електрофореграмах мають вигляд вузьких смуг. Майже завжди існує смуга A_1 [4], іноді фіксуються дві міnorних фракції A_1 і A_2 [5]. У білих щурів Г. М. Рекун і М. Ф. Стародуб [6], застосовавши дисковий електрофорез, в поліакриламідному гелі, знайшли п'ять фракцій гемоглобіну. Особливістю останнього методу є те, що він дозволяє поділити білок не тільки в залежності від електричного заряду, але й за величиною молекул.

Проте досліджень гетерогенності гемоглобіну *A* у зв'язку з віком майже немає.

Досліди проводили на білих щурах. Брали по десять щурів місячного, тримісячного, однорічного й дворічного віку. Гемоглобін еритроцитів у щурів кожного віку спочатку розділили на дві частини ступінчастим гемолізом. Одна частина одержана гемолізом еритроцитів у восьмикратному об'ємі дистильованої води. До розчину еритроцитів додавали декілька краплин хлороформу для розчинення ліпотропних пігментів, а потім розчин залишали на ніч для одержання оксигемоглобіну. На другий день із розчину видаляли струму еритроцитів центрифугуванням протягом години і гемоглобін ставили на електрофорез. Другу частину одержували обробкою строми сапоніном. Для цього її багаторазово відмивали водою, після чого додавали половину об'єму взятих еритроцитів, 0,06% розчину сапоніну на фізіологічному розчині.

Електрофорез здійснювався у веронал-ацетатному буфері при рН 8,7 протягом 17—19 годин. Було взято силу струму 0,15 *ма/см* поперечного перетину паперу при напруженні струму 150 в. Іонна сила електродного розчину дорівнювала 0,05.

Одержані нами дані свідчать, що у щурів при гемолізі еритроцитів дистильованою водою звільнюється приблизно дві третини гемоглобіну, який міститься в них. Решта входить до строми еритроцитів і може бути видалена через додаткову обробку останньої сапоніном. Далі ми називатимемо першу частину гемоглобіну вільним, а другу — зв'язаним. З віком все більше гемоглобіну міцно осідає на строми. При електрофорезі цей ге-

моглобін ділиться на дві фракції. Одна з них рухоміша, достовірно зростає з віком; друга, менш рухома, трохи вища в середньому віці у порівнянні з молодим і старим. Однак ці зміни статистично не стверджуються (див. табл.).

Вміст різних фракцій гемоглобіну в еритроцитах білих щурів різного віку, %

Вік, в місяцях	Вільний гемоглобін				Зв'язаний гемоглобін		
	весь	A_1	A_2	A_3	весь	повільний	швидкий
1	73,6	52,9	13,4	7,3	26,4	6,4	20,4
3	71,6	52,6	11,9	7,1	28,4	7,7	20,7
12	70,1	51,8	11,8	6,5	29,9	7,8	22,1
24	70,5	53,8	10,9	5,8	29,5	6,4	23,1
$p_1 - 24$	<0,05	>0,15	<0,01	<0,01	<0,1	>0,1	<0,05

Вільний гемоглобін під впливом електричного поля ділиться на три фракції. Ми зазначили їх відповідно A_1 , A_2 і A_3 . Основна фракція — найрухоміша A_1 . Вона практично з віком не змінюється, тому можна вважати, що транспортування кисню еритроцитами також істотно не змінюється з віком. Інші дві фракції відносно всього гемоглобіну становлять незначний процент, однак саме тут з віком відбуваються найбільш істотні зміни. Ці фракції помітно й достовірно зменшуються у старих тварин. Складається враження, що швидка фракція міцно зв'язаного гемоглобіну збільшується за рахунок малих фракцій вільного. Можливо, останні безпосередньо осідають на стромі через якісь хімічні чи фізико-хімічні їх особливості і тоді збільшення зв'язаного гемоглобіну з віком може бути наслідком тривалішого життя еритроцитів у старих тварин, тобто довшого їх знаходження у кров'яному руслі. Тут діє фактор часу. Можливе й інше пояснення: з віком інтенсивніше відбуваються якісь структурні перетворення цих фракцій, що ведуть до їх осідання на стромі еритроцитів. Фактор часу у цьому випадку не відіграє ролі і зв'язаний гемоглобін може наростати при одній і тій же тривалості життя еритроцитів старих і молодих тварин. З'ясування того, яке з цих двох припущень вірне, і є метою подальших наших досліджень.

Отже, в процесі старіння білих щурів спостерігається зміна фракційного складу гемоглобіну. Однак кількісні параметри цих змін не дають права вважати, що вони істотно впливають на виконання основної функції еритроцитів — транспорт кисню. Скоріше вони відображають загальний процес вікових змін у тканин організму.

ЛІТЕРАТУРА

1. Korber E. Über Differenzen des Blutfarbstoffes, Dorpart, (1866).
2. П. А. Коржуев. Гемоглобин. М., «Наука» (1964).
3. Davies G. N. «The Lancet», 2, 957 (1964).
4. Giri K. V., Pillai N. C. «Nature», 178, 1057, (1956).
5. А. М. Ефименко. «Лабораторное дело», 7, 412 (1965).
6. Г. М. Рекулин, М. Ф. Стародуб. «Укр. біохім. ж.», 41, 2, 130 (1969).

ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ НЕЙТРАЛЬНОРОЗЧИННОГО ТА КИСЛОТНОРОЗЧИННОГО КОЛАГЕНІВ

Є. Е. Перський, Л. А. Утевська, А. І. Щетинін

Інститут біології та кафедра біохімії

Розчинні білки колагенового типу можна досить чітко розмежувати на дві фракції: колаген, що добувається з тканин нейтральними солевими розчинами (НРК) [1] і колаген, який вилучається розчинами кислот або кислими буферами (КРК) [2]. Фракція НРК містить, здебільшого, макромолекули, що складаються з трьох не зв'язаних між собою ковалентними зв'язками поліпептидних ланцюгів (α -субодиниці), тоді як у фракції КРК переважають макромолекули, де два з трьох поліпептидних ланцюгів ковалентно зв'язані між собою, утворюючи β -субодиницю [2, 3]. Досі неясно, обмежуються ці відміни між макромолекулами НРК і КРК наявністю додаткових міжланцюгових так званих «перехресних» зв'язків у КРК, чи ці відміни істотніші. Роботи, присвячені порівняльному вивченню НРК і КРК, суперечливі і не дозволяють зробити остаточних висновків про тотожність і різницю їх молекулярних параметрів [4, 5].

У зв'язку з цим у даній роботі зроблена спроба оцінити гідродинамічні параметри НРК і КРК.

Препарати одержували з колагенових волокон хвостових сухожилів білих щурів лінії Вістар у віці три місяці. НРК виділяли чотирикратною екстракцією 0,5 М NaCl (кожна екстракція тривала 24 години). Потім волокна ретельно промивали дистильованою водою для видалення NaCl і виділяли КРК 48-годинною екстракцією 0,006 М CH_3COOH . Розчини НРК і КРК діалізували проти 0,01 М Na_2HPO_4 протягом 48 годин. Осади, що випали, відділяли центрифугуванням і розчиняли в 0,1 М CH_3COOH . Одержані розчини центрифугували годину при 8000 об/хв. Всі операції виділення проводили при 5°С. Концентрацію колагена визначали за вмістом оксипроліну [6]. Вміст іонів Na, що свідчать про присутність у розчинах НРК і КРК солей, визначався за допомогою полум'яного фотометра і становив у розрахунку на 0,01%-ний розчин колагену для НРК ≈ 4 мг/л, для КРК ≈ 2 мг/л.

Вивчення субодиночного складу НРК і КРК проводили за допомогою хроматографії на колонці з КМ-целюлози. Перед хроматографуванням розчини НРК і КРК в 0,1 М CH_3COOH доводили за допомогою розчину CH_3COONa до рН 4,8 (іонна сила 0,06). Потім одержані розчини денатурувалися протягом 30 хвилин при 41°C і наносилися на колонку. Елюювання проводили ацетатним буфером рН 4,8, іонна сила 0,06 в лінійному градієнті NaCl від іонної сили 0,07 до іонної сили 0,17. Швидкість проходження буферу дорівнюва-

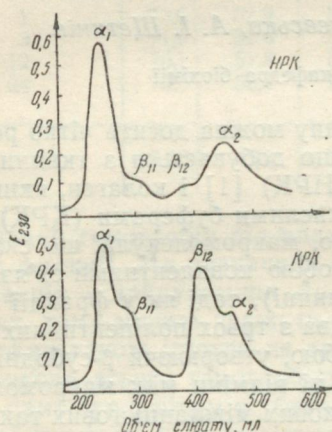


Рис. 1. Хроматографічний профіль α - і β -субодиноць денатурованих нейтрально-розчинного та кислотно-розчинного колагенів на колонці з КМ-целюлози.

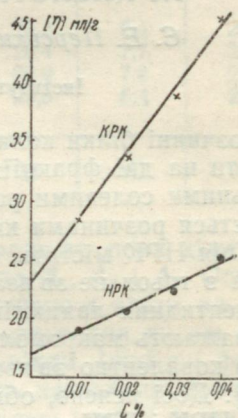


Рис. 2. Характеристична в'язкість розчинів нейтрально-розчинного та кислотно-розчинного колагенів у 0,1 М CH_3COOH .

ла 100 мл/год, проби відбирали об'ємами по 5 мл, їх оптичну густина визначали при 230 нм. За цих умов послідовність виходу субодиноць макромолекул колагену така: α_1 , β_{11} , β_{12} , α_2 [3]. Як показано на рис. 1, в препаратах НРК переважають α -субодиноці (83% α - і 17% β -субодиноць), в той час як у препаратах КРК співвідношення α - і β -субодиноць становить 1:1.

Для порівняльної оцінки гідродинамічних параметрів макромолекул НРК і КРК була виміряна характеристична в'язкість їх розчинів в 0,1 М CH_3COOH . Вимірювання проводили в вискозиметрах Оствальда з часом витікання води 90—120 сек при $20^\circ\pm 0,05^\circ\text{C}$.

На рис. 2 видно, що характеристична в'язкість розчинів НРК дорівнює 17 дЛ/г, а розчинів КРК — 23 дЛ/г. Нахил екстраполяційної прямої для розчинів КРК крутіший, ніж для

НРК, що вказує на сильнішу міжмолекулярну взаємодію в розчинах КРК. Одержані результати узгоджуються з даними, відбитими в роботі [5], і можуть свідчити про різницю в гідродинамічних параметрах макромолекул, що містяться в розчинах НРК і КРК.

ЛІТЕРАТУРА

1. J. Gross, J. H. Heighberger, F. O. Schmitt. «Proc. Nat. Acad. Sci». USA, 41, 1, (1955).
2. В. Н. Орехович, В. О. Шпикитер. Биологическое значение, свойства и строение растворимых коллагеноподобных белков (проколлагенов). М., Изд-во АН СССР, (1962).
3. K. A. Piez, M. S. Lewis, G. R. Martin, J. Gross. «Biochim. et Biophys. Acta», 53, 596, (1961).
4. J. Engel, G. Beier. «Hoppe—Seyler's Z», 334, 201, (1963).
5. S. Kawai, S. Hashimoto, T. Sode, T. Miyata, T. Nishihara. В кн. «Biochim. et Physiol. Tissue Conjonctif.», 249, (1966).
6. А. Л. Зайдес, А. Н. Михайлов, О. И. Пушенко. «Биохимия», 29, 5 (1964).

БІЛКИ ШКІРИ В ОНТОГЕНЕЗІ ПРИ РІЗНИХ ЕНДОКРИННИХ ДІЯХ

Ю. А. Мороз

Інститут біології

Центральне місце у вивченні вікових змін білків сполучної тканини належить колагену. Нині встановлено, що в процесі старіння відбуваються кількісні й якісні зміни цього білка: знижується вміст розчинних фракцій колагену [1, 2], підвищується впорядкованість структури колагенових волокон, про що свідчить збільшення міцності волокон на розрив [3] і зростання подвійного променезаломлення [4].

Вікових змін зазнає і такий білок сполучної тканини, як еластин. У процесі онтогенезу збільшується, а іноді зменшується його концентрація в ряді органів [5]. На вікові зміни білків сполучної тканини значною мірою впливають гормональні фактори [6, 7].

Нашою метою було вивчення впливу гідрокортизону, тироксину, адреналектомії, тиреоїдектомії та гіпофізектомії на колаген та еластин шкіри білих щурів різного віку.

Проведено дві серії дослідів. Спочатку вивчали щурів віком 1, 3, 12, 24 місяці, частина з них протягом 6 днів одержувала гідрокортизон по 2,5 мг на 100 г ваги тіла, а решта — тироксин по 100 γ на 100 г ваги тіла.

Потім досліджували три групи тварин: адреналектомованих, тиреоїдектомованих та гіпофізектомованих. Операцію ви-

Таблиця 1

Вплив гідрокортизону і тироксину на білки шкіри, мг на 1 г сухої тканини

Вік, в міся- цях	Колаген			Розчинний колаген			Еластин			
	норма	гідро- корти- зон	тироксин	норма	гідро- кортизон	тироксин	норма	гідро- кортизон	% до норми	тироксин % до норми
1	678,36	656,19 $p > 0,05$	655,13 $p > 0,05$	474,40	506,55 $p > 0,05$	466,58 $p > 0,05$	184,89	137,78 $p < 0,05$	74,4	179,92 $p > 0,05$
										97,3
3	842,30	839,92 $p > 0,05$	852,56 $p > 0,05$	493,42	495,30 $p > 0,05$	482,79 $p > 0,05$	109,68	58,12 $p < 0,001$	52,9	78,29 $0,001 < p < 0,01$
										71,3
12	885,23	904,93 $p > 0,05$	869,38 $p > 0,05$	301,69	310,39 $p > 0,05$	290,23 $p > 0,05$	102,27	46,07 $p < 0,001$	45,0	48,92 $p < 0,001$
										47,8
24	884,35	911,99 $p > 0,05$	915,60 $p > 0,05$	169,12	186,91 $p > 0,05$	203,54 $0,01 > p > 0,001$	81,20	49,65 $p < 0,05$	61,1	57,33 $p < 0,05$
										65,6

конували у віці 1 місяць, а через 2 місяці шурів брали для досліду. В обох серіях визначали вміст еластину, сумарного колагену і розчинної фракції колагену. Колаген визначали за методом Неймана і Логана в модифікації А. А. Зайцес, А. Н. Михайлової та О. І. Пущенко [8].

Еластин вилучали за методом, відбитим у роботі [9], а визначали за мікро-К'ельдалем. Розчинний колаген виділяли за [10].

Дані про вплив гідрокортизону і тироксину на білки шкіри подано в табл. 1.

Як бачимо, гідрокортизон і тироксин не впливають на вміст сумарного колагену. Розчинність останнього при введенні гідрокортизону не змінюється, а тироксин викликає деяке підвищення розчинності у старих шурів. Під впливом обох гормонів значно зменшується концентрація еластину, особливо у дорослих, 12-місячних тварин. В табл. 2 наведено результати досліджень після вирізання деяких залоз внутрішньої секреції.

Таблиця 2

Вплив адrenaлектомії, тиреоїдектомії та гіпофізектомії на білки шкіри тримісячних шурів, мг на 1 г сухої тканини

Вид дії	Колаген	Розчинний колаген	Еластин
Норма	842,30	493,42	109,68
Адrenaлектомія	909,72 $0,001 < p < 0,01$	481,64 $p > 0,05$	123,45 $p > 0,05$
Тиреоїдектомія	832,58 $p > 0,05$	508,19 $p > 0,05$	109,26 $p > 0,05$
Гіпофізектомія	653,18 $p < 0,001$	387,92 $p < 0,001$	169,61 $p < 0,001$

Ці дані свідчать, що у адrenaлектомованих тварин концентрація колагену достовірно збільшується, але залишається незмінною його розчинна фракція. Кількість еластину також не змінюється. Після вирізання щитовидних залоз названі показники залишаються в нормі.

У гіпофізектомованих тримісячних шурів концентрація сумарного і розчинного колагену значно нижча за норму, а кількість еластину набагато перевищує її. Дані, одержані після вирізання гіпофізу, схожі з результатами, одержаними на тримісячних нормальних шурах (табл. 1), що свідчить про затримання вікових змін у гіпофізектомованих тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Hruza Z., Hlawakowa V. «Gerontologia», 11, 76 (1965).
2. McGavack T. H., Kao K.—J. T. «J. Amer. Geriatr. Soc.», 11, 1024 (1963).
3. Verzar F., Meyer A. «Gerontologia», 5, 163 (1961).
4. В. Н. Никитин, Э. Е. Перский. «Вестник Харьковского университета». сер. биол. вып. 1, № 11, (1965).
5. Е. В. Парина. «Проблемы возр. физиол. и биохимии», 33—34, 316 (1962).
6. Smith Q. T. «J. Investig. Dermatol.», 39, N 3, 219 (1962).
7. Vogel H. G., Ther L. «Biochimie et physiol. tissu conjonctif», Lyon, 645, (1966).
8. А. А. Зайдес, А. Н. Михайлова, О. И. Пушенко. «Биохимия», 29, 1, 5 (1964).
9. Lois H. Lightfoot and Thomas B. Coolidge. «J. Biolog. Chem.», 176, 477 (1948).
10. Verzar F. «Gerontologia», 9, N 4, 209 (1964).

ВІКОВІ ЗМІНИ КОРТИКОТРОПІНЗВІЛЬНЮЮЧОЇ АКТИВНОСТІ ГІПОТАЛАМУСУ

Л. І. Ставицька

Інститут біології

З віком істотно змінюється здатність тваринного організму до адаптації: дуже низька у ранньому віці, вона далі підвищується, досягає максимального рівня в період статевої зрілості, а в старості помітно падає [4, 5, 7, 8, 10, 13, 14]. У здійсненні адаптаційних реакцій важлива роль належить гіпоталамо-гіпофізарно-адреналовій системі. Вивчення гіпофізу і кори наднирників виявило, що їх вікові зміни не мають різко вираженого характеру [1, 2, 3, 6, 9—12, 15] і повністю не можуть спричинити істотних вікових зрушень у здатності організму до розвитку стрес-реакцій. Тому значний інтерес становить вивчення вищого ступеня цієї системи (гіпоталамусу) в залежності від віку тварин.

Визначалась кортикотропінзвільнююча активність фрагментів гіпоталамусу, які містять медіальну еміненцію, у самців білих щурів лінії Вістар семи вікових груп (новонароджені, 7—8 днів, 14—15 днів, 1, 3, 12 і 24 місяці). Визначення здійснювалось трьома етапами:

1. Приготування і ліофільне висушування оцтово-кислого екстракту фрагментів гіпоталамусу досліджуваних тварин, за методом Вернікоса-Данеліса [19].

2. Інкубація гіпофізів тримісячних щурів-самців (тест-тварин) з додаванням до інкубаційного середовища висушених і розчинених у Кребс-Рінгер-бікарбонатному буфері гіпоталамічних екстрактів тварин за методом Жуана [16].

3. Визначали збільшення інкреції АКТГ гіпофізами тест-тварин під впливом гіпоталамічного екстракту за підвищенням

продукції кортикостероїдів *in vitro* корою наднирників місячних щурів (самців) при додаванні інкубаційного середовища гіпофізів тримісячних тест-тварин (метод Сефрана та Шелі) [18].

Кількість додаваного гіпоталамічного екстракту була завжди однаковою і відповідала 1/2 середньої ваги фрагмента гіпоталамусу тримісячних щурів.

Показником кортикотропінзвільнюючої активності гіпоталамусу було збільшення інкреції АКТГ *in vitro* під впливом гіпоталамічного екстракту досліджуваних тварин. Одержані результати оброблено статистично і наведено в таблиці.

Кортикотропінзвільнююча активність гіпоталамусу білих щурів-самців різного віку

Вік досліджуваних тварин	Інкреція АКТГ гіпофізами тест-тварин <i>in vitro</i> (в міліюдиницях)			
	базальна	при додаванні екстрактів гіпоталамусу	збільшення інкреції при додаванні екстрактів гіпоталамусу	можливість випадковості
Новонароджені	2,85±0,49	4,72±0,86	1,87±0,68	$p < 0,05$ $p < 0,01$ $p > 0,05$ $p < 0,05$ $p < 0,01$ $p > 0,05$ $p > 0,05$ $p < 0,001$
7—8 днів	1,67±0,31	3,05±0,36	1,38±0,36	
14—15 днів	1,36±0,33	7,74±1,55	6,38±1,51	
1 місяць	1,66±0,33	5,82±1,06	4,16±0,95	
3 місяці	2,57±0,44	10,98±1,73	8,41±1,47	
12 місяців	1,51±0,11	5,31±0,74	3,80±0,70	
24 місяці	1,88±0,30	4,13±0,78	2,25±0,75	

Визначення кортикотропінзвільнюючої активності гіпоталамусу новонароджених тварин показало занадто низький її рівень у цьому віці. Наші результати добре узгоджуються з літературними даними про відсутність реакції стрес у новонароджених [4, 13, 14] і свідчать, що ця відсутність, очевидно, у значній мірі зумовлена низькою активністю нейросекреторних клітин гіпоталамусу, які виробляють кортикотропінзвільнюючий фактор (CRF), стимулюючий секрецію АКТГ аденогіпофізом.

Наші дослідження не виявили збільшення кортикотропінзвільнюючої активності гіпоталамусу у 7—8-денних щурят. Рівень її був такий же низький, як у новонароджених. Різка підвищення кортикотропінзвільнюючої активності гіпоталамусу спостерігалось у 14—15-денних тварин, коли вона фак-

тично набувала рівня дорослих тварин. Цей різкий стрибок, мабуть, пояснюється тим, що 14 днів для білих щурів — критичний вік, коли у них з'являється зір і значно збільшується можливість впливу різних зовнішніх агентів, в тому числі і стрес-факторів, на їх нервову систему. Це, можливо, значною мірою сприяє дозріванню гіпоталамічних структур, відповідальних за вироблення CRF. Після досягнення двотижневого віку кортикотропінзвільнююча активність гіпоталамусу встановлюється на досить сталому рівні, виявляючи лише деяку тенденцію до зниження у місячних тварин. У три місяці, коли білі щури досягають статевої зрілості, знову відбувається підвищення рівня кортикотропінзвільнюючої активності гіпоталамусу, однак, це підвищення статистично значне лише у порівнянні з місячним віком, відносно ж 14- — 15-денного віку воно виявилось статистично мало помітним.

При старінні тварин рівень кортикотропінзвільнюючої активності гіпоталамусу значно знижується проти молодого віку. Це зниження відбувається, головним чином, до 12 місяців, а в період між 12 і 24 місяцями зменшення вмісту CRF у гіпоталамусі не спостерігається. Лише збільшується статистична значимість цих змін. З літератури відомо, що у старих тварин здатність до нормального розвитку стрес-реакцій теж значно зменшується [7, 8, 10, 13]. Зниження кортикотропінзвільнюючої активності гіпоталамусу вже у 12-місячному віці дає змогу припустити, що первинними у вікових змінах гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової системи, що обумовлюють зменшення цієї здатності, є зміни функціональної активності гіпоталамічних структур, відповідальних за утворення CRF-фактора, який стимулює адренкортикотропну функцію гіпофізу.

Таким чином, виявлено занадто низький рівень кортикотропінзвільнюючої активності гіпоталамусу у новонароджених і 7- — 8-денних тварин (білих щурів лінії Вістар).

Найбільш високого рівня кортикотропінзвільнююча активність досягає під час прозрівання тварин і при досягненні ними статевого розвитку (14—15 днів і 3 місяці). Старіння білих щурів (12 і 24 місяці) супроводжується значним зниженням кортикотропінзвільнюючої активності гіпоталамусу. Певний паралелізм між виявленою закономірністю і віковими змінами здатності організму до розвитку стрес-реакцій свідчить про те, що останні в значній мірі викликані змінами, що відбуваються з віком у гіпоталамічних структурах, зв'язаних з продукцією CRF.

ЛІТЕРАТУРА

1. В. Г. Баранов, И. Ю. Подольская, И. Т. Розовская. «Пробл. эндокринол. и гормонотер.», 6, 95 (1960).

2. В. И. Беккер. «Вопр. геронтол. и педиатрии», 4, 221 (1965).
3. Л. Н. Блок. О возрастных изменениях системы гипофиз — кора надпочечников. Автореф. канд. дисс., Харьков, 1964.
4. И. А. Дудник. Сб. научн. работ н.-и. ин-та охраны материнства и детства им. Н. К. Крупской, Харьков, 90 (1958).
5. Г. А. Мишина. «Вестник Харьковск. ун-та», сер. биол., вып. 1, Изд-во ХГУ, Харьков, 17, 1965.
6. Б. Л. Смолянский. «Терапевт. архив», 35, 71 (1963).
7. В. В. Фролькіс. «Фізіол. ж.», 10, 460 (1964).
8. В. В. Фролькіс, Н. В. Свечникова, Н. В. Вержиковская, Н. С. Верхратский. В кн. «Механизмы старения», Киев, 194 (1963).
9. В. П. Ерез. «Укр. біохім. ж.», 35, 58 (1963).
10. И. А. Эскин. В зб. «Регуляция вегетативных и анимальных функций в онтогенезе», М.—Л., «Наука», 71 (1966).
11. И. А. Эскин, Н. В. Михайлова. Пробл. эндокринол. и гормонотерап., 6, 3 (1960).
12. И. А. Эскин, Н. В. Михайлова. «Пробл. эндокринол. и гормонотерап.», № 9, 10 (1963).
13. И. А. Эскин, Р. Н. Щедрина, Н. В. Михайлова, В. М. Конопацкая. В зб. «Становление эндокринных функций в зародышевом развитии», М., «Наука», 262, 1966.
14. Э. З. Юсфина. Сб. научн. работ н.-и. ин-та охраны материнства и детства им. Н. К. Крупской, Харьков, 76 (1958).
15. Fortier C. «Canad. J. Biochem. a. Physiol.», 37, 606 (1959).
16. Jouan P. «Compt. rend. soc. biol.», 155, 18 (1961).
17. Oyama J., Medina R., Platt W. T. «Endocrinology», 78, 656 (1966).
18. Saffran M., Schally A. V. «Endocrinology», 56, 622 (1955).
19. Vernicos-Danellis J. «Endocrinology», 75, 514 (1964).

ВПЛИВ ГІДРОКОРТИЗОНУ НА РІВЕНЬ ПОЛЯРИЗАЦІЇ М'ЯЗОВОГО ВОЛОКНА В РАНЬОМУ ОНТОГЕНЕЗІ

А. І. Новікова, Ю. В. Нікольченко

Кафедра фізіології людини і тварин

Попередніми дослідями [1] було встановлено, що адреналектомія викликає помітну затримку у встановленні нормального рівня мембранного потенціалу м'язових волокон в постембріональний період, тоді як введення ДОКА адреналектомованим тваринам відновлює нормальну поляризацію в три-чотиририжневі віці. Відомо також, що ін'єкції ДОКА нормальним тваринам викликають гіперполяризацію [2, 3]. У дослідях на щурятах раннього віку було встановлено, що такий вплив гормона властивий лише деяким віковим групам [1].

У зв'язку з тим, що деполяризуючу дію адреналектомії виявлено у тварин всіх вікових груп, а ефект ДОКА — лише у деяких, мало певний інтерес висвітлення питання про специфічність дії мінералокортикоїдів і можливий вплив на мембрану інших кортикоїдів.

З цією метою досліджувався вплив багаторазових ін'єкцій гідрокортизону на мембранний потенціал м'язових волокон у ранньому віці.

Досліджувались білі щури трьох вікових груп (тижневі, двотижневі і тритижневі). Щодоби, протягом семи діб, їм вводили гідрокортизон з розрахунку 2,5 мг на 100 г ваги тіла. Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин, при чому об'єми ін'єкцій у контрольної і дослідної груп були рівними. На 8-й день після початку ін'єкцій вимірювали мембранний потенціал волокон м'язів медіальної поверхні стегна за загальною методикою [4], використовуючи скляні мікроелектроди, кінцевий діаметр яких дорівнював менше 0,5 мк, наповнені 3М розчином КСІ. Вимірювання здійснювали на осцилографічній установці ЕНО-1 з катодним повторювачем і додатковим підсилювачем. Тварини при вимірюванні знаходились під нембуталовим наркозом (30 мг нембуталу на 1 кг ваги тіла). Одержані результати оброблялись статистично за методом Стюдента.

Результати вимірювання мембранного потенціалу м'язового волокна (табл. 1) показують, що деяка позитивна дія ін'єкцій гідрокортизону виявляється лише у тих тварин, що одержували гормон, починаючи з тижневого віку.

Таблиця 1

Зміна мембранного потенціалу при введенні гідрокортизону у білих щурів різного віку
(потенціал в мв)

Вік тварин, в тижнях	Норма $M \pm m$	Дослід $M \pm m$	p
2	$70,8 \pm 1,53$	$74,7 \pm 1,46$	$0,02 < p < 0,05$ $p < 0,05$ $p > 0,1$
3	$72,7 \pm 1,1$	$77,3 \pm 2,01$	
4	$76,9 \pm 1,07$	$75,6 \pm 2,84$	

У цій групі введення гідрокортизону викликало збільшення мембранного потенціалу, причому рівень значності був близьким до критичного (0,05). Ефект ін'єкцій гідрокортизону у двох інших вікових групах був нечітким, про що свідчить як протилежність знака ефекту, так і надмірно великі значення p -фактора.

Спостереження також показали, що введення гідрокортизону впливає перш за все на загальний обмін. Тварини, що одержували гідрокортизон, своєю вагою перевищували як контрольних, так і тих, які одержували ін'єкції ДОКА. Введення гідрокортизону сприяло нагромадженню значної кількості підшкірного сала, скорішому розвитку маси рухових м'язів.

Одержані результати свідчать про значну особливість дії гідрокортизону в порівнянні з ДОКА, гіперполяризуюча дія якого має місце в значній кількості вікових груп (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив ДОКА на рівень поляризації мембрани м'язового волокна у ранньому онтогенезі (потенціал в мв)

Вік тварин, в тижнях	Норма $M \pm m$	Дослід $M \pm m$	p
2	$70,8 \pm 1,53$	$75,5 \pm 0,93$	$0,01 < p < 0,02$
3	$72,7 \pm 1,1$	$76,0 \pm 2,17$	$p > 0,1$
4	$74,2 \pm 1,18$	$81,1 \pm 2,15$	$0,01 < p < 0,02$

Узагальнюючи дані про вплив гормонів кори надниркових залоз на рівень мембранної поляризації у щурів різного віку, можна зробити висновок, що вплив адреналектомії на мембранні механізми, які відповідають за встановлення мембранного потенціалу в ранньому онтогенезі білих щурів, пов'язаний насамперед із специфічною дією мінералокортикоїдів і значно менше з неспецифічною дією інших кортикостероїдів, зокрема гідрокортизону.

ЛІТЕРАТУРА

1. А. І. Новікова, Д. Дьюла. Матеріали 2-ї Білоруської конференції по геронтології і гериатрії, 1971.
2. Galand G., Ildefons M. «J. Physiology», 55, 141 (1963).
3. Galand G., Ildefons M., «J. Physiology», 58, 552 (1966).
4. П. Г. Костюк. Микрозлектродная техника. К., «Наукова думка», 1960.

II. ГЕНЕТИКА І ЦИТОЛОГІЯ

ПРО ТЕПЛОСТІЙКІСТЬ ТА РЕПАРАЦІЙНУ ЗДАТНІСТЬ ГЕТЕРОЗИСНИХ РОСЛИН

В. Г. Шахбазов, Ц. М. Шерешевська, Н. Г. Шестопалова

Кафедра генетики та цитології

Зміни в клітинах під впливом високої екстремальної температури, прояви пошкоджень та репарації привертають увагу багатьох дослідників. Різноманітні аспекти цієї проблеми обговорювались на симпозиумах у Ленінграді та Харкові [1, 2]. Але більшість питань, пов'язаних з розкриттям механізмів температурного пошкодження клітин, залишаються ще недостатньо вивченими.

Реакцію клітин на дію високої температури ми досліджували в зв'язку з явищем гетерозису та інбредної депресії. Раніше було встановлено зв'язок ефекту гетерозису з підвищеною терморезистентністю клітин [3—5]. Ці результати привели до висновку про необхідність глибшого вивчення залежності терmostійкості клітин від генотипу та структури і функції клітинного ядра.

У дослідях використовувались гетерозисний гібрид кукурудзи Буковинський-3, материнська форма — сорт Глорія Янецького та інцухт-лінія — ВІР-44. Нагрівання проводилось у водяному термостаті при постійній експозиції — 20 хвилин та температурі від 40 до 55°С. Вплив високої температури досліджувався в різні строки після нагрівання.

Біоелектричні потенціали вивчались за допомогою мікроелектродів [6, 7], вимірювались також поверхневі потенціали коріння проростка відносно ендосперму насіння.

Кількість нуклеїнових кислот визначалась за методом Тангаузера та Шмідта в модифікації Конарева [8]. Нуклеїнові кислоти досліджувались у нормі та після впливу температури (51°С) через двадцять хвилин і 24 години.

Для вивчення мітотичної активності провадилась фіксація корінців (Карнуа) через 20 хвилин після нагрівання та декілька разів у віддаленіші строки. Із фіксованого матеріалу виготовлялись постійні препарати.

Дослідження потенціалів клітин в корінцях проростків до та після нагрівання показало, що висока температура викликає різке падіння вихідного негативного потенціалу. Через 20 хвилин після нагрівання при 40° у сорту та лінії спостігалось падіння поверхневого потенціалу коріння у межах меристеми та зони росту щодо ендосперму майже до нуля, а у проростків гібрида зберігався значний негативний потенціал, вищий у зоні меристеми. Збільшення температури зумовлювало зміну полярності коріння відносно ендосперму [9].

Результати мікроелектродного вимірювання потенціалів наведено в табл. 1. Як бачимо, у гетерозисного гібрида після нагрівання потенціал знижується менш, ніж у сорту та лінії.

Таблиця 1

Біоелектричні потенціали клітин коріння проростків у нормі та після нагрівання
(20 хв., 50° С, мв)

Об'єкти	Норма	Після прогрівання	Зниження, % щодо контролю
Сорт Глорія Янецького	78,8±2,9	27,5±1,2	65,2
Лінія ВІР-44	68,5±2,1	19,6±1,8	71,4
Гібрид Буковинський-3	87,0±2,7	34,8±1,3	60,0

При визначенні нуклеїнових кислот виявилось, що через 20 хвилин після дії температури 51° в стеблах кукурудзи спостігається зниження вмісту РНК: у гібрида — на 37,4, ($p < 0,001$), у лінії—на 23,2 ($p < 0,001$) і сорту—на 7,4% ($p < 0,01$). За цих умов знижується також і концентрація ДНК: у гібрида—на 29 ($p < 0,001$), у лінії — на 25,0 ($p < 0,001$), а у сорту — на 15,5% ($p > 0,01$).

Через добу спостігається значне зниження лише РНК. У гібрида — на 29,0 ($p < 0,001$), у сорту — на 31,8 ($p < 0,001$), а у лінії — на 17,7% ($p < 0,001$). Зниження кількості ДНК через 24 години після нагрівання було незначним.

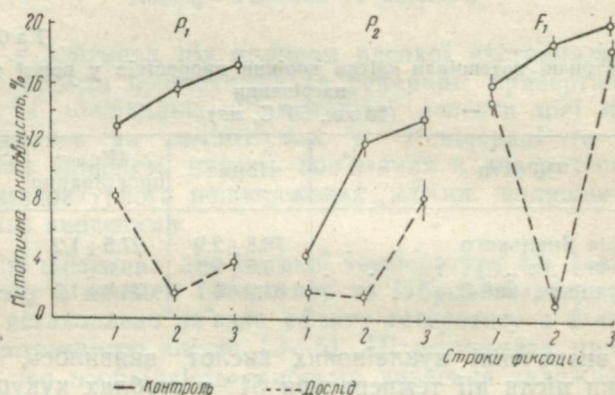
Таким чином, ці дані показують, що летальна температура впливає на стан нуклеїнових кислот. Їх концентрація знижується. Але через 24 години в клітинах починаються процеси репарації і кількість нуклеїнових кислот підвищується у порівнянні з їх кількістю, визначеною через 20 хвилин після дії температури (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив високої температури на кількість нуклеїнових кислот у проростках різних форм кукурудзи, % до контролю

Форми кукурудзи	РНК		ДНК	
	через 20 хвилин	через 24 години	через 20 хвилин	через 24 години
Сорт Глорія Янецького	92,56	68,25	84,61	90,32
Лінія ВІР-44 . . .	76,78	82,32	75,00	86,20
Гібрид Буковинський-3	62,55	70,96	70,96	96,29

Концентрація ДНК за добу після прогріву зростає в стеблах всіх форм кукурудзи; процеси репарації у гібрида відбуваються інтенсивніше, ніж у материнської форми. Концентрація РНК також підвищується у гібрида та лінії. У стеблах материнської форми ефект пошкодження посилюється, про що свідчить падіння концентрації РНК.



Динаміка мітотичної активності в меристемі коренів гібрида та вихідних форм кукурудзи в нормі та після дії високої температури.

Внаслідок цитологічного аналізу препаратів, клітин корінців зафіксованих через 20 хвилин після нагрівання до 50°, було виявлено пошкодження численних інтерфазних ядер та злипання хромосом. Це погоджується з результатами дослідів по вивченню впливу високої температури на ядро та хромосоми інших рослин, тварин та людини [10—12].

Через 17 годин після дії температури в меристемі корінців зустрічались тільки поодинокі мітози, що свідчить про порушення нормального ходу процесу ділення. На час фіксації мітотична активність у тканинах рослин понизилась до мінімальної величини і різниця між гібридом та батьківськими формами не була виявлена (див. рис.).

Через дві доби мітотична активність значно підвищилась, наблизилась до контрольного варіанта у коренях лінії і досягла рівня контролю ($p > 0,1$) в меристемі гібрида. На цей же час у клітинах материнської форми мітотичний індекс знаходився на найнижчому рівні і був меншим свого контролю на 83%.

Можливо, що така динаміка мітотичної активності після нагрівання обумовлена частково синхронізацією ділення в результаті компенсаторної реакції і різною здатністю до репарації теплових пошкоджень. Очевидно, процеси репарації відбуваються інтенсивніше у гібрида і значно слабкіше у сорту. Аналогічні результати були раніше одержані при вивченні впливу інших фізичних факторів [13—15].

Наведені дані показують, що більш висока теплостійкість і репараційна здатність гібридів встановлена за трьома показниками. Здатність гібридів до підвищення кількості ДНК і мітотичної активності через добу після нагрівання свідчить про активну репараційну здатність ядерного апарату, що й природно, бо ми маємо справу з генетичним ефектом гетерозису.

Раніше одним із авторів був показаний зв'язок величини біоелектричних потенціалів клітин з ядерно-ядерцевим апаратом після дії високої температури [9, 16]. Можливо, тут спостерігається природний комплекс взаємопов'язаних змін, які відбуваються під впливом екстремальної температури. Одержані дані доповнюють наші уявлення про природу теплових пошкоджень клітини та механізмів гетерозису.

ЛІТЕРАТУРА

1. Клетка и температура среды. Труды международного симпозиума по цитозкологии. М.—Л., «Наука», 1964.
2. Устойчивость к экстремальным температурам и температурные адаптации. Материалы симпозиума. Харьков, Изд-во ХГУ, 1971.
3. В. Г. Шахбазов, Н. Г. Шестопалова, А. Т. Попель. «Труды ин-та биологии и биол. ф-та ХГУ», т. 36, 29—33 (1963).
4. В. Г. Шахбазов. Гетерозис и теплоустойчивость. — «Бюллетень МОИП», 71, 3, 119—126 (1966).
5. В. Г. Шахбазов, А. Т. Попель. В кн. «Биологические основы повышения качества семян». М., «Наука», 29—33, 1964.
6. П. Г. Костюк. Микроэлектрофорезная техника. Киев, Изд-во АН УССР, 1960.
7. В. Г. Шахбазов, Л. В. Котенко. «Изв. АН СССР», серия биол., 6, 891—894 (1967).
8. В. Г. Конарев. Методы исследования нуклеиновых кислот растений. Л., 1967.
9. В. Г. Шахбазов, Л. В. Котенко, Е. Ф. Копейка, А. А. Набоков. Цитология и генетика, 4, 4, 352—355 (1970).
10. В. Ф. Альтергот. Зб. «Клетка и температура среды». М.—Л., «Наука», 1964.
11. Н. Г. Шестопалова, Н. В. Дедух, Я. С. Сидоня. В зб. «Устойчивость к экстремальным температурам и температурные адаптации. Материалы симпозиума». Харьков, Изд-во ХГУ, 47—50 (1971).

12. Н. Г. Шестопалова, Н. Т. Шевырѐва, Т. Т. Кебадзе. В зб. «Устойчивость к экстремальным температурам и температурные адаптации. Материалы симпозиума». Харьков, Изд-во ХГУ, 50—54 (1971).

13. Н. Г. Шестопалова, Н. Н. Харитоненко. Зб. «Материали IV з'їзду УБТ», Київ, 269—270 (1969).

14. Н. В. Турбин, В. Г. Володин, И. А. Гордей. Зб. «Вопросы генетики и селекции». Минск, 81—86 (1970).

15. С. А. Волева. Зб. «Современные проблемы радиационной генетики». М., 280 (1969).

16. В. Г. Шахбазов. Зб. «Устойчивость к экстремальным температурам и температурные адаптации. Материалы симпозиума». Харьков, Изд-во ХГУ, 40—47 (1971).

РОЛЬ ГЕНОТИПУ РОСЛИН В РЕАКЦІЇ НА ДІЮ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ

*А. Т. Попель, Л. А. Атраментова, Ж. Г. М'якшина,
Л. Г. Шелекетіна*

Кафедра генетики та цитології

Питання про дію мікроелементів (МЕ) на рослинний організм досить широко висвітлено в літературі. МЕ відіграють важливу роль у стимуляції росту та розвитку рослин, підвищенні врожайності сільськогосподарських культур. Ефективність застосування їх значною мірою залежить від ґрунтових умов, фізіологічних та генетичних особливостей рослин. Але генетична відмінність у нормі реакції на МЕ вивчена недостатньо. А. Г. Шестаков та Г. Л. Нелюбова [4] показали, що різні сорти цибулі вимагають певних видів та специфічних доз борних добрив. А. Д. Поліщук [1] зазначає, що різні сорти винограду мають неоднакову чутливість до певних доз бору та марганцю. У наших попередніх дослідях виявлено відмінність в реакції гібридів та інцухт-лінії кукурудзи на деякі МЕ [2, 3]. Метою даної роботи було вивчення реакції гібридів та батьківських форм кукурудзи на дію різних концентрацій МЕ.

Об'єктами досліджень були: сорт Глорія Янецького, інцухт-лінія ВІР-44, сортолінійний гібрид Буковинський-3. Із числа МЕ використовувались: бор, марганець, мідь, цинк, йод. У розчинах сірчаноокислої міді та цинку, борної кислоти, йодистого та марганцево-кислого калію (в концентрації 0,001, 0,005, 0,025, 0,125%) насіння кукурудзи замочували на добу. Контрольним було насіння, замочене на той же час у воді. По закінченню дії МЕ насіння промивали водою і надалі пророщували на вологих фільтрах у чашках Петрі. Вимірювання приросту коренів та стебла проводили через 75 годин після по-

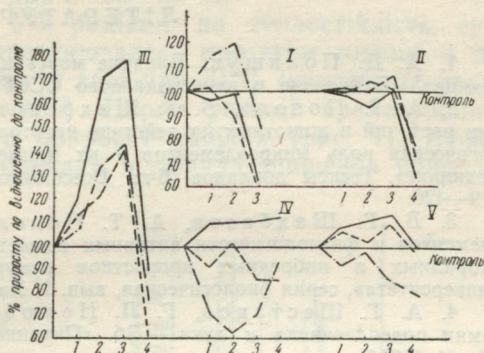
чатку досліду. За даними приросту були побудовані дозові криві для кожного із досліджених МЕ (див. рис.).

Аналіз одержаного матеріалу свідчить, що норма реакції на дію МЕ у рослин, відмінних за генотипом, неоднакова. Оптимальні концентрації різні для гібрида, сорту та лінії.

Бор на 6—8% стимулює приріст коренів та стебла у сорту (концентрація — 0,005%) та лінії (концентрація — 0,025%), $p=0,90$, в той час як у гібрида (концентрація — 0,005%) ріст гальмується. Концентрація 0,125% токсична для всіх трьох форм ($p>0,999$).

Щодо міді, то значна достовірна стимуляція (18—20%) росту спостерігається у сорту Глорія Янецького (концентрація — 0,001 та 0,005%). Лінія та гібрид не чутливі до цих концентрацій (незначна стимуляція та гальмування росту не достовірні). Концентрація 0,025% для вказаних форм токсична. Особливо чутливим на дію цинку, йоду та марганцю є гетерозисний гібрид Буковинський-3. Цинк стимулює як інбредні, так і гібридні проростки, але стимуляція найбільше виражена у гібрида. У лінії та сорту збільшення приросту становить 20—40% при оптимальних концентраціях 0,005 та 0,025%, $p=0,98$. У гібрида ці концентрації стимулюють ріст на 70—80% $p>0,999$. При токсичній концентрації 0,125% лінія та сорт знижують приріст на 25—30%, в той час як гібрид майже не реагує на таку дозу (незначне гальмування приросту недостовірне), що свідчить про його більшу стійкість. Йод у всіх концентраціях стимулює приріст проростків гібридної форми та знижує величину приросту в сорту та лінії (крім концентрації 0,005% для лінії ВІР-44). Марганець також більше стимулює гібридну форму (концентрація — 0,001—0,025%). Стимуляція у гібрида 11—14%, лінії — 6—9%, у сорту значне достовірне гальмування (крім коцентрації 0,005%).

Таким чином, проведені з різними МЕ досліди показують, що реакція на їх дію зумовлена генотипом рослини. Одержані



Вплив мікроелементів на приріст проростків кукурудзи, різних за генотипом: I — бору, II — міді, III — цинку, IV — йоду, V — марганцю; (1—4 — концентрації розчину, % (1—0,001; 2—0,005; 3—0,025; 4—0,125). Суцільні лінії — гібрид Буковинський-3, пунктир — лінія ВІР-44, штрихпунктир — сорт Глорія Янецького.

дані свідчать про доцільність врахування генетичних властивостей при плануванні мікродобивів для рослин різних сортів, лінії та гібридів.

Ми вважаємо, що одержані дані допоможуть при теоретичному обґрунтуванні природи гетерозису.

ЛІТЕРАТУРА

1. А. Д. Полищук. Влияние марганца и бора на рост виноградных сеянцев. «Виноделие и виноградарство СССР», 1955, № 3, 35—36.
2. А. Т. Попель, В. Г. Шахбазов. Генетические различия реакции растений и животных на действие некоторых микроэлементов.— 36. «Биологическая роль микроэлементов и их применение в сельском хозяйстве и медицине». Тезисы докладов 6-го Всесоюзного совещания, т. 2. Л., 1970, 419—420.
3. В. Г. Шахбазов, А. Т. Попель. Влияние некоторых микроэлементов и физиологически активных веществ на рост и теплоустойчивость гибридных и инбредных проростков кукурузы.— «Вестник Харьковского университета», серия биологическая, вып. 1, Харьков, 1965, 71—75.
4. А. Г. Шестаков, Г. Л. Нелюбова. Влияние бора на урожай семян подсолнечника и лука.— 36. «Питание растений и удобрение», М., 27—41 (1954).

ВПЛИВ УФ РАДІАЦІЇ НА ТЕПЛОСТІЙКІСТЬ ГІБРИДНОГО ТА ІНБРЕДНОГО НАСІННЯ КУКУРУДЗИ

Н. М. Григор'єва, В. Г. Шахбазов

Кафедра генетики та цитології

У ряді досліджень відмічається позитивний вплив малих доз УФ радіації на насіння різних культур: спостерігається підвищення схожості насіння, швидше дозрівання, поліпшення фізіологічних показників [1—5]. Відзначено, що УФ опромінювання більше впливає на сухе насіння, ніж на вологе [1, 3]. Однозначної відповіді про причину посилення життєдіяльності насіння при УФ опромінюванні не існує. Становлять інтерес дані, які вказують на провідну роль ядра в стимуляції росту, поділу та інших проявів дії УФ радіації на клітину [6, 7]. Даних, які показують, що УФ радіація впливає на теплостійкість насіння, і робіт, в яких відзначалась би різниця у нормі реакції гібридних та інбредних форм на УФ опромінювання в доступній нам літературі не зустрічалось.

Нацою метою було вивчення впливу УФ радіації на теплостійкість насіння кукурудзи і встановлення різниці в нормі реакції у насіння гібридної та інбредної форм у зв'язку з дослідженням біофізичних проявів гетерозису.

Матеріалом для дослідів були сорт Глорія Янецького (материнська форма) та високогетерозисний гібрид Буковинський-3.

Як джерело УФ проміння використовували лампу з максимумом випромінювання в області $365 \mu \text{мк}$. Вивчалась реакція на таке опромінювання сухого та зволоженого насіння, при цьому досліджувались експозиції: 0,5; 1; 2; 3; 4 годин при дозі $1536 \text{ мк} \cdot \text{вт/см}^2$ за годину. Дослідне та контрольне насіння пророщувалось в темряві при $t=22-23^\circ \text{C}$.

Для вивчення впливу УФ радіації на теплостійкість сухе та зволожене насіння опромінювалось протягом години, а потім прогрівалось 20 хвилин у воді при 51°C (зволожене насіння) і при 60°C (сухе насіння). Норма реакції враховувалась за показником середнього приросту коріння (рис. 1). Експозиції 0,5; 2; 3 години викликали в гібрида зниження приросту

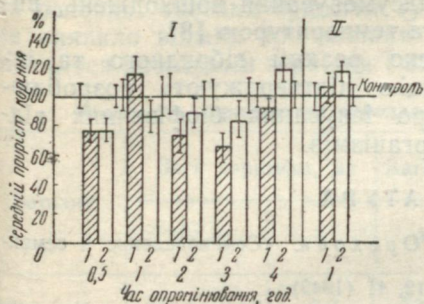


Рис. 1. Вплив УФ радіації на насіння гібрида Буковинський-3 і сорту Глорія Янецького: I — опромінювання вологого насіння; 1 — гібрид, 2 — сорт; II — опромінювання сухого насіння.

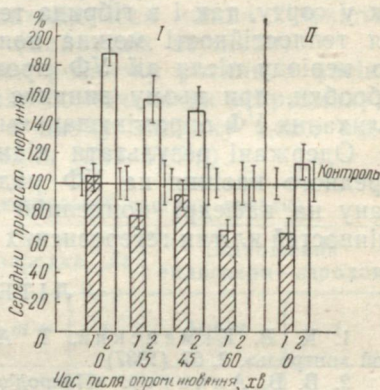


Рис. 2. Вплив УФ радіації на теплостійкість гібрида Буковинський-3 і сорту Глорія Янецького: I — опромінювання вологого насіння; 1 — гібрид, 2 — сорт; II — опромінювання сухого насіння.

коріння відносно контролю відповідно на 24, 30, 35% ($p=0,972$). При опромінюванні протягом однієї та чотирьох годин достовірних відмін від контролю не помічено. Для сорту експозиція 0,5 години викликає зниження приросту коріння на 24% ($p=0,999$). При експозиціях 1, 2, 3 години достовірних відмінностей від контролю не спостерігалось. Опромінювання протягом чотирьох годин викликає невелику стимуляцію в прирості — на 20% ($p=0,838$).

При опромінюванні сухого насіння досліджувалась дія експозиції одна година. У сорту ця експозиція викликала збільшення приросту коріння на 17% ($p=0,972$), у гібрида достовірних відмін від контролю не спостерігалось.

З одержаних даних випливає: сухе насіння сорту реагує на дію УФ радіації сильніше, ніж гібрида.

Рис. 2 відбиває результати дослідів по впливу УФ радіації на теплостійкість насіння. Опромінювання вологого насіння сорту протягом 60 хвилин перед прогрівом підвищує його теплостійкість на 90% ($p=0,799$). У гібридного насіння підвищення не спостерігається. Теплостійкість сухого насіння гібрида знижується проти контролю на 32% ($p=0,964$). У сорту достовірних відмін від контролю не одержано.

Щоб з'ясувати питання про тривалість ефекту УФ опромінювання, теплова обробка насіння проводилась відповідно через 15, 45, 60 хвилин (рис. 2). Результати дослідів показали, що при збільшенні часу між опромінюванням і прогріванням як у сорту, так і в гібрида теплостійкість знижується. Зниження теплостійкості можна пояснити зближенням деструктивного періоду після дії УФ променів з періодом температурної обробки, при цьому виникає підсумовування пошкоджень, викликаних УФ опромінюванням та температурою [8].

Одержані результати відносно реакції гібридного та інбредного насіння на УФ радіацію підтверджують розроблювану на кафедрі концепцію про існування біофізичних відмінностей клітин гетерозисних організмів.

ЛІТЕРАТУРА

1. К. В. Каменский, Т. А. Орехова. «Семеноведение и семенной контроль», 2, 67 (1937).
2. В. В. Алпатов. «Природа», 12, 41 (1949).
3. В. Н. Кияница, О. Н. Ничкевич. «Научные труды Укр. с/х акад.», 9, 481 (1957).
4. И. Д. Сидоренко. «Научные доклады высшей школы», 1, 152 (1960).
5. И. Д. Сидоренко. «Укр. бот. журнал», 19, 2 (1962).
6. А. П. Дубров. Действие ультрафиолетовой радиации на растения, М., Изд-во АН СССР, 1963.
7. А. В. Барабой. «Успехи соврем. биологии», 53, 3, 265 (1962).
8. А. Г. Ломагин. «ДАН СССР», 157, 6 (1964).

ПРО МОДИФІКАЦІЙНУ МІНЛИВІСТЬ У КУКУРУДЗИ

Т. О. Червоненко, Т. П. Оксінченко

Кафедра генетики

Увагу дослідників давно привертав факт неоднорідності рослин одного і того ж сорту, що вирощуються на одній ділянці. Висловлювалися припущення про те, що причиною такої гетерогенності сорту-популяції є нерівноцінність умов формування насіння в межах одного суцвіття [1, 2, 3, 5, 6].

Нами було показано, що рослини, які розвинулись з насіння, сформованого у верхній і нижній частинах суцвіття кукурудзи-початка, відмінних і кількістю і будовою судинно-волокнистих пучків, відрізнялися за темпами росту і розвитку: першими з'явилися сходи з зерен верхньої частини початка. Цей факт пояснюється тим, що до складу таких зернівок входить замість крохмалю сахар (4), який при проростанні насіння легко мобілізується. Надалі вказана група, навпаки, відставала у рості й розвитку: висота рослин з насіння верхньої частини суцвіття досягала 36,4 см, середньої — 39,8 см, нижньої — 37,7 см.

Органогенез чоловічого і жіночого суцвіття відбувався тут повільніше, внаслідок чого розвивалися суцвіття менших розмірів, а на головній осі початка закладалася менша кількість колоскових та квіткових бугорків (майбутніх зернівок).

Спостереження за особливостями розвитку рослин з насіння основної частини суцвіття (у нас позначена як «середина») не виявило відмін, хоч насіння і в цьому випадку дещо відрізнялося розмірами зернівки і зародка (див. табл.).

Мінливість зернівки та зародка центральної частини початка

Варіант	Вага зернівки, мг		Вага зародка, мг		Відношення ендосперм—зародок	
	$M \pm m$	t	$M \pm m$	t	$M \pm m$	t
Верх	$258,5 \pm 2,4$	8,3	$53,9 \pm 1,0$	8,4	$3,78 \pm 0,08$	1,0
Середина .	$294,7 \pm 3,0$	0,8	$67,8 \pm 1,2$	3,4	$3,88 \pm 0,07$	2,8
Низ	$299,6 \pm 2,9$		$60,4 \pm 1,2$		$4,2 \pm 0,1$	

Виявилось, що відношення ендосперм — зародок стабільне для даної форми кукурудзи (сорт, гібрид), тобто забезпеченість одиниці зародка споживними речовинами ендосперму постійна і не залежить від місця формування насіння в центральній частині початка. Це і створює однорідні умови розвитку проростків на ранніх етапах розвитку і, мабуть, є запорукою однакового розвитку рослин і в майбутньому.

Таким чином, наявність у посівному матеріалі насіння з верхньої частини суцвіття приводить до гетерогенності популяції — відставання рослин у рості і розвитку. Основна частина насіння розвивається рівномірно внаслідок еволюційно закріпленої стабільності відношення ендосперм — зародок.

ЛІТЕРАТУРА

1. Н. Н. Кулешов. Записки Харьк. обл. опытной станции, 1916.
2. К. Клусачек и Ф. Ваша. Сб. ЧСАСХН, Растениеводство, ч. 5 (32), № 2, 1959.

3. Н. Н. Овчинников. «Селекция и семеноводство», № 8, 1951.
4. И. И. Смирнова. Биохимия культурных растений. т. 1. М., Сельхозиздат, 1936.
5. Т. А. Червоненко. «Тр. Укр. н-и. института растениеводства», т. 4, 1959.
6. Т. А. Червоненко. «Тр. Укр. н-и. института растениеводства», т. 7, 1962.

ПРО ВПЛИВ ВІКУ ІМАГО *Drosophila melanogaster* Mg. НА ТЕПЛОСТІЙКІСТЬ ДВОХ НАСТУПНИХ ПОКОЛІНЬ

А. В. Некрасова

Кафедра генетики

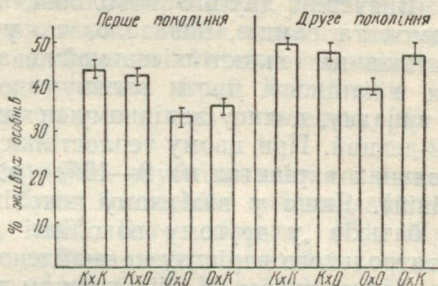
Питання про вплив віку батьків на життєздатність потомства давно приваблює увагу дослідників. Рокштейн [9], Каллахан [2], Комфорт [3] на комах, Ялавісто [6] на людині показали залежність тривалості життя від віку матері. Було показано збільшення смертності у потомків старих батьків на різних етапах онтогенезу [3, 4]. Вік батьків певним чином впливає на фізіологічні показники потомства. Так, у *Tenebrio molitor* та *D. melanogaster* покоління від старих батьків має прискорений розвиток, менше линянь, ніж личинки молодих батьків [7, 10]. При цьому деякі ферменти мають у них вищу активність протягом довшого часу [8]. В літературі є дані про зміни в плодючості самок від батьків різного віку [4, 5, 12].

Але деякі автори не виявили зв'язку між віком батьків і тими чи іншими показниками життєздатності потомства, або вказували на протилежний характер цього зв'язку [11, 12]. Крім того, вплив віку батьків на різні характерні особливості потомства відзначався авторами при дослідженні першого покоління. А питання наслідування далі змін, що сталися в організмі потомства, розглядалося недостатньо. У доступній літературі ми не знайшли даних про життєздатність потомства батьків різного віку у зв'язку із стійкістю проти ушкоджуючих факторів.

У нашому досліді критерієм життєздатності була теплостійкість організму. Зв'язок стійкості проти короточасного впливу високих температур та загальної життєздатності було встановлено раніше, при вивченні ефекту гетерозису [1].

Робота проводилась на лініях *D. melanogaster* з популяцій різного географічного походження. При схрещенні використовували віргінних мух з різницею в одно покоління, але в ме-

жах однієї сім'ї. Схрещення молодих (К) та старіших (О) особнів провадилось за схемою: $K \times K$, $K \times O$, $O \times O$ і $O \times K$. Контролем були одностатеві особні, дослідними 12- та 22-денні. У кожному варіанті досліджувалось перше та друге покоління. «Тепловипробування» провадилось у водному термостаті при температурі 40°C протягом 20 хвилин. Виконано дві серії експериментів. У першій вік батьків становив 1 та 12 днів (див. табл.), у другій — 11 та 22 дні (див. рис.).



Зміни теплостійкості у потомства *D. melanogaster* батьків різного віку (вік батьків 1 та 22 дні, обробка 40°C , 20 хв).

Теплостійкість імаго *D. melanogaster* залежно від віку батьків (вік батьків 1 та 12 днів)

Лі- нія	$K \times K$				$K \times O$				$O \times O$				$O \times K$			
	Кіль- кість особнів		Процент живих		Кіль- кість особнів		Процент живих		Кіль- кість особнів		Процент живих		Кіль- кість особнів		Процент живих	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂

Перше покоління

Б	440	438	79,8	81,3	327	275	72,2	77,5	331	306	53,2	47,4	418	371	57,9	49,2
К	482	475	75,3	72,4	430	400	69,2	65,7	472	460	55,8	51,2	480	469	60,4	59,1

Друге покоління

Б	430	438	46,1	43,1	349	348	44,4	44,4	393	430	45,6	59,8	388	397	42,5	42,6
К	400	500	55,5	49,4	500	500	54,0	44,4	450	450	50,5	42,9	400	400	48,0	47,5

Показником теплостійкості був процент живих мух через 18 годин після обробітку.

Встановлено, що із збільшенням віку батьків теплостійкість потомства у першому поколінні знижується. Головне значення при цьому має вік матері. У варіанті $K \times O$ виживання першого покоління знижувалося незначно проти контролю. Найменш стійке потомство у варіанті $O \times O$. Живих мух тут менше проти контролю на 9 — 30% у різних лініях ($p > 0,999$ в усіх випадках). Якщо збільшувався тільки вік самки, то теплостійкість потомства різко зменшувалась, мало відрізняючись від випадку, коли підвищували вік обох батьків. Вплив стану матері на

потомство можна пояснити дією на умови синтезу матеріалів яйця і на процеси, що регулюють синтез.

Вивчення другого покоління, одержаного від одноденних самок та самців, показало, що у серії I ефект віку вихідних батьків на теплостійкість майже зовсім зникає. У серії II зміни в стійкості проти впливу високих температур збереглися у випадку, коли у вихідному поколінні вік і самки і самця був 22-денний. При цьому теплостійкість була нижчою, ніж у контрольних варіантах на 9—10% ($p > 0,999$ у самок і самців усіх ліній). Якщо у вихідному поколінні підвищувався вік одного з батьків, у другому поколінні достовірних відмінностей від контрольного варіанту не знайдено.

Таким чином, із збільшенням віку батьків знижується резистентність потомків проти впливу високої сублетальної температури. Цей ефект зникає у другому поколінні, якщо вік вихідного покоління середній, але зберігається тоді, коли вік вихідних і самки і самця значно вищий.

ЛІТЕРАТУРА

1. В. Г. Шахбазов, А. Т. Попель. «Тр. биологич. ф-та ХГУ», 36, 25—28 (1963).
2. Callahan R. F., «J. N. J. Entomol. Soc.», 70, 150—158 (1962).
3. Comfort J., «Nature», Lond., 172, 83 (1953).
4. David J., «Simain hôpitaux. Ann. génét.», 3, 2, 41—118, (1962).
5. Durrant A., «Nature», 175, 560 561, (1955).
6. Jalavisto E., «Rev. Med. Liege», 5, 719, (1950).
7. Ludwig D., Fiire C., «Ann. Entomol. Soc. America», 53, 5, 595—600, (1960).
8. Ludwig D., Fiore C., «Ann. Entomol. Soc. America», 55, 4, 439—442, (1962).
9. Rockstein M., «Gerontology», 12, 253—256, (1957).
10. Schneider B. A., «Biol. Bull.», 80, 208—227, (1941).
11. Suntzeff V., Cowdry E. V., Нухон B. B., «Biol. aspects of aging», 1962.
12. Wattiaux J. M., «Evolution», 22, 2, 406—421, (1968).

СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ В ТЕПЛОСТІЙКОСТІ У КОМАХ ПРИ ЧОЛОВІЧІЙ ТА ЖІНОЧІЙ ГЕТЕРОГАМЕТНОСТІ НА РІЗНИХ СТАДІЯХ ОНТОГЕНЕЗУ

З. Т. Сало, К. Б. Олексійова

Кафедра генетики та цитології

Природа статевих відмінностей у життєздатності комах ще не зовсім в'ясна. Деякі автори, констатуючи більшу стійкість жіночої статі проти ушкоджуючих факторів, схильні розглядати це явище, не пов'язуючи його з генетичним визначенням статі [3, 7, 8]. Проте ряд відомостей, що з'явилися останнім ча-

сом в літературі [10, 11], та наші власні дані [4, 5] не відповідають такій точці зору. Крім того, певний інтерес становить виникнення та розвиток статевого диференціалу резистентності в онтогенезі. З цього питання також немає єдиного погляду. М. І. Єфімов [1] пов'язує виникнення статевих відмінностей у життєздатності із статевою зрілістю. Інші дослідники відносять згадані відмінності до ранніх етапів онтогенезу [6, 7], аж до ембріогенезу [2, 3].

Ця робота є продовженням раніш опублікованих досліджень [4, 5]. Об'єктами вивчення були *Drosophila melanogaster* Mg (чоловіча гетерогаметність) лінії: Богодухівська (Б), Курган (К) та *Bombux mori* L (жіноча гетерогаметність) — лінії (5, 9, 12, Рад. 12) і гібриди (5×9, 9×5, Рад. 5×Рад. 12), позначені за статтю на стадії яйця [9]. Дослідження провадилися на таких стадіях онтогенезу: у дрозофіли — лялечки першого дня та імаго (12-годинні), у шовкопряда — яйця, гусениці перед линянням на 2-й, 3-й і 4-й вік та лялечки 7-го дня (у лялечок *D. melanogaster* стать визначалась за розміром статевого зачатка). Умови термообробки були однотипні. В усіх випадках використовувалось 20-хвилинне прогрівання при сублетальних температурах (сублетальна температура встановлювалась відповідно до об'єкта та стадії його розвитку). Показником теплостійкості для обох об'єктів на всіх стадіях онтогенезу був процент живих після термообробки особин.

Як видно з табл. 1, де наведено результати досліджень з *D. melanogaster* при всіх випробуваних температурах, в обох ліній на стадіях лялечки та імаго відзначено статистично до-

Таблиця 1

Статеві відмінності у стійкості проти високої сублетальної температури у личинок та лялечок *D. melanogaster* Mg.

Лінія	Стадія розвитку	Температура, °C	Кількість особин в досліді		Процент живих особин після обробки		$d \pm md$	p
			♀	♂	♀	♂		
Б	лялечка	40	336	336	68,8±2,5	51,8±2,7	17,0±3,7	>0,999
Б	лялечка	41	443	443	31,1±2,2	25,4±2,1	5,7±3,0	0,942
К	лялечка	40	503	503	68,4±2,1	59,4±2,2	13,5±3,0	>0,999
К	лялечка	41	355	355	60,9±2,6	47,3±2,6	13,6±3,7	>0,999
Б	імаго	40	423	424	70,5±2,2	62,3±2,3	8,2±3,2	0,989
Б	імаго	40,5	800	800	44,6±1,8	36,0±1,7	8,6±2,4	>0,999
Б	імаго	41	750	750	43,6±1,8	34,7±1,7	8,9±2,5	>0,999
К	імаго	40	562	562	78,6±1,7	77,9±1,7	0,7±2,5	0,220
К	імаго	40,5	1658	1664	48,7±1,2	42,3±1,2	6,4±1,7	>0,999
К	імаго	41	1054	1054	38,4±1,5	31,0±1,4	6,7±2,1	>0,999

Таблиця 2

Статеві відмінності у стійкості проти високої сублетальної температури у гусениць та лялечок В. погі L.

Лінія, гібрид	Сталія розвитку	Температура, °C	Кількість особинів в досліді		Процент живих після термообробки		$d \pm md$	p
			♀	♂	♀	♂		
Рад. 12	гус. 2 вік	46	340	340	5,3±1,2	11,5±1,7	6,2±2,1	0,996
Рад. 5×Рад. 12	гус. 2 вік	46	320	320	7,2±1,5	21,3±2,3	14,1±2,7	>0,999
Рад. 5×Рад. 12 .	гус. 2 вік	46,5	340	340	4,1±1,1	14,1±1,9	10,0±2,2	>0,999
5	гус. 3 вік	46,5	251	260	26,0±2,8	35,0±2,9	9,4±4,0	0,981
Рад. 12	гус. 3 вік	46,5	320	320	55,6±2,8	70,3±2,6	14,7±3,8	>0,999
Рад. 5×Рад. 12 .	гус. 3 вік	46,5	300	300	58,0±2,9	81,0±2,3	23,0±3,7	>0,999
5	гус. 3 вік	47	220	220	3,6±1,3	14,6±2,4	11,0±2,7	>0,999
Рад. 12	гус. 3 вік	47	320	320	25,9±3,1	45,0±2,8	19,1±4,2	>0,999
Рад. 5×Рад. 12 .	гус. 3 вік	47	300	300	51,0±2,9	74,0±2,5	23,0±3,8	>0,999
5	гус. 4 вік	48	280	280	33,9±2,8	63,6±2,9	28,7±4,0	>0,999
5	гус. 4 вік	48,5	280	280	25,0±2,6	57,9±2,9	32,9±3,9	>0,999
Рад. 12	гус. 4 вік	49	300	300	60,0±2,8	79,3±2,3	19,3±3,7	>0,999
Рад. 5×Рад. 12 .	гус. 4 вік	49	300	300	71,7±2,6	89,0±1,8	17,3±3,2	<0,999
Рад. 12	гус. 4 вік	49,5	270	270	46,7±3,0	63,7±2,9	17,0±4,2	>0,999
Рад. 5×Рад. 12	гус. 4 вік	49,5	280	280	58,6±2,9	77,1±2,5	18,5±3,9	>0,999
12	лялечки	51	150	150	65,3±3,9	81,3±3,2	16,0±5,0	>0,999

Таблиця 3

Статеві відмінності у життєздатності яєць *B. mori* у нормі та під впливом високих сублетальних температур

Лінія, гібрид	Температура, °C	Кількість яєць в досліді		Процент оживлення яєць		Різниця у проценті оживлення яєць між нормою та дослідом		$d \pm md$	p
		♀	♂	♀	♂	♀	♂		
1967 рік, 3-я доба інкубації									
5399	норма	2134	2079	72,1 ± 0,9	69,1 ± 1,0				
	47	2422	2102	55,0 ± 1,0	66,5 ± 1,0	17,1 ± 1,5	2,6 ± 1,4	14,5 ± 2,0	> 0,999
	норма	3777	3730	73,0 ± 0,7	71,6 ± 0,7				
	47	4569	4561	61,8 ± 0,7	67,0 ± 0,7	11,2 ± 1,0	4,6 ± 1,0	6,6 ± 1,4	> 0,099
1968 рік, 6-а доба інкубації									
53999399959599959595	норма	724	752	61,9 ± 1,8	64,8 ± 1,7				
	46	685	702	12,0 ± 1,2	20,2 ± 1,5	49,2 ± 2,2	44,6 ± 2,3	5,3 ± 3,2	0,903
	47	745	760	0,9 ± 0,4	5,8 ± 0,9	61,0 ± 1,8	59,0 ± 1,9	2,0 ± 2,7	0,540
	норма	4068	4120	81,0 ± 0,6	83,0 ± 0,6				
	46	4318	4372	45,0 ± 0,8	53,4 ± 0,8	36,0 ± 0,9	29,6 ± 0,9	6,4 ± 1,4	> 0,999
	47	4272	4253	10,0 ± 0,8	24,0 ± 0,7	71,0 ± 0,8	59,0 ± 0,9	12,0 ± 1,2	> 0,999
	норма	517	529	66,9 ± 2,1	67,9 ± 2,0				
	46	503	498	28,3 ± 2,0	37,8 ± 2,2	38,6 ± 2,9	30,1 ± 2,2	8,5 ± 4,1	0,961
	47	525	512	7,1 ± 1,1	13,9 ± 1,5	59,8 ± 2,4	64,0 ± 2,5	5,8 ± 3,5	0,903
	норма	536	542	75,0 ± 1,9	78,1 ± 1,8				
	46	507	513	47,7 ± 2,2	56,7 ± 2,2	27,3 ± 2,9	21,4 ± 2,8	5,9 ± 4,0	0,855
	47	519	482	12,1 ± 1,4	30,1 ± 2,1	62,9 ± 2,4	48,0 ± 2,7	14,9 ± 3,6	> 0,999
1969 рік, 7-а доба інкубації									
535	норма	3427	2996	69,2 ± 0,8	67,8 ± 0,9				
	46	3332	3778	10,8 ± 0,5	8,8 ± 0,5	58,4 ± 0,9	59,0 ± 0,9	0,6 ± 1,4	0,332
	47	3116	2919	0,2 ± 0,1	1,3 ± 0,2	69,0 ± 0,8	66,5 ± 0,9	2,5 ± 1,2	0,962
1970 рік, 5-а доба інкубації									
53599991212	норма	796	761	82,2 ± 1,4	76,5 ± 1,5				
	46	742	838	69,0 ± 1,7	70,1 ± 1,6	13,2 ± 2,2	6,4 ± 2,2	6,8 ± 3,1	0,971
	47	778	716	56,1 ± 1,8	58,9 ± 1,8	26,1 ± 2,2	17,6 ± 2,4	8,5 ± 3,3	0,990
	норма	341	312	84,8 ± 1,9	84,6 ± 2,0				
	46	392	345	71,4 ± 2,3	73,9 ± 2,4	13,4 ± 3,0	10,7 ± 3,1	2,7 ± 4,3	0,471
	47	349	361	55,0 ± 2,7	63,2 ± 2,5	29,8 ± 3,3	21,4 ± 3,3	8,4 ± 4,6	0,932
	норма	832	803	94,0 ± 0,8	94,0 ± 0,8				
	46	819	885	66,3 ± 1,7	74,9 ± 1,5	27,7 ± 1,8	19,1 ± 1,7	8,6 ± 2,5	> 0,999
	47	965	949	34,9 ± 1,5	60,3 ± 1,8	59,1 ± 1,7	33,7 ± 1,8	25,4 ± 2,5	> 0,999

стовірно більшу стійкість проти короткочасних сублетальних прогрівань самок (гомогаметної статі у дрозофіли). Вивчення теплостійкості самок та самців *B. mori* показало, що більшу стійкість проти високої температури виявили самці (гомогаметна стаття у шовкопряда). Зазначена закономірність однаково була виявлена у гусениць, лялечок (табл. 2) та на стадії яйця (табл. 3).

Одержані на великому матеріалі дані підтверджують визначену нами раніше [4, 5] більшу термостійкість гомогаметної статі у комах. Крім того, із викладеного виходить, що статеві відмінності у стійкості протиушкоджуючих факторів виникають на початку ембріогенезу та існують протягом всього онтогенезу.

ЛІТЕРАТУРА

1. М. И. Ефимов. «Тр. Киргизск. гос. мед. ин-та», 13, 28—34 (1960).
2. В. Г. Иванов. «Уч. зап. Ленинградск. гос. пед. ин-та им. А. И. Герцена», 110, 67—74 (1955).
3. В. Г. Иванов. «ДАН СССР», 100, 4, 829—832 (1955).
4. З. Т. Сало, Р. Я. Нехаенко. «Вестник Харьковск. ун-та», 39, серия биол., 32—36 (1970).
5. З. Т. Сало, В. Г. Шахбазов, Р. Я. Нехаенко. «Устойчивость к экстремальным температурам и температурные адаптации». Материалы симпозиума, провед. биол. ф-том Харьковск. ун-та 22—24 мая 1969 г., 54—58 (1971).
6. П. Г. Светлов. «ДАН СССР», 41, 9, 410—412 (1943).
7. П. Г. Светлов, О. В. Чекановская. «ДАН СССР», 46, 7, 321—324 (1945).
8. П. Г. Светлов, О. В. Чекановская. «Известия АН СССР», 2, 201—207 (1949).
9. В. А. Струнников, Л. М. Гуламова. 36. «Изуч. животного организма», М., АН СССР, 220—225 (1958).
10. Andersen F. Sgaard, «Vikos», 12, 1, 1—16, (1961).
11. Campbell Robert W. «Canad. Entomologist», 95, 5, 465—474, 1963.