

22726

ВЕСТНИК АРЬКОВСКОГО НИВЕРСИТЕТА

№ 105

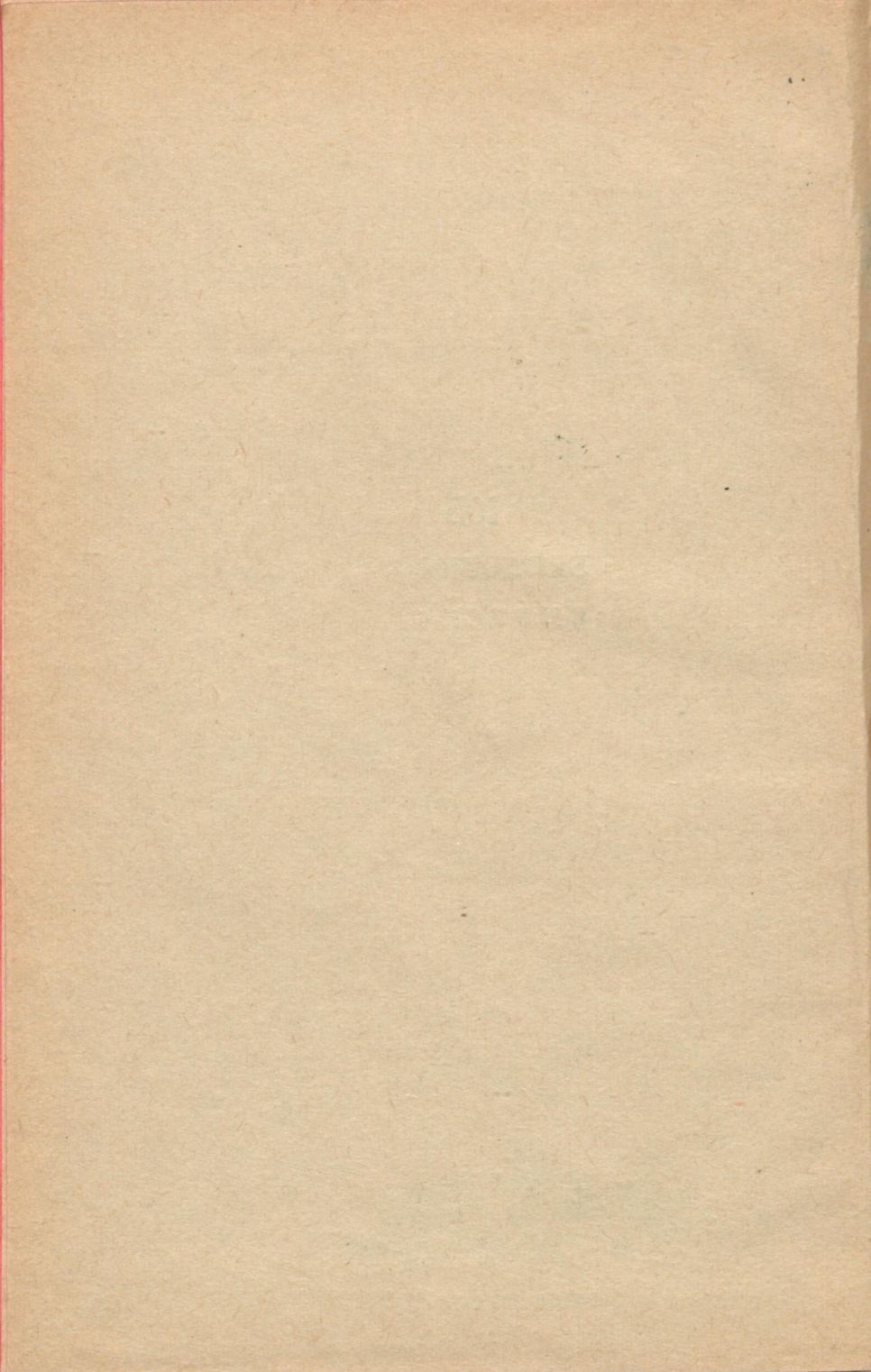
БИОЛОГИЯ

ВЫПУСК 6



«ВИЩА ШКОЛА»

1 р. 18 коп.



МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО
СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ УССР

ВЕСТНИК
ХАРЬКОВСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА

№ 105

БИОЛОГИЯ

ВЫПУСК 6

282726

ИЗДАТЕЛЬСКОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ «ВИЩА ШКОЛА»
ИЗДАТЕЛЬСТВО ПРИ ХАРЬКОВСКОМ
ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ
Харьков 1974

Сборник содержит результаты разработки научно-исследовательской тематики ряда кафедр биологического факультета и отделов НИИ биологии Харьковского университета.

Рассматриваются проблемы возрастной физиологии и биохимии животных, биохимии и биофизики гетерозиса животных и растений; некоторые результаты изучения фауны беспозвоночных и позвоночных животных, а также защиты растений и охраны природы. Публикуются сведения из истории развития биологических исследований в Харьковском университете.

Сборник рассчитан на преподавателей, аспирантов, научных работников.

Редакционная коллегия:

Проф. *В. Н. Никитин*, (ответственный редактор), проф. *Г. Л. Шкорбатов* (зам. ответственного редактора), проф. *С. И. Медведев*, проф. *В. Г. Шахбазов*, канд. биол. наук *В. С. Солодовникова* (ответственный секретарь).

ВЕСТНИК ХАРЬКОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

№ 105

Биология

Выпуск 6

Редактор *С. Д. Цай*
Технический редактор *Л. Т. Момот*
Корректор *Н. С. Калинина*

Сдано в набор 9/VII 1973 г. Подписано в печать 18/II 1974 г. Формат 60×90¹/₁₆. Бумага типографская № 3. Усл. печ л. 10. Уч.-изд. л. 11,8. Тираж 1000. Заказ 3-2898. БЦ 50049. Цена 1 руб. 18 коп.

Издательство издательского объединения «Вища школа» при Харьковском государственном университете 310003, Харьков, 3, Университетская, 16.

Харьковская городская типография № 16 Областного управления по делам издательств, полиграфии и книжной торговли. г. Харьков, ул. Университетская, 16.

© Харьковский государственный университет, 1974.

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ЯДЕР КЛЕТОК СЕРДЦА В ОНТОГЕНЕЗЕ БЕЛЫХ КРЫС

В. Н. Никитин, Л. Я. Попова, Т. П. Бондаренко

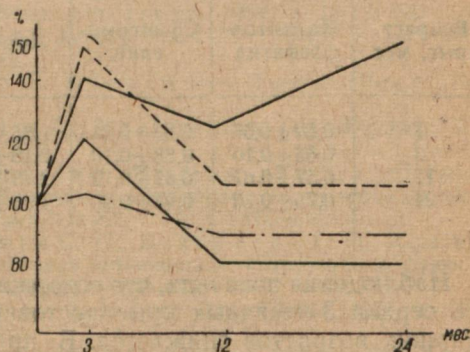
(Отдел молекулярной биологии и биофизики онтогенеза НИИ биологии)

Наукой накоплен обширный материал о важной биологической роли фосфолипидов в обмене различных органов и тканей. Выяснено значение их для процессов обмена веществ, происходящих в сердечной мышце [1, с. 2]. При гипертрофии миокарда количество фосфолипидов в сердце увеличивается, при миокардите и переутомлении — уменьшается [3, с. 4]. Имеются также данные о высоком содержании в мышце сердца полиглицерофосфатидов, которые входят в состав ферментов дыхательной цепи (последние выделены из ткани сердца [5, с. 6] и тесно связаны с процессами окислительного фосфорилирования) и инозитолфосфатидов [7, с. 8].

Задачей настоящей работы явилось изучение фосфолипидного состава ядер клеток сердца крыс разного возраста.

Подопытными животными были 1-, 3-, 12- и 24-месячные белые крысы линии Вистар, находившиеся на обычном пищевом рационе. Сердца убитых обезглавливанием крыс промывали охлажденным физиологическим раствором. Ядра выделяли по методу Шово в модификации Силаковой и др. [9].

Извлечение фосфолипидов из ядер клеток сердца проводилось по Фолчу [10], разделение на фракции — методом тонко-



Возрастные изменения отдельных фосфолипидов в ядрах сердца белых крыс (в % к содержанию их у месячных животных).

— СФМ; ---- лецитин; кардиолипин; —·— этаноламинфосфид.

слоистой хроматографии на силикагеле [11] в системе хлороформ: метанол: вода (65:25:4). Выделялось пять пятен, идентифицированных как инозитолфосфатид, сфингомиелин, холинфосфатид (лецитин), этаноламинфосфатид и полиглицерофосфатиды. Отдельные фосфолипиды определялись по количеству фосфора. Восстановителем служил эйконоген. Содержание фосфора в отдельных фракциях фосфолипидов рассчитывали на 1 г белка, определявшегося по Лоури [12].

Фосфолипидный состав ядер клеток сердца белых крыс на разных стадиях онтогенетического развития показан в таблице и на рисунке.

Исследования показали, что в ядрах клеток сердца, как и в целой сердечной мышце [3, с. 7, 8, 13], в других органоидах сердца [14] и в других органах [15] преобладающими фосфолипидами являются лецитин и этаноламинфосфатид. В меньших концентрациях содержатся инозитолфосфатид, сфингомиелин и полиглицерофосфатиды.

Содержание фосфолипидов в ядрах клеток сердца белых крыс разного возраста (в мг Р на 1 г белка). Средние данные из 8—10 опытов

Возраст крыс, мес.	Инозитолфосфатид	Сфингомиелин	Лецитин	Этанол-амин-фосфатид	Полиглицерофосфатиды
1	$0,69 \pm 0,07$	$0,63 \pm 0,01$	$1,85 \pm 0,02$	$1,89 \pm 0,02$	$0,69 \pm 0,02$
3	$0,68 \pm 0,10$	$0,88 \pm 0,10$	$3,16 \pm 0,30$	$2,27 \pm 0,04$	$0,71 \pm 0,16$
12	$0,57 \pm 0,07$	$0,81 \pm 0,12$	$2,15 \pm 0,17$	$1,54 \pm 0,05$	$0,64 \pm 0,04$
24	$0,75 \pm 0,10$	$0,98 \pm 0,20$	$1,98 \pm 0,50$	$1,55 \pm 0,10$	$0,65 \pm 0,06$

Наблюдения показали, что содержание лецитина в ядрах клеток сердца 3-месячных крыс достоверно повышается, а у крыс старших возрастов снижается. В процессе исследования выяснилось, что количество этаноламинфосфатида, сфингомиелина и полиглицерофосфатидов также увеличивается в ядрах клеток сердца крыс 3-месячного возраста. Однако эти изменения не являются достоверными.

Повышение содержания одного из наиболее важных фосфолипидов — лецитина в ядрах клеток сердца 3-месячных крыс сходно с показанными нами ранее [16] увеличением количества лецитина, этаноламинфосфатида и полиглицерофосфатидов в ядрах клеток печени 3-месячных животных и совпадает с периодом максимальной функциональной активности этих органов и всего организма [17], за которым следует постепенное ее падение. Последнее сопровождается некоторым снижением содержания фосфолипидов.

Следует отметить, что сердечная мышца, очевидно, ввиду своего важного функционального значения, характеризуется

большей стабильностью фосфолипидного состава по сравнению со скелетными мышцами, гладкой мускулатурой желудка и другими тканями [4]. Этим, вероятно, и объясняются сравнительно небольшие онтогенетические изменения фосфолипидного состава ядер клеток сердца и довольно значительное постоянство фосфолипидного состава митохондрий сердца [14]. Возможно, нарушения метаболизма в клетках сердца при старении связаны с изменениями других липидных компонентов клеточных мембран, а также комплексов фосфолипидов с макромолекулами других веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Phospholipids. — Chemistry, metabolism, Function. ed. Ansell G. B., Hanthorne J. n., B. B. a Library v. 3, 1964.
2. Гроздова М. Д. Исследование содержания белков, жиров и нуклеиновых кислот в сердечной мышце кролика в норме и при экспериментальном миокардите. Автореферат канд. дисс., М., 1964. 36 с.
3. Schulze G., Südhof H. «Pflügers Arch. ges. Physiol.», 1953, v. 258, p. 211—216.
4. Гроздова М. Д. Содержание липидов в сердечной мышце при экспериментальном миокардите. — «Вопр. мед. химии», 1964, т. 10, с. 533—538.
5. Marinetti G. V., Erbland J., Kochen J., Stotz E. — «J. Biol. Chem.», 1958, v. 233, p. 740—742.
6. Fleischer S., Brierley G., Klowen H. — «Federat. Proc.», 1961, v. 20, p. 45—49.
7. Wagner H., Holz J., Liss A., Horhammer L. — «Biochem. Z.», 1963, v. 339, p. 34—37.
8. Смирнов А. А., Чирковская Е. В., Манукян К. Г. Изучение фосфолипидов разных отделов мозга крысы с применением метода хроматографии на бумаге. — «Биохимия», 1962, т. 26, с. 1027—1033.
9. Силакова А. И., Полищук С. Н., Бекир-Заде Г. М. Ядра мышечных клеток и их глутаминовая активность. — «Структура и функции клеточного ядра», М., «Наука», 1967, с. 131—135.
10. Folch J., Lees M., Stanley G. H. — «J. Biol. Chem.», 1957, v. 226, p. 497—509.
11. Покровский А. А. и др. «Биохимические методы исследования в клинике», М., «Медицина», 1969.
12. Lowry O. H., Rosebrough et al. «J. Biol. Chem.», 1951, v. 193, p. 265—275.
13. Шабанова И. А. Количественное определение фосфолипидов в мышце сердца крыс методом хроматографии в тонком слое силикагеля. — «Биохимия», 1967, т. 31, с. 1155—1160.
14. Никитин В. Н., Попова Л. Я. Фосфолипиды митохондрий печени и сердца в постнатальном онтогенезе белых крыс. — «Эволюция вегетативных функций». «Наука», Л., 1971, с. 44—47.
15. Крепс Е. М., Красильникова В. И., Патрикеева М. В., Смирнов А. А., Чирковская Е. В. Фосфолипиды внутриклеточных частиц и миелиновых оболочек мозга в ряду позвоночных. — «Журн. эволюц. физиол. и биохим.», 1968, т. 4, с. 211—223.
16. Попова Л. Я., Бондаренко В. А. Фосфолипидный состав ядер клеток печени в онтогенезе белых крыс. В сб. «Проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики». К., «Наукова думка», 1973.
17. Никитин В. Н. Возраст и эндокринная ситуация организма. — «Усп. соврем. биол.», 1970, т. 69 (2), с. 288—305.

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ НА ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКУЮ ХАРАКТЕРИСТИКУ ГИСТОНОВ

А. И. Клименко

(Отдел молекулярной биологии и биофизики онтогенеза НИИ биологии)

Результаты многочисленных исследований подтверждают, что одной из наиболее важных функций гистонов в клетке является их способность репрессировать геном. Реализация этой

функции гистонами в большой мере определяется химической модификацией их молекул, комплексированием с некоторыми негистоновыми белками, РНК и гормонами [1; 2].

В наших предыдущих работах было показано, в частности, что в ядрах клеток печени содержание тотальных гистонов и их количественные изменения относительно ДНК значительно нарастают в постнатальном онтогенезе крыс [3; 4]. Эти показатели изменяются также при регенерации печени [4], у животных с пролонгированной жизнью [5], при изменении эндокринной ситуации в организме [6; 7]. Причем наблюдается возрастная специфика в этих изменениях.

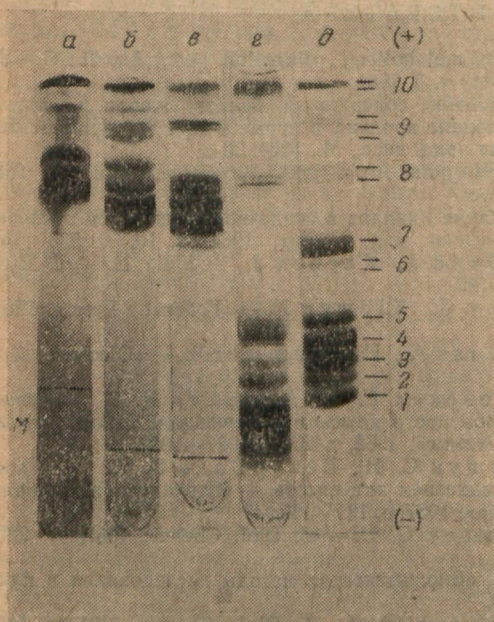


Рис. 1. Влияние различных условий на гетерогенность и электрофоретическую подвижность в полиакриламидном геле гистонов ядер клеток печени intactных и адrenaлэктомированных крыс разного возраста (объяснения см. в тексте).

В работе приводятся результаты экспериментов по изучению влияния факторов возраста животного, адrenaлэктомии, рН и времени электрофореза на гетерогенность, электрофоретическую подвижность в полиакриламидном геле (ПААГ) и количественное соотношение субфракций гистонов в ядрах клеток печени

белых крыс. Методы выделения и анализа гистонов описаны ранее [8; 9]. Данные экспериментов подвергались вариационно-статистическому анализу по общепринятому методу. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Исследования показали, что степень гетерогенности и электрофоретическая подвижность в ПААГ субфракций гистонов в большой мере определяются избранными условиями экспериментов. При длительности электрофореза пять часов в 15% ПААГ (рН 4,3) в β -аланиновом буфере (рН 5,0) весь анализируемый белок локализуется преимущественно в двух, несколько искривленных зонах (рис. 1 а). Более высокую гетерогенность гистонов удаётся получить при электрофорезе в глициновом буфере (рН 4,0) или в 0,9 н. CH_3COOH при рН геля 2,3 и длительности разгонки 3, 3,5 и 5 часов (рис. 1, б, в, г). В последнем случае в геле интенсивно прокрашиваются 12 зон, в которых локализуется основная масса наносимого на гель белка гистонов. Однако наиболее подвижные зоны в этих условиях электрофореза располагаются очень близко друг возле друга, что значительно затрудняет дальнейший денситометрический анализ электрофореграмм. Этого можно избежать, если проводить электрофорез в глициновом буфере (рН 4,0) на протяжении 3 час. 45 мин. (рис. 1, д и рис. 2, б).

В этих условиях на электрофореграммах гистонов интактных и адреналэктомированных животных чётко прокрашиваются пять быстро мигрирующих в геле зон, содержащих около 70% анализируемого белка. Остальная часть белка локализуется в трёх зонах со средней электрофоретической подвижностью и в пяти-семи малоподвижных в ПААГ зонах, связывающих сравнительно незначительное количество красителя.

В соответствии с принятой в настоящее время номенклатурой гистонов, полученные в наших экспериментах основные электрофоретические фракции этих белков, локализованные в ПААГ в зонах 1, 2 и 3, 4, 5, 7 (см. рис. 1, д и рис. 2, б и таблицу), можно идентифицировать, учитывая их электрофоретическую подвижность в геле, соответственно как гистоны $\Phi 2a1$, $\Phi 2a2$, $\Phi 2b$, $\Phi 3$ и $\Phi 1$, где фракции $\Phi 3$ и $\Phi 2a1$ принадлежат к аргининбогатым гистонам, $\Phi 2b$ и $\Phi 1$ являются лизинбогатыми гистонами, а фракция $\Phi 2a2$ занимает промежуточное положение между этими белками.

На электрофореграммах гистонов всех изученных групп животных, кроме основных, интенсивно окрашенных зон, видны и менее окрашенные полосы, локализованные преимущественно в первой половине геля. Возможно, что это минорные субфракции гистонов. Однако в ряде исследований выявлено [15], что некоторые фракции гистонов (в основном аргининовые) содержат тиоловые группы, которые в процессе выделения гистонов

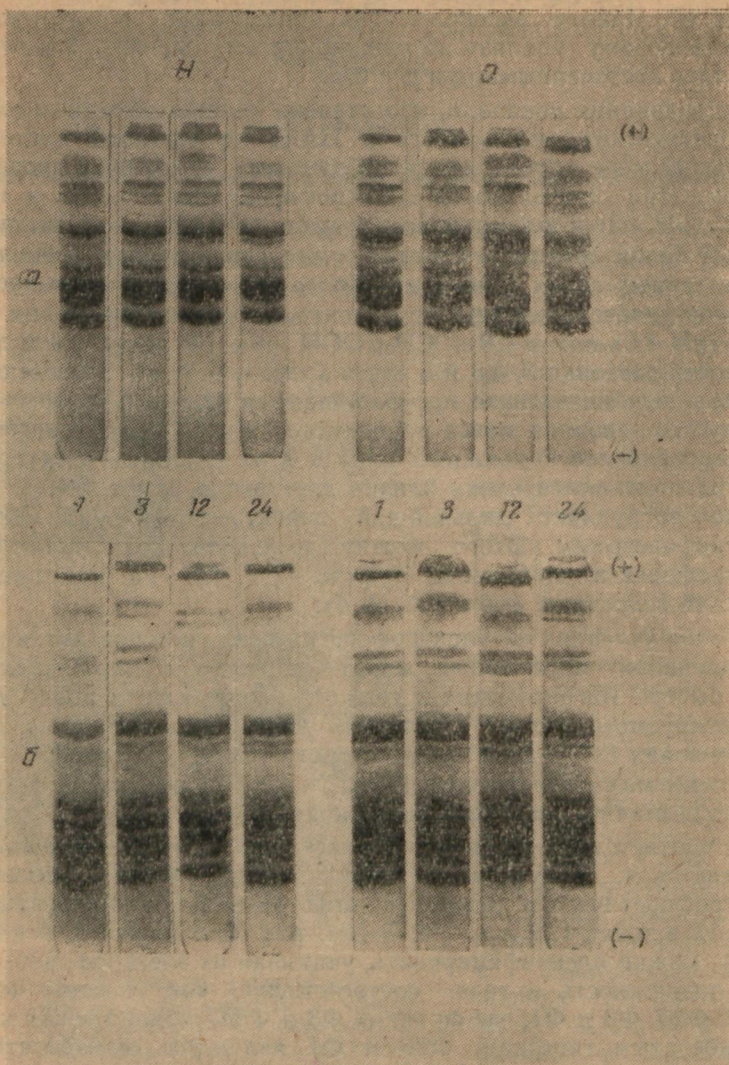


Рис. 2. Электрофореграмма суммарных гистонов ядер клеток печени intactных и адrenaлэктомированных крыс разного возраста. Н — intactные животные. О — адrenaлэктомированные животные.

Время электрофореза: а — 3 часа; б — 3 часа 45 минут. 17% - ный ПААГ, рН 2,3. Электродный буфер глицин с CH_3COOH , рН 4,0; 1, 3, 12 и 24-возраст животных в месяцах.

и их дальнейшего электрофореза могут окисляться с образованием дисульфидных связей. В ПААГ при этом образуются сдвоенные зоны, обладающие замедленной подвижностью. В наших экспериментах наблюдались такие зоны, причём в одинаковой мере у всех исследованных групп животных.

Обращает на себя внимание также и то, что во всех проведенных опытах степень гетерогенности гистонов и их электрофоретическая подвижность в ПААГ у нормальных животных разного возраста, а также после адrenaлэктомии существенно не отличались.

В противоположность этому, количественные соотношения между электрофоретическими фракциями ядерных гистонов в этих условиях заметно меняются (таблица). Так, у интактных животных с возрастом уменьшается количество белка в зонах 1, 3, 5 и 8, в то время как в зонах 2, 4 (кроме 12-месячных крыс), 6 и 7, наоборот, оно несколько возрастает и существенно не изменяется в зонах 9 и 10. Количественные изменения соотношений фракций гистонов отмечались в процессе постнатального онтогенеза крупного рогатого скота, кур и крыс, а также на разных стадиях развития растений [10] и в процессе эмбриогенеза морского ежа [11]. В связи с репрессорной функцией гистонов эти изменения, вероятно, могут оказывать определённое влияние на активность генома в процессе развития организма. Как свидетельствуют эксперименты, у интактных животных наблюдается корреляция между повышением соотношения гистоны: ДНК и понижением синтеза РНК с возрастом животных [12]. Отмечается также взаимосвязь между изменением состава и РНК, гистонов и скорости синтеза отдельных фракций этих белков на ранних стадиях эмбриогенеза морского ежа и выюна [13, 14].

После удаления надпочечников относительное содержание белка достоверно уменьшается по сравнению с интактными животными аналогичного возраста в зоне 1 (наиболее выражено у 1- и 24-мес. крыс), в зоне 2 (у 12-мес.), 3 (у 1- и 24-мес.), менее выражено это уменьшение в зонах 4 (у 24-мес. крыс) и 8 (у 3-мес.).

В противоположность этому увеличение содержания белка после адrenaлэктомии отмечено в зоне 4 (у животных 1- и 12-мес.), 7 (у 1- и 3-мес. крыс), 8 (у 24-мес.) и 10 (у 12- и 24-мес. животных). В 5, 6 и 9 зонах количество белка у адrenaлэктомированных животных существенно не отличается от интактных животных. Вероятно, в условиях адrenaлэктомии изменяется метаболизм отдельных фракций гистонов, что в конечном итоге и приводит к соответствующим изменениям количественных соотношений этих фракций в тотальном гистоне. Некоторые основания для такого предположения дают исследования [16], показавшие, что после удаления надпочечников изменяется содержание белков в ряде органов. Причём, эти изменения касаются

Влияние возраста и адреналэктомии на количественные соотношения фракций суммарных гистонов ядер клеток печени белых крыс

Воз- раст, мес.	Условия опыта	Содержание белка в отдельных субфракциях ядерных гистонов, %									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Норма Адреналэктомия <i>p</i>	12,79 9,29 <0,001	5,37 5,82 >0,05	14,87 10,55 <0,001	22,28 25,50 <0,002	11,10 11,19 >0,05	2,90 3,07 >0,05	7,51 12,48 <0,001	5,68 5,08 >0,05	10,20 10,58 >0,05	7,30 6,54 >0,05
3	Норма Адреналэктомия <i>p</i>	10,73 9,57 >0,05	6,15 6,21 >0,05	12,31 12,82 >0,05	23,52 22,86 >0,05	10,04 9,95 >0,05	3,41 3,52 >0,05	11,31 12,89 <0,01	5,01 4,08 <0,05	9,54 10,00 >0,05	7,98 8,69 >0,05
12	Норма Адреналэктомия <i>p</i>	10,47 10,05 >0,05	6,58 5,12 <0,05	13,65 10,16 <0,01	21,44 25,23 <0,002	10,37 9,72 >0,05	3,32 3,70 >0,05	11,44 12,05 >0,05	4,39 4,11 >0,05	9,90 9,48 >0,05	8,44 10,38 0,05
24	Норма Адреналэктомия <i>p</i>	11,69 9,91 >0,05	6,98 6,61 >0,05	12,70 11,74 >0,05	25,27 23,36 <0,05	9,27 10,00 >0,05	3,59 3,23 >0,05	10,00 10,31 >0,05	4,12 5,04 <0,05	9,82 10,68 <0,05	6,56 9,57 <0,002

главным образом ядерных белков клетки. Однако для более детального анализа влияния адrenaлэктомии на содержание отдельных субфракций гистонов необходимы дальнейшие эксперименты.

Таким образом, в процессе постнатального онтогенеза белых крыс и после адrenaлэктомии гетерогенность гистонов и их электрофоретическая подвижность не изменяются, тогда как количественные соотношения между отдельными фракциями этих белков претерпевают определённые различия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Георгиев Г. П. Структура и матричная активность хроматина. М., Сб. «Усп. соврем. генетики». М., «Наука», 1971, № 3, с. 28—46.
2. Сергеев П. В., Сейфулла Р. Д., Майский А. И. Молекулярные аспекты действия стероидных гормонов. М., «Наука», 1971, с. 1—280.
3. Никитин В. Н., Клименко А. И. Щелочные белки и синтезирующий аппарат ядер клеток. Сб. «Вопросы биосинтеза, структуры и функций биополимеров». К., «Наукова думка», 1967, с. 37—59.
4. Клименко А. И. Нуклеиновые кислоты и гистоны ядер клеток в онтогенезе. Сб. «Молекулярные и функциональные основы онтогенеза», М., «Медицина», 1970, с. 89—109.
5. Клименко А. И. Фактор питания и его влияние на биохимический состав ядер клеток печени белых крыс. «Вопросы питания», 1970, 4, с. 11—15.
6. Клименко А. И. Влияние тироксина на содержание нуклеиновых кислот и белков в ядрах клеток печени белых крыс. — «Вопр. мед. химии», 1970, № 3, с. 281—286.
7. Клименко А. И. Возрастные особенности в содержании РНК, ДНК и белков в ядрах клеток печени крыс при индукции гидрокортизоном. — «Вопр. мед. химии», 1971, № 6, с. 615—619.
8. Клименко А. И. Некоторые данные о соотношении гистон—ДНК в ядрах клеток печени белых крыс молодого и старого возраста. — «Биохимия», 1964, т. 25, вып. 5, с. 820—823.
9. Клименко А. И. Количественные изменения ядерных нуклеиновых кислот и гистонов в онтогенезе интактных белых крыс. Сб. «Молекулярная биология старения». К., «Наукова думка», 1969, с. 14—23.
10. Гофштейн Л. В. Современные представления о гистонах и их функциях. «Усп. биол. хим.», 1971, № 12, с. 72—96.
11. Воробьев В. И., Виноградова И. В., Гинейтис А. А. Изменение гистонов при дифференцировке. Сб. «Клеточное ядро и его ультраструктуры». М., «Наука», 1970, с. 283—287.
12. Клименко А. И., Тупчиенко Г. С. К вопросу о транскрипции генома в постнатальном периоде онтогенеза белых крыс. — «Онтогенез», 1973, т. 4, № 1, с. 80—83.
13. Рачкус Ю. А., Тимофеева М. Я., Куприянова Н. С., Кафани К. А. Характеристика РНК, синтезируемых в эмбриональном развитии выюна, при помощи метода гибридизации. Сб. «Клеточное ядро и его ультраструктуры». М., «Наука», 1970, с. 266—270.
14. Glisim V., Glisim M., Doty P. Nat. Acad. Sci. USA, 1966, 56, 1.
15. Panyim S., Chalkley R. Biochemistry, 1969, 8, 10, 3972.
16. Ichii Sh., Ikeda A. Endocrinol. Jap., 1970, 17, № 273, 4.

АКТИВНОСТЬ НЕЙТРАЛЬНОЙ И КИСЛОЙ ДНК-аз ЯДЕР РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС В ОНТОГЕНЕЗЕ

М. Я. Шевцова

(Отдел молекулярной биологии и биофизики онтогенеза НИИ биологии)

К числу первичных механизмов, определяющих основные изменения в организме при старении, следует отнести пока еще мало изученные изменения в макромолекулярном составе про-топлазмы.

Особое значение имеют изменения в структуре и метаболизме белково-нуклеиновых комплексов, и прежде всего в геноме клетки. Ведущая роль в генетическом аппарате клетки принадлежит ДНК и ее связям с РНК и белками.

Целью данной работы является определение возрастных изменений активности ДНК-аз, т. е. ферментов, катализирующих начальный этап распада ДНК печени белых крыс. Ранее изучалась активность нейтральной и кислой ДНК-аз гомогенатов и митохондрий печени белых крыс [1; 2]. Особый интерес вызывают ДНК-азы, локализованные в ядре, т. е. в непосредственной близости к своему субстрату — ДНК.

Ферментативная активность определялась в ядрах печени нормальных животных и при процессах регенерации на 48 час после частичной гепатэктомии. Последняя является сигналом к делению оставшихся клеток, направленному на восстановление массы органа, утраченного во время резекции, причем деление клеток имеет синхронный характер. Особенно бурные процессы наблюдаются в течение первых 48 часов после операции. Логично допустить, что в это время должна меняться активность ДНК-аз, принимающих участие в обмене ДНК.

Исследования проводились на белых крысах линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 и 24-месяца. Ядра выделялись на холоде методом дифференциального центрифугирования [3]. $\frac{2}{3}$ печени удаляли по методу Хиггинса и Андерсона [4].

Активность нейтральной и кислой ДНК-аз определялась с помощью метода В. С. Шапота и сотрудников [5]. Оптическую плотность надосадочной жидкости измеряли на спектрофотометре СФ-4А при длине волны 260 мμ. Ферментативная активность выражалась в приросте экстинции в мин на 1 мг N. Азот определяли микро-методом Кьельдаля. Результаты экспериментов подвергались вариационно-статистической обработке по методу Стьюдента-Фишера [6].

Данные, полученные в первой серии экспериментов, представлены на рисунке. Как видим, активность нейтральной ДНК-азы не меняется на протяжении изучаемого отрезка онтогенеза. Активность кислой ДНК-азы у молодых и половозрелых живот-

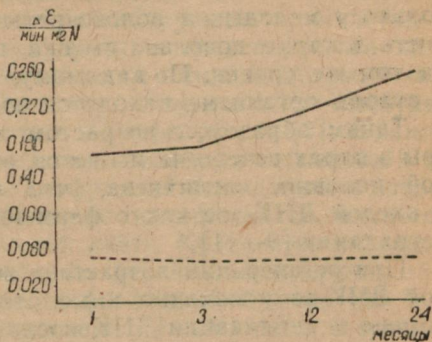
ных (1, 3 мес.) одинакова, затем растет и достигает максимальной величины у самой старой группы животных.

Аналогичное поведение кислой ДНК-азы в ядрах печени мыши установил в своей работе Л. Пирре [7]. К сожалению, в этой работе изучалась ферментативная активность только до 200 дней жизни мышей.

Н. О. Паладич и со-трудники [8] наблюдали снижение активности кислой ДНК-азы с возрастом. Возможно, это противоречие связано с применением разных методов выделения ядер.

Вторая серия экспериментов была посвящена изучению активности ядерных ДНК-аз при процессах регенерации, после гепатэктомии. Результаты представлены в таблице.

Как видно, активность нейтральной ДНК-азы при регенерации увеличивается у всех возрастных групп почти вдвое. Это



Активность кислой (—) и нейтральной (---) ДНК-аз ядер печени белых крыс в зависимости от возраста.

Активность нейтральной и кислой ДНК-аз ядер печени белых крыс при регенерации

Возраст, мес.	Нейтральная ДНК-аза		Кислая ДНК-аза	
	Норма	Регенерация	Норма	Регенерация
1	$0,051 \pm 0,002$ $n=10$	$0,086 \pm 0,004$ $n=10$ $p < 0,001$	$0,165 \pm 0,006$ $n=10$	$0,232 \pm 0,015$ $n=10$ $p < 0,001$
3	$0,042 \pm 0,002$ $n=13$ $p > 0,05$	$0,084 \pm 0,003$ $n=10$ $p < 0,001$	$0,168 \pm 0,007$ $n=13$ $p > 0,05$	$0,256 \pm 0,010$ $n=10$ $p < 0,01$
12	$0,048 \pm 0,002$ $n=12$ $p > 0,05$	$0,076 \pm 0,002$ $n=8$ $p < 0,001$	$0,209 \pm 0,016$ $n=10$ $p < 0,05$	$0,212 \pm 0,029$ $n=8$ $p > 0,05$
24	$0,047 \pm 0,004$ $n=10$ $p > 0,05$	$0,080 \pm 0,004$ $n=10$ $p < 0,001$	$0,254 \pm 0,013$ $n=10$ $p < 0,02$	$0,244 \pm 0,008$ $n=9$ $p > 0,05$

Примечание. n — количество опытов. Достоверность разницы при регенерации дана по отношению к норме.

повышение ферментативной активности, вероятно, связано с повышением обмена ДНК при восстановлении массы органа после операции и с усилением процессов репликации ДНК ядер клеток печени.

Активность кислой ДНК-азы при регенерации повышается только у молодых и половозрелых крыс. У старых, где активность в норме довольно высока, при регенерации она остается на том же уровне. По-видимому, активность кислой ДНК-азы в старом организме находится на самом высоком уровне.

Таким образом, с возрастом активность нейтральной ДНК-азы в ядрах печени не меняется, а кислой — повышается во второй половине онтогенеза, что подтверждает предположение о кислой ДНК-азе как о ферменте, участвующем в процессах деградации [9—11].

При регенерации возрастает активность нейтральной и кислой ДНК-аз у молодых крыс, что свидетельствует об усилении обмена и репликации ДНК после частичной гепатэктомии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шевцова М. Я. Активность кислой и нейтральной дезоксирибонуклеаз печени белых крыс в онтогенезе. — «Реферативная информация о законченных научно-исследовательских работах в вузах УССР», вып. 4. Биология. К., «Вища школа», 1970, с. 4—5.
2. Шевцова М. Я. Активность нейтральной ДНК-азы печени белых крыс в онтогенезе. — «Тезисы докладов I Белорусской конференции геронтологов и гериатров». Минск, «Наука и техника», 1970, с. 213—214.
3. Hogeboom G. H., Schneider W. C., J. Biol. Chem., 1967, 197, с. 611—616.
4. Higgins G. M., Anderson R. M., Arch. Path., 1931, 112, с. 186—189.
5. Шапот В. С., Чудинова В. А., Кречетова Р. Д. «Методы выделения и определения активности нуклеаз». В кн. «Современные методы в биохимии». М., «Медицина», 1964, I, с. 276—270.
6. Бейли Н. Статистические методы в биологии. М., ИЛ, 1962, с. 64—74.
7. Lesca Pierre. — Nature, 1968, 220, N 5162, с. 76—77.
8. Паладій Н. О., Тюленев В. І., Череп М. Н., Бердишев Ш. Д. Вікові відмінні активності кислої дезоксирибонуклеази у фракціях печінки шурів. — Другий Український біохімічний з'їзд. Тези доповідей і повідомлень. К., «Наукова думка», 1971, с. 294—295.
9. Kurnick N. B., Kern R. L. Gerontol., 1962, 17, с. 294—295.
10. Coleman J. R. Develop. Biol., 1962, 5, № 2, с. 232—251.
11. Бердишев Г. Д., Парсницкая А. И., Рассказов В. А. Изменение активности лизосомальных ферментов в соматических тканях пересаживаемой горбуши. — «Цитология и генетика», 1967, 1, № 5, с. 51—54.

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОБЕЛКОВОЙ ДИЕТЫ НА ТРАНСПОРТ МЕТИОНИНА И ФЕНИЛАЛАНИНА В ДИАФРАГМУ МОЛОДЫХ И СТАРЫХ ЖИВОТНЫХ

В. П. Мищенко

(Отдел возрастной физиологии и биохимии НИИ биологии)

Результаты проведенных ранее исследований свидетельствуют, что при избыточном потреблении организмом белка возрастные различия состояния аминокислотного фонда в мышцах

имеют несколько иной характер, чем при нормальной диете [1]. С другой стороны, опыты *in vitro* на диафрагме показали, что онтогенетическое понижение концентрации свободных аминокислот в мышечной ткани может быть обусловлено изменениями в механизме транспорта их через клеточную мембрану [2]. С возрастом усиливается ингибирующее влияние одних аминокислот на взаимодействие других с транспортными системами, имеющими средство к нескольким аминокислотам, в частности, к метионину и фенилаланину, которые могут поступать в клетку с помощью одного и того же переносчика [3]. В данной работе исследовалось *in vitro* взаимное влияние метионина и фенилаланина на поглощение их диафрагмой белых крыс в возрасте 1 и 24 месяцев, предварительно находившихся в течение четырех суток на 70% казеиновой диете. Количество поглощаемых аминокислот учитывалось по разнице концентрации их в инкубационной среде (калийно-фосфатный буфер, pH 7, 4) до и после инкубации в присутствии (1 mM) и в отсутствии аминокислот. Количественное определение метионина и фенилаланина производилось методом хроматографии на бумаге, предложенном Бодэ и Гири в модификации Г. Н. Зайцевой и Н. П. Тюленевой [4].

Влияние высокобелковой диеты на поглощение аминокислот диафрагмой белых крыс разного возраста (мкг/10 см². 1 час).

Аминокислоты	1 мес.		24 мес.	
	Количество белка, %			
	12	70	12	70
Метионин	223±31,1		223±35,1	
Метионин (в присутствии фенилаланина)	139,2±10,1	44,5±8,9	127,0±25,2	61,4±6,3
Фенилаланин (в присутствии метионина)	195,4±18,3	60,7±4,6	98,8±10,8	97,0±2,0

Полученные данные представлены в таблице, из которой следует, что поглощение диафрагмой метионина не меняется с возрастом у животных, находившихся на нормальном пищевом рационе. Однако при внесении в инкубационную среду фенилаланина поступление серусодержащей аминокислоты в диафрагму у обеих исследуемых онтогенетических групп животных тормозится приблизительно на 40%, что подтверждает сказанное выше, а именно, что метионин и фенилаланин обладают высоким средством к одной и той же транспортной системе.

Четырехдневное пребывание крыс на высокобелковой диете сопровождается снижением аккумуляции диафрагмой метионина, причем более резко у одномесячных животных. Транспорт фенилаланина в присутствии метионина в мышечную ткань старых животных, получавших пищу, содержащую 12% белка, тормозится в два раза. В условиях предварительной белковой нагрузки скорость поглощения фенилаланина диафрагмой двухгодовалых крыс на фоне метионина не изменяется, а у молодых животных существенно снижается.

Итак, у одномесячных крыс, содержащихся в течение четырех суток на 70% казеиновой диете, поглощение диафрагмой исследуемых аминокислот из инкубационной среды снижается в три раза. У старых животных высокобелковая диета вызывает угнетение скорости поступления из инкубационной среды в мышечную ткань лишь метионина. Полученные возрастные различия обусловлены, по-видимому, тем, что при обильном поступлении белка в организм мышечная ткань насыщается метионином и фенилаланином у одномесячных крыс значительно интенсивнее, чем у двухгодовалых животных.

Можно предположить, что метионин, обладая очень высоким сродством к системам, которые транспортируют циклические аминокислоты, затрудняет взаимодействие фенилаланина с переносчиком в старости. Однако это явление не было обнаружено при избыточном поступлении в организм белка. Очевидно, состояние транспортных систем зависит от степени насыщения клеток аминокислотами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мищенко В. П. Изменение концентрации свободных аминокислот в органах животных разного возраста в зависимости от содержания белка в пище. В кн. «Молекулярная биология старения». К., «Наукова думка», 1969, с. 50—56.
2. Мищенко В. П., Парина Е. В. Поглощение аминокислот диафрагмой белых крыс разного возраста. Сб. «II всесоюзный биохимический съезд». Ташкент, Изд-во ФАН, 1969, с. 65—66.
3. Мищенко В. П. Влияние возраста на транспорт аминокислот. В кн. «Молекулярные и функциональные основы онтогенеза». М., «Медицина», 1970, с. 58—71.
4. Зайцева Г. Н., Тюлеева Н. П. Количественное определение аминокислот на хроматограммах посредством образования медных производных с нингидрином. — «Лабораторное дело», 1958, № 3, с. 24—29.

ВЛИЯНИЕ ГИПОФИЗЭКТОМИИ НА СОСТАВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

В. Н. Никитин, Е. А. Сазонова, Л. П. Ушакова
(Кафедра физиологии человека и животных)

Проблема гуморальной регуляции морфологического состава крови представляет большой как практический, так и теоретический интерес и до сих пор еще не представляется достаточно

изученной. Ключевое положение нейроинкреции гипоталамуса и гормонов гипофиза в эндокринной ситуации организма, естественно, вызвало попытки изучения их влияния на гемопоэз. Однако, даже в отношении влияния снятия гормональных влияний гипофиза (при его удалении) на гемопоэз и картину периферической крови пока имеются лишь противоречивые данные.

Одни авторы [1—6] наблюдали снижение процента гемоглобина и количества эритроцитов у людей с пониженной деятельностью передней доли гипофиза и после гипофизэктомии у животных, другие не обнаружили заметных отклонений от нормы [7]. В известной степени это можно объяснить различиями в методах исследования, так как кровь для анализа брали однократно в разные послеоперационные сроки и, кроме того, в эксперименте не учитывали возраст подопытного животного. Необходимо также иметь в виду, что гипофизэктомия (и выпадение при этом АКТГ) не снижает полностью базальную инкрецию глюкокортикоидов в надпочечниках и диффузной кортикоидной ткани [8; 9; 10; 11; 12]. Менее определенно можно говорить о том, выпадает ли полностью при гипофизэктомии гемопоэтический фактор [2, с. 11]. К тому же организм на разных этапах онтогенеза по-разному реагирует на тяжелое при гипофизэктомии хирургическое вмешательство. Поэтому следовало бы предположить, что реакция на гипофизэктомию существенно зависит от возраста. Целью настоящего исследования было изучение изменений состава периферической крови у животных разного возраста в длительной временной динамике после гипофизэктомии.

Под наблюдением находились белые крысы четырех возрастных групп — 1, 3, 12, 24 месяца. В каждой из них исследовали 10 контрольных и 10—20 опытных животных. Морфологический состав периферической крови изучали периодически на 10, 20, 30, 60-й день после операции. Процент гемоглобина, количество эритроцитов, лейкоцитов и лейкоцитарную формулу крови у опытных и контрольных животных определяли общепринятыми методами [10; 13].

Опытным животным производили полную гипофизэктомию методом Томсона [23], контрольным вскрывали череп без последующего удаления гипофиза. При статистической обработке в каждом отдельном случае вычисляли разницу между опытом и контролем, находили среднюю разницу за период наблюдения и оценивали достоверность по методу Стьюдента.

В процессе эксперимента выяснено, что животные разного возраста по-разному реагируют на удаление гипофиза (см. таблицу и рисунок). Молодые животные (1—3 месячные) гипофизэктомию переносят довольно легко, их выживаемость на 10-й день составляет 70—77% и спустя два месяца после операции она составляет 18%. У взрослых (12-месячных) животных процент выживаемости на краткие сроки был ниже — на 10-е сутки

был равен 56%. Однако, через два месяца сохранялось столько же животных, сколько и в молодом возрасте. Выживаемость старых животных (24 месяца) значительно ниже: на 10 день их осталось 30%, до конца эксперимента они не дожили и погибли. Аналогичные данные были получены в нашей лаборатории в исследовании А. И. Клименко [14].

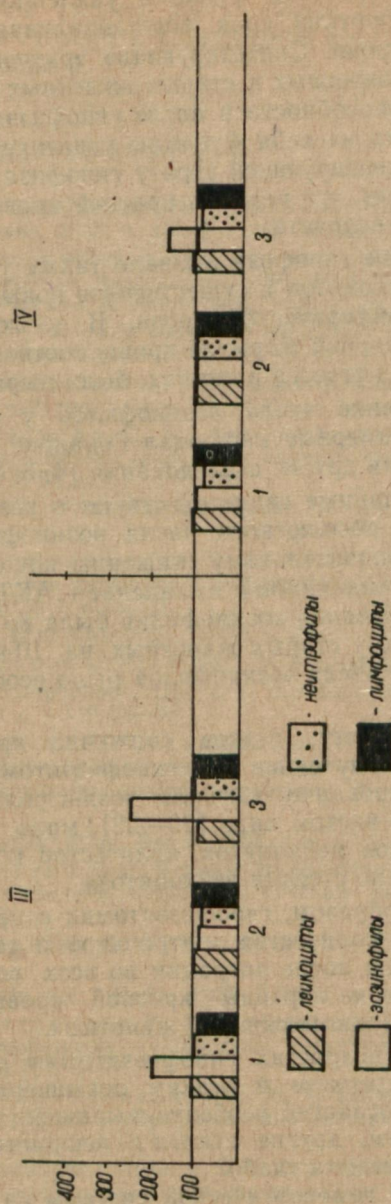
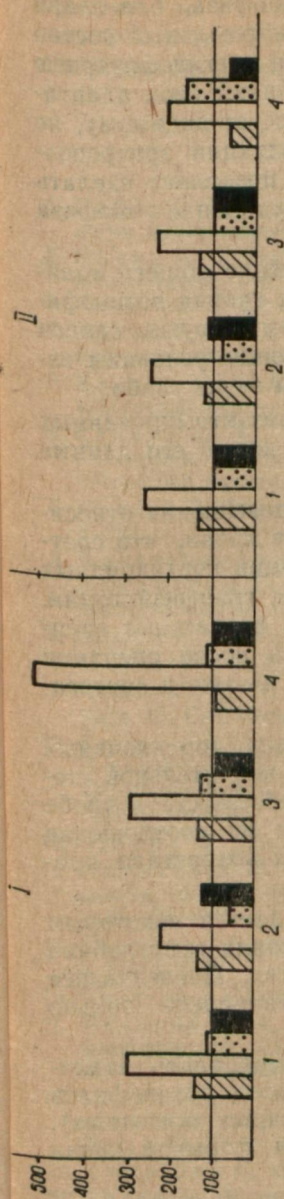
Возраст, мес.	Прооперировано животных	Выживаемость							
		на 10-й день		20-й день		30-й день		60-й день	
		число	%	число	%	число	%	число	%
1	40	28	70	22	55	12	30	7	18
3	30	23	77	19	63	13	43	6	20
12	30	17	56	14	47	11	37	6	20
24	20	6	30	2	10	—	—	—	—

Удаление гипофиза в зависимости от возраста по-разному влияет на состав периферической крови. У одномесячных и 3-месячных животных на 10-й день после операции количество эритроцитов снижается на 7—8%, а к 30-му дню восстанавливается до исходного уровня только у одномесячных.

Количество эритроцитов у взрослых и старых животных на 10 и 20-й день после операции не отличалось от исходного уровня. Через 30 дней содержание эритроцитов несколько уменьшалось во всех возрастах и на этом уровне оставалось до конца эксперимента. Процент гемоглобина на 10-й день во всех возрастных группах падал на 3—7%, а к 20—30 дню восстанавливался до нормы только у одномесячных животных; у взрослых и старых он оставался на более низком уровне.

Некоторое снижение показателей красной крови у молодых гипофизэктомированных животных на первых этапах эксперимента, возможно, объясняется не только кровопотерей, но и выпадением тропных гормонов гипофиза [8, с. 1], что приводит к резкому замедлению обменных процессов в молодом возрасте на 10-й день [14]. Изменения красной крови на последующих этапах эксперимента, очевидно, вызваны удалением из организма гемопоэтического фактора передней доли гипофиза [2, с. 16], способного поддерживать постоянство состава красной периферической крови.

Экспериментальный материал подтверждает, что у молодых гипофизэктомированных животных быстро восстанавливается качественный и количественный состав периферической красной крови, к 20—30 дню ее показатели достигают нормы. Возможно, это объясняется усилением продукции эритропоэтического гор-



Влияние гипотизэктомии на картину белой крови крыс разного возраста.

I — 10-й день,
 II — 20-й «—»,
 III — 30-й «—»,
 IV — 60-й «—».

■ — лейкоциты
 ▨ — эозинофилы
 ▤ — нейтрофилы
 ■ — лимфоциты

мона в почках [15, с. 16] и желудке [8, с. 17], которые вскоре принимают на себя функции удаленного гипофиза, благодаря чему за короткий срок восстанавливается нормальный состав красной крови. Синтезирующие эритропоэтин внегипофизарные элементы взрослых и старых животных ослабляют свои адаптационные способности и после гипофизэктомии, по-видимому, не могут взять на себя функцию усиленной продукции эритропоэтина, компенсирующей утрату гипофиза. Это позволяет сделать вывод о том, что реакция красной крови на удаление гипофиза зависит от возраста.

Удаление гипофиза вызвало также увеличение общего количества лейкоцитов и существенное повышение уровня эозинофилов в периферической крови. В то же время другие сдвиги в лейкоцитарной формуле крови, соответствующие условиям извращенного стресса в опытах, были выражены очень слабо.

Повышение числа эозинофилов у гипофизэктомированных животных впервые наблюдал Гоналонс [19], позже его данные подтвердили другие исследования [4; 5; 6].

Наши данные свидетельствуют о резком повышении относительного и абсолютного числа эозинофилов в крови, что соответствует значительному снижению концентрации кортикоидных гормонов, вызванному выпадением АКТГ при гипофизэктомии. Ярко выраженная эозинофилия была во всех возрастных группах, однако у старых животных на 10-й день после операции повышение числа эозинофилов было особенно высоко и достигало 512%.

По-видимому, резкое снижение продукции кортикоидных гормонов, полученное при гипофизэктомии, в значительной степени изолированно вызвало эозинофилию, соответствуя пробе Торна в её чистом виде [20—22], мало влияя на соотношение других видов лейкоцитов, количество которых возрастало пропорционально степени лейкоцитоза.

Таким образом, гипофизэктомия сопровождается некоторым снижением количества эритроцитов и содержания гемоглобина в первые дни после операции во всех возрастах. Последующее восстановление картины красной крови установлено только у молодых (одномесечных) животных.

Во всех возрастах гипофизэктомия сопровождалась заметным лейкоцитозом и резким повышением числа эозинофилов в крови (последнее особенно выражено у старых животных). Вместе с тем, другие сдвиги в лейкоцитарной формуле крови выражены весьма слабо.

Реакция гемопoэтической системы на гипофизэктомию зависит от возраста.

Оценивая результаты эксперимента в целом, следует отметить, что гипофизэктомия не приводит к катастрофическим из-

менениям гемопоэза. Периферические «заместители» инкреции гипофиза во все возрасты (может быть, кроме старческого) способны в значительной степени к повышенной продукции гормонов, регулирующих гемопоэз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рябов С. И. О влиянии гипофиза на эритропоэз. — «Проблемы гематологии и переливания крови», 1968, т. 13, № 12, с. 39—42.
2. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований. — «Патологическая физиология», 1960, № 4, с. 76—85.
3. Flaks J., Himmel J., Zotnik A. Presse med, 1938, v. 46, p. 1506.
4. Архангельский С. Х. О влиянии полного и частичного удаления гипофиза на животный организм. Саратов, 1928, с. 18—21.
5. Капран С. К. Морфологічна картина у гіпофізектомованих собак. — «Медичний журнал», 1935, т. 4, вип. 3—4, с. 599—629.
6. Капран С. К., Афанасьева Е. Ю. Про вплив гіпофізектомії на регенерацію морфологічних елементів крові після великих кровопускань. — «Медичний журнал», 1953, т. 23, вип. 3, с. 57—68.
7. Grafts R., Meineke H. «Proc. Soc. exp. Biol». (N. G.), 1956, v. 92, p. 222.
8. Кахетелидзе М. Г., Михайлова И. А., Маланина В. Н., Маскалева Г. П. О роли гипофиза в кроветворении. — «Проблемы эндокринологии», 1962, т. 8, № 1, с. 14—21.
9. Shima S., Pincus G. «Endocrinology», 1969, v. 84, p. 1048.
10. Mulrow P. J. Annual Review of Physiology. 1972, v. 34, p. 409—424.
11. Никитин В. Н. Гематологический атлас с.-х. и лабораторных животных. М., Сельхозгиз, 1956, с. 3—19, 53—78.
12. Галавина О. И., Блок Л. Н., Ставицкая Л. И., Соленова-Филиппова И. П. Возрастные изменения эндокринных функций. — «Молекулярные и функциональные основы онтогенеза», М., «Медицина», 1970, с. 309—345.
13. Stobbe H. Hämatologischer Atlas. Berlin, 1959.
14. Никитин В. Н., Клименко А. И. Влияние гипофизэктомии на метаболизм белых крыс различного возраста. — «Ученые записки ХГУ», т. 33—34, 1962, с. 115—125.
15. Jacobson L., Goldwasser E., Fried W. et al. — «Nature», 1957, v. 179, p. 633.
16. Thiel G. — «Deutsch. Arch. klin. Med.», 1962, Bd 208, s. 111.
17. Федоров Н. А., Кахетелидзе М. Г. О связи между внутренним фактором желудка и гемопоэтином. — «Проблемы гематологии и переливания крови», 1962, т. 7, № 5, с. 3—7.
18. Гольдбер Л. М., Войно-Ясенецкая Е. М. О влиянии гипофизэктомии на кроветворение крыс. — «Проблемы гематологии», 1969, т. 15, № 1, с. 86—91.
19. Gonalons G. «Ret. Endocrinol.», 1919, v. 3, № 3, p. 384.
20. Thorn G., Forsham P. H., Prunty F. T., Hills A. G. «J. Amer. Med. Ass.», 1948, v. 137, p. 1005.
21. Best W. R. — «Samtes M. Blood», VI, 1951, p. 61—74.
22. Thorn G. W. — «Blood», V, 1950, p. 785.
23. Tompson K. W. — «Endocrinol.», 1934, v. 16, p. 257.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ИНКУБАЦИИ НА ЕСТЕСТВЕННУЮ РИТМИКУ ТЕМПОВ РОСТА И ИНТЕНСИВНОСТЬ ДЫХАНИЯ В ЗАРОДЫШЕВОМ ПЕРИОДЕ РАЗВИТИЯ ДОМАШНЕЙ УТКИ

В. И. Махинько, В. Н. Щегольков

(Кафедра физиологии человека и животных)

Многочисленными исследованиями отечественных и зарубежных ученых [1—5; 7; 8], а также опытами, проведенными на кафедре физиологии человека и животных ХГУ [10—13], установлено, что процессы роста и освобождения энергии в эмбриогенезе птиц и млекопитающих характеризуются рядом особенностей: они протекают ритмично — периоды повышенной скорости роста сменяются периодами депрессий роста, а максимумы интенсивности дыхания — минимумами его напряженности. К концу эмбрионального развития резко и необратимо снижаются темпы анаболических процессов и в меньшей степени — напряженность энергетического обмена.

Эти вопросы находят известное обоснование в теории открытых систем и закономерностях кинетики реакций в открытых системах [14; 15; 16; 17]. К сожалению, в литературе почти отсутствуют сведения об особенностях метаболических процессов на самых ранних этапах эмбриогенеза.

В статье представлены некоторые данные об изменении естественной ритмики анаболических и катаболических процессов в зародышевом периоде развития домашней утки под влиянием различных температурных режимов инкубации.

Нами избраны следующие температуры инкубации яиц:

35° С — температура заведомо более низкая, чем требуется для нормальных условий развития; 37,5° — обычная температура при промышленной инкубации и 39,5° — температура на два градуса выше обычной.

Показателями анаболической фазы служили данные об изменении в эмбрионах суммарного белка, определяемого по Лори [18], на протяжении 3—10 суток эмбрионального развития; величины истинной скорости роста (C_w), рассчитанные по уравнениям Шмальгаузена и Броди [1, с. 9]; время удвоения белковой массы эмбриона.

Показателем напряженности энергетического обмена была интенсивность дыхания гомогенатов эмбриональных тканей в инкубационных средах, содержащих янтарную кислоту. Интенсивность дыхания определялась полярографическим методом при температуре 26° С.

О степени сопряжения окисления и фосфорилирования судили по величине дыхательного контроля (ДК) — по отношению скорости дыхания в присутствии АДФ к скорости дыхания по

его истощению или к скорости дыхания до добавления АДФ, а также по реакции ткани на добавление ДНФ. Полученные данные представлены на рис. 1, 2, 3.

Из рис 1 видно, что при температуре $39,5^{\circ}\text{C}$ белковая масса эмбрионов быстро увеличивается и на восьмые сутки инкубации достигает $19,2\text{ мг}$, тогда как при температуре $37,5^{\circ}\text{C}$ она равна $6,7\text{ мг}$, а при 35°C — всего $1,47\text{ мг}$.

Процессы роста протекают ритмично. Периоды депрессий роста сменяются периодами подъемов (рис. 2) при всех режимах инкубации. Однако время наступления подъемов и депрессий роста при разных температурных режимах различно. Первый максимум величины C_w при температуре $39,5^{\circ}\text{C}$ приходится на период третьих-четвертых суток, при температуре $37,5^{\circ}\text{C}$ — на четвертые-пятые сутки, а при температуре 35°C — только на седьмые-восьмые. По темпам нарастания общей массы белка в теле эмбриона и ряду морфологических признаков эмбрион 4-х суток развития при температуре $39,5^{\circ}\text{C}$ сходен с эмбрионом 4,5 суток при температуре $37,5^{\circ}\text{C}$ и с эмбрионом 6,95 суток при температуре развития 35°C .

Таким образом, повышенные температуры ускоряют темпы роста в начальный период инкубации, приближая наступление первых максимумов и повышая истинную скорость роста значительно больше, чем более низкие температуры. Температура в 39°C в первые дни инкубации, ускоряя темпы роста зародышей, оказывает благоприятное воздействие на весь последующий период их развития и конечные результаты инкубации [2].

Показателем ритмики клеточных делений до некоторой степени может служить время удвоения белковой массы зародыша. В наших опытах с понижением температуры оно значительно увеличивается. Так, на седьмые сутки развития при температуре $39,5^{\circ}\text{C}$, это время составляет 0,70 суток, при температуре $37,5^{\circ}\text{C}$ — 0,76 суток, а при температуре 35°C — 1,67 суток.

Конечный вес утиных эмбрионов к моменту вылупления, по данным разных авторов, колеблется в пределах 40—60 граммов в интервале температур 37 — 39°C , при этом соблюдается общеизвестный принцип эквивинальности.

В том случае, когда температура инкубации значительно ниже принятой в промышленной инкубации (35°C), принцип эквивинальности нарушается; резко замедленные в начале развития темпы роста и дифференциации нарушают нормальное развитие эмбриона. В результате значительная часть эмбрионов гибнет в течение 1-5-х суток инкубации, а оставшиеся в живых в разной степени отстают в росте и в конце концов могут погибнуть на следующих этапах развития — период вылупления задерживается и удлиняется, а появившиеся птенцы оказываются слабыми и нежизнеспособными.

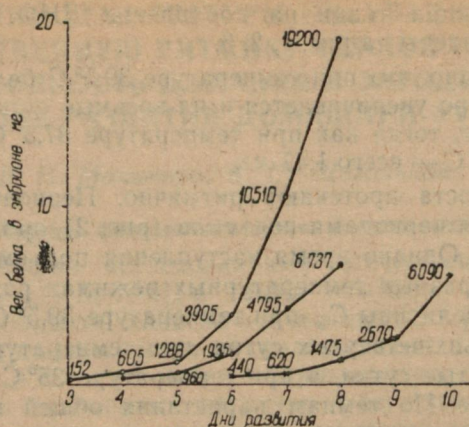


Рис. 1. Динамика роста утиных эмбрионов при разных температурах инкубации. Цифры на кривых — вес белка эмбрионов (мг) при температуре $39,5^{\circ}\text{C}$ — верхняя, при температуре $37,5^{\circ}\text{C}$ — средняя, при температуре 35°C — нижняя кривые.

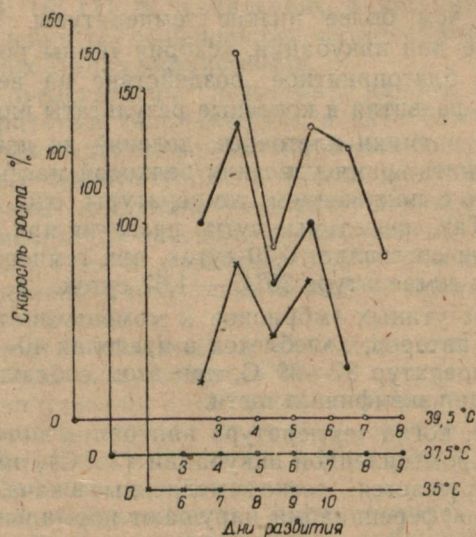


Рис. 2. Истинная скорость роста утиных эмбрионов при разных температурах инкубации. Расположение кривых то же, что и на рис. 1.

Интенсивность потребления кислорода в присутствии янтарной кислоты гомогенатами тканей эмбрионов, инкубирующихся при температуре 37,5°С, на протяжении 6—7 суток остается примерно на одном уровне. АДФ и ДНФ снижают интенсив-

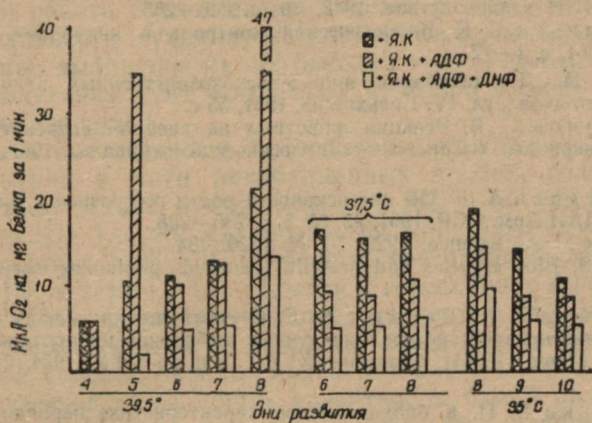


Рис. 3. Влияние температуры инкубации на интенсивность дыхания тканей утиных эмбрионов (МкА O_2 на мг белка за 1 минуту).

ность дыхания соответственно в 1,65 и 2,38 раза, что свидетельствует о низкой фосфорилирующей способности тканей.

Иначе ведут себя ткани эмбрионов, развивающихся при температуре 39,5°С. В этом случае интенсивность потребления O_2 с 4 по 8 сутки непрерывно возрастает. Добавление АДФ не изменяет уровня дыхания на 4, 6 и 7 сутки, а на 5 и 8 сутки резко повышает поглощение кислорода, что свидетельствует об увеличении способности ткани к окислительному фосфорилированию. В эти дни наблюдаются депрессии роста, сопровождаемые усиленной дифференциацией. На восьмые сутки отмечаются ясно выраженные двигательные реакции эмбрионов на раздражение.

В тканях эмбрионов, инкубируемых при температуре 35°С, интенсивность потребления кислорода в течение 8—10 суток непрерывно снижалась. Во все дни развития АДФ и ДНФ понижал интенсивность дыхания по сравнению с дыханием в присутствии янтарной кислоты без добавок.

Таким образом, температура инкубации оказывает существенное влияние на генетически обусловленные анаболические и энергетические процессы эмбрионального развития и может служить действенным регулятором его течения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шмальгаузен И. И. Определение основных понятий и методика исследования роста. Рост и дифференцировка. — Сб. «Рост животных». М.—Л., Биомедгиз, 1935, с. 8—60, с. 74—84.
2. Котляров Г. С. Инкубация утиных яиц. Изд-во НИИП, 1938, 128 с.
3. Бражникова Л. А. Дыхательный обмен утиных яиц при инкубации. — «Труды НИИ птицеводства», 1948, 19, с. 240—265.
4. Отыганняев Г. К. Биологический контроль в инкубации. М., Сельхозгиз, 1951, с. 1—77.
5. Попов М. Д. Инкубация яиц сельскохозяйственных птиц под ред. Н. П. Третьякова, гл. IV. Сельхозгиз, 1951, 55 с.
6. Емельянов С. В. Реакция животных на внешние воздействия в различные периоды развития. — «Зоологический журнал», 1957, 36, в. 1, с. 49—63.
7. Чилингарян А. А. Об интенсивности роста гетерозиса в эмбриогенезе уток. — ДАН Арм. ССР, 1961, 32, № 5, с. 235—238.
8. Romanoff A. Science, 1929, 70, № 1820, 484.
9. Brody S. Bioenergetics and growth. Reinhold publishing corporation, N. Y., 1945.
10. Махинько В. И., Сердюк Е. Е. О соотношении между скоростью роста и интенсивностью дыхания утиных эмбрионов на протяжении инкубации. — «Труды НИИ биологии ХГУ», Изд-во ХГУ, 1954, 21, с. 153—170.
11. Махинько В. И. К биохимической характеристике периодов развития утиног эмбриона. — «Труды НИИ биологии ХГУ», Изд-во ХГУ, 1963, 33—34, с. 200—237.
12. Махинько В. И. О некоторых общих закономерностях эмбрионального роста, обнаруживаемых в зародышевом периоде развития утиных эмбрионов. — «Вестник Харьковского ун-та», серия биол. Изд-во ХГУ, 1965, № 11.
13. Махинько В. И. Основные черты биоэнергетики эмбрионального развития. — Сб. «Биологическая наука в университетах и пединститутах УССР», Изд-во ХГУ, 1968, с. 336—338.
14. Prigogine I. et Wiame J. M. Experientia, 1946, 2, N 11, p. 451—453.
15. Пасынский А. Г. Ферментативные реакции в стационарных открытых системах. — В кн.: «Возникновение жизни на земле», 1959, с. 417—425.
16. Зотин А. К. и Зотина Р. С. Термодинамический подход к проблемам развития роста и старения. — «Ж. общ. биол.», 1969, 30, № 1, с. 94—110.
17. Зотин А. К. Старение и омоложение с точки зрения термодинамики необратимых процессов. — «Природа», 1970, № 9, с. 49—55.
18. Oliver H., Lowry et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, T. 193, 1951.

ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ УТИНЫХ ЭМБРИОНОВ ПО ДАННЫМ ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В. Н. Щегольков

(Кафедра физиологии человека и животных)

Полярографический метод прочно вошел в практику исследования тканевого энергетического обмена. Этот метод дает возможность за короткий промежуток времени исследовать функциональное состояние тканей разных органов в самых разнообраз-

разных вариантах инкубационных сред и позволяет получить наиболее полное представление о характере и уровне окислительно-восстановительных процессов. В литературе мало данных об изучении энергетического обмена эмбриональных тканей с помощью этого метода [1; 2; 3].

В нашей работе представлены данные о динамике окислительной активности сукцинатоксидазной системы митохондрий печени утиных эмбрионов на протяжении второй половины инкубации, однодневных утят и взрослых уток при разной нагрузке на дыхательную цепь.

Изучалась интенсивность потребления кислорода суспензиями митохондрий в пяти инкубационных пробах, содержащих единую основу — трис буфер 58,3 мМ, KCl — 80 мМ, ЭДТА — 0,7 мМ, $MgCl_2$ — 1,6 мМ, сахараза — 42 мМ, KH_2PO_4 — 20 мМ, янтарная кислота — 25 мМ. В качестве регуляторов были взяты АДФ и ДНФ, а также АТФ, глюкоза и гексокиназа в различных сочетаниях. Полученные данные представлены в таблице.

Как показали опыты в основной среде без добавок (проба 1), самой высокой окислительной активностью обладают митохондрии печени 14—17 суток развития, а самой низкой — 22 суток. Добавка АДФ во все исследуемые дни развития резко повышает интенсивность дыхания, что свидетельствует об интактности выделенных митохондрий, об их хорошо сохранившейся способности к регуляции окислительного фосфорилирования. Дыхательный контроль (v_2/v_3) составляет 2,90—4,60. Во всех случаях наблюдается полное использование АДФ. ДНФ, добавленный в состоянии, когда АДФ исчерпано, усиливает дыхание.

В среде, содержащей АТФ, глюкозу, гексокиназу (проба 2), дыхание резко повышается по сравнению с интенсивностью дыхания в основной среде. В этих условиях АДФ не регулирует процессов окислительного фосфорилирования; ДНФ несколько понижает дыхание.

Присутствие в основной среде только АТФ (проба 3) также увеличивает интенсивность дыхания по сравнению с пробой 1. АДФ в этом случае стимулирует дыхание на 14, 17, 22 сутки развития ($DK - v_2/v_1 = 1,6—1,9$) и не оказывает влияния в период вылупления и в постэмбриогенезе. Добавленный ДНФ тормозит дыхание.

Гексокиназа и глюкоза (проба 4) незначительно повышают интенсивность дыхания по сравнению с пробой 1. Митохондрии хорошо реагируют на АДФ и ДНФ. АДФ резко увеличивает поглощение кислорода, не изменяя установленной в других пробах возрастной динамики; во всех случаях наблюдается исчерпание АДФ. ДНФ, добавленный в состоянии, когда АДФ исчерпано и дыхание замедленно, также стимулирует дыхание. В отсутствие экзогенной АТФ выявляется хорошо выраженная фосфорилирующая способность митохондрий во все исследуе-

Функциональное состояние митохондрий печени утиных

№ пробы Сутки развития	№ 1 Основная среда						№ 2 Основная среда + АТФ + глюкоза + гексокиназа					
	v_1	v_2	v_3	v_4	v_2/v_1	v_2/v_3	v_1	v_2	v_3	v_4	v_2/v_1	v_2/v_3
14	3,9	14,6	4,1	8,2	3,7	3,6	15,1	15,4	15,4	12,4	1,0	1,0
17	5,9	17,3	5,1	13,0	2,9	3,4	14,5	15,1	15,1	12,4	1,0	1,0
22	1,5	6,0	0,9	3,1	4,0	6,7	4,1	4,5	4,5	4,7	1,1	1,0
26	2,5	11,4	2,4	11,0	4,6	4,8	6,7	7,0	7,0	5,9	1,0	1,0
Утенок 1 сутки	2,7	12,0	2,0	9,9	4,5	6,0	9,0	9,0	9,0	6,5	1,0	1,0
Утка	2,3	8,9	4,4	6,5	3,9	2,0	6,1	6,6	6,6	8,0	1,1	1,0

Основная среда — трис буфер 58,3 мМ, КСl — 80 мМ, ЭДТА — 0,7 лота — 25 мМ. В вариациях в основную среду добавляется АТФ (0,5 мг),

Потребление O_2 мкА/100 мг белка, мит./мин.

v_1 — на фоне принятой пробы,

v_2 — после добавления АДФ в ходе опыта (0,15—

v_3 — после исчерпания АДФ,

v_4 — после добавления ДНФ (2,4 — динитрофенола)

v_2/v_1 и v_2/v_3 — дыхательный контроль, характеризующий фос

Температура опыта 26° С. объем ячейки 1,2 мл.

эмбрионов в различных вариантах инкубационных проб

№ 3 Основная среда+АТФ						№ 4 Основная среда+глюкоза+гексокиназа						№ 5 Основная среда+глюкоза					
v_1	v_2	v_3	v_4	v_2/v_1	v_2/v_3	v_1	v_2	v_3	v_4	v_2/v_1	v_1/v_3	v_1	v_2	v_3	v_4	v_2/v_1	v_2/v_3
9,2	14,5	14,5	10,5	1,6	1,0	5,2	14,5	4,2	7,1	2,8	3,4	5,4	15,0	7,7	8,8	2,8	2,0
12,0	20,9	20,9	13,7	1,7	1,0	8,0	26,6	14,0	—	3,3	1,9	4,1	19,7	4,4	13,0	4,8	4,5
2,4	4,6	4,6	7,9	1,9	1,0	1,0	4,0	0,5	4,8	4,0	8,0	1,2	5,5	0,9	3,8	4,5	6,1
7,7	7,7	7,7	7,4	1,0	1,0	3,1	11,6	2,9	8,2	3,8	4,0	2,3	10,7	1,8	10,0	4,7	6,0
10,0	10,0	10,0	7,9	1,0	1,0	3,2	11,7	3,2	9,8	3,8	3,8	2,8	9,5	2,7	6,2	3,4	3,5
5,8	6,0	6,0	5,0	1,0	1,0	2,7	7,5	4,0	4,0	2,8	1,9	2,6	8,4	8,4	6,5	3,2	1,0

мМ, MgCl — 1,6 мМ, KH_2PO_4 — 20 мМ, сахароза — 42 мМ, янтарная кислота (9 мг), гексокиназа (0,03 мг) в расчете на 1 мл среды инкубации.

0,2 мМ),

в ходе опыта (0,1 мМ),

форилирующую способность митохондрий.

мые периоды. Такого эффекта в пробах с добавкой АТФ мы не наблюдали.

Внесение в основную среду глюкозы (проба 5) практически не изменяет уровня дыхания по сравнению с дыханием на основной среде. Добавление АДФ резко повышает дыхание; по истощению АДФ интенсивность дыхания снижается, а добавленный ДНФ вновь его повышает.

Большие величины дыхательного контроля v_2/v_1 и v_2/v_3 свидетельствуют о высокой фосфорилирующей способности митохондрий в этих условиях.

Как видим, функциональное состояние митохондрий зависит от состава инкубационной среды и многих факторов, регулирующих их фосфорилирующую активность. Этим и объясняется большое разнообразие ответных реакций митохондрий в модельных опытах, что в известной степени отражает разнообразие функциональных состояний митохондрий и в условиях *in vivo*. Очевидно, это вызвано особенностями метаболизма и функционального состояния исследуемого органа.

Следует учитывать, что величины дыхательного контроля не отражают в полной мере особенностей напряженности метаболизма. Так, на 22 сутки получены высокие величины дыхательного контроля — v_2/v_1 — 3,91 и v_2/v_3 — 6,54, что свидетельствует о высокой эффективности митохондрий этого периода, в то время как по «мощности» окислительных процессов, они значительно отстают от митохондрий других периодов. Возможно, это компенсация за утрату интенсивности окислительных процессов. А в период вылупления (26 сутки, утенок) эффективность и «мощность» окислительных процессов остаются на высоком уровне.

Динамика интенсивности энергетического обмена в ходе эмбрионального развития во всех инкубационных средах не изменяется и отражает в известной степени особенности метаболизма митохондрий ткани печени в эмбриогенезе.

Становление митохондриального аппарата печени в эмбриональный период и его высокие энергетические возможности обусловлены ранним функциональным созреванием печени. Ритмика процессов окислительного фосфорилирования отражает особенности метаболизма печени на разных этапах эмбриогенеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Джунейд Х. А. Окисление и фосфорилирование в мышечной ткани в эмбриональный и ранний постэмбриональный период. Автореф. канд. дисс., МГУ, 28 с.
2. Скулачев В. П., Джунейд Х. А., Брайнес А. С. Окисление и фосфорилирование в митохондриях эмбриональной мышцы. — «Биохимия», 1964, т. 29, вып. 4, с. 653—661.
3. Симонян А. А. Окислительное фосфорилирование в митохондриях мозга и печени куриного эмбриона в течение эмбриогенеза и в постэмбриональном периоде. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1966, 32 с.

АКТИВАЦИЯ ТКАНЕВОЙ ЛИПОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ВОЗРАСТ ЖИВОТНОГО

В. Ф. Клименко, А. А. Пашкова, В. И. Страна

(Кафедра физиологии человека и животных)

Способность тканей животного организма расщеплять эфирную связь между жирными кислотами и глицерином в липидах получила общее название липолитической активности. Она играет большую роль в обмене липидов и особенно в обмене нейтральных жиров, откладываемых в запас в жировых депо. Липолитическая активность меняется в зависимости от состояния организма и, как показали некоторые авторы (1, 2), регулируется основными гормонами организма. В последние годы (3, 4) вскрыт механизм гормональной регуляции липолитической активности. Оказалось, что непосредственным активатором ее является циклический 3', 5'-АМФ, концентрация которого в клетке зависит от соотношения интенсивности в основном двух ферментов: аденилциклазы, продуцирующей 3', 5'-АМФ, и фосфодиэстеразы 3', 5'-АМФ, разрушающей это соединение. Гормоны регулируют липолитическую активность, воздействуя на эти две ферментные системы.

Нами исследовалась липолитическая активность жировой и печеночной тканей в зависимости от возраста животного и при действии *in vitro* адреналина (стимулятора аденилциклазы) и теофиллина (ингибитора фосфодиэстеразы 3', 5'-АМФ). Адреналин добавлялся в дозе 10 γ на 1 мл инкубационной среды, теофиллин — 45 мг на 1 мл инкубационной среды. Липолитическая активность определялась по методу Гордон и Черкес (5) и выражалась в микроэквивалентах освободившихся жирных кислот, которые определялись титрометрически по Долу (6). Результаты исследований на ткани печени представлены в табл. 1,

Таблица 1

Липолитическая активность ткани печени белых крыс разного возраста (мкэкв СЖК на 1 г за 90')

Возраст, мес.	Норма	Адреналин	Теофиллин
2	34,6 $\pm$ 0,846	62 $\pm$ 6,26	60,4 $\pm$ 3,67
3	52 $\pm$ 2,58	67 $\pm$ 8,45	72 $\pm$ 3,14
12	47 $\pm$ 3,42	54 $\pm$ 2,78	72 $\pm$ 9,35
24	50 $\pm$ 1,27	52 $\pm$ 1,93	62 $\pm$ 2,56

Липолитическая активность в ткани печени растет от 1 до 3 месяцев, а затем практически не меняется. Адреналин вызывает заметную стимуляцию только у молодых животных (1 и 3

месяца), а на старых он почти не влияет. Теофиллин действует более отчетливо, но тоже с наименьшим эффектом у старых животных. В связи с этим можно предположить, что в печени животных по мере старения снижается отзывчивость аденилциклазы на адреналин. Наименьший эффект теофиллина у старых животных, очевидно, свидетельствует об отсутствии возрастания активности фосфодиэстеразы циклического АМФ у этих животных.

Несколько иная картина наблюдается в жировой ткани (табл. 2).

Таблица 2

Липолитическая активность жировой ткани белых крыс разного возраста
(мкэкв СЖК на 1 г за 90')

Возраст, мес.	Норма	Адреналин	Теофиллин
1	57 $\pm$ 2,82	76,8 $\pm$ 4,58	103,7 $\pm$ 4,69
3	36,5 $\pm$ 8,5	56 $\pm$ 2,82	75 $\pm$ 3,87
12	31,7 $\pm$ 2,45	53 $\pm$ 3,46	73 $\pm$ 5,47
24	32,6 $\pm$ 2,64	42 $\pm$ 1,73	66 $\pm$ 3,6

Липолитическая активность снижается в возрасте от одного до трех месяцев, а затем остается практически на одном уровне. Стимуляция адреналином минимальна у старых животных, но эффект теофиллина почти одинаково высок во всех возрастах. По данной ткани можно высказать предположение о снижении с возрастом отзывчивости аденилциклазы к адреналину, но судить об изменении с возрастом активности фосфодиэстеразы циклического АМФ у нас оснований нет. Вопрос об изменении с возрастом активности и реактивности ферментных систем, участвующих в обмене циклического 3', 5'-АМФ, является сложным и почти не исследованным. В отношении потери с возрастом реакции жировой ткани на адреналин мнение различных исследователей единодушно (7, 8, 9). По поводу возрастных изменений активности фермента фосфодиэстеразы циклического 3', 5'-АМФ взгляды ученых разошлись. Так, Форн и сотрудники (10) на основании определения скорости разрушения меченого по фосфору циклического 3', 5'-АМФ пришли к выводу об увеличении активности фосфодиэстеразы циклического 3', 5'-АМФ в возрастном интервале от 1 до 8 месяцев. Елинкова (11), изучая действие теофиллина на интенсивность липолиза у молодых и старых крыс, не нашла существенных изменений активности этого фермента. Наши наблюдения согласуются с данными последней работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rodbell M. — «J. Biol. Chem.», 1964, 239, N 2, 375 p.
2. Лейтес С. М., Давтян Н. К. Влияние поглощения глюкозы жировой тканью на ее липолитическую активность при действии некоторых гормонов и экспериментальном диабете. — «Бюлл. эксп. биол. и мед.», 1965, № 5, с. 49—54.
3. Suhterland E., Ove J., Butcher R. — «Recent progr. in Hormone Res.», 1965, № 21, 623 p.
4. Jost J. P., Rickenberg. — «Ann. Rev. of Biochem.», 1971, N 40, 741 p.
5. Gordon R. S., Cherkes A. — «J. Clin. Invest.», 1958, № 97, 150 p.
6. Dole V. P. — «J. Clin. Invest.», 1956, N 35, 150 p.
7. Пашкова А. А., Панченко Б. Ф., Халупская Н. Ю. К вопросу о возрастных особенностях липолитической активности тканей животного организма. — «Молекулярная биология старения». К., «Наукова думка», 1969, с. 82—86.
8. Benjamin W., Gellhorn A., Wagner M., Kundell H. — «Amer. J. Physiol.», 1961, 201, 540 p.
9. Jelinkova M., Hruza Z. — «Physiol. Bohemoslov», 1964, N 13, 327 p.
10. Forn J., Schonhofer P., Skidmore J., Krishna G. — «Biochem. et biophys. acta», 1970, 208, N 2, 304 p.
11. Jelinkova M., Stuchlikova E., Smrz M. — «Exp. Gerontol», 1970, b, 5, N 3, 257 p.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ АКТИВНОСТИ НА ЛИПОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ТКАНИ ПЕЧЕНИ И СЕРДЦА БЕЛЫХ КРЫС

С. Н. Костикова

(Кафедра физиологии человека и животных)

Одной из важнейших проблем биохимии является гормональная регуляция активности ферментов. Известно, что гормоны чаще всего являются факторами генетической депрессии и это приводит в конечном счете к синтезу в ткани или органе новых видов ферментативных молекул или же к усиленному образованию ранее вырабатывавшегося фермента. Открытие циклического 3,5-АМФ, вещества, обладающего свойствами медиатора между гормонами и ферментами, позволило одновременно обнаружить гормональную регуляцию некоторых ферментных систем, активация которых скорее всего не связана с дерепрессией генов.

Степень липолиза зависит от превращения неактивной формы липазы в активную. Эта реакция активации, которая состоит в фосфорилировании липазы, стимулируется повышением уровня циклического 3,5-АМФ. Степень накопления последнего в клетке обусловлена действием целого ряда веществ, которые или стимулируют его синтез (т. е. аденилциклазную систему), или ингибируют его распад (т. е. соответствующую фосфодиэстеразу) [1; 2; 3; 4].

Ряд гормонов, в частности катехоламины и АКТГ, стимулируют процесс липолиза в тканях животного организма [5; 6; 7; 8].

Стимулирующее липолиз действие адреналина, норадреналина осуществляется через активацию аденилциклазной системы с образованием циклического 3,5-АМФ [9]. Аналогичным образом действует и АКТГ [10, 11]. Образовавшийся под действием этих гормонов циклический 3,5-АМФ является активатором чувствительной к гормонам липазы этих тканей.

В настоящей работе мы попытались выяснить, во-первых, изменяется ли с возрастом липолитическая активность в тканях животного организма и, во-вторых, меняется ли с возрастом стимулирующий липолиз эффект АКТГ.

Для опытов брали крыс (линии Вистар) четырех возрастных групп: 1, 3, 12, 24 месяцев. Липолитическую активность определяли методом Гордона и Черкеса [12] по разнице содержания свободных жирных кислот в ткани печени и сердца до и после инкубации. Свободные жирные кислоты определялись титрометрически по Долу [13].

Инкубацию ткани проводили в среде, содержащей 300 мг сывороточного альбумина, 6,5 мл Кребс-Рингер фосфатного буфера и 3,5 мл H_2O . В качестве субстрата при определении липолитической активности ткани сердца и печени использовали оливковое масло, глицериды которого гидролитически расщеплялись с освобождением жирных кислот за 90' при 37° и при постоянном встряхивании.

В таблице представлены данные изменений липолитической активности ткани печени и сердца с возрастом, характер этих изменений одинаков для обеих исследованных тканей. Максимальная активность отмечена у трехмесячных и минимальная у 24-месячных. Для ткани сердца это снижение является статистически достоверным. Достоверных изменений липолитической активности ткани печени в зависимости от возраста не наблюдали.

Липолитическая активность тканей белых крыс в онтогенезе
(мэкв СЖК за 90' на 100 мг ткани)

Ткани	Возраст			
	1 мес.	3 мес.	12 мес.	24 мес.
Печень	38,7±2,645	48,4±1,703	38,8±2,24	30,0±1,98
Сердце	43,6±4,18	54,8±0,715	33,1±2,94	27,4±3,46

Незначительные отклонения в скорости липолиза с возрастом, полученные в наших опытах, согласуются с данными других авторов [14, 15].

Добавление в инкубационную среду двух единиц АКТГ привело к неодинаковому повышению липолитической активности

ткани сердца у крыс разного возраста. Это наглядно видно на рис. 1. Наибольший стимулирующий эффект наблюдается в трехмесячном возрасте (48,2%). У 24-месячных стимулирующего липолитическую активность действия АКТГ не обнаружили. Стати-

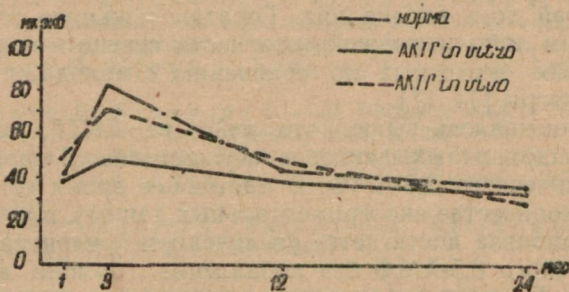


Рис. 1. Действие АКТГ на липолитическую активность ткани печени белых крыс разного возраста.
— норма; —.— АКТГ in vitro ; -- АКТГ in vivo

стически достоверного повышения липолитической активности под действием АКТГ in vitro у других возрастов не наблюдали, хотя заметна тенденция к повышению активности при действии данной дозы АКТГ. При введении двух единиц АКТГ крысам за два часа до декапитации наивысший стимулирующий эффект

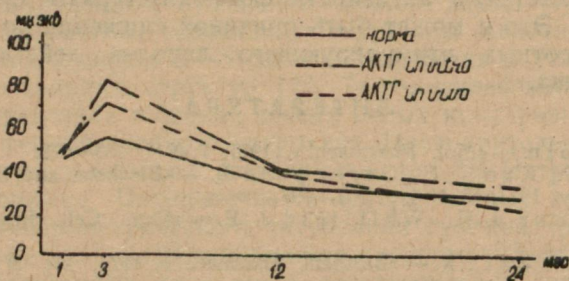


Рис. 2. Действие АКТГ на липолитическую активность ткани сердца белых крыс разного возраста.
— норма; —.— АКТГ in vitro ; --- АКТГ in vivo

наблюдался у трехмесячных животных (33%) и отсутствие его у 24-месячных животных. Аналогичный характер стимулирующего липолиз действия АКТГ проявляется в печени (рис. 2), т. е. максимальный эффект у трехмесячных, (66,6%) и минимальный — в возрасте 24-месяцев.

Полученные данные можно сопоставить с результатами А. А. Пашковой и др., изучавших действие адреналина [15]. Они также наблюдали максимальную активацию в трехмесячном возрасте, а отсутствие ответа наступало еще раньше, в 12 месяцев. Елинкова и сотрудники [16] также отмечают отсутствие ответа на адреналин в жировой ткани у старых животных, но при меньшей дозе адреналина. Гораздо меньшую стимуляцию адреналином липолитической активности печени и жировой ткани у старых животных по сравнению с молодыми отмечают и другие авторы [14, 17].

Уже упоминалось выше, что действие АКТГ, адреналина и других эндокринных факторов осуществляется через образование циклического 3,5-АМФ. В настоящее время есть уже достаточное количество экспериментальных данных, в которых стимуляция липолиза достигается увеличением концентрации самого циклического 3,5-АМФ без добавления гормона активатора [18, 19, 20]. Поэтому отсутствие в старом возрасте стимулирующего липолитическую активность действия АКТГ адреналина можно связать с нарушением функционирования аденилциклазной системы, т. е. уменьшением скорости образования циклического 3,5-АМФ из АТФ или же, наоборот, с увеличением скорости его разрушения соответствующей фосфодиэстеразой. Экспериментальная проверка активности двух этих систем в зависимости от возраста была проведена Форном и сотрудниками [21]. Они определяли активность аденилциклазы по образованию 3,5-АМФ из H^3 -АТФ и P^{32} в гомогенатах и изолированных клетках из жировой ткани 5-недельных и 24-недельных крыс и пришли к выводу, что активность аденилциклазы по мере старения снижается, а активность фосфодиэстеразы существенно возрастает. Это и может быть причиной снижения по мере старения животных стимулирующего липолиз действия АКТГ и адреналина.

ЛИТЕРАТУРА

1. John Fain. — «Mol. Pharmacol.», 1971, 7, N 4, 465—479.
2. Lee T. P., Kuo T. F., Greengard P. — «Biochem. and Biophys. Res. Commun.», 1971, 45, N 4, p. 901—997.
3. Macmanus J. P., Whitfield J. E. — «Exp. Cell. Res.», 1971, 69, 281—288.
4. Mandel Lewis R. — «Biochem. Pharmacol.», 1971, 20, N 12, 3413—3421.
5. Desbals P., Mialhe P., Desbals B. — «J. Physiol.», 1971, 63, N 6, s. 201.
6. Caldwell Anne, Fain John. — «Endocrinology», 1971, 89, N 5, 1195—1204.
7. Desbals B., Pejoran C., Desbals P. — «J. Physiol.», 1971, 63, N 6, p. 202.
8. Schöner W. — «Med. und Ernähr.», 1971, 12, № 3, 49—53.
9. Клэрр П., Клэрр А. — Гормоны, клетки, организм. 1971, с. 150—153.
10. Sutherland E., Ove L., Butcher K. — «Recent Program in Hormones», 1965, 573, 10.

11. Tain J. M. — «Ann N. L. Acad. Sciences», 1967, N 3, 139, 879.
12. Gordon R. S., Cherkas G. S. — «J. Clin. Investigation», 1958, N 97—150.
13. Dole V. P. — «J. Clin. Investigation», 1956, N 35, 150.
14. Benjamin W., Gollhorn A., Wagner M., Kundel G. — «Amer. J. Physiol.», 1961, N 201, p. 540.
15. Пашкова А. А., Панченко В. Ю., Халупская Н. Ф. К вопросу о возрастных особенностях липолитической активности тканей животного организма. — «Молекулярная биология старения». 1969, с. 82—85.
16. Jelinkova M., Hrusa S., Erdosova R. — «Exp. geront.», 1967, 2, 2, s. 63.
17. Pariskova E., Stankova L. — «J. Physiol.», 1964, N 56, 623.
18. Risa c k M. A. — «J. Biol. Chem.», 1964, 2, 239, 392.
19. Cseh G. — «Acta biochem. biophys. Acad.», 1970, N 5, 1, 1.
20. Caldwell Anne, Fain John. — «Endocrinology», 1971, 89, N 5, 1195—1204.
21. Forn J., Schonhofer P., Skidrogo J., Krishna G. — «Biochem. biophys. acta», 1970, N 2, s. 208—304.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОГО ОТНОШЕНИЯ В БЕЛКАХ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ФЕРМЕНТНОГО ГИДРОЛИЗА

О. П. Силин, А. Н. Стефанович

(Кафедра физиологии человека и животных)

Сульфгидрильные и дисульфидные группы обуславливают многие функциональные проявления живых организмов. Они определяют и специфику действия многих ферментов, находясь нередко в составе их активных центров [1].

Тиол-дисульфидное отношение может также существенно влиять на возрастные особенности структуры животных тканей, ибо основная функция S—S-связи заключается в стабилизации макромолекулярных структур [2]. Тиол-дисульфидное отношение мы определяли в белках печени белых крыс разного возраста после ферментативного гидролиза. Предварительно суммарные белки разделяли на растворимые (в 1/20 N трис-буфера) и нерастворимые. Определение сульфгидрильных групп вели методом амперометрического титрования сулемой [3].

Дисульфидные связи находили по разности сульфгидрильных групп, определенных до и после восстановления дисульфидов. Гидролиз белков производили пепсином в гликоколовом буфере при pH 2,2 и температуре 37° в течение суток. Столь продолжительное время было выбрано для того, чтобы устанавливалось постоянное равновесие между гидролизованной и негидролизованной фазами. Пепсин добавляли из расчета 1 часть фермента к 50 частям белка. Для учета собственных титруемых групп фермента ставили контроль без добавления белка. Пепсин действует в очень кислой среде, поэтому для восстановления дисульфидных мостиков использовали цинковую пыль. Во избежание осе-

дания цинковой пыли на электродах, что приводило бы к их порче, вместо вращения платинового электрода в нашей установке вращался стакан, в котором вели титрование. Возникающая при этом центробежная сила отбрасывала цинковую пыль к стенкам стакана, чем достигалась защита электродов от загрязнения.

В опыт брали печень месячных, трёхмесячных, годовалых и двухгодовалых крыс (по 10 животных каждого возраста). Полученные данные приведены в табл. 1.

Таблица 1

Тиол-дисульфидное отношение в гидролизате белков печени
белых крыс разного возраста

Возраст	Растворимый белок	Нерастворимый белок
1 мес.	1,23	1,50
3 мес.	1,05	1,14
1 год	1,07	1,08
2 года	0,98	0,77
Р 1—3 мес.	<0,05	<0,05
Р 3 мес. до 2 лет	>0,05	<0,05

Как видно из табл. 1, отношение SH: S — S-групп в растворимом белке с возрастом изменяется мало и только в первом периоде жизни. Наоборот, в нерастворимом белке, составляющем основу всех структурных элементов клетки, это отношение непрерывно падает, достигая к концу жизни половину того значения, которое наблюдается у месячных животных. Падение отношения SH: S—S-группам указывает на возрастание доли дисульфидных мостиков в общем количестве полуцистиновых остатков белка, а следовательно, говорит о более жёсткой стабилизации структурного белка с возрастом.

Интересная возрастная особенность выявляется в соотношении сульфгидрильных групп нативного и гидролизованного белка (табл. 2). В растворимом белке это соотношение с возрастом постепенно увеличивается, тогда как в нерастворимом белке оно остаётся неизменным на протяжении всей жизни. Вполне естественно, что в каждом отдельном возрасте это отношение в пересчёте на 1 г свежей ткани остаётся меньше единицы, так как весь белок гидролизуеться. Вместе с тем пепсиновый гидролиз позволяет наиболее полно демаскировать все скрытые внутримолекулярные сульфгидрильные группы белка, не нарушая их целостности.

Таким образом, возрастание этого коэффициента у старых животных можно объяснить тем, что у них большее количество сульфгидрильных групп, чем у молодых, освобождается при гид-

Таблица 2

Отношение сульфгидрильных групп в гидролизованном и нативном белках печени белых крыс разного возраста

Возраст	Растворимый белок	Нерастворимый белок
1 мес.	0,59	0,26
3 мес.	0,72	0,27
1 год	0,86	0,27
3 года	0,92	0,26
<i>P</i>	<0,05	>0,05

ролизе белка, т. е. у старых животных большая часть сульфгидрильных групп находится в скрытом состоянии по сравнению с молодыми. В нерастворимом белке количество скрытых групп на протяжении жизни не меняется.

ЛИТЕРАТУРА

1. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. М., «Мир», 1966.
2. Торчинский Ю. М. Сульфгидрильные и дисульфидные группы белков. М., «Наука», 1971.
3. Кедрова Е. И. Определение Н-групп методом амперометрического титрования, Изд. Ин-та биологии и мед химии АМН СССР, 1962.

ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕССОВ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НА СОСТОЯНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ЗВЕНЬЕВ СИСТЕМЫ БЕЛКОВОГО СИНТЕЗА В ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Н. М. Новикова, Н. П. Гребенникова, Г. И. Деревянко

(Кафедра биохимии)

Изучение систем белкового синтеза у животных разного возраста в условиях, стимулирующих продукцию белков, позволяет выяснить такие качественные особенности этих систем, которые не выявляются у интактных животных. Это помогает глубже понять причины и механизмы возрастных изменений синтеза белка.

В нашем сообщении представлены материалы об изменениях, происходящих в белоксинтезирующей системе печени при регенерации и массивной кровопотере, которые усиливают продукцию белков в этом органе.

Объектом исследования служила печень белых крыс линии Вистар в возрасте 1,3 (или 12) и 24 месяцев. Частичная гепатэктомия осуществлялась по методу Хиггинса — Андерсона [1].

Через 24, 48 и 72 часа регенерировавшую печень животных брали для исследований.

pH 5-фракцию печени крыс выделяли по методу Хогланда [2] в модификации Гвоздева [3] и определяли ее способность активировать ряд аминокислот (фенилаланин, триптофан, тирозин, метионин, серин).

Методика кровопускания, получения микросомальной фрак-

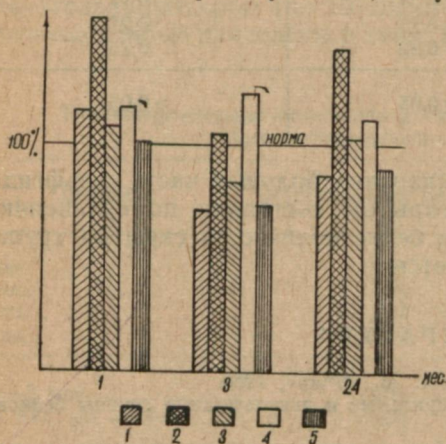


Рис. 1. Активность аминокислот-тРНК-синтетаз (АРС-аз) в печени крыс разного возраста на 48-й час регенерации:
1—АРС_{фен}, 2—АРС_{трип}, 3—АРС_{тир},
4—АРС_{мет}, 5—АРС_{сер}.

ции и определения ее компонентов описаны ранее [4]. Цитоплазматическую РНК печени выделяли из постмитохондриальной фракции сахарозных градиентов фенольным методом [5] и фракционировали на колонке с МАК [6].

Митохондриальные фракции получали из регенераторов в соответствии со схемой [7]. Для удаления немитохондриальных примесей РНК митохондрии инкубировали с РНК-азой [8]. Определение РНК велось по методу Цанева и Маркова [9], белка — по Лоури и др. [10].

Представленные данные обрабатывались по методу Стьюдента-Фишера [11] и являются средними из 8—12 повторностей. В тексте обсуждаются лишь результаты, имеющие статистически значимые различия ($P < 0,05$).

Исследование начальных этапов синтеза белка — активирования аминокислот аминокислот-тРНК-синтетазами (АРС-азами) — показало, что при регенерации активность отдельных АРС-аз печени существенно, но неоднозначно меняется в зависимости от возраста животных (рис. 1). Так, возросшая в регенерирующей печени месячных животных активность фенилаланил-, триптофанил-, метионил-тРНК-синтетаз остается у трехмесячных крыс в пределах нормы или снижается, как, например, у фенилаланил- и серил-тРНК-синтетаз. У старых животных на фоне незначительных изменений других АРС-аз увеличивается только активность триптофанил-тРНК-синтетазы. Вероятно, эта неоднозначность в реакции АРС-аз отражает определенные различия в спектре белков, образующихся при регенерации печени в разные возрастные периоды.

Ренди [12], определяя содержание тРНК — одного из компонентов белоксинтезирующей системы — в рН 5-фракции регенерирующей печени взрослых животных, не наблюдал отклонений от нормы. После массивной кровопотери в печени животных разного возраста также не удалось обнаружить изменений в уровне низкополимерной РНК, т. е. транспортной.

Таким образом, при стимуляции белкового синтеза не всегда имеют место существенные возрастные различия в уровне и активности компонентов, которые осуществляют начальные этапы превращений аминокислот. Однако в этих условиях происходят значительные изменения в эндоплазматическом ретикулуме клеток, о чем можно судить с определенной долей вероятности на основании изучения микросомальной фракции.

Как известно, с возрастом концентрация РНК микросом в органах, в том числе и в печени, снижается [13]. Однако после массивного кровопускания, стимулирующего синтез плазменных белков, тканевая концентрация микросомальной РНК [14] в печени месячных, годовалых и двухлетних крыс возрастает по сравнению с нормой (табл. 1).

Изменения РНК и белка микросомальной фракции печени крыс разного возраста на 6-й час после кровопотери и на 24-й час регенерации, % к норме

Возраст, мес.	Фосфор РНК		Белок		РНК/белок	
	%	P*	%	P*	%	P*
Кровопускание						
1	123,7	<0,001	116,0	<0,001	106,2	<0,05
12	117,3	<0,05	98,0	>0,1	120,8	<0,02
24	124,2	<0,05	97,8	>0,1	128,2	<0,01
Регенерация						
1	112,0	<0,02	97,8	>0,1	112,0	<0,02
12	109,0	<0,01	87,0	<0,02	126,0	<0,001
24	119,0	<0,01	80,0	<0,001	151,0	<0,001

P* — уровень значимости относительно нормы.

Несколько иначе изменяется концентрация белка микросом. Она повышается у молодых животных и почти не меняется у животных остальных возрастов. Такая разнонаправленность количественных изменений отдельных компонентов микросо-

мальной фракции приводит к существенным изменениям в ее составе, что особенно наглядно видно при расчете на единицу белка этой фракции.

Концентрация РНК в микросомах молодых крыс как в норме, так и после кровопускания остается постоянной, в то время как у годовалых и двухлетних животных после кровопускания

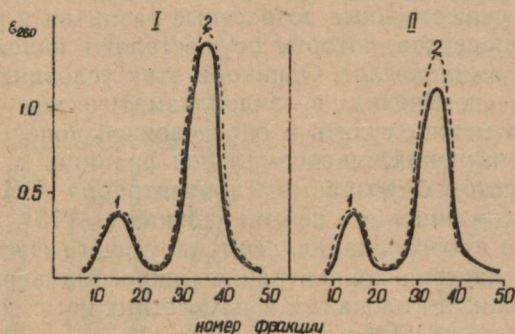


Рис. 2. Кривые фракционирования РНК цитоплазмы печени крыс разного возраста (I — 1 мес., II — 24 мес.) в норме и после кровопускания на колонке с МАК (1 — rРНК, 2 — рРНК).
(—— норма, --- кровопускание).

она возрастает на 20—30%, достигая у старых крыс величин, свойственных молодым интактным животным. Поскольку большая часть микросомальной РНК представлена РНК рибосом [14], то можно заключить, что в этих условиях микросомы обогащаются рибосомальной РНК.

Прямое подтверждение этому было получено при фракционировании цитоплазматической РНК на колонке с МАК. Из рис. 2, где представлены кривые фракционирования РНК цитоплазмы, видно, что после кровопускания только у старых крыс повышается количество рРНК.

Аналогичная картина изменений микросомальной фракции наблюдается и при регенерации. В этом случае, так же как и после кровопускания, концентрация РНК в микросомах печени старых крыс резко возрастает и достигает уровня, свойственного интактным животным. Отсюда следует, что в условиях стимуляции белкового синтеза у подопытных животных значительно повышается количество рРНК, а следовательно, и рибосом, изменение уровня которых является одним из возможных путей регуляции белкового синтеза [15].

Однако в зависимости от возраста указанный эффект достигается различными способами: у молодых животных — за счет новообразования эндоплазматического ретикула в целом,

включая рибонуклеопротеидные и мембранные элементы его, тогда как у старых — за счет преимущественного образования рибосом.

Определенный интерес представляет также изучение митохондриальной системы синтеза белка в условиях усиленного об-

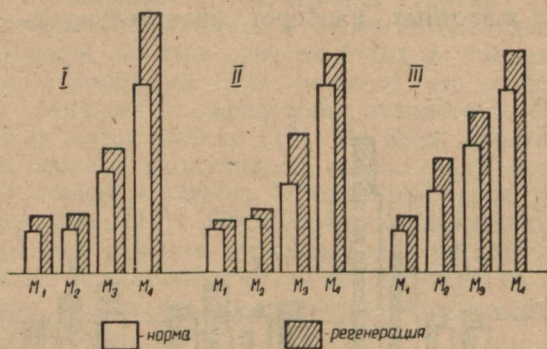


Рис. 3. Концентрация РНК в митохондриальных фракциях печени крыс разного возраста (I—1 мес., II—3 мес., III—24 мес.) в норме и на 48-й час. регенерации (в $\mu\text{г}$ РНК/ $\mu\text{г}$ белка).

разования митохондрий. Одной из наиболее удобных моделей в этом отношении является регенерирующая печень, где наряду с другими структурными компонентами клетки идет интенсивное новообразование митохондрий [16].

Оказалось, что через двое суток после частичной гепатэктомии в митохондриях печени месячных, трехмесячных и особенно двухлетних крыс происходит существенное повышение РНК. При этом количество ее у всех подопытных животных достигает одного уровня, несмотря на то, что концентрация РНК в митохондриях печени интактных крыс к старости снижается [17].

Известно, что митохондрии клетки морфологически и функционально гетерогенны [18]. Поэтому интересно было выяснить, какие же фракции митохондрий регенерирующей печени животных разного возраста ответственны за повышение уровня РНК в суммарном препарате этих органоидов.

Исследование четырех фракций митохондрий (M_1 , M_2 , M_3 , M_4), выделяемых последовательным осаждением их из гомогенатов при 2000, 4500, 8000 и 12500*d*, показало, что это повышение достигается различными путями в разные возрастные периоды. Так, через двое суток регенерации наиболее существенно растет концентрация РНК в легких митохондриях у молодых животных (M_4 —1 мес., M_3 и M_4 —3 мес), тогда как у старых крыс этот процесс захватывает почти в одинаковой степени все митохондриальные фракции (рис. 3).

Одновременно с изменениями в составе самих митохондрий при регенерации происходят значительные количественные сдвиги в соотношении митохондриальных фракций (рис. 4). Как видно из рис. 4, в регенерате месячных крыс резко возрастает по сравнению с нормой доля легких митохондрий. В то же время у старых животных, наоборот, значительно снижается (на

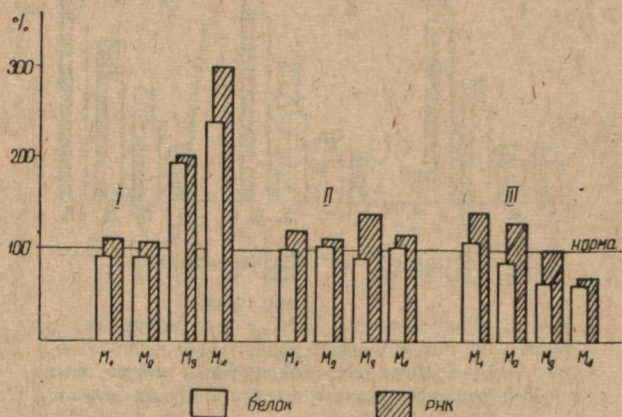


Рис. 4. Содержание белка и РНК различных митохондриальных фракций в регенерирующей печени крыс возраста (I—1 мес., II—3 мес., III—24 мес.) на 48-й час после частичной гепатэктомии (в % к норме).

40% по сравнению с нормой) объем фракций M₃ и M₄ и несколько увеличивается фракция M₁. У половозрелых животных соотношение между фракциями остается постоянным.

Все эти изменения приводят к тому, что увеличение концентрации РНК в суммарной фракции митохондрий регенерирующей печени обусловлено у молодых крыс повышением содержания РНК легких митохондрий, т. е. преимущественной активацией белоксинтезирующей системы этих органонидов; у двухлетних крыс активацией аппарата белкового синтеза тяжелых фракций, тогда как у половозрелых крыс этот процесс равномерно захватывает все митохондрии клетки.

Полученные данные позволяют высказать предположение о существовании возрастных различий в характере восстановления митохондрия регенерирующей печени. Эти различия могут носить чисто количественный характер, связанный с хорошо известной возрастной асинхронностью восстановительных процессов. Но не исключена также возможность качественных различий, заключающихся в использовании неодинаковых путей восстановления митохондрия клетки, обеспечивающего ее энергетический потенциал.

Для проверки этого предположения была проведена серия экспериментов, в которой исследовалось состояние митохондриальных фракций регенерирующей печени в более ранние (24-й час) и поздние (72-час) сроки регенерации. Анализ полученных данных свидетельствует о существовании определенной возрастной асинхронности в изменении уровня РНК в этих фракциях, которая выражается в более интенсивной активации митохондриальной системы синтеза белка у старых животных по сравнению с молодыми (1 и 3 месяца), что по своей направленности не совпадает с характером возрастных особенностей восстановления массы печени [16]. По всей вероятности, более выраженная реакция митохондрий старых крыс связана с тем, что даже в условиях нормы их митохондрии находятся в состоянии гиперфункции [19]. Следовательно, возрастные отличия, наблюдающиеся в реакции митохондрия регенерирующей печени, отражают асинхронность его восстановления, обусловленную, вероятно, особенностями состояния митохондрий в разные возрастные периоды.

На основании полученных результатов можно заключить, что возрастные изменения в системах синтеза белка характеризуются частичной обратимостью, указывающей на регуляторную природу этих изменений в интактном организме. С другой стороны, возрастные различия в реакции белоксинтезирующих систем свидетельствуют о том, что механизмы восстановительных процессов в молодом и старом организме неодинаковы и это определяется различными возможностями их в осуществлении тех или иных путей регуляции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Higgins J. M., Anderson R. M. — „Arch. Path.“, 1931, N 12, 186 с.
2. Hoagland M. B., Keller E. B., Zamechik P. C. — „J. Biol. Chem.“, 1956, N 218, 345 с.
3. Гвоздев В. А. Активация аминокислот в ядрах и растворимой фракции цитоплазмы клеток печени крыс. — «Биохимия», 1960, N 25, с. 920—932.
4. Гребенникова Н. П. Изменение концентрации РНК в микросомной фракции печени крыс разного возраста после кровопускания. В сб. «Старение клетки». К., 1971, с. 314—318.
5. Георгиев Г. П., Мانتьева В. Л. Выделение клеточных ядер фенольным методом и их характеристика. — «Биохимия», 1960, № 25, с. 143—150.
6. Mandell J. D., Hershey A. D. — „Anal. Biochem.“, 1960, №1, 66 с.
7. Новикова Н. М. Соотношение субфракций митохондрий в печени и концентрация РНК в них в зависимости от возраста и регенерации. В сб. «Старение клетки». К., 1971, с. 308—313.
8. Truman D. E. S., Korner A. — „Biochem. J.“, 1962, №83, 588 с.
9. Цанев Р. Г., Марков Г. Г. К вопросу о количественном спектрофотометрическом определении нуклеиновой кислоты. — «Биохимия», 1960, № 25, с. 151—155.
10. Lowry O. H. et al. — „J. Biol. Chem.“, 1951, № 193, 265 с.
11. Бейли Н. Статистические методы в биологии. М., «Мир», 1964.

12. Rendi R. — „Biochim. et Biophys. Acta“, 1959, N 31, 266 с.
13. Новикова Н. М. Нуклеиновые кислоты цитоплазматических фракций клетки в онтогенезе. В кн. «Молекулярные и функциональные основы онтогенеза». М., «Медицина», 1970, с. 110—124.
14. Хесин Р. Б. Биохимия цитоплазмы, М., АН СССР, 1960.
15. Liu A. J., Neuhaus O. W. — „Biochim. et Biophys. Acta“, 1968, № 195, 166 с.
16. Сидорова В. Ф., Рябинина З. А., Лейкина Е. М. Регенерация печени у млекопитающих, М., «Медицина», 1966.
17. Парина Е. В., Новикова Н. М., Иванникова Е. И., Козьмина Л. В. Возрастные изменения содержания рибонуклеиновой кислоты в митохондриях регенерирующей печени. В сб. «Молекулярная биология старения». К., «Наукова думка», 1969, с. 44—49.
18. Фекслер Я. И., Атабегова Н. Г. О функциональной гетерогенности митохондрий головного мозга крыс в норме и при глубоком переохлаждении. В кн. «Митохондрии. Ферментативные процессы и их регуляция». М., «Наука», 1968, с. 181—184.
19. Tauchi H. et al. — „Age with Future“, Mustgaard, Copenhagen, 1964, 203 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ АКТИВНОСТИ ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТАЗЫ В ПЕЧЕНИ КРЫС В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

В. А. Дриняев, И. В. Комарова, С. П. Слюсарева

(Кафедра биохимии)

Изучению возрастных изменений активности глюкозо-6-фосфатазы (Г-6-Ф-аза; 3. 1. 3. 9) в печени посвящено много работ. Согласно приведенным в них данным, активность этого фермента обнаруживается в печени в конце эмбриогенеза, сильно увеличивается в первые дни после рождения и затем в большей или меньшей степени снижается в период созревания организма [5—14].

Вместе с тем некоторые исследователи указывают на иной характер возрастных изменений активности глюкозо-6-фосфатазы печени [15]. Особенно противоречивы сведения о сдвигах уровня ее активности в поздние периоды онтогенеза. Так, Харпер и Ионг [14] наблюдали самую высокую активность фермента в печени крыс весом 100 г, более низкую у животных 50 г и самую низкую у крыс весом 400 г. Синггал Р. [16], а также Парина и др. [1] отмечали постепенное снижение активности фермента по мере роста и старения крыс. Наконец, Разумович и его сотрудники [2] обнаружили, что активность Г-6-Ф-азы максимальна у крыс в возрасте 6—8 мес. и значительно снижена у одно- и 24-месячных животных, причем ее показатели одинаковы у крыс этих возрастных групп. Причины такой противоречивости данных не ясны, и, возможно, связаны с влиянием на активность данного фермента в печени ряда факторов, действие которых не учитывается при постановке исследований его активности и оценке результатов.

Мы решили изучить изменение активности Г-6-Ф-азы печени крыс с возрастом при одинаковом режиме кормления с учетом породы животных, сезона года и условий инкубации.

Исследования проводили с гомогенатами печени крыс линии Вистар и беспородных белых крыс в возрасте 1, 3, 12, 24 месяца. Активность Г-6-Ф-азы печени крыс линии Вистар определяли в осенний (октябрь — ноябрь) и весенний (март) периоды года. Кроме того, осенью у этих крыс проверяли активность глюкозо-6-фосфатазы, используя различные буферные растворы. (Для определения активности Г-6-Ф-азы предложено несколько буферных растворов: веронал-ацетатный; малатный, калий-цитратный, какодилатный, гистидиновый рН-6, 5. В исследованиях, посвященных изучению возрастных изменений активности этого фермента, применяли преимущественно калий-цитратный, малатный и веронал-ацетатный буферы).

Активность фермента определялась методом, описанным в предыдущей работе [1]. Активность выражали в мкМ неорганического фосфора (Φ_n) в расчете на 1 г сырого веса печени за 1 мин инкубации. Результаты исследований обработаны вариационно-статистическим методом Стьюдента — Фишера [4], и в таблицах приведены средние данные из 6—10 опытов.

В табл. 1 представлены данные определения активности Г-6-Ф-азы гомогенатов печени крыс линии Вистар в калий-цитратном, малатном и веронал-ацетатном буферных растворах.

Во всех трех случаях возрастные различия при сравнении возрастных групп 1—3 месяца; 3—12; 12—24 статистически значимы: $p < 0,05$.

В результате проведенных опытов установлено, что независимо от примененной буферной системы активность Г-6-Ф-азы по-

Таблица 1

Влияние инкубации в разных буферных растворах на активность Г-6-Ф-азы гомогенатов печени крыс линии Вистар разного возраста (активность мкМ Φ_n (1 г ткани) 1 мин.)

Возраст, мес.	Буферные растворы					
	калий-цитратный (рН=6,5)		малатный (рН=6,5)		веронал-ацетатный (рН=6,5)	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
1	39,2±1,61	100	37,1±1,61	100	32,2±0,58	100
3	29,8±0,58	75	29,7±1,24	80	28,3±0,77	88
12	21,7±0,86	55	20,9±0,55	56	18,8±0,22	58
24	14,4±0,75	36	13,7±0,33	36	13,4±0,18	40

* Снижение относительно других буферов статистически значимо.

степенно снижается от 1 к 24 мес. жизни животных. Здесь выявляются практически одинаковые по глубине изменения активности фермента в калий-цитратном и малатном буферных растворах и несколько иные сдвиги наблюдаются в веронал-ацетатной системе. В этом буфере активность фермента падает в меньшей степени от 1—3 мес. и в большей мере в интервале 3—12 месяцев. Это вызвано тем, что при инкубации гомогенатов печени в веронал-ацетатном буфере снижается активность фермента (по сравнению с таковой в других буферных растворах) в значительной степени у одномесячных крыс и в несколько меньшей — у годовалых животных. Если принять за 100% активность глюкозо-6-фосфатазы в цитратном и малатном буферных растворах, то в веронал-ацетатном буферном растворе она соответственно снижается в печени одномесячных крыс на 18% и 16%, а у годовалых — на 14% и 10%.

У трехмесячных и двухгодовалых животных наибольшая разница между величинами активности, найденными в данных буферных системах, составляет лишь 5—7%. Причины такого поведения фермента в веронал-ацетатном буфере у одномесячных и двенадцатимесечных животных пока остаются неясными. Представляют интерес результаты исследований Пандхи и Баум [25], которые сообщили о появлении в печени взрослых крыс в условиях голодания формы глюкозо-6-фосфатазы, иначе реагирующей на действие NH_4OH *in vitro*, чем обычный фермент. На основании этих данных, косвенно указывающих на возможность существования разных молекулярных форм глюкозо-6-фосфатазы, можно предположить, что неодинаковая степень торможения ее активности в веронал-ацетатном буфере у животных разного возраста связана с наличием различных молекулярных форм этого фермента, обладающих разной чувствительностью к действию данного буфера. Неодинаковое соотношение этих форм в клетках печени в те или иные периоды онтогенеза, очевидно, и вызывает наблюдаемое нами избирательное торможение исследуемого фермента у одномесячных и годовалых крыс.

Из данной серии опытов видно, что для изучения возрастных свойств активности фермента в большей мере пригодны калий-цитратный и малатный буферные растворы, чем веронал-ацетатный раствор. Поэтому в дальнейших экспериментах мы использовали калий-цитратный буфер.

Одной из наших задач было сравнение возрастных изменений активности Г-6-Ф-азы печени крыс с разной генетической характеристикой. В связи с этим исследовались беспородные крысы и крысы линии Вистар. Из результатов, полученных в одинаковые сезоны года и приведенных в табл. 2, видно, что у животных обеих групп активность фермента почти одинаково уменьшается в онтогенезе. Однако у крыс линии Вистар это снижение несколько больше при старении. Существование такого

Таблица 2

Изменение активности Г-6-Ф-азы в печени беспородных белых крыс
и крыс линии Вистар
(мкМ Ф (1 г ткани) 1 мин)

Возраст животных, мес.	Крысы линии Вистар		Р	Беспородные крысы		Р
	$M \pm m$	%		$M \pm m$	%	
1	$39,2 \pm 1,61$	100	$p < 0,05$	$16,2 \pm 0,71$	100	$p < 0,05$
3	$29,8 \pm 0,58$	75		$13,3 \pm 0,28$	82	
12	$21,7 \pm 0,86$	55	$p < 0,05$	$9,09 \pm 0,55$	56	$p < 0,05$
24	$14,4 \pm 0,75$	36	$p < 0,05$	$7,97 \pm 0,50$	49	$p < 0,05$

параллелизма в изменении активности фермента в процессе индивидуального развития у этих генетически разных групп крыс свидетельствует о независимости возрастных изменений активности глюкозо-6-фосфатазы от генетических различий в данных пределах. Отметим, что у крыс линии Вистар во все возрастные периоды уровень активности фермента оказался вдвое выше, чем у беспородных крыс. Это может указывать на большую скорость процесса глюкозообразования из гликогена и путем глюконеогенеза у крыс линии Вистар, чем у беспородных животных. Зависимость уровня тканевой активности печеночной Г-6-Ф-азы от породы наблюдалась ранее у крыс [28] и кур [29].

В следующей серии опытов изучалась возрастная динамика активности Г-6-Ф-азы в печени крыс линии Вистар в зависимости от времени года. Результаты ее приведены в табл. 3.

В случае сезонных сопоставлений различия достоверны только у 12- и 24-месячных крыс. Результаты показали, что направленность возрастных изменений активности не зависит от сезона года. Вместе с тем при сравнении результатов, полученных в разные сезоны года, можно обнаружить некоторые различия в глубине сдвигов ферментативной активности в те или иные периоды онтогенеза. Так, осенью активность фермента на протяжении 24 месяцев жизни крыс снижается в большей степени, чем весной. Именно в осенний период года на 64%, а в весенний на 50%. Осенью это снижение идет более постепенно, и наблюдаются значительные различия между активностью фермента в печени годовалых и двухгодовалых крыс, зато весной активность снижается главным образом в период жизни между 3 и 12 месяцами. У старых крыс активность глюкозо-6-фосфатазы в этот сезон практически остается на том же уровне, что и у годовалых животных. Таким образом, падение активности Г-6-Ф-азы в печени при старении не является стабильным признаком и определяется состоянием углеводного обмена

Таблица 3

Изменение активности глюкозо-6-фосфатазы в печени крыс разного возраста
линии Вистар осенью и весной
(мкМ Ф (1 г ткани) 1 мин)

Возраст, мес.	Октябрь—ноябрь			Март		
	$M \pm m$	%	P	$M \pm m$	%	p
1	$39,2 \pm 1,61$	100	$p < 0,05$	$36,5 \pm 0,75$	100	$p < 0,002$
3	$29,8 \pm 0,58$	75	$p < 0,05$	$31,5 \pm 0,57$	86	$p < 0,001$
12	$21,7 \pm 0,86$	55		$16,92 \pm 0,56$	46	
24	$14,4 \pm 0,5$	36	$p < 0,05$	$17,2 \pm 0,60$	50	$p < 0,1$

и соотношением его отдельных путей, зависящими от сезона года. Эта зависимость подтверждается данными Леви и др. [24] о сезонных колебаниях количеств интермедиатов углеводного обмена, а также данными Захарьина [3] о влиянии сезона года на направленность возрастных изменений активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

Результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод о том, что в печени крыс в постнатальном онтогенезе происходят глубокие сдвиги в активности Г-6-Ф-азы, степень которых в известной мере обуславливается факторами внешней среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Паріна Е. В., Шабанова Н. О., Дриняев В. А. Адаптивні зміни активності глюкозо-6-фосфатази у печінці щурів в онтогенезі. — «Укр. біохім. ж.», 1972, 44, с. 442—445.
2. Разумович А. Н., Коробенкова М. М., Иткина Э. А. Возрастные изменения активности аденозинтрифосфатазы и глюкозо-6-фосфатазы. В кн. «Обмен и функции стареющего организма». Минск, «Наука и техника», 1969, с. 32—37.
3. Захарьин Ю. Л. Изменение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы в печени и мозгу крыс под влиянием различных физиологических факторов. — «Вопр. мед. хим.», 1968, 2, 4, 348—355.
4. Бейли Н. Статистические методы в биологии. М., ИЛ, 1962.
5. Степанова Н. Г. Активность гексокиназы глюкозо-6-фосфата и глюкозо-6-фосфатазы в клеточных фракциях печени эмбрионов кролика. — «Вопр. мед. хим.», 1964, 10, с. 64—70.
6. Nemeth A. M. Glucose-6-phosphatase in the Liver of the Guinea Pig. — „J. Biol. Chem.“, 1954, 208, p. 773—776.
7. Zorzoli A. — „The influence of age on mouse liver glucose-6-phosphatase activity“, 1962, N 17, 4, p. 359—362.
8. Weber G., Cantaro A. Glucose-6-phosphatase studies in Fasting, Scince. — „Cancer. Res.“, 1954, N 120, p. 851—852.
9. Lea M. A., Walker D. G. The metabolism of glucose-6-phosphatase in developing mammalian tissues. — „Biochem. J.“, 1964, N 91, p. 417—424.
10. Ballard F. G., Oliver G. Glycogen metabolism in embryonic chick and neonatal rat liver. — „Biochem. Biophys. Actae.“, 1963, N 71, p. 578—588.

11. Dawkins M. G. Biochemical aspects of developing function in new-born mammalian liver. *Prace i mater nauk. Inst. matki i dzieci*, 1965, N 6, p. 165.
12. Burch H. B., Lowry O. H., Kuhlman A. M., Skerjnce G., Diamant E., Lowry S. R., P. Von Dipper. Changes in patterns of enzymes carbohydrate metabolism in the developing rat liver. — „*J. Biol. Chem.*“, 1963, 238, p. 2267—2273.
13. Collip P. Identity of liver glucose-6-phosphatase and inorganic pyrophosphatase: effect of growth hormone, fasting and aging. — «*Arch. Biochem. and Biophys.*», 1967, 118, p. 106—109.
14. Greengard O., Dawej J.I. Initiation by glucagon of the Premature. — Development of Tyrosine Aminotransferase, Serine Dehydratase and Glucose-6-Phosphatase in Fetal Pat Liver. — «*J. Biol. Chem.*», 1967, 242, N 12, p. 2986—2991.
15. Йорданка Живкова. Съдържание на гликоген и активност на фосфорилазата и гликозо-6-фосфатазата в черния дроб на прасета през ембрионалното и постнаталното им развитие. — «*Животновъдни науки*», 1968, 5, N 6, с. 21—27.
16. Singhal R. L. Effect of age on the Induction of glucose-6-phosphatase and Fructose-1,6-Diphosphatase in Rat Liver. — «*J. Gerontol.*», 1967, 22, 1, p. 77—82.
17. Harper A. E., Joung F. G. Hormonal factors affecting glucose-6-phosphatase activity. Effect of hypophysectomy and replacement therapy in the rat. — «*Biochem. J.*», 1959, 71, p. 696—701.
18. Fitch W. M., Hill K., Chaikoff J. The effect of Fructose-Feeding on Glycolytic Enzyme Activities of the normal Rat Liver. — «*J. Biol. Chem.*», 1959, 234, 5, p. 1048—1051.
19. Harper A. E. Hormonal Factors Affecting glucose-6-phosphatase Activity. — «*Biochem. J.*», 1959, 71, 4, p. 702—703.
20. Weber G., Cantaro A. Glucose-6-phosphatase studies in Fasting. — «*Science*», 1954, 120, p. 851—852.
21. Suzuki Hirio, Hedetsugu Fuwa. Influence of dietary composition of the capacity of glucose formation in liver of rats. — «*Agr. Biol. Chem.*», 1970, 34, 1, p. 80—87.
22. Srepesi B., Freedland R. A. Alteration in the activities of several rat liver enzymes at various times after initiation, of high protein regimen. — «*J. Nutr.*», 1967, 93, 3, p. 301—306.
23. Hachiro Nakagawa, Katsuga Nagai. Cold adaptation. Effect of cold exposure on gluconeogenesis. — «*J. Biochem.*», 1971, 69, 5, p. 923.
24. Lowry R., Griffaton G., Baron P., Griffaton G. Variations on cours de c'ance des concentrations de certains substrats et cofacteurs dans le foie de rat. — «*Arch. sci. physiol.*», 1970, 24, 2, p. 109—123.
25. Pandhi P N., Baum H. Activation of Glucose-6-phosphatase of Rat Liver at High pH: Differential Response of Basal and Induced Activities. — «*Nature*», 1967, 216, 5122, p. 1324—1325.
26. Nordli R. C., Lagre D. C. The Inhibition by citrate of Inorganic Pyrophosphate-Glucose Phosphotransferase and Glucose-6-Phosphatase. — «*J. Biol. Chem.*», 1966, 13, 241, p. 3136—3141.
27. Finch C. E. Enzyme Activities, Gene Function and ageing in mammals. — «*Exp. Geront.*», 1972, 7, p. 53—67.
28. Bender A. E., Danyi K. B., Japa C. Y. R. Effects of dietary surse on the metabolism in vitro of liver from rats of different strains. — «*Biochem. J.*», 1970, 119, 2, p. 351—352.
29. Deb R. N., Chakrabarti C. H. Effect of breeds on the hepatic glucose-6-phosphatase activity and gluconeogenesis in liver and muscle. — «*Indian J. Physiol. and allied Sci.*», 1967, 21, 3, p. 79—83.
30. Йокки Г. Изучение старения, тепловых и лучевых повреждений методом теории информации. В кн. «Теория информации в биологии». М., ИЛ, 1960, с. 292—311.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ И ГИБРИДОВ *Antheraea pernyi* G. — М. НА ДЕЙСТВИЕ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ

В. Ф. Шахбазов, Л. М. Чепель, Т. В. Колупаева

(Кафедра генетики и цитологии)

В проведенных ранее исследованиях фотопериодической реакции китайского дубового шелкопряда *Antheraea pernyi* было установлено, что наряду со стадией гусеницы на длину фотопериодов реагируют и куколки, а световыми рецепторами являются головные ганглии и участок головы, названный «лобное оконце» [1]. С другой стороны, в опытах на этих же объектах, а также на *Drosophila melanogaster* было обнаружено, что инбредные линии и межлинейные гибриды по-разному воспринимают действие постоянного магнитного поля (ПМП) [2, 3]. Инбредные линии обычно более чувствительны к действию этого фактора, а гибриды более устойчивы.

Видимый свет и ПМП при малой энергии воздействия могут оказать сходное влияние на биологические объекты, в результате чего изменяются электронные состояния молекул, молекулярные комплексы и, возможно, некоторые клеточные органоиды.

Природа интересующих нас биологических явлений (фотопериодической реакции и гетерозиса) изучена еще недостаточно. Предполагая, что их механизмы связаны с электронными состояниями макромолекулярных комплексов клеточного ядра, мы провели изучение комбинированного действия различных фотопериодов и ПМП на гусениц и куколок инбредных линий и гибридов китайского дубового шелкопряда.

Китайский дубовый шелкопряд в 1950 г. был получен из популяции Украинской шелкостанции и из завезенной в Советский Союз породы Лу-Хуан. С этого времени ранее бивольтинные формы шелкопряда разводятся на кафедре, причем, регуляция фотопериодов позволяет получать одно поколение в год [4].

Линии из живой коллекции кафедры инбридировались на протяжении 7—10 поколений и заметно дифференцированы по физиологическим и морфологическим признакам. У межлинейных гибридов первого поколения наблюдались значительные проявления гетерозиса по плодовитости имаго, скорости развития и жизнеспособности гусениц. Шелкопряды выкармливались по разработанной на кафедре методике на срезанном корме. Для опытов были отобраны две партии гусениц: одна из инбредных родительских линий, другая из межлинейных гибридов первого поколения. Начиная со второй половины четвертого возраста гусениц контрольного варианта до стадии прониимфы воспитывали в условиях двух вариантов освещения: 1 — свет 18 час., темнота 6 час.; 2 — свет 11 час., темнота 13 час. Гусениц опытного варианта воспитывали в тех же условиях, но, начиная со стадии прониимфы, на 10 дней были помещены в зазор постоянного магнита и развивались в относительно однородном поле напряженностью 4,5 кэ.

Результаты опытов (средние за два сезона) сведены в таблице. Эти данные подтверждают регулирующее вольтинность шелкопряда действие фотопериодов разной длины. Кроме того, установлено существенное влияние магнитного поля на фотопе-

Влияние постоянного магнитного поля на регуляцию фотопериодической реакции китайского дубового шелкопряда

	Длина фото- периодов, (час).	Варианты	Общее кол-во куколок	Из них диа- паузирую- щих	% диапау- зирующих	p, %
Линии (7—10 поколение инбри- динга)	11	Контр.	121	106	$86,7 \pm 3,0$	98,8
		Опыт	112	82	$73,2 \pm 4,2$	
	18	Контр.	120	31	$25,8 \pm 4,0$	99,9
		Опыт	94	4	$4,2 \pm 2,0$	
Гибриды (Первое поколение)	11	Контр.	90	70	$77,7 \pm 4,4$	99,3
		Опыт	92	85	$92,2 \pm 2,8$	
	18	Контр.	138	39	$27,5 \pm 3,8$	92,9
		Опыт	98	38	$38,7 \pm 4,9$	

риодическую реакцию как фактора, значительно сдвигающего процент диапаузирующих особей. Причем у инбредных линий и гибридов изменения в цикле развития под действием поля оказались направленными в противоположные стороны: при длинном световом дне у линий поле значительно снизило процент диапаузирующих особей, а у гибридов — повысило.

Полученные результаты по новому показателю подтвердили обнаруженные ранее глубокие различия в реакции на ПМП инбредных и гибридных организмов. Факты влияния ПМП на фотопериодическую реакцию насекомых, ограниченного генетическими особенностями объектов, могут быть использованы при изучении механизмов фотопериодизма. Эти результаты можно также применить в тех случаях, когда возникает практическая необходимость регуляции вольтинности полезных или вредных насекомых при их культивировании.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шахбазов В. Г. О реакции на длину светового дня и световом рецепторе куколок китайского дубового шелкопряда. — ДАН СССР, 1961, т. 4, № 1, с. 249—252.
2. Шахбазов В. Г. Котенко Л. В., Чепель Л. М. Влияние постоянного магнитного поля на проявление гетерозиса и инбредной депрессии. — Тезисы совещания по изучению влияния магнитных полей на биологические объекты. М., 1966, с. 84—85.
3. Чепель Л. М., Шахбазов В. Г., Медведева С. Д. Об изменениях проявлений инбредной депрессии у дрозофилы и шелкопрядов под влиянием ПМП. — Сб. «Генетика и селекция на Украине», 1971, с. 56—57.
4. Белов П. Ф. Изучение стадийности в развитии китайского дубового шелкопряда в связи с управлением его вольтичностью. Сб. «Дубовый шелкопряд», М., Сельхозиздат, 1951, с. 5—61.

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА РОДИТЕЛЕЙ НА НЕКОТОРЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ДВУХ ПОКОЛЕНИЙ *Drosophila melanogaster*

А. В. Некрасова

(Кафедра генетики и цитологии)

При обычном жизненном цикле *D. melanogaster* спаривается через несколько часов после выхода из куколки, а спустя сутки она начинает откладывать оплодотворенные яйца. Различные факторы могут повлиять на время спаривания, при этом виргинные особи сохраняют зрелые половые продукты [1, 2]. При отсроченном спаривании на жизнеспособность потомства влияет возраст родителей и «перезревание» гамет.

Интересно выяснить, каким образом эти факторы изменяют те или иные признаки у потомства, в частности, количественные, обладающие особой селективной ценностью. Ранее было показа-

но влияние возраста родителей при спаривании на теплоустойчивость имаго дрозофилы в двух последующих поколениях [3, 4].

В настоящей работе изучали влияние возраста родителей на устойчивость потомства I и II поколений к голоданию. Опыты проводили на имаго *D. melanogaster* двух инбредных линий «К» и «Б». Скрещивание вели по схеме: $K \times K$, $K \times O$, $O \times K$, $O \times O$. Контролем служили однодневные особи (вариант $K \times K$), опыт — 2 группы особей, спаривание которых было отсрочено на 12 и 22 дня. В экспериментах использовали имаго, развившихся из яиц 1—2 дня откладки.

Молодых самок и самцов раздельно по 10 особей помещали в стеклянные трубочки 10×100 мм, закрывали с концов ватными тампонами. Для создания оптимальной влажности один конец трубки помещали в воду. Определяли среднюю продолжительность жизни при голодании в часах и при температуре $21-22^\circ$. Учет проводили через 12 часов. Полученные данные представлены в таблице.

Таблица 1

Влияние 12-дневной отсрочки спаривания на продолжительность жизни при голодании потомства I и II поколений

Вариант	I поколение			II поколение		
	<i>n</i>	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$	<i>p</i>	<i>n</i>	$\bar{x} \pm m_{\bar{x}}$	<i>p</i>
Линия „Б“						
$K \times K$	281	$105,2 \pm 0,81$		299	$102,0 \pm 0,63$	
	287	$101,1 \pm 0,49$		270	$94,9 \pm 0,74$	
	100	$101,8 \pm 1,01$	0,995	283	$101,4 \pm 0,75$	0,45
$K \times O$	112	$96,3 \pm 0,85$	0,999	286	$93,9 \pm 0,63$	0,68
	300	$102,9 \pm 0,78$	0,97	301	$98,5 \pm 0,69$	0,999
$O \times K$	299	$96,9 \pm 0,68$	0,999	287	$93,6 \pm 0,61$	0,82
	308	$103,2 \pm 0,70$	0,96	292	$94,2 \pm 0,73$	0,999
$O \times O$	288	$96,9 \pm 0,68$	0,999	277	$91,0 \pm 0,73$	0,999
Линия „К“						
$K \times K$	247	$105,2 \pm 0,81$		310	$85,9 \pm 0,53$	
	306	$90,5 \pm 0,62$		300	$77,7 \pm 0,45$	
$K \times O$	295	$103,1 \pm 0,87$	0,91	300	$87,1 \pm 0,69$	0,83
	308	$92,1 \pm 0,62$	0,92	300	$76,6 \pm 0,78$	0,78
$O \times K$	310	$97,2 \pm 0,87$	0,999	303	$86,0 \pm 0,53$	0,00
	298	$86,5 \pm 0,70$	0,999	289	$77,6 \pm 0,56$	0,00
$O \times O$	299	$93,5 \pm 1,11$	0,999	290	$88,2 \pm 0,78$	0,99
	286	$86,7 \pm 0,78$	0,999	290	$79,1 \pm 0,57$	0,94

Увеличение возраста одного из родителей на 12 дней (варианты $K \times O$, $O \times K$) сокращало среднюю продолжительность жизни потомства первого поколения по сравнению с контроль-

ным вариантом на 3—8,0 часов ($p = 0,99$). Наименее жизнеспособным по данному показателю оказалось потомство варианта $O \times O$, продолжительность жизни которого на 3,8—11,7 часа меньше, чем у контроля при $p > 0,99$ (табл. 1).

В группе, где возраст опытных мух равнялся 22 дням, значительное уменьшение продолжительности жизни от 9,6 до 10,7 часов имело место при увеличении возраста матери (варианты $O \times K$, $O \times O$). Влияние возраста отца выражено слабее. В варианте $K \times O$ средняя продолжительность жизни уменьшалась на 2,1—2,6 часов при $p = 0,99$ (табл. 2).

Таблица 2

Влияние возраста спаривания родителей 1 и 22 дня на устойчивость к голоданию

Вариант	I поколение			II поколение		
	n	$\bar{x} \pm m_x$	p	n	$\bar{x} \pm m_x$	p
Линия К						
$K \times K$	493	$92,4 \pm 0,67$		326	$86,8 \pm 1,06$	
	499	$81,1 \pm 0,49$		411	$69,9 \pm 0,73$	
$K \times O$	490	$90,2 \pm 0,61$	0,98	433	$87,2 \pm 1,17$	0,000
	500	$78,5 \pm 0,43$	0,999	472	$66,7 \pm 0,71$	0,99
$O \times K$	471	$81,8 \pm 0,63$	0,999	422	$82,6 \pm 0,97$	0,99
	515	$71,5 \pm 0,52$	0,999	431	$68,9 \pm 0,79$	0,00
$O \times O$	460	$82,7 \pm 0,67$	0,909	443	$80,4 \pm 1,08$	0,99
	445	$72,3 \pm 0,56$	0,999	438	$67,4 \pm 0,88$	0,969

Анализ второго поколения показал, что в 1-й возрастной группе возраст исходных родителей почти не влияет на среднюю продолжительность жизни. Значительное изменение в резистентности имаго сохранилось только в варианте, когда возраст обоих исходных родителей равнялся 22 дням (табл. 2).

Полученные результаты показывают, что сроки спаривания родителей существенно сказываются на жизнеспособности двух последующих поколений. По-видимому, мы имеем дело с типом модификационной изменчивости, физиолого-генетические механизмы которой пока еще мало изучены.

ЛИТЕРАТУРА

1. King R. C., Robinson A. S., Smith R. F. Oogenesis in adult *Drosophila melanogaster*. — «Growth», 1956, № 20, с. 121—157.
2. Mossige J. C. Sperm utilization and broad patterns in *Drosophila melanogaster*. — «Amer. Naturalist», 1955, Т. 89, № 845, с. 123—127.
3. Некрасова А. В. Про вплив віку імаго *Drosophila melanogaster* на теплостійкість двох наступних поколінь. — «Вісник ХДУ, біол.», 87, в. 4, 1972, с. 44—46.
4. Попель А. Т., Некрасова А. В., Винокур В. Г. Влияние физиологического состояния родителей на жизнеспособность потомства. — Второй съезд Всесоюзного общества генетиков и селекционеров. Тезисы докладов. М., 1972. 64 с.

ЯВЛЕНИЯ АСИНАПСИСА ГИГАНТСКИХ ХРОМОСОМ ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ И МЕЖЛИНЕЙНЫХ ГИБРИДОВ

Drosophila melanogaster

Г. Е. Ланта, В. Г. Шахбазов

(Кафедра генетики и цитологии)

В политенных хромосомах межвидовых и межрасовых гибридов часто наблюдались случаи нарушения их конъюгации [1—4]. На основе изучения связи между нарушением соматического синапсиса политенных хромосом и конъюгации гомологичных хромосом в мейозе у гибридов высказано предположение о возможности параллелизма между конъюгацией гигантских хромосом слюнных желез и конъюгацией хромосом в мейозе. Посредством генетического и цитологического анализа кроссинговера были получены доказательства в пользу этой гипотезы [5—6]. Показано, что участки хромосом, характеризующиеся различной частотой конъюгации в слюнных железах гибридов, ведут себя сходным образом в мейозе, обладая соответствующей частотой кроссинговера.

Исходя из этого, полагаем возможным рассматривать гигантские хромосомы слюнных желез *Drosophila* в качестве удобных модельных объектов, позволяющих судить о таких особенностях взаимодействия хромосом, как нарушение конъюгации.

В литературе описываются примеры расхождения хромосом, в которых не была обнаружена какая-либо перестройка хромосом, последовательность и число дисков совпадали, а нарушение конъюгации определялось, по-видимому, иными причинами, чем в случае гетерозиготных перестроек [2, 5, 8, 9]. Кроме того, на примере очень коротких инверсий видно, что инвертированные диски иногда хорошо синаптируют со своим гомологом, таким образом доказывая, что синапсис зависит не только от ориентации дисков [3].

С этой точки зрения значительный интерес представляет рассмотрение структур, обладающих большим сходством в строении дисков. В упомянутых работах в основном описывался асинапсис гомологичных хромосом межвидовых гибридов; целью наших экспериментов явилось изучение соматической конъюгации гомологичных хромосом двух высокоинбредных линий *Drosophila melanogaster* и гибридов между этими линиями F_1 .

Для исследования использовали самок инбридированных в нашей лаборатории в течение 160 поколений линий D_{32} и 11 и прямые и реципрокные гибриды между ними. Препараты готовили из слюнных желез личинок третьего возраста. Все исследуемые формы мух содержали в одинаковых условиях. Степень асинапсиса определялась как процент асинаптических хромосом по отношению к общему количеству исследуемых ядер на препа-

рат (одна доля железа). Достоверность различия между процентным выражением асиапсиса рассчитывалась с помощью критерия d [13] (дисперсии для 5% уровня значимости не равны) при $p = 0,01$.

При изучении временных давленных препаратов политенных хромосом высокоинбредных линий *Drosophila melanogaster* обнаружены хорошо выраженные нарушения соматической конъюгации гомологичных хромосом.

Нарушения конъюгации носят довольно неопределенный характер даже в пределах одного препарата (личинки), а не только между личинками. Локализация асиапсиса по длине хромосомы в достаточной степени нерегулярна для каждого хромосомного плеча, асиапсис затрагивает больший или меньший участок хромосомы, иногда наблюдается полное отсутствие соматической конъюгации какого-либо плеча. Нарушение конъюгации характерно для всех изученных препаратов.

Но асиаптирующие хромосомы найдены не во всех ядрах, а в определенном проценте ядер на личинку. Для каждой личинки проанализировано от 20 до 60 ядер. Для 25 личинок формы D_{32} и для 23 личинок формы 11 процент асиапсиса для исследуемых пяти хромосомных плечей ($2R$, $2L$, $3R$, $3L$, X) составлял $18,6 \pm 1,41\%$ и $26,4 \pm 2,2\%$, соответственно.

Другие авторы уже обращали внимание на распределение сегментов, в которых отсутствует конъюгация хромосом. С одной стороны, отмечался сравнительно постоянный характер асиапсиса в некоторых участках хромосом межвидовых гибридов [2, 5, 11]; с другой стороны, имеются данные, по которым асиаптенные сегменты распределяются нерегулярно по длине хромосом и не стоят в зависимости ни от толщины дисков, ни от удаления от центромеры [6, 8].

Структурные модификации политенных хромосом в онтогенезе, по-видимому, функционально обусловлены и связаны с метаболическими процессами организма [16]. На этом основании можно провести аналогию между нерегулярностью характера асиапсиса и отсутствием регулярности ритмики активности участков хромосом. В. А. Лычев и Ж. А. Медведев объясняют асинхронность появления пuffed в разных клетках железы и в клетках разных личинок тем, что торможение каких-либо функций железы в тот или иной момент происходит не путем синхронного замедления соответствующих процессов во всех клетках, а путем избирательного «выключения» отдельных клеток [15—16].

Для межлинейных гибридов нами отмечено достоверное увеличение частоты асиапсиса по сравнению с линиями ($p = 0,01$). Из таблицы видно, что процент асиапсиса для гибридов составляет $42,0 \pm 2,5\%$.

Направление скрещивания не принимается во внимание, хотя имеются данные Е. В. Полуэктовой [16] о некоторых отличии-

ях по частоте конъюгации гомологов в разных локусах у межвидовых прямых и реципрокных гибридов *Drosophila melanogaster*, которые она объясняет сложной взаимосвязью ядра и цитоплазмы у гибридной особи. Быть может, этими отличиями можно объяснить в наших данных достоверное для 5% уровня значимости отличие в дисперсии процента асиапсиса инбредных и гибридных форм, которая у гибридов значительно выше.

Сравнение частоты асиапсиса гомологичных хромосом *Drosophila melanogaster* двух инбредных линий D_{32} и $1/$ с частотой асиапсиса в гибридных структурах

Формы дрозофилы	Общее кол-во изученных ядер	Кол-во изученных личинок	Процент асиаптических хромосом по отношению к количеству исследованных ядер на личинку	Критерий достоверности разности средних при $p = 0,01$	
				между D_{32} и гибридом	между $1/$ и гибридом
D_{32}	871	25	$18,6 \pm 1,4\%$	8,18	4,74
$1/$	530	23	$26,4 \pm 2,2\%$		
гибрид	1128	36	$42,1 \pm 2,5\%$		

Данные по увеличению процента асиапсиса гомологичных хромосом у гибридов согласуются с данными Т. Е. Петрухиной [17] по гибридам между инбредной линией, селективируемой на снижение половой активности самцов, и аутбредной линией дикого типа К, где она наблюдала гораздо более выраженное нарушение конъюгации по сравнению с относительно полной конъюгацией аутбредной и инбредной линий.

Все возрастающая литература о связи функциональной активности хромосом с нарушением соматической конъюгации [15—16, 18—21], данные о расщеплении гомологов в районе ядрышка в связи с накоплением ядрышкового материала внутри самой хромосомы [22—23] наводят на мысль о том, что характер конъюгации должен отражать синтетическую активность хромосомных локусов и уровень локального синтеза РНК и хромосомных белков.

Результаты работы В. А. Лычева [12] об ослаблении активности работы хромосом при инбридинге, выраженном в уменьшении частоты встречаемости ряда пуффов, подтверждают рациональность постановки вопроса о более подробном исследовании нарушения конъюгации в связи с инбридингом и гибридизацией.

Есть основания также полагать, что уменьшение степени притяжения гомологичных хромосом в гетерозиготных клеточ-

ных ядрах в какой-то мере связано с теми биофизическими свойствами клеточных ядер гетерозисных организмов, которые были описаны в нашей лаборатории ранее [24—26].

ЛИТЕРАТУРА

1. Dobzhansky T., Tan C. C. Comparison on the Gene Arrangements in two Species of *Drosophila pseudoobscura* and *Drosophila miranda*. — «Z. i. A. V», 1936, N 72, p. 88—104.
2. Baker P. H., Kitzmiller J. B. Asynapsis of the Salivary Chromosomes of Hybrids between *Anopheles punctipennis* and *Anopheles freeborni*. — «Nature», 1963, 200, 4910, p. 1023.
3. Horton J. H. A comparison of the Salivary gland Chromosomes of *Drosophila melanogaster* and *Drosophila Simulans*. — «Genetics», 1939, 24, p. 234—244.
4. Kerkis J. Chromosome Conjugation in Hybrids between *Drosophila melanogaster* and *Drosophila Simulans*. — «American Naturalist», 1936, N 70, p. 81—86.
5. Меладзе Д. Д. Сравнение закономерностей кроссинговера и соматического синapsиса у *Drosophila melanogaster*. — «Труды Грузинского зооветеринарного ин-та», 1939, № 1, с. 1.
6. Евгеньев М. Б. Конъюгация политенных хромосом и кроссинговер в межвидовых гибридах *Drosophila*. — «Генетика», 1970, т. 6, N 1, с. 96—101.
7. Rothfels K. H. and Dunbar P. W. The Salivary Gland Chromosomes of the Black Fly *Simulium vitt.* — «Canad. J. Zool.», 1963, 31, p. 226—241.
8. Щербаков Е. С. Строение политенных хромосом слюнных желез *Simulium nöllei*. — «Цитология», 1966, т. 8, N 6, с. 703.
9. Петрухина Т. Е. Сравнительно-кариологическое изучение изменчивости в популяциях краснойголовой мошки *Boopthora Erythrocephala*. — «Цитология», 1970, N 4, с. 548.
10. Geitler L. Du Schlifenkerne von *Cimulium*. — «Zool. Jahrb.», 1934, 54, с. 237—243.
11. Kunze E. Artunterschiede in Bau der Reischromosome in der Gattung *Simulium* Latr. Osterr. — «Zool. Zs.», 1953, 4, p. 23—32.
12. Лычев В. А. Изучение активности хромосом при глубоком инбридинге у дрозофилы. — «Цитология», 1965, т. 7, № 3, с. 325—333.
13. Бейли Н. Статистические методы в биологии. Мир, 1964.
14. Лычев В. А., Медведев Ж. А. Некоторые вопросы методики изучения пuffed политенных хромосом слюнных желез *Diptera* при исследованиях действия на хромосомы различных факторов. — «Генетика», 1967, N 8, с. 53—59.
15. Полуэктова Е. В. Особенности функциональной морфологии 3 хромосомы на стадии формирования пупариума. — «Генетика», 1969, т. 5, N 9, с. 124—129.
16. Полуэктова Е. В. Структурные модификации гомологичных локусов 3 хромосомы в ядрах слюнных желез гибридов от скрещивания *Drosophila virilis* и *Drosophila texana*. — «Генетика», 1970, т. 6, N 9, с. 110—117.
17. Петрухина Т. Е., Кайданов Л. З. Материалы генетического съезда. 1972.
18. Ashburner M. Gene Activity Dependent on Chromosome Synapsis in the Polytenic Chromosomes of *Drosophila melanogaster*. — «Nature», 1967, 214, 5093, p. 1159—1160.
19. Beermann W. Chromosomenkonstanz spezifische Modifikationen der Chromosomenstruktur in der entwicklung und organdifferenzierung von *Chironomus tentans*. — «Chromosoma», 1953, 5, p. 139—198.
20. Beerman W. Ein Balbiani-Ring als locus einer Speicheldrüsenmutation. — «Chromosoma», 1961, 12, 1, 1.

21. Pavan C., Perondini A. L. P. Heterozygous Puffs and Bands in *Seiara ocellaris* constock. — «Exptl. Cell Res.» 1967, 48, 1, p. 202—205.
22. Щербаков Е. С. О ядрышковом полиморфизме в природной популяции мошек *Odagmia ornata*. — «Цитология», 1968, т. 8, № 4, с. 510.
23. Кикнадзе И. И. Строение ядрышкового организатора у *Chironomus dorsalis*. — «Цитология», 1967, № 8, с. 5.
24. Шахбазов В. Г., Котенко Л. В. Связь гетерозиса с биоэлектрическими потенциалами клеток. — «Изв. АН СССР», сер. биол., 1967, № 6, с. 891—894.
25. Шахбазов В. Г., Лобынцева Г. С. Биоэлектрические свойства ядра и ядрышка в клетках растений в связи с генотипом, физиологическим состоянием и действием высокой температуры. — «Биофизика», 1971, 16, вып. 3, с. 457—461.

РАЗЛИЧИЯ В УСТОЙЧИВОСТИ К ГОЛОДАНИЮ САМОК И САМЦОВ У РАЗНЫХ ПО ГЕНОТИПУ ФОРМ В СВЯЗИ С МУЖСКОЙ И ЖЕНСКОЙ ГЕТЕРОГАМЕТНОСТЬЮ

З. Т. Никольченко, А. Н. Дзюба

(Кафедра генетики и цитологии)

Как показали наши исследования, проведенные на *Drosophila melanogaster* Mg и *Bombux mori* L., устойчивость к повреждающим факторам определённым образом связана с генетическим типом детерминации пола и, в частности, с мужской и женской гетерогаметностью [1—2].

В литературе единого мнения по этому вопросу не существует. Некоторые авторы склонны считать, что независимо от гетерогаметности (мужской или женской) более резистентным является женский пол [3—5]. Однако другие авторы указывают на большую резистентность мужского пола у организмов с женской гетерогаметностью [6—10]. С последним утверждением согласуются и наши данные [1—2].

Интересно было выяснить, подтвердится ли в дальнейших исследованиях обнаруженная закономерность.

Работа проводилась в 1969—1970 гг. на прежних объектах — дрозофиле (мужская гетерогаметность) и тутовом шелкопряде (женская гетерогаметность). Повреждающим фактором служило голодание — у дрозофилы на стадии имаго, у тутового шелкопряда — на стадии гусеницы 2-го, 3-го и 4-го возрастов.

В опытах с дрозофилой использовались разные по генотипу формы — линии и межлинейные гибриды. В исследованиях с тутовым шелкопрядом также были использованы разные по генотипу формы — породы Сов. 5, Сов. 12 и гибрид Сов. 5 × Сов. 12, меченные по полу на стадии яйца [8]. Эксперименты проводились по описанной ранее методике [1]. Критерием жизнеспособности в условиях полного голодания служила средняя продолжительность жизни одной мухи у дрозофилы и одной гусеницы у тутового шелкопряда.

Из табл. 1, где представлены результаты опытов по устойчивости к голоданию у дрозофилы, видно, что во всех без исключения вариантах у линий и у гибридов большую резистентность проявили самки.

Результаты опытов с тутовым шелкопрядом противоположны

Таблица 1

Различия в устойчивости к голоданию самок и самцов *D. melanogaster* Mg

Линия, гибрид	Число мух в опыте		Средняя продолжительность жизни одной мухи без питания		p
	♀	♂	♀	♂	
Б—165*	180	180	93,84±1,67	86,64±1,24	>0,999
Б—166	320	320	96,18±1,04	89,88±1,04	>0,999
Б—167	560	560	88,37±1,09	79,76±1,03	>0,999
К—4	340	340	75,61±1,07	61,69±0,87	>0,999
К—5	550	550	68,92±0,77	56,74±0,66	>0,999
К—6	560	560	78,69±0,96	65,00±0,82	>0,999
1/—57	170	170	88,51±1,16	82,44±0,96	>0,999
1/—58	370	370	59,65±1,38	54,45±1,27	0,994
1/—59	350	350	57,16±1,15	51,10±1,05	>0,999
Л—96 × Б—165	140	140	82,44±1,62	70,97±1,31	>0,999
Б—165 × Л—96	180	180	83,54±1,10	74,12±0,91	>0,999
1/—58 × Б—64	320	320	57,46±1,12	52,92±0,99	0,988
1/—59 × Б—65	350	350	55,00±1,06	47,79±1,02	>0,999
Б—64 × 1/—58	210	210	65,82±1,54	56,29±1,49	>0,999

* — номер поколения.

Таблица 2

Различия в устойчивости к голоданию самок и самцов *B. mori* L.

Порода, гибрид	Возраст гусениц	Число гусениц в опыте		Средняя продолжительность жизни одной гусеницы без питания		p
		♀	♂	♀	♂	
Сов. 5	2-й	300	300	95,21±0,58	90,56±0,80	>0,999
Сов. 12	2-й	420	420	104,72±0,56	111,43±0,63	>0,999
Сов. 5 × Сов. 12	2-й	420	420	113,23±0,50	119,15±0,55	>0,999
Сов. 5	3-й	100	100	93,56±0,98	96,44±0,98	0,961
Сов. 12	3-й	300	300	104,77±1,08	124,24±0,57	>0,999
Сов. 5 × Сов. 12	3-й	250	250	124,49±0,82	134,86±0,79	>0,999
Сов. 12	4-й	300	300	83,23±0,76	96,44±0,67	>0,990
Сов. 5 × Сов. 12	4-й	300	300	94,91±0,77	105,91±0,79	>0,999

(табл. 2). Большая устойчивость к голоданию обнаружена у самцов. Последнее относится и к породам Сов. 5, Сов. 12, и к гибриду Сов. 5 × Сов. 12. Исключение составляет порода

Сов. 5, гусеницы 2-го возраста (более резистентны самки). Это объясняется, очевидно, тем, что порода Сов. 5 несёт рецессивную мутацию (мутантный ген блокирует образование пигмента в серозной оболочке яиц, простых глазках гусеницы, сложных глазах бабочки и в клетках гиподермы гусеницы), связанную с понижением жизнеспособности гусениц-самцов [8].

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о большей резистентности к повреждающим факторам гомогаметного пола (самок у дрозофилы и самцов у тутового шелкопряда), что подтверждает полученные нами ранее данные. Кроме того, эта закономерность обнаружена у разных по генотипу форм: пород, линий и гибридов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сало З. Т., Нехаенко Р. Я. О различиях в устойчивости к голоданию особей разного пола дрозофилы и тутового шелкопряда. — «Вестник Харьковского ун-та», серия биол., 1970, № 39, вып. 2, с. 32—36.
2. Сало З. Т., Шахбазов В. Г., Нехаенко Р. Я. Пол и теплоустойчивость у дрозофилы и тутового шелкопряда. — «Устойчивость к экстремальным температурам и температурные адаптации». Материалы симпозиума. Изд-во ХГУ, 1971, с. 54—58.
3. Иванов В. Г. Различная чувствительность самцов и самок эмбрионов кур». — ДАН СССР, 1955, 100, № 4, с. 829—832.
4. Светлов П. Г. и Чекановская О. В. «О природе различий в чувствительности к вредным факторам у самцов и самок. Опыты с имагинальными дисками гусениц *Dasychira* sp. — «Известия АН СССР», серия биол., 1949, № 2, с. 201—207.
5. Goodtreay George F., Brunson Clayton C., Goodman B. L. Secondary and Tertiary Sex Rations in the Domestic Fowl. — «Poultry Sci», 1955, 34, N 1, p. 27—29.
6. Струнников В. А., Гуламова Л. М. Опыт выведения меченных по полу линий тутового шелкопряда при помощи рентгеновских лучей. — Сб. «Изучение животи. организма». М., АН СССР, 1958, с. 220—225.
7. Струнников В. А., Гуламова Л. М. Искусственная регуляция пола у тутового шелкопряда. Сообщение I. Выведение меченных по полу пород тутового шелкопряда. — «Генетика», 1969, 5, № 6, с. 52—71.
8. Струнников В. А., Гуламова Л. М. Искусственная регуляция пола у тутового шелкопряда. Сообщение II. Получение меченных по полу гибридов тутового шелкопряда с нормальножизнеспособными самцами. — «Генетика». 1971, 7, № 3, с. 58—73.
9. Baud. Influence d'une sous — alimentation quantitative au cours du dernier intermue larvaire de *Bombyx mori* L. sur son de'veloppement ulterieur et sur celui de la generation suivante. — «Rev. ver., soie», 1955, 7, N 3—4, p. 73—159.
10. Andersen F. Sqaard. Effect of density on animal sex ratio. — «Oikos», 1961, 12, N 1, p. 1—16

О ВЛИЯНИИ УФ-ОБЛУЧЕНИЯ НА ПЛОДОВИТОСТЬ ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ И ГИБРИДОВ

Drosophila melanogaster

Н. Н. Григорьева, В. Г. Шахбазов

(Кафедра генетики и цитологии)

В ряде работ [1—3] исследуется влияние УФ-облучения на репродуктивные органы дрозофилы. Показано, что облучение вызывает различные аномалии в расщеплении генов, увеличивает частоту мейотических рекомбинаций, вызывает снижение плодовитости. В связи с эффектом гетерозиса вопрос о влиянии УФ-радиации на дрозофилу в этих работах не рассматривался. Для нас это исследование представляло интерес в плане общего изучения механизма гетерозиса.

Ранее мы исследовали влияние УФ-радиации на гибридные и инбредные формы кукурузы [4]. Целью работы было выяснение различий в реакции на УФ-облучение высокоинбредных линий и гибридов дрозофилы. Критерием устойчивости к облучению служила плодовитость на одну пару мух. Мы изучали три высокоинбредные линии и три межлинейных гибрида. Мух через 10—12 часов после выхода облучали в кварцевых пробирках в темной комнате в течение одной, четырех и семи минут $e=200$ мк. вт/см² за одну мин.). В качестве источника излучения использовали лампу ПРК—2. После облучения мух отсаживали в пробирки с питательной средой по схеме: К × К, К × О, О × К, О × О (К — контроль, О — опыт), для гибридов О × О. Контролем служили не облученные мухи. При исследовании эффекта после действия рассматривали плодовитость второго поколения исследуемых вариантов для линий.

Для каждого варианта проведено четыре повторности по 8—10 пробирок. Результаты статистически обработаны.

В таблице приведены данные о средней плодовитости мух исследуемых линий и гибридов, а также процент гетерозиса по плодовитости у гибридов в контроле, подсчитанный относительно средней плодовитости родительских линий.

Плодовитость линий и гибридов дрозофилы в контроле

Линии и гибриды	Средняя плодовитость	% гетерозиса	<i>p</i>
М	180 ± 12,4	100	—
Л	180 ± 12,6	100	—
Д ₃₂	223 ± 11,7	100	—
М × Л	317 ± 13,6	176 ± 6,8	0,999
Л × М	315 ± 12,4	175 ± 7,5	0,999
М × Д ₃₂	283 ± 9,3	141 ± 4,1	0,909

Из таблицы видно, что три гибрида по плодовитости в контроле превосходят родительские линии, то-есть проявляют гетерозис по этому показателю, однако у гибрида $M \times D_{32}$ процент гетерозиса значительно ниже.

На рис. 1 (а, б) приведены результаты влияния облучения мух линий и гибридов на их плодовитость. В первом случае (а) сравнивали плодовитость гибридов и линий варианта $O \times O$. Облучение в течение одной минуты существенных изменений в плодовитости линий и гибридов не вызвало, за исключением линии Л (плодовитость снижается на 60%, $p=0,999$). Четырехминутное облучение приводит к достоверному снижению плодовитости у линий D_{32} , Л, у гибридов $L \times M$, $M \times D_{32}$ ($p=0,991$, $p=0,965$, $p=0,984$, $p=0,999$). Облучение в семь минут вызывает снижение плодовитости у линий, и у гибридов (во всех случаях $p > 0,999$), однако у гибридов оно менее значительно.

На рис. 2 показано проявление гетерозиса у гибридов при трех экспозициях УФ-облучения. За 100% принимали величину средней устойчивости к облучению родительских линий. Гибриды $L \times M$ и $M \times L$, проявляющие гетерозис по плодовитости в норме оказываются более устойчивыми и к действию УФ-радиации.

На рис. 1 (б) приведены данные по плодовитости мух вариантов $O \times O$, $K \times O$, $O \times K$ относительно контроля. Для линии Л при четырехминутном облучении данные не приведены из-за не-

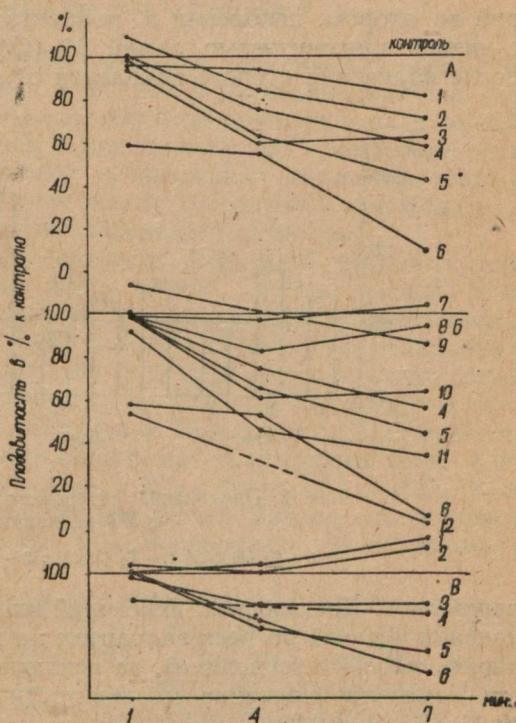


Рис. 1. Изменение плодовитости мух *Dr. melanogaster* под влиянием УФ-облучения.

а, б — первое поколение: 1— L ($M \times L$); 4— M ($O \times O$); 2— L ($L \times M$); 5— D_{32} ($O \times O$); 3— L ($M \times D_{32}$); 6— L ($O \times O$); 7— M ($K \times O$); 8— D_{32} ($K \times O$); 9— L ($K \times O$); 10— M ($O \times K$); 11— D_{32} ($O \times K$); 12— L ($O \times K$).

в — второе поколение: 1— M ($O \times O$); 2— M ($K \times O$); 3— D_{32} ($O \times O$); 4— L ($K \times O$); 5— D_{32} ($K \times O$); 6— D_{32} ($O \times O$).

достаточного количества n для статистической обработки (на рисунке — пунктирная линия). Как видим, облучение приводит к снижению плодовитости линий во всех вариантах, однако достоверное снижение наблюдается только в том случае, если в скрещивании участвовала облученная самка ($p > 0,999$ при облучении 7 мин).

На рис. 1 (в) приведены данные о средней плодовитости линий во втором поколении в процентах к контролю. В связи с низкой плодовитостью линий М (О×К) и Л (О×К, О×О) после облучения второго поколения от этих вариантов получить

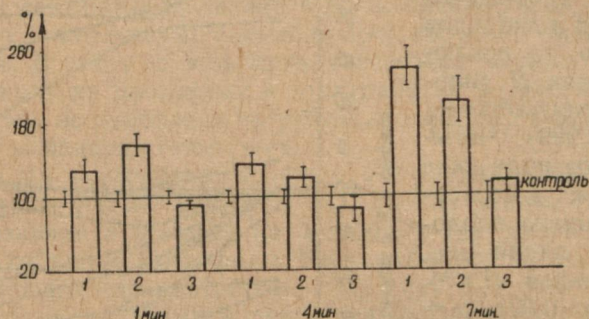


Рис. 2. Проявление гетерозиса по устойчивости к УФ-радиации.

1 — G_1 (М×Л); 2 — G_1 (Л×М); 3 — G_1 (М×Д₃₂)

не удалось. Достоверных изменений плодовитости во втором поколении у линий во всех вариантах не наблюдается (можно говорить только о тенденции), за исключением линии Д₃₂ (К×О), где отмечено снижение плодовитости относительно контроля на 32,8% ($p = 0,991$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Proust Jacques Line. Action mutagene des UV sur les ovogonies de Drosophiles. II. Cinetique de la mutagenese. — «Mutat. Res.», 1967, 4, N 4, p. 473—489.
2. Proust Jacques Line. Action des UV sur la recombinaison genetique dans les ovogonies de drosophiles. — «Mutat. Res.», 1967, 4, N 6, p. 837—863.
3. Proust Jacques Line, Prudhomme Claude. Action des UV sur la recombinaison genetique par irradiation des cellules germinales primordiales chez les Drosophiles femelles. — «Mutat. Res.», 1968, 6, N 3, p. 419—426.
4. Григорьева Н. Н., Шахбазов В. Г. Вплив УФ-радіації на теплостійкість гібридного та інбредного насіння кукурудзи. — «Вісник ХДУ, біологія», 1972, № 87, 4, с. 40—42.

БЕЛКОВЫЙ И НУКЛЕИНОВЫЙ СОСТАВ ХРОМАТИНА ЯДЕР КЛЕТОК ПЕЧЕНИ ИНБРЕДНЫХ И ГИБРИДНЫХ МЫШЕЙ

Н. В. Ходорова

(Кафедра генетики и цитологии)

В настоящее время роль отдельных компонентов хроматина у гомо- и гетерозиготных животных и их взаимодействие, регулирующее генную активность, изучены недостаточно. Возможно, эффект гетерозиса связан с функциональным состоянием интерфазных хромосом. Поэтому исследование количественного состава белков и нуклеиновых кислот хроматина у животных с разным генотипом представляет определенный интерес.

В работе изучалось содержание ДНК, РНК, основных и кислых белков в хроматине ядер клеток печени мышей линии C57BL, АКР и их гибридов месячного возраста. Ядра выделяли из печени в сахарозной среде с CaCl_2 путем дифференциального центрифугирования. Хроматин получали из ядер клеток печени по методу Марушиге, Боннера [1]. ДНК и РНК экстрагировали из хроматина по методу Шмидта и Таннгаузера [2]. Количество нуклеиновых кислот определяли на спектрофотометре СФ-4. Экстракцию гистонов проводили 0,5 н раствором H_2SO_4 . Количество общего белка, гистонов и кислых белков определяли по Лоури и др. [3]. Результаты обработаны статистически по Студенту.

Как показали взвешивания, проведенные в месячном возрасте, гибридные мыши превосходили по весу мышей линии C57BL на 22% и на 27% — линии АКР, а по весу печени — на 16% и 14% соответственно. Это дает основание считать, что гибриды представляют собой гетерозисных животных (табл. 1).

Таблица 1

Вес мышей и вес печени

Линии и гибрид	Кол-во животных, <i>n</i>	Вес животных, <i>г</i>	Уровень значимости между гибридом и линиями	Вес печени, <i>мг</i>	Уровень значимости между гибридом и линиями
C57BL	86	$11,8 \pm 0,20$	$p < 0,001$	$593,8 \pm 11,2$	$p < 0,001$
F ₁	81	$14,4 \pm 0,35$		$692,0 \pm 18,1$	
AKR	84	$11,3 \pm 0,21$	$p < 0,001$	$604,7 \pm 13,6$	$p < 0,001$

Результаты показали, что существенных различий концентрации ДНК в хроматине ядер клеток печени инбредных и гибридных мышей не обнаружено. Это согласуется с данными, полученными нами ранее на целой ткани печени и в ядрах

клеток печени линейных и гибридных животных. [4] По концентрации РНК, составляющей 4,8% суммы белков и нуклеиновых кислот у линии C₅₇BL, 4,9% у линии AKR и 4,6% у гибрида, различия также не наблюдались (табл. 2.).

Таблица 2

Концентрация ДНК, гистонов, РНК и кислых белков в мг на 1 г белка в хроматине печени инбредных и гибридных мышей (средние данные из 8—12 опытов)

Показатели	Линии		Гибрид	Уровень значимости между	
	C ₅₇ BL ₁	AKR		F ₁ —C ₅₇ BL	F ₁ —AKR
ДНК	383,5 ± 34,2	402,4 ± 31,9	354,0 ± 24,5	p > 0,05	p > 0,05
Гистоны	360,4 ± 28,6	370,8 ± 26,4	367,2 ± 20,5	p > 0,05	p > 0,05
Гистон/ДНК	0,94 ± 0,06	0,92 ± 0,06	1,04 ± 0,04	p > 0,05	p > 0,05
РНК	51,0 ± 3,3	46,1 ± 4,2	47,8 ± 4,1	p > 0,05	p > 0,05
Кислые белки	286,5 ± 13,8	286,1 ± 13,0	311,5 ± 22,8	p > 0,05	p > 0,05

Ранее было показано, что в ядрах клеток печени гибридных мышей содержится больше РНК по сравнению с линейными формами [5]. Это увеличение, очевидно, связано с повышенным содержанием РНК у гибридов в таких структурах ядра, как ядрышко и кариоплазма. Отношение ДНК/РНК хроматина печени составляет 7,4—8,7, что согласуется с данными Боннера и Хуанга [6], которые отметили, что в хроматине содержится примерно в 8 раз больше ДНК, чем РНК.

Экспериментальные данные свидетельствуют, что белки ядра (кислые и щелочные), связанные с ДНК в хроматиновом комплексе, принимают участие в регуляции генетической активности [6, 7]. При определении концентрации гистонов и кислых белков в хроматине печени инбредных и гибридных мышей мы не обнаружили существенных различий в их содержании. Отношение гистон/ДНК составляло 0,92—1,04 (табл. 2). По данным Боннера [8] для полного связывания ДНК с гистоном отношение масс гистон/ДНК должно составлять примерно 1,35:1. Хроматин, как правило, не содержит гистона в количестве, достаточном для полного связывания всей геномной ДНК. Количество гистонов в хроматине может быть одинаковым, но у животных разного генотипа они могут находиться в различном физико-химическом состоянии, что может быть первопричиной изменений структуры хроматина, уровня и характера транскрипции.

В настоящее время принято считать, что кислые белки хроматина могут выступать в роли дерепрессоров генов [9]. Эксперименты показали, что их концентрация в суммарной фракции хроматина гибридных мышей значимо не отличается от инбредных (табл. 2). Ранее нами отмечено [5], что количество кислых белков в ядрах клеток печени у гибридов было значительно большим по сравнению с линиями. Кислые белки, связывая гистоны, могли привести к дерепрессии генов, в результате чего гетерозиготные животные характеризовались более высоким уровнем метаболических процессов. Таким образом, эффект гетерозиса, отмеченный у гибридных мышей месячного возраста, очевидно, не связан с изменением количества и соотношения белков и нуклеиновых кислот в суммарной фракции хроматина, а вероятнее всего, определяется активностью генного аппарата [10].

ЛИТЕРАТУРА

1. Marushige K., Bonner J. Template properties of liver chromatin. — «J. Molec. Biol.», 1966, № 15, с. 160—174.
2. Schmidt G., Thannhauser S. A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, and phosphoproteins in animal tissues. — J. «Biol. Chem.», 1945, 161, p. 83—89.
3. Oliver H. Lowry, Nira J. Rosebrouygh, A. Lewis Farr, and Rose I. Randall. Protein measurement with the Folin phenol reagent. — «The journal of Biological Chemistry», 1951, 193, p. 265—275.
4. Шерешевская Ц. М., Ходорова Н. В., Карева Л. В., Партина Ф. Я. Концентрация белков и нуклеиновых кислот в клетках и тканях животных разного генотипа. — II Всесоюзный биохимический съезд, секция биохимическая генетика. Ташкент, «ФАН», 1969, с. 46—47.
5. Шерешевская Ц. М., Ходорова Н. В. Сравнительное изучение содержания белков и нуклеиновых кислот в ядрах клеток печени и головного мозга у инбредных и гибридных мышей. В сб. «Метаболизм клеточного ядра и ядерно-цитоплазматические отношения». Тезисы докладов III Всесоюзного симпозиума по структуре и функциям клеточного ядра. «Наукова думка», 1970, с. 115—117.
6. Боннер Д. и Хуанг Р. Гистоны как специфические репрессоры синтеза РНК в хромосомах. В кн. «Гистоны и перенос генетической информации», М., «Мир», 1968, с. 28—45.
7. Wang T. I. The isolation, properties, and possible functions of chromatin acidic proteins. — „The Journal of Biological Chemistry“, 1967, 242, N 6, p. 1220—1226.
8. Боннер Д. Молекулярная биология развития. М., «Мир», 1967, 179 с.
9. Frenster I. H. Nuclear polyanions as de-repressors of synthesis of ribonucleic acid. — „Nature“, 1965, 206, N 4985, p. 680—683.
10. Шерешевская Ц. М., Ходорова Н. В., Некрасова А. В., Микулинский Ю. Е. Изучение белкового и нуклеинового состава хроматина и синтеза разных типов РНК в органоидах клеток печени при инбредной депрессии и гетерозисе. «Генетика и селекция на Украине», К., «Наукова думка», Часть 2, 1971, с. 57—58.

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ КИСЛОЙ И ЩЕЛОЧНОЙ РИБОНУКЛЕАЗ В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ И МЫШЦ МЫШЕЙ В СВЯЗИ С ИНБРЕДНОЙ ДЕПРЕССИЕЙ И ГЕТЕРОЗИСОМ

Ф. Я. Партина

(Кафедра генетики и цитологии)

Гетерозис представляет собой биологическое явление превосходства потомства по сравнению с родительскими формами по росту, весу, плодовитости, жизнеспособности.

В литературе встречаются данные о закономерностях внешнего проявления гетерозиса, но внутренние закономерности и биохимия этого явления еще не выяснены [1—5]. В ряде экспериментальных работ показана эффективность гетерозиса. Установлено, что у помесных цыплят ферменты переаминарования характеризуются повышенной активностью по сравнению с исходными породами [6]. Гетерозиготные животные по уровню активности ряда ферментов отличаются от гомозиготных [7].

Среди ферментов особый интерес представляют рибонуклеазы, участвующие в обмене нуклеиновых кислот. Действие ферментов зависит от физиологического состояния организмов и их генотипов, поэтому важно изучить изменение активности рибонуклеаз в органах инбредных и гибридных животных в процессе онтогенеза.

В настоящей работе определялась активность кислой и щелочной рибонуклеаз в тканях печени и мышц мышечных линий АКР, С₅₇ВL и их гибридов по методу Чудиновой, Кречетовой, Шапот (1964). Оптическую плотность супернатантов находили с помощью спектрофотометра СФ-4 при 260 мкм. Ферментативная активность выражалась в процентном отношении опытной пробы к контролю (за 100% принималась контрольная проба).

Опыты показали, что активность кислой и щелочной рибонуклеаз изменяется у инбредных и гибридных организмов с возрастом по-разному.

Активность обеих рибонуклеаз в тканях печени инбредных мышечных достигает максимума в месячном возрасте. У гибридов активность кислой и щелочной рибонуклеаз была уже максимальной в десятидневном возрасте (табл. 1, 2). При этом кислая рибонуклеаза печени у гибридов была выше на 175% по сравнению с линией С₅₇ВL и на 221% по сравнению с линией АКР. Активность щелочной рибонуклеазы превышала у гибридов в сравнении с С₅₇ВL на 148%, а с инбредной линией АКР на 167%. Гетерозиготные мыши отличались от гомозиготных большим уровнем активности рибонуклеаз печени и мышц и в возрасте 1 мес., 3 мес. В месячном возрасте активность кислой рибонуклеазы гибридов в мышцах была выше на 100%,

чем активность ферментов линии АКР, на 94% — чем у С₅₇ВL, в печени у гетерозисных животных активность кислой рибонуклеазы выше на 80%, чем у линии АКР, и на 49% — чем у С₅₇ВL (табл. 1).

Таблица 1

Активность кислой рибонуклеазы в тканях печени и мышц инбредных и гибридных мышей разного возраста (средние данные из 10—18 опытов), % к контролю

Печень						
Возраст	С ₅₇ ВL	АКР	Г	Уровень значимости между		
				С ₅₇ ВL и АКР	С ₅₇ ВL и Г	АКР и Г
10 дней	191 ± 7,17	145 ± 3,79	366 ± 41,08	Р 0,001	Р 0,01	Р 0,01
1 мес.	306 ± 16,31	275 ± 10,63	355 ± 19,87	Р 0,05	Р 0,02	Р 0,01
3 мес.	291 ± 12,21	228 ± 10,92	341 ± 22,78	Р 0,001	Р 0,01	Р 0,001
12 мес.	221 ± 7,17	224 ± 3,27	241 ± 9,16	Р 0,05	Р 0,05	Р 0,05
Мышцы						
1 мес.	171 ± 4,07	165 ± 6,53	265 ± 2,29	Р 0,05	Р 0,001	Р 0,001
12 мес.	128 ± 22,12	113 ± 2,78	138 ± 2,68	Р 0,03	Р 0,05	Р 0,001

Таблица 2

Активность щелочной рибонуклеазы в тканях печени и мышц инбредных и гибридных мышей разного возраста (средние данные из 10—18 опытов), % к контролю

Печень						
Возраст	С ₅₇ ВL	АКР	Г	Уровень значимости между		
				С ₅₇ ВL АКР	С ₅₇ ВL и Г	АКР и Г
10 дней	195 ± 14,15	176 ± 12,56	343 ± 29,51	Р 0,05	Р 0,001	Р 0,001
1 мес.	239 ± 23,56	236 ± 18,04	334 ± 56,52	Р 0,05	Р 0,01	Р 0,01
3 мес.	169 ± 20,04	178 ± 13,26	287 ± 9,54	Р 0,001	Р 0,001	Р 0,001
12 мес.	179 ± 9,44	230 ± 8,54	244 ± 8,36	Р 0,001	Р 0,001	Р 0,05
Мышцы						
1 мес.	159 ± 3,81	174 ± 4,74	232 ± 6,70	Р 0,05	Р 0,001	Р 0,001
12 мес.	123 ± 9,24	122 ± 12,7	129 ± 11,31	Р 0,05	Р 0,05	Р 0,05

В ткани мышц гибридов месячного возраста уровень активности щелочной рибонуклеазы был выше на 58% по сравнению с АКР и на 73% у С₅₇ВL, в ткани печени на 98% АКР и на 95% у С₅₇ВL (табл. 2).

Большая рибонуклеазная активность у гетерозиготных животных, по-видимому, свидетельствует о более высоких обмен-

ных процессах нуклеиновых кислот гибридных организмов по сравнению с инбредными. Эти данные согласуются с исследованиями Баргесяна, Мхитаряна, которые на примере кислой фосфатазы показали, что инбридинг приводит к падению ферментативной активности, а при гетерозисе она возрастает. С возрастом активность ферментов рибонуклеинового обмена у инбредных и гибридных животных уменьшалась. Такая же закономерность была установлена Л. И. Ставицкой (1956), Ровенским (1965). Однако у гибридов снижение активности шло более замедленно.

Таким образом, установлено, что у гибридных животных активность кислой и щелочной рибонуклеаз в тканях печени и мышц была большей, чем у инбредных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глембоцкий Я. Л. Генетические основы использования гетерозиса при промышленном скрещивании. В кн. «Генетика популяций и селекция». М., 1967, с. 483—538.
2. Кушнер Х. Ф. Скрещивание в животноводстве. Проблемы гетерозиса. М., 1958, 63 с.
3. Яковлев А. П., Овчинникова М. Ф. Некоторые биохимические особенности гетерозисных с/х культур. — «Сельхозбиология»; 1968, т. 3, № 5, с. 678—680.
4. Ростовцев Н. Ф. Биологическая оценка чистопородного и помесного скота по ферментным тестам. — Доклады ВАСХНИЛ, 1971, № 3, с. 20—30.
5. Шахбазов В. Г. Гетерозис и теплоустойчивость. Бюллетень Моск. об-ва испытат. природы, 1966, с. 119—126.
6. Таранов М. Т., Самохин В. Т., Владимиров В. Л. Состояние белкового обмена и нуклеиновых кислот у цыплят при гетерозисе. Гетерозис в животноводстве. Л., 1968, с. 184—194.
7. Барсегян Г. В., Мхитарян Э. К. Активность некоторых ферментов при гибридизации животных. — «Биол. ж. Армении» Ереван, 1971, с. 88—89.
8. Чудинова И. А., Кречетова Г. Д., Шапот В. В. Определение активности нуклеаз. В кн. «Современные методы в биохимии». М., 1964, с. 218—280.
9. Ставицкая Л. И. О возрастных изменениях рибонуклеазной активности тканей. — «Уч. зап. ХГУ. Труды ин-та биол. и каф. биохим.», 1956, т. 24, с. 59—63.
10. Ровенский Ю. А. Биохимическая роль нуклеаз в нормальном и опухолевом росте. — «Усп. соврем. биол.», 1965, 59, 3, с. 355—373.

ИЗМЕНЕНИЕ МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК ГИБРИДОВ И ИСХОДНЫХ ФОРМ ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ УФ-РАДИАЦИИ

Т. Т. Кебадзе, Л. Н. Михайличенко, Н. Г. Шестопалова

(Кафедра генетики и цитологии)

Несмотря на многочисленные работы по исследованию действия УФ-радиации на клеточном и организменном уровнях [1—3], влияние УФ на процессы деления клеток изучено еще недостаточно. Данных, полученных в этом плане в связи с явлением гетерозиса, мы не обнаружили.

Настоящая работа содержит результаты сравнительного изучения действия УФ на митотическую активность гибридов и исходных форм и является частью комплексного исследования резистентности клеток и организмов к повреждающим факторам [4].

Опыты проводились на первичных культурах эмбриональных клеток мышей линий C₅₇BL, AKR и межлинейных гибридов. Источником облучения суспензии клеток перед культивированием служила бактерицидная лампа, в спектре которой преобладали лучи с длиной волны 2537 Å. Во второй серии опытов изучали проростки кукурузы сорта Глория Янецкого, линий ВИР-44 и гибрида Буковинский-3. Воздействию полного спектра ртутно-кварцевой лампы (длина волны 3650 Å) подвергались точки роста корешков в течение 15, 60 и 90 минут. Действие УФ-лучей оценивали по изменению митотической активности через 17 и 48 часов после облучения. Интенсивность размножения клеток мышей представлена в таблице 1. Цифры показывают, что митотические индексы (МИ) линий в контроле существенно не отличаются и значительно — на 50—60% уступают индексу гибрида. Разница в пользу гибрида увеличивается после УФ-облучения. В опытной культуре МИ линий ниже, чем у гибрида, на 68—70%. Линии и гибриды по-разному реагируют на УФ-радиацию. Митотическая активность в облученной культуре AKR снижается по сравнению с контролем на 46, C₅₇BL на 56, а гибрида только на 18%.

Митотический индекс эмбриональных клеток мышей в культуре

Исследуемые формы	Варианты	Митотическая активность, % $M \pm m$	Разница между контролем и опытом	
			%	P , %
AKR	Контроль УФ, 10 мин	2,95 ± 0,133	— 46,7	99,9
		1,60 ± 0,122		
C ₅₇ BL	Контроль УФ	2,40 ± 0,190	— 57,0	99,9
		1,03 ± 0,080		
Гибрид, F ₁	Контроль УФ	6,01 ± 0,28	— 18,0	99,9
		4,93 ± 0,071		

Изменение митотической активности в меристеме корней кукурузы представлено на рисунке 1. Видно, что стимулирующее влияние УФ наблюдается только у сорта Глория Янецкого, что, по-видимому, обусловлено увеличением времени митоза. Ослабление деления после действия угнетающей дозы (60 минут) у сорта выражено меньше, чем у остальных растений, что свидетельствует о пониженной чувствительности. Такая реакция

связана с замедленными темпами деления, роста и, возможно, с большей продолжительностью митотического цикла, в течение которого активизируются системы репарации.

В эксперименте наблюдается нелинейная зависимость эф-

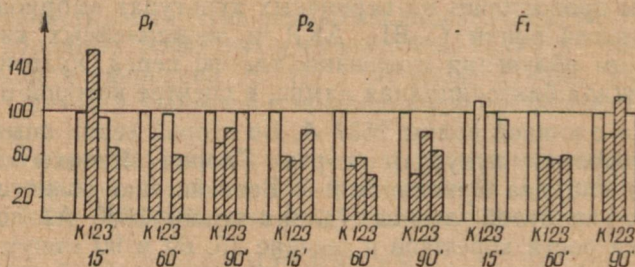


Рис. 1. Митотическая активность клеток меристемы корешков кукурузы после действия УФ-лучей; % к контролю.

1, 2, 3 — сроки фиксации: 1 — первая фиксация, длина корешков 3—4 мм; 2 — через 17 ч. после первой; 3 — через 48 ч.

15, 60, 90 — время облучения, мин.

К (контроль) — разница по сравнению с контролем достоверна, $P < 0,001$. P_1 — материнская форма, P_2 — отцовская форма, F_1 — гибрид.

фекта от дозы. Облучение в течение 90 мин снижает митотическую активность всех форм меньше, чем 60-минутное воздействие, и вызывает больший эффект у сорта и гибрида. Это связано с тем, что в опытах использовали проростки, где начинаются первые митозы. Такие ткани, как известно, являются очень радиочувствительными. Поэтому более существенное подавление митозов у отцовской формы и гибрида обусловлено активной пролиферацией клеток, которая выше, чем у сорта, в два и более раза. Антимитотический эффект УФ наиболее сильно проявляется у линии ВИР-44, МИ этих растений снижают все дозы от 17 до 50% в сравнении с контролем.

Причинами угнетения могли быть и повышенная радиочувствительность проростков и менее активные, чем у гибрида, процессы метаболизма и репарации. Популяции клеток гибридов (в культуре *in vitro* и в меристеме корешков) после УФ-облучения восстанавливают митотическую активность быстрее, чем родительские формы. Так, действие самой большой дозы (90 мин) вызывает снижение митотической активности всех растений, но в тканях гибрида уже через 17 часов она достигает контроля.

Известно, что УФ влияет на все физиологические процессы и приводит к потере или модификации функций ДНК, задержке синтеза белка и образования рибосом, повреждению ядрышка, снижению интенсивности деления клеток и появлению aberrаций хромосом [2, 5—10]. Степень изменений зависит от длины

волны, дозы и времени, прошедшего после облучения, так как наряду с повреждениями клеток происходят процессы репарации [11]. Результаты настоящей работы, а также данные, полученные ранее [12—14], свидетельствуют о том, что реакция на облучение зависит и от генотипа. На основании собственных [4, 12—14] и литературных данных [15—22] можно предположить, что повышенная резистентность гетерозисных гибридов, проявляющаяся в подъеме пострадикационных митозов после действия больших доз (таблица 1, рисунок 1, 90 мин) и отсутствия реакции при малых дозах (рисунок 1, 15 мин), обусловлена более интенсивными у гибридов процессами метаболизма, деления и репарации. Различия в реакции организмов с разным генотипом на действие внешних физических факторов, возможно, связаны также и с особым биофизическим состоянием клеток гомо- и гетерозигот [13].

ЛИТЕРАТУРА

1. Дубров А. П. Действие ультрафиолетовой радиации на растения. М., АН СССР, 1967, 123 с.
2. Самойлова К. А. Действие ультрафиолетовой радиации на клетку. Л. «Наука», 1967, 145 с.
3. Дубров А. П. Генетические и физиологические эффекты действия ультрафиолетовой радиации на высшие растения. М., «Наука», 1968, 240 с.
4. Шахбазов В. Г., Шестопалова Н. Г., Голик Т. А., Григорьева Н. Н., Кебадзе Т. Т., Копейка Е. Ф., Котенко Л. В., Лобынцева Г. С., Набоков А. Л., Таланова И. М. Биофизические проявления инбредной депрессии и гетерозиса. — Материалы 2 съезда. Вопис. Тезисы, М., «Наука», 1972, 255 с.
5. Конев С. В., Вологовский И. Д. Введение в молекулярную фотобиологию. М., «Наука», 1971, 229 с.
6. Wier Katherine A., Fukuyama K., Epstein W. Nuclear Changes during ultraviolet light induced depression of ribonucleic acid and protein synthesis in human epidermis. *Lad. in west.* 25, 5, p. 451—456.
7. Насонов Д. Н., Александров В. Я. Реакция живого вещества на внешние воздействия. М. — Л., 1940, 252 с.
8. Сахаров В. Н., Воронкова Л. Н., Ченцов Ю. С. Ультраструктура внутриядерных телец, образующихся при делении клеток, облученных ультрафиолетовым микроручом. — «Научн. докл. высш. шк.», 5, 1972, с. 56—59.
9. Кахнович Л. В., Тарасевич Я. И. Цитолого-биохимические изменения в проростках при воздействии на семена ультрафиолетовыми лучами. М., 1, 73, 1972, с. 77.
10. Parrington Jennifer M. Ultravioletinduced chromosome aberrations and mitotic delay in human fibroblast cells. — „Cytogenetis“, 11, 2, 1972, p. 117—131.
11. Сойфер В. Н., Яковлева Н. И. Кинетика выщепления димеров тимина из ДНК клеток человека, облученных ультрафиолетовым светом. — 4 межд. биофиз. конгр. М., 1972, 135 с.
12. Шестопалова Н. Г. Сравнительные цито-физиологические исследования гибридных организмов и их исходных форм в норме и после действия высокой температуры и радиации. ч. 1. 1971. 54 с.
13. Шахбазов В. Г. Физиологические и генетические исследования гетерозиса и инбредной депрессии. Автореф., докт. дисс. X, 1966, 40 стр.

14. Шестопалова Н. Г. Изучение влияния лучей лазера на клетки гетерозисных растений. — 4 междунар., биофиз. конгр. М., 1972, 126 с.
15. Robert G. de Damiel and Igor V. Sarkissian. Mitochondrial heterosis in maize. — „Genetics“, Vol. 59, 4, 1968, p. 465—475.
16. Epstein I. H., Fukuyama K., Fye Ken. Effect of ultraviolet radiation on the mitotic cycle and DNA, RNA and protein synthesis in mammalian epidermis in vivo. — „Photocem. and photobiol“, 12, 1, 1970, p. 57—65.
17. Багрянская Н. А. Суточные колебания митотической активности у гибридов кукурузы в условиях поля. — «Тр. Воронежского ун-та», 78, 1971, с. 7—12.
18. Конарев В. Г., Ахметов Р. Р., Гилязетдинов Ш. Я. Некоторые предпосылки к изучению молекулярно-генетической природы гетерозиса. — «Сельхоз. биол.», 6, 5, 1971, с. 653—662.
19. Яковлев А. П., Тукаева М. И., Раевкова Н. В. Окислительная и фосфорилирующая активность митохондрий кукурузы в связи с гетерозисом. М., 198, 4, 1971, с. 772—776.
20. Шерешевская Ц. М. Особенности синтеза рибосомальных и информационных РНК у инбредных и гетерозисных животных. М., 1972, с. 196—199.
21. Волева С. Н. Проблема радиочувствительности растений. — Сб. «Современ. пробл. рад. ген.» М., 1969, с. 280—301.
22. Турбин Н. В., Володин В. Г., Гордей И. А. К вопросу о причинах повышенной радиоустойчивости гетерозисных форм растений. — «Вопр. ген. и сел.», М., 1970, с. 81—90.

РЕАКЦИЯ ПОЛИГИБРИДНЫХ И РОДИТЕЛЬСКИХ ФОРМ РАСТЕНИЙ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ ПРИ ОБРАБОТКЕ ИХ СЕМЯН УВЧ

А. И. Булавин, Л. Н. Ситенко

(Кафедра генетики и цитологии)

В литературе мы не встречали работ по изучению воздействия УВЧ на полигибридные семена или растения сахарной свеклы. Кроме того, опубликовано мало работ, посвященных изучению воздействия УВЧ на растения [1—6]. Поэтому наши исследования следует считать разведочными, а полученные данные — предварительными.

В работе использовались семена полигибрида «Белоцерковский 1» (БЦТ 3n), полученные от скрещивания отобранных по продуктивности линий Белоцерковской односемянной тетраплоидной свеклы (БЦО 4n) и сорта многосемянной свеклы «Рамоньская 0,6» (РО 62n).

Источником облучения служил прибор УВЧ-66 с частотой электромагнитных колебаний 40,7 Мг, расстояние между электродами составляло 10 см, при выходной мощности генератора 40 вт. Облучение проводили в пяти вариантах:

- 1) гибридные и родительские семена не облученные;
- 2) гибридные и родительские семена, облученные в течение 10 мин.;

- 3) гибридные и родительские семена, облученные в течение 20 мин.;
- 4) гибридные и родительские семена, облученные в течение 40 мин.;
- 5) гибридные и родительские семена, облученные в течение 80 мин.

Во всех вариантах семена перед облучением замачивались в водопроводной воде в течение 24 час. Облученные семена высевались в 10-литровых вегетационных сосудах, набитых дерновой почвой в смеси с перегноем. Уже в период появления всходов мы наблюдали различия между вариантами опыта и между гибридными и родительскими формами (табл. 1).

Таблица 1

Динамика начального роста растений сахарной свеклы
при воздействии УВЧ

Варианты опыта	Всходы			Вес одного проростка, г
	15/XII	18/XII	%	
Р06 2п не облученные	9	18	90	3,6±0,5
БЦТ 3п	15	19	95	4,7±0,6
БЦО 4п	10	17	85	4,1±0,4
Р60 2п облученные 10 ¹	15	20	100	4,4±0,5
БЦТ 3п	10 ¹	20	100	5,8±0,3
БЦО 4п	10 ¹	19	95	4,6±0,7
Р06 2п	20 ¹	20	100	5,7±0,9
БЦТ 3п	20 ¹	20	100	7,1±0,8
БЦО 4п	20 ¹	17	85	4,9±0,5
Р06 2п	40 ¹	19	95	4,9±0,4
БЦТ 3п	40 ¹	20	100	6,2±0,7
БЦО 4п	40 ¹	17	85	5,3±0,6
Р06 2п	80 ¹	17	85	2,7±0,3
БЦТ 3п	80 ¹	19	95	3,1±0,5
БЦО 4п	80 ¹	15	75	2,2±0,6

Как видим, гибридные семена имели большую энергию прорастания, всхожесть и вес проростков. Облученные в течение 10, 20 и 40 мин семена имели преимущества в сравнении с необлученными, экспозиция в 80 мин привела к снижению всхожести и веса проростков.

Изучение динамики нарастания листовой поверхности показало, что гибридные растения занимают промежуточное положение между родительскими формами, однако, растения, выращенные из семян, облученных в течение 10, 20 и 40 мин, имели большую листовую поверхность, чем из необлученных семян. 10 мая 1972 г. был проведен анализ урожая (табл. 2).

Данные показывают, что гибридные растения во всех вариантах опыта имели значительные преимущества по продуктивности в сравнении с родительскими. Кроме того, облучение се-

**Продуктивность растений сахарной свеклы
при воздействии УВЧ**

Варианты опыта	Вес кор- неплода, г	Вес листьев, г	Сахарис- тость, %	Сбор сахара с 1 растения	
				г	% к контр.
Р06 2п не облученные, контроль	48,4	53,7	12,3	5,93	100,0
БЦТ 3п не облученные	52,4	60,1	11,8	6,18	103,8
БЦО 4п	46,3	79,3	12,1	5,69	97,6
Р06 2п облученные 10 ¹	68,5	80,7	11,8	8,08	135,7
БЦТ 3п	71,2	85,4	12,2	8,68	145,8
БЦО 4п	60,2	110,1	12,5	7,52	126,3
Р06 2п	67,1	78,4	12,1	8,11	136,3
БЦТ 3п	79,5	105,9	11,8	9,38	157,7
БЦО 4п	58,4	110,7	11,5	6,71	112,7
Р06 2п	55,5	66,8	11,3	6,27	105,3
БЦТ 3п	62,2	95,8	11,7	7,27	122,1
БЦО 4п	40,9	96,4	12,0	4,90	82,3
Р06 2п	27,8	50,7	10,5	2,91	49,9
БЦТ 3п	39,2	8,9	10,9	4,17	70,0
БЦО 4п	20,5	70,5	9,8	2,00	33,3

мян (10—40 мин) повысило вес корнеплодов и выход сахара на 5—49%. Более продолжительное облучение (80 мин) привело к снижению урожайности.

Итак, предварительные данные, свидетельствующие об эффективности электромагнитных колебаний ультравысокой частоты при обработке семян сахарной свеклы, указывают на необходимость дальнейших исследований с целью выяснения механизма действия УВЧ и практической разработки оптимальных доз и экспозиций для повышения продуктивности сахарной свеклы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Москаленко Ю. Е. Применение сверхвысоких частот для биологических исследований. — «Биофизика», 1958, т. 3, № 5, с. 619—625.
2. Максимов Г. А., Крюкова Л. М. Исследование механизма тепло- и массообмена в семенах растений при нагреве их в электрическом поле высоких частот. — «Биофизика», 1956, т. 1, № 3, с. 201—205.
3. Пресман А. С. Электромагнитные поля и живая природа. М., «Наука», 1968, с. 3—17.
4. Рубин Е. Л. Токи ультравысокой частоты в биологии. М., «Природа», 1953, № 10, с. 78—80.
5. Травкин Т. П. Влияние электромагнитного поля УВЧ на ростовые процессы растений. — «Уч. зап. Курского пед. ин-та», 1967, № 34, с. 31—36.
6. Шахбазов В. Г., Алешечкин В. Н., Котенко Л. В., Мериакри В. В. Влияние микроволн на прорастание чистотеллиевых и гетерозисных семян кукурузы. ВИНТИ, 1970, с. 2—14.