

К-14038
259 213

МИНИСТЕРСТВО
ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ УССР

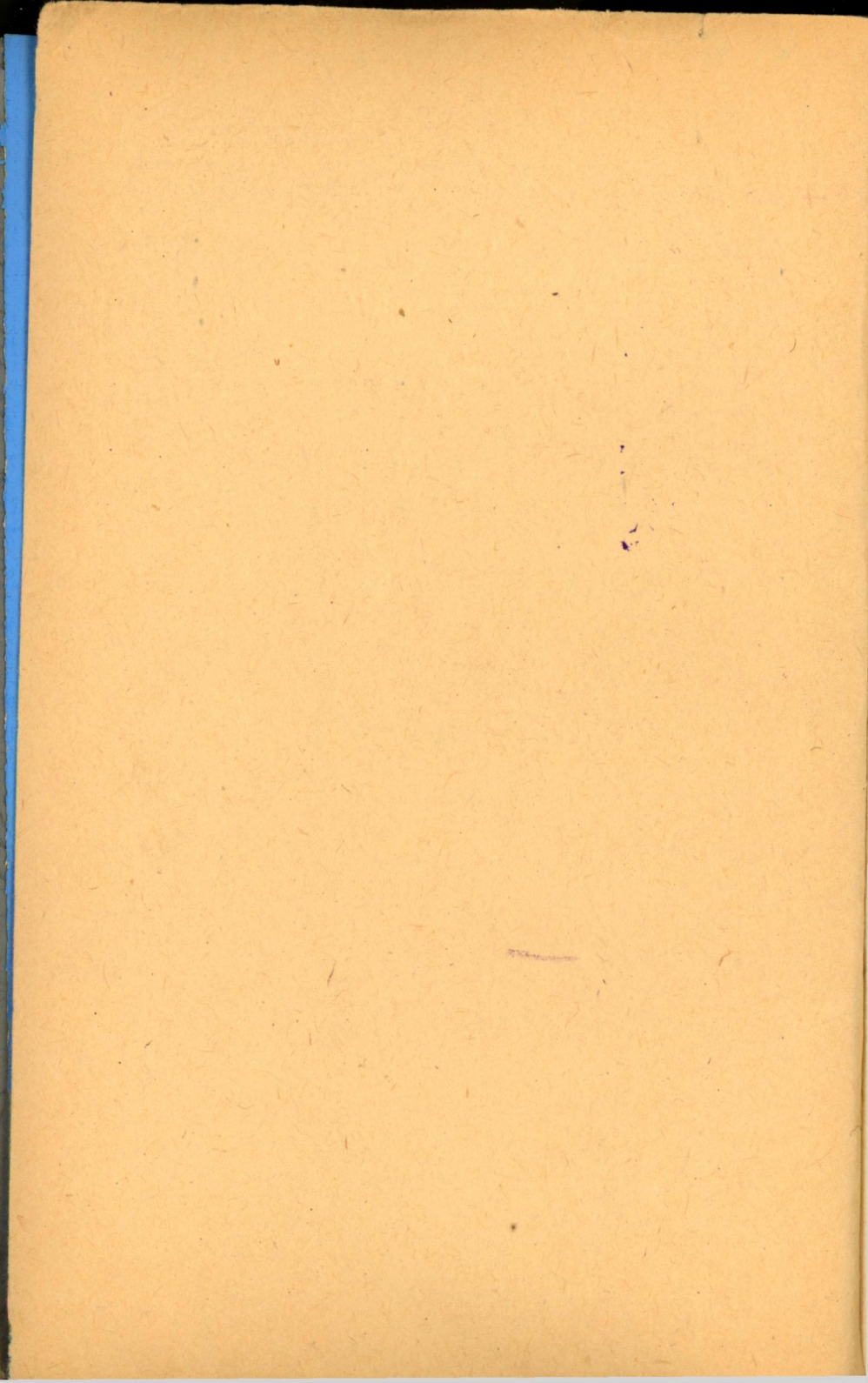
**ВЕСТНИК
ХАРЬКОВСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА**

№ 39

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ВЫПУСК 2

ИЗДАТЕЛЬСТВО ХАРЬКОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА



МИНИСТЕРСТВО
ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ УССР

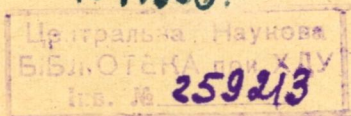
ВЕСТНИК ХАРЬКОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

№ 39

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ВЫПУСК 2

к-44038.



ИЗДАТЕЛЬСТВО
ХАРЬКОВСКОГО ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА имени А. М. ГОРЬКОГО
Харьков

1970

В настоящем выпуске продолжается публикация исследований по тематике, разрабатываемой кафедрами биологического факультета и отделами научно-исследовательского института биологии Харьковского государственного университета. Публикуемые статьи отражают проблемы физиологии и биохимии возрастного развития животных и растений, проблему биохимии и биофизики гетерозиса, некоторые результаты исследований по проблеме изучения фауны юга Европейской части СССР.

Сборник может представить интерес для биологов различного профиля, работающих в области физиологии, биохимии, биофизики, генетики, цитологии, паразитологии, гидробиологии, орнитологии, а также для врачей, зоотехников, специалистов по защите растений, агрономов и студентов биологических факультетов.

Редакционная коллегия:

Академик АН УССР, 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).

200
818033

1. ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ЖИВОТНЫХ

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА И СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА В ПИЩЕ НА АРГИНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК БЕЛЫХ КРЫС

*Н. И. Буланкина, Е. В. Парина, С. А. Аверина,
Н. П. Бондаренко, Л. Г. Пуриче*

Кафедра биохимии

Известно, что увеличение количества белка в пище адаптивно повышает активность многих ферментов азотистого обмена [1, 2]. Предполагается, что в основе этого явления лежит чаще всего увеличение их содержания в ткани, достигающееся как активацией синтеза определенных каталитических белков, так и замедлением их распада [3, 4].

Изучение ферментных адаптаций в онтогенезе представляет большой интерес для возрастной биохимии и, в частности, для выяснения причин возрастных изменений тканевой активности ферментов. Исследование ее в разные периоды индивидуального развития организма в нормальных условиях его существования позволяет большей частью лишь констатировать эти изменения. Применение же стрессовых воздействий выявляет потенциальную способность организма к осуществлению того или иного ферментативного процесса и позволяет выяснить, какие факторы определяют разный уровень активности ферментов в тканях в зависимости от возраста.

К числу таких воздействий относится содержание животных на рационах, не сбалансированных по составу основных компонентов, например, на безбелковой и высокобелковой диетах. Используя последнюю как способ воздействия на состояние некоторых ферментов азотистого обмена, мы получили некоторые сведения о роли регуляторных факторов в возрастных изменениях активности данных ферментов [5, 6, 7].

Явление ферментативной адаптации детально изучено у ферментов цикла Кребса—Гензеляйта, и в частности у аргиназы.

Ввиду этого авторы настоящей работы исследовали влияние избыточного содержания белка и отсутствия его в пище на тканевую активность аргиназы печени белых крыс разного возраста.

Известно, что основным местом синтеза мочевины в организме является печень. Другие органы также содержат ферменты цикла Кребса—Гензеляйта, в том числе и аргиназу, но мочевинообразование в них если и происходит, то имеет, очевидно, лишь местное значение (возможно, основная роль этих ферментов в данном случае — участие в синтезе и распаде аргинина). В связи с этим важно было выяснить, как меняется аргиназная активность в печени и в органах с иными функциями под влиянием

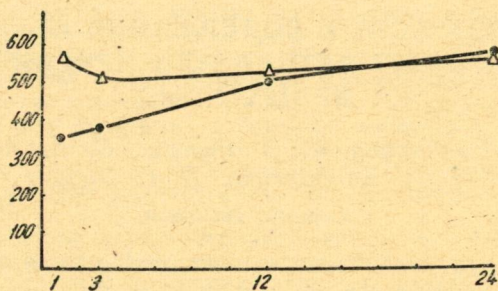


Рис. 1. Аргиназная активность печени белых крыс в зависимости от возраста и содержания белка в пище (● — 15% белка, △ — 70% белка; по вертикали — мг мочевины /г ткани, по горизонтали — месяцы).

возраста и различного содержания белка в рационе. Параллельно с исследованием аргиназы печени изучали в тех же условиях ее активность в почках.

Объектом исследования служили белые крысы 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста, содержащиеся в течение пяти (в одной серии опытов десяти) суток на рационах с разным содержанием белка (безбелковая диета, 15% и 70% казеина). Активность аргиназы в гомогенатах печени и почек определяли несколько модифицированным методом Брауна и Коэна [8]. Об активности фермента судили по возрастанию количества мочевины в пробах после тридцатиминутной инкубации при 37°C в присутствии аргинина. Содержание мочевины определяли колориметрически по реакции с диацетилмоноксидом, как описано у цитированных выше авторов. Статистическую обработку результатов проводили по методу Стьюдента—Фишера.

Полученные данные (рис. 1) свидетельствуют о статистически значимом увеличении аргиназной активности в печени с возрастом у крыс, получавших нормальное количество белка.

Высокобелковая диета вызывает повышение аргиназной активности, статистически значимое лишь у молодых крыс, что связано с более низким исходным уровнем активности фермента у этих животных. Возрастные различия, четко выраженные

в норме, практически исчезают при содержании крыс на богатом белком рационе, поскольку аргиназная активность печени молодых животных повышается до уровня, характерного для печени старых крыс, а на поздних этапах онтогенезе адаптивный эффект отсутствует.

Отсутствие адаптивных изменений аргиназы в печени 12- и 24-месячных животных может быть связано с тем, что в этом возрасте достигается максимально возможная концентрация белка-фермента в ткани и дальнейшее увеличение его количества не происходит. Однако не исключено, что у этих животных адаптивный эффект наступает, но позже, чем у молодых крыс. Для того чтобы внести ясность в этот вопрос, было проведено сравнение аргиназной активности печени 12-месячных животных, содержащихся на высокобелковой диете в течение 5 и 10 суток. Хотя уровень тканевой активности исследуемого фермента при более длительном содержании крыс на этой диете несколько возрастал, но статистическая обработка полученных данных не обнаружила значимых различий между этими двумя группами животных, что скорее подтверждает первое из наших предположений.

Основываясь на полученных результатах, можно предположить, что в генетической программе организма определен известный уровень тканевой активности данного фермента, одинаковый во все периоды онтогенеза. Более низкая активность аргиназы печени молодых животных определяется, очевидно, действием регулирующих факторов на системы, связанные с синтезом и распадом этого белка. Высокобелковая диета создает условия для снятия действия таких факторов у молодых животных, и тогда выявляется потенциальная способность ткани к поддержанию активности этого фермента на высоком уровне, одинаковая у животных всех возрастных групп.

Безбелковая диета на первый взгляд не влияет на аргиназную активность печени. Статистически значимых различий мы не обнаружили ни в одной возрастной группе. Однако некоторая тенденция к понижению активности фермента в условиях белкового голодания все же имеется и выражена наиболее четко у 3-месячных крыс (на 19%). Это явление немаловажное, поскольку позволяет животному использовать ферментную систему синтеза мочевины для образования аргинина в условиях белковой недостаточности. В связи с этим понятен факт неизменности концентрации аргинина в печени и повышение ее в некоторых других органах животных, получавших безбелковую диету [9].

Активность аргиназы в почках оказалась значительно более низкой, чем в печени. У животных, получавших 15% белка, наблюдалось повышение аргиназной активности к трем месяцам и последующее ее снижение к двум годам (рис. 2).

Пребывание животных на высокобелковой диете не вызывало существенных изменений активности аргиназы в почках. Возрастные изменения, обнаруженные у нормальных крыс, были выражены на фоне высокобелковой диеты также очень четко.

Таким образом, сравнивая влияние избыточного потребления белка на аргиназную активность печени и почек, можно убедиться в том, что адаптивный эффект проявляется лишь в печени, играющей ведущую роль в образовании мочевины.

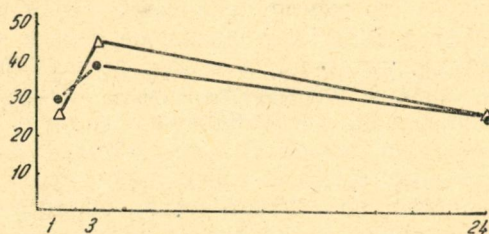


Рис. 2. Аргиназная активность почек белых крыс в зависимости от возраста и содержания белка в пище (● — 15% белка, △ — 70% белка; по вертикали — мг мочевины / 2 ткани, по горизонтали — месяцы).

Итак, в результате исследования влияния различного количества белка в пище на активность аргиназы печени и почек белых крыс установили следующее:

1. У крыс, получавших нормальное количество белка аргиназная активность печени с возрастом повышается. В почках она достигает максимума к трем месяцам и затем падает.

2. Содержание животных на высокобелковой диете вызывает адаптивное повышение активности аргиназы печени молодых крыс и не влияет на активность фермента в почках, что согласуется с представлением о ведущей роли печени в образовании мочевины.

3. При содержании животных на безбелковой диете обнаружена тенденция к понижению аргиназной активности печени, наиболее четко выраженная у трехмесячных крыс.

4. Анализ картины возрастных изменений тканевой активности аргиназы в печени на фоне нормального и избыточного потребления белка с пищей свидетельствует о том, что относительно низкий исходный уровень активности фермента, обнаруженный в норме у молодых животных, является результатом действия регуляторных факторов на системы, связанные с синтезом или распадом аргиназы.

ЛИТЕРАТУРА

1. A. Harper, N. Canad. Biochem. J., 43, 1589, 1965.
2. М. Р. Крицман, А. С. Коникова. Индукция ферментов в норме и патологии, «Медицина», М., 1968.

3. R. T. Schimke. J. Biol. Chem. 237, 495, 1962.
4. R. T. Schimke, J. Biol. Chem. 239, 3808, 1964.
5. Н. И. Буланкина. Влияние возраста и содержания белка в пище на активность катепсинов печени. Материалы VIII научн. конф. по возрастной морфологии, физиологии и биохимии, ч. II, «Просвещение», М., 65, 1967.
6. Е. В. Парина, Н. И. Буланкина, Г. И. Деревянко. Адаптивные изменения активности некоторых ферментов у животных разного возраста. 5-ое научное совещание по эволюционной физиологии, посвященное памяти акад. Орбели. Тезисы докладов и рефератов. «Наука», Л., 1968.
7. Е. В. Парина, Н. И. Буланкина, Г. И. Деревянко. Влияние возраста на активность ферментов при адаптации организма к изменению состава пищи. Вестник АМН СССР, № 2, 66, 1969.
8. G. W. Brown, P. P. Cohen, J. Biol. Chem. 234, 1769, 1959.
9. В. П. Мищенко. Концентрация свободных аминокислот в органах животных в зависимости от возраста и состояния белкового обмена. Диссертация, Харьков, 1968.

АКТИВНОСТЬ ПРОЛИЛ- И ГЛУТАМИЛ-РНК-СИНТЕТАЗ В ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Г. И. Деревянко
Кафедра биохимии ХГУ

Изучение причин возрастных изменений белкового синтеза требует детального исследования отдельных звеньев данного процесса.

Ранее нами было предпринято определение суммарной аминоксил-РНК-синтетазной активности рН 5-препарата печени белых крыс и показано, что последняя достигает максимального уровня у трехмесячных крыс, несколько снижаясь у старых животных [1]. Однако суммарный эффект активации аминокислот в процессе онтогенеза маскирует неоднозначные по своей направленности возрастные изменения активности индивидуальных синтетаз [2]. Так, оказалось, что уровень активности одних аминокислотактивирующих ферментов печени крыс возрастает (фенилаланил-РНК-синтетазы) или понижается (метионил-РНК-синтетазы) в возрасте трех месяцев по сравнению с месячными животными. Другие из изученных нами ферментов не меняют своей активности в процессе индивидуального развития (триптофанил-РНК-синтетаза и серил-РНК-синтетаза) или имеют лишь тенденцию к ее уменьшению по мере старения организма (тирозил-РНК-синтетаза).

Настоящая работа дополняет полученные ранее сведения об активации отдельных аминокислот и дает представление о специфике возрастных изменений активности пролил- и глутамил-РНК-синтетаз и о некоторых кинетических параметрах катализируемых ими реакций.

Объектом исследования была печень белых крыс в возрасте 1, 3, 24 месяцев; рН 5-фракцию выделяли методом Хогланда

в модификации Гвоздева [3, 4] в трис-НСI буфере (рН 7, 9). Количество белка в полученном препарате определяли методом Лоури [5].

Аминоацил-РНК-синтетазную активность выражали количеством аминоацилгидроксаматов, образовавшихся после инкубации при 37° в течение часа, в микромолях на миллиграмм белка рН 5-препарата, или в микромолях на грамм ткани печени. Стандартом для построения калибровочного графика служила эквимольная смесь аланил-, лейцил-, оксалаатгидроксамовых кислот, полученных из хлоргидратов этиловых эфиров аминокислот [6, 7]. Состав инкубируемых проб был следующим: рН 5-препарат (3 мг белка); АТФ, нейтрализованная 1 N КОН до рН 7,2 (20 мкмоль); $MgSO_4$ (20 мкмоль); бессолевой гидроксилламин (1000 — 1500 мкмоль); соответствующая аминокислота (4 мкмоль *dl*-формы). Конечный объем инкубируемой смеси — 1 мл, рН 7,4. Бессолевой гидроксилламин получали по методу Бейнерта [8], концентрацию его определяли по Кольтгофу [9].

Экспериментальные данные, представленные в таблице 1, отражают возрастные особенности исследованных аминоацил-РНК-синтетаз. Характер изменения их активности в расчете на единицу белка полученного препарата выражается определенной направленностью: наблюдаемое повышение активности у трехмесячных крыс присуще как пролил-, так и глутамил-РНК-синтетазе; к старости активация пролина имеет лишь тенденцию к понижению, в то время как активация глутаминовой кислоты достоверно уменьшается, приближаясь к уровню, соответствующему месячным животным.

Таблица 1

Проліл- и глутамил-РНК-синтетазная активность рН 5-препарата печени крыс разного возраста ¹

Возраст, месяц	Проліл-РНК-синтетазная активность		Глутамил-РНК-синтетазная активность	
	мкмоль/мг белка	мкмоль/г ткани	мкмоль/мг белка	мкмоль/г ткани
1	0,379 ± 0,024	1,540 ± 0,079	0,629 ± 0,049	2,891 ± 0,237
3	0,488 ± 0,031	1,495 ± 0,064	0,809 ± 0,052	2,868 ± 0,161
24	0,421 ± 0,022	1,446 ± 0,059	0,647 ± 0,048	2,207 ± 0,155
Р	Р ₁₋₃ = 0,01		Р ₁₋₃ = 0,02 Р ₃₋₂₄ < 0,05	Р ₃₋₂₄ < 0,02

¹ В таблице приведены средние данные 10 опытов.

Обнаруженная нами зависимость активности пролил-РНК-синтетазы от возраста отличается от указанной Баблитцем [10]. Исследуя очищенный препарат пролил-РНК-синтетазы, выделенный с помощью солевого фракционирования рН 5-препарата, Баблиц установил, что активность его значительно выше у крыс весом 40 г, чем у взрослых животных (вес — 230 г). Пока нет достаточных данных, чтобы объяснить несоответствие наших результатов и Баблинца, тем более, что выводы упомянутого выше автора основаны на одном опыте, проведенном с препаратами, полученными у молодых и взрослых животных в нормальных условиях содержания.

При расчете активности исследуемых ферментов на 1 г сырого веса печени характер возрастной зависимости меняется. В обоих случаях она оказывается максимальной у молодых животных. При этом пролил-РНК-синтетаза обнаруживает лишь незначительное понижение активности у старых крыс по сравнению с месячными, тогда как глутамил-РНК-синтетаза статистически значимое снижение активности у двухгодовалых крыс. Эти данные свидетельствуют о том, что с возрастом меняется количественное содержание фермента в ткани и концентрация его выше у месячных крыс по сравнению со старыми. Вследствие этого более низкая активность препарата месячных крыс компенсируется увеличением содержания каталитического белка в печени.

Таблица 2

Влияние концентрации субстрата на пролил- и глутамил-РНК-синтетазную активность рН 5-препарата печени крыс разного возраста

Возраст месяц	Прол-РНК-синтетаза $K_m 10^{-3} \text{М}$	Глутамил-РНК-синтетаза $K_m 10^{-3} \text{М}$
1	$2,13 \pm 0,20$	$2,40 \pm 0,19$
3	$1,39 \pm 0,10$	$2,27 \pm 0,16$
24	$1,08 \pm 0,06$	$1,81 \pm 0,11$
Р	$P_{1-3} < 0,01; P_{3-24} < 0,02$	$P_{3-24} < 0,05$

При расчете K_m строили графики зависимости обратных величин скорости реакции $\left(\frac{1}{v}\right)$ от концентрации субстрата $\left(\frac{1}{s}\right)$ по методу Лайнуивера—Берка (11). Обнаруженные данные, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что величины K_m меняются с возрастом, достоверно уменьшаясь к старости, что указывает на увеличение сродства описанных ферментов к субстрату в поздние периоды онтогенеза.

На основании изложенных результатов можно сделать следующие выводы: рН 5-фракция печени трехмесячных крыс обладает более высокой способностью активировать пролин и глутаминовую кислоту по сравнению с месячными животными; однако к старости глутамил-РНК-синтетазная активность понижается до уровня, свойственного крысам в возрасте одного месяца, а пролил-РНК-синтетазная активность остается без изменений. При расчете активности исследуемых ферментов на грамм ткани печени она является более высокой у молодых животных, чем у старых. Определение K_m для пролил- и глутамил-РНК-синтез обнаруживает уменьшение их величин по мере старения организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. В. Парина, Г. И. Деревянко. В сб. «Молекулярная биология старения», 66, «Наукова думка», Киев, 1969.
2. Г. И. Деревянко. В сб. «Молекулярная биология старения», 69, «Наукова думка», Киев, 1969.
3. M. B. Hoagland, E. B. Keller, P. C. Zamecnik. J. Biol. Chem., 218, 345, 1956.
4. В. А. Гвоздев. Биохимия, 25, в. 5, 920, 1960.
5. O. H. Zowry, N. I. Rosenbrough et al. J. Biol. Chem., 193, 256, 1951.
6. E. Fischer. Berichte, 34, 444, 1901.
7. I. B. Wilson, S. Ginsberg, E. K. Meislich. I. Amer. Chem. Soc., 77, 4286, 1955.
8. H. Beinert, D. E. Green, P. Hele et al. J. Biol. Chem., 203, 35, 1953.
9. И. М. Кольтгоф, Р. Белчер, В. А. Стенгер, Дж. Матсуяма. В кн. «Объемный анализ», 3, 107, 1961.
10. C. Bublitz. Biochim. biophys. Acta, 128, 1, 165, 1967.
11. М. Диксон, Э. Уэбб. «Ферменты», 66, 1966.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ НА ЖИРНЫХ КИСЛОТАХ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС

М. С. Гончаренко, Л. И. Малышко, А. А. Пашкова

Кафедра физиологии человека и животных

Процесс окисления жирных кислот, протекающий в митохондриях, является одним из основных источников энергии в форме АТФ в клетках животного организма [1, 2]. Но воспроизвести этот процесс на изолированных митохондриях долгое время не удавалось. Добавленные к инкубационной среде свободные жирные кислоты не только не стимулировали окисления, но даже замедляли эндогенное дыхание и действовали как разобщители окислительного фосфорилирования. После появ-

ления ряда работ [2, 6, 10] стало очевидным, что окисление жирных кислот митохондриями наблюдается при условии комплексования последних с сывороточным альбумином, что соответствует их состоянию в организме *in vivo*. Причем жирные кислоты используются митохондриями лишь в определенных концентрациях жирных кислот и в определенном молярном отношении их с альбумином [4, 6]. Более того, есть данные, что интенсивность окисления зависит также от способа приготовления комплекса альбуминов + жирная кислота [7].

В настоящей работе предпринята попытка определить интенсивность окисления жирных кислот митохондриями печени животных различного возраста. Аналогичные исследования проводились на гомогенатах [8] и срезах печени [9]. Создается впечатление, что интенсивность окисления жирных кислот в печени остается неизменной от 1 месяца до 24 месяцев и только в первые две недели жизни она выше. П. Хан объясняет это молочным питанием в указанный период жизни. Исследований, подобных нашему, проводимых на изолированных митохондриях, нет, за исключением работы Вейнбаха и Гарбуса (Weinbach, Garbus), которые получили снижение интенсивности окисления β -оксибутирата митохондриями печени у взрослых крыс, чем у молодых [11].

Объектом исследования были митохондрии печени крыс линии Вистар от новорожденных до 24-месячного возраста. Митохондрии печени выделяли на холоду методом дифференциального центрифугирования в растворе 0,3 М сахарозы + 0,001 М EDTA в соотношении 1 : 10 или 1 : 8.

Инкубацию проводили в аппарате Варбурга при 37°C в течение 30 минут. Газовая среда — воздух. Все растворы готовились в бидистилляте и доводились до pH 7,4. Инкубационная смесь объемом в 3 мл содержала следующие компоненты: К-фосфатный буфер M/30 pH 7,4. KCl — 76 μ M, MgCl₂ — 12 μ M, малат — 1 μ M, глюкоза — 0,5 мг, АТФ — 6 μ M и 0,5 мл митохондриальной суспензии, что соответствовало 3—5 мг белка. Жирные кислоты добавлялись в следующих количествах: каприловая — 2 μ M, пальмитиновая и олеиновая — 1,2 μ M в комплексе с 1%-ным раствором сывороточного альбумина. Карнитин, экспериментально полученный в Институте витаминов, добавлялся по 1 μ M на сосудик. Об окислении жирных кислот судили по количеству потребленного кислорода и количеству образовавшихся ацетоновых тел, определяемых по методу Тина и Робертсона [19], интенсивность фосфорилирования определялась по убыли неорганического фосфата в контрольной и опытной пробах на СФ-4А [18], белок определяли в щелочном растворе также на СФ-4А при длине волны — 280 м μ . Все данные рассчитаны на 10 мг белка за 30 мин инкубации.

Таблица 1

Интенсивность окисления каприлата в митохондриях печени крыс разного возраста (ΔO — μM кислорода, ΔP — μA фосфата, A_{Σ} т. — μM ацетоацетата)

Возраст	Яблочная				Каприлат				Каприлат+карнитин			
	ΔO	ΔP	P/O	A Σ т.	ΔO	ΔP	P/O	A Σ т.	ΔO	ΔP	P/O	A Σ т.
Новорожденные	6,5	29,2	4,5	0,92	37,5	44,4	1,2	3,4	35,7	40,9	1,15	4,4
2-недельные	7,7	19,9	2,6	0,43	36,9	39,5	1,1	3,4	32,7	50,5	1,5	4,5
1-месячные	5,8	14,9	2,6	0,64	47,6	52,5	1,1	3,5	43,5	43,4	1,0	3,66
3-месячные	5,5	21,7	3,9	0,54	36,6	54,8	1,5	3,1	45,4	50,0	1,1	3,9
12-месячные	7,5	21,7	2,9	0,55	32,9	40,9	1,2	3,1	34,5	46,6	1,3	3,58
24-месячные	7,3	18,0	2,5	0,52	40,1	43,3	1,1	3,5	37,5	48,8	1,3	4,42

Данные по окислению каприловой кислоты представлены в табл. 1. Окисление каприлата велось на фоне яблочной кислоты, поэтому ставился контроль на интенсивность окисления малата. Окисление яблочной кислоты одинаково низкое во всех возрастах. Фосфорилирование самое интенсивное у новорожденных. У новорожденных и наиболее высокая продукция ацетоновых тел, что может быть связано с высоким уровнем эндогенных жирных кислот в них. Окисление добавленной каприловой кислоты идет с одинаковой интенсивностью во всех возрастах. Коэффициент P/O тоже остается постоянным. Интересно отметить, что нам удалось получить гораздо более высокие показатели окисления каприлата в митохондриях, чем другими исследователями [2, 3, 10]. Это свидетельствует о создании наиболее адекватных условий изучаемого процесса.

Добавление в среду карнитина по данным ряда авторов [2, 3, 10, 12, 13] стимулирует окисление жирных кислот в печени в 1,5 раза. В наших опытах это добавление не повышало существенно потребления кислорода ни в одном возрасте, но у новорожденных и 2-недельных крыс на 30% увеличилась продукция ацетоновых тел. На коэффициент P/O карнитин не повлиял. Низкий активирующий эффект карнитина в митохондриях печени отмечает П. Хан (P. Hahn) [14].

Окисление пальмитата и олеата изучалось в присутствии альбумина, поэтому контролем служило окисление комплекса яблочная кислота + альбумин. Из данных табл. 2 видно, что при добавлении к яблочной кислоте альбумина интенсивность потребления O_2 и фосфорилирования увеличивается во всех возрастах одинаково. Образование кетоновых тел практически не меняется. Наличие в инкубационной среде пальмитата или олеата (табл. 2, 3) приводит к достоверному увеличению потребления

O_2 в митохондриях печени только 1-, 3- и 12-месячных животных.

Таблица 2

Интенсивность окисления пальмитата в митохондриях печени крыс разного возраста

Возраст	Яблочная+альбумин				Пальмитат				Пальмитат+карнитин			
	ΔO	ΔP	P/O	A Σ т.	ΔO	ΔP	P/O	A Σ т.	ΔO	ΔP	P/O	A Σ т.
Новорожденные	17,0	38,6	2,2	0,85	20,2	42,3	2,1	0,83	23,4	39,6	1,6	1,04
2-недельные	26,4	41,5	1,6	0,43	32,9	55,3	1,7	0,54	36,7	46,6	1,3	0,69
1-месячные	21,1	35,5	1,7	0,71	35,8	40,1	1,1	0,78	36,1	40,2	1,1	0,81
3-месячные	25,2	41,2	1,6	0,68	43,1	53,4	1,24	0,76	48,8	63,6	1,3	0,95
12-месячные	22,8	39,3	1,7	0,52	37,5	53,2	1,4	0,63	34,3	50,8	1,5	0,69
24-месячные	24,1	35,9	1,5	0,63	29,1	37,7	1,3	0,73	29,1	40,7	1,4	0,82

Таблица 3

Интенсивность окисления олеата в митохондриях печени крыс разного возраста

Возраст	Яблочная+альбумин				Олеат				Олеат+карнитин			
	ΔO	ΔP	P/O	A Σ т.	ΔO	ΔP	P/O	A Σ т.	ΔO	ΔP	P/O	A Σ т.
Новорожденные	17,0	38,6	2,2	0,85	22,5	34,9	1,55	0,9	23,1	35,7	1,5	0,98
2-недельные	26,4	41,5	1,6	0,43	30,8	42,9	1,4	0,5	31,5	37,9	1,2	0,67
1-месячные	21,1	35,5	1,7	0,71	32,1	35,7	1,1	0,78	26,7	45,5	1,7	0,81
3-месячные	25,2	41,8	1,6	0,68	32,0	42,8	1,3	0,32	37,3	46,8	1,25	0,81
12-месячные	22,8	39,3	1,7	0,52	39,3	47,0	1,2	0,6	38,8	53,3	1,37	0,65
24-месячные	24,1	35,9	1,5	0,63	29,1	40,0	1,37	0,76	26,3	40,35	1,5	0,84

Продукция ацетоновых тел повышается незначительно во всех возрастах. Коэффициент P/O остается без изменения. Карнитин на окисление пальмитата и олеата влияния не оказывал.

Подобное сопряжение процессов окисления и фосфорилирования отмечают при наличии олеата Драгота и Хонова (Drahota, Hopova) [16]. Исследования окисления жирных кислот полярографическим методом дают более низкие показатели [10, 17].

Таким образом, в данной работе исследовалась способность митохондрий печени новорожденных, 2-недельных, 1-, 3-, 12-, 24-месячных крыс к окислительному фосфорилированию на жирных кислотах и действие на этот процесс карнитина.

Таблица 1

Интенсивность окисления каприлата в митохондриях печени крыс разного возраста (ΔO — μM кислорода, ΔP — μA фосфата, $A_{c.t.}$ — μM ацетоацетата

Возраст	Яблочная				Каприлат				Каприлат+карнитин			
	ΔO	ΔP	P/O	A _{c.t.}	ΔO	ΔP	P/O	A _{c.t.}	ΔO	ΔP	P/O	A _{c.t.}
Новорожденные	6,5	29,2	4,5	0,92	37,5	44,4	1,2	3,4	35,7	40,9	1,15	4,4
2-недельные	7,7	19,9	2,6	0,43	36,9	39,5	1,1	3,4	32,7	50,5	1,5	4,5
1-месячные	5,8	14,9	2,6	0,64	47,6	52,5	1,1	3,5	43,5	43,4	1,0	3,66
3-месячные	5,5	21,7	3,9	0,54	36,6	54,8	1,5	3,1	45,4	50,0	1,1	3,9
12-месячные	7,5	21,7	2,9	0,55	32,9	40,9	1,2	3,1	34,5	46,6	1,3	3,58
24-месячные	7,3	18,0	2,5	0,52	40,1	43,3	1,1	3,5	37,5	48,8	1,3	4,42

Данные по окислению каприловой кислоты представлены в табл. 1. Окисление каприлата велось на фоне яблочной кислоты, поэтому ставился контроль на интенсивность окисления малата. Окисление яблочной кислоты одинаково низкое во всех возрастах. Фосфорилирование самое интенсивное у новорожденных. У новорожденных и наиболее высокая продукция ацетоновых тел, что может быть связано с высоким уровнем эндогенных жирных кислот в них. Окисление добавленной каприловой кислоты идет с одинаковой интенсивностью во всех возрастах. Коэффициент P/O тоже остается постоянным. Интересно отметить, что нам удалось получить гораздо более высокие показатели окисления каприлата в митохондриях, чем другими исследователями [2, 3, 10]. Это свидетельствует о создании наиболее адекватных условий изучаемого процесса.

Добавление в среду карнитина по данным ряда авторов [2, 3, 10, 12, 13] стимулирует окисление жирных кислот в печени в 1,5 раза. В наших опытах это добавление не повышало существенно потребления кислорода ни в одном возрасте, но у новорожденных и 2-недельных крыс на 30% увеличилась продукция ацетоновых тел. На коэффициент P/O карнитин не повлиял. Низкий активирующий эффект карнитина в митохондриях печени отмечает П. Хан (P. Hahn) [14].

Окисление пальмитата и олеата изучалось в присутствии альбумина, поэтому контролем служило окисление комплекса яблочная кислота + альбумин. Из данных табл. 2 видно, что при добавлении к яблочной кислоте альбумина интенсивность потребления O_2 и фосфорилирования увеличивается во всех возрастах одинаково. Образование кетоновых тел практически не меняется. Наличие в инкубационной среде пальмитата или олеата (табл. 2, 3) приводит к достоверному увеличению потребления

и O_2 в митохондриях печени только 1-, 3- и 12-месячных животных.

Таблица 2

Интенсивность окисления пальмитата в митохондриях печени крыс разного возраста

Возраст	Яблочная+альбумин				Пальмитат				Пальмитат+карнитин			
	ΔO	ΔP	P/O	A _{c.t.}	ΔO	ΔP	P/O	A _{c.t.}	ΔO	ΔP	P/O	A _{c.t.}
Новорожденные	17,0	38,6	2,2	0,86	20,2	42,3	2,1	0,83	23,4	39,6	1,6	1,04
2-недельные	26,4	41,5	1,6	0,43	32,9	55,3	1,7	0,54	36,7	46,6	1,3	0,69
1-месячные	21,1	35,5	1,7	0,71	35,8	40,1	1,1	0,78	36,1	40,2	1,1	0,81
3-месячные	25,2	41,2	1,6	0,68	43,1	53,4	1,24	0,76	48,8	63,6	1,3	0,95
12-месячные	22,8	39,3	1,7	0,52	37,5	53,2	1,4	0,63	34,3	50,8	1,5	0,69
24-месячные	24,1	35,9	1,5	0,63	29,1	37,7	1,3	0,73	29,1	40,7	1,4	0,82

Таблица 3

Интенсивность окисления олеата в митохондриях печени крыс разного возраста

Возраст	Яблочная+альбумин				Олеат				Олеат+карнитин			
	ΔO	ΔP	P/O	A _{c.t.}	ΔO	ΔP	P/O	A _{c.t.}	ΔO	ΔP	P/O	A _{c.t.}
Новорожденные	17,0	38,6	2,2	0,85	22,5	34,9	1,55	0,9	23,1	35,7	1,5	0,98
2-недельные	26,4	41,5	1,6	0,43	30,8	42,9	1,4	0,5	31,5	37,9	1,2	0,67
1-месячные	21,1	35,5	1,7	0,71	32,1	35,7	1,1	0,78	26,7	45,5	1,7	0,81
3-месячные	25,2	41,8	1,6	0,68	32,0	42,8	1,3	0,32	37,3	46,8	1,25	0,81
12-месячные	22,8	39,3	1,7	0,52	39,3	47,0	1,2	0,6	38,8	53,3	1,37	0,65
24-месячные	24,1	35,9	1,5	0,63	29,1	40,0	1,37	0,76	26,3	40,35	1,5	0,84

Продукция ацетоновых тел повышается незначительно во всех возрастах. Коэффициент P/O остается без изменения. Карнитин на окисление пальмитата и олеата влияния не оказывал.

Подобное сопряжение процессов окисления и фосфорилирования отмечают при наличии олеата Драгота и Хонова (Drahota, Hopova) [16]. Исследования окисления жирных кислот полярографическим методом дают более низкие показатели [10, 17].

Таким образом, в данной работе исследовалась способность митохондрий печени новорожденных, 2-недельных, 1-, 3-, 12-, 24-месячных крыс к окислительному фосфорилированию на жирных кислотах и действие на этот процесс карнитина.

Интенсивность окисления эндогенных жирных кислот и коэффициент Р/О одинаков в митохондриях печени животных всех возрастных групп. Продукция ацетоновых тел на эндогенных жирных кислотах является самой высокой у новорожденных крыс, в остальных возрастах ниже и не меняется. Интенсивность окисления каприлата также как и интенсивность фосфорилирования не меняется с возрастом. Карнитин усиливает образование ацетоновых тел только у новорожденных и 2-недельных животных. При окислении пальмитата и олеата достоверно и одинаковое потребление кислорода обнаружено только в митохондриях 1-, 3- и 12-месячных животных. Продукция ацетоновых тел почти не возрастает. Действие карнитина на окисление пальмитата и олеата не было обнаружено.

ЛИТЕРАТУРА

1. H. A. Lardy, J. Lancet, 73, 6, 254, (1953).
2. F. J. R. Hird, M. J. Weideman, Biochem. J., 98, 2, 378, (1966).
3. F. J. R. Hird, R. H. Symons, M. J. Weidemann, Biochem. J., 98, 2, 389, (1966).
4. P. Bjorntorp и др. J. Biol. Chem., 11, 239, 339, (1964).
5. P. Bjorntorp, H. A. Elle и др. J. Biol. Chem. 1, 239, 339, (1964).
6. P. Bjorntorp, J. Biol. Chem., 9, 234, 2130, (1968).
7. Kessler Jaquest, J. Lipid Res., 8, 3, 185, (1967).
8. А. А. Пашкова. Ученые записки ХГУ, т. 29, Изд-во ХГУ, стр. 301 (1960).
9. Z. Drahota, P. Hahn, Biochem. J., 93, 1, 61, (1964).
10. C. R. Rossi и др. J. Biol. Chem., 9, 242, 2102, (1967).
11. Weinbach, Garbus, J. Biol. Chem., 2, 234, 412, (1959).
12. J. B. Fritz, Amer. J. physiol., 6, 206, 1217, (1964).
13. A. B. Wojtczak, Biochem. Biophys. reseach. communic. 31, 4, 634, (1968).
14. Honova, Z. Dragota, P. Hahn, Wissenschaftliche — Zeitschrift der Fridrich — Schiller — Universitet, Jena, 1, 47, (1968).
15. P. Bjorntorp, J. Biol. Chem., 7, 241, 1537, (1966).
16. Z. Drahota, E. Honova, Acta, biochimica polonica, 5, 2, 227 (1968).
17. Vander Bergh, Biochimica et biophysica acta, 98, 442, (1965).
18. М. Н. Кондрашова и др. «Биохимия», 30, 3, 567, (1965).
19. C. Thin, S. Robertson, Biochem. J., 51, 218, (1952).

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СОДЕРЖАНИИ ДНК И АКТИВНОСТИ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕАЗ В ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС

А. И. Клименко, М. Я. Шевцова

Кафедра физиологии человека и животных

Процессы метаболизма нуклеиновых кислот в настоящее время привлекают пристальное внимание. Занимая ключевую позицию в синтезе белков, нуклеиновые кислоты непрерывно

самообновляются. Важная роль в этом процессе принадлежит ферментам анаболической и катаболической фаз обмена. Однако взаимосвязь между содержанием нуклеиновых кислот и активностью ферментов их самообновления изучена далеко недостаточно. В возрастном аспекте эта проблема также мало разработана.

Основная задача данного исследования — определить содержание ДНК и активность дезоксирибонуклеаз в печени белых крыс разного возраста при различном функциональном состоянии их организма.

В опытах использовалась печень белых крыс 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста. Поставлено три серии опытов. Содержание ДНК и активность дезоксирибонуклеаз определяли в печени интактных животных, в регенерирующей печени через 48 часов после ее частичной экстирпации, а также в печени животных, содержащихся с месячного возраста на сдерживающем рост питании, что существенно удлинит их жизнь [1, 2]. Частичная гепатэктомия производилась по методу Хиггенса и Андерсона [3]. Подсчет количества ядер в выделенном ядерном препарате осуществлялся в счетной камере с сеткой Горяева. В ядрах, выделенных в сахарозной среде из ткани печени [4], определялась концентрация фосфора ДНК (мг%) и количество ДНК (пг/ядро). Экстракция из ядер ДНК осуществлялась по методу Шмидта и Тангаузера и определялась спектрофотометрически по Цаневу и Маркову [5]. Активность нейтральной (рН 7,0) и кислой (рН 5,3) дезоксирибонуклеаз в ткани печени определяли по методу Шапота и др. [6]. Ферментативный компонент вводили в инкубационную среду в виде гомогената из расчета 25 мг ткани на пробу. Инкубация длилась два часа. Количество нуклеотидов определяли на спектрофотометре СФ-4А. Активность ДНК-аз выражали в единицах экстинции, отнесенной к 25 мг ткани печени за два часа инкубации, а также на 1 мг белка в минуту.

Оба расчета показали аналогичную тенденцию. Результаты экспериментов подвергались вариационно-статистическому анализу.

Полученные результаты всех серий экспериментов представлены в виде средних данных в таблице.

Из таблицы видно, что в ядрах клетки печени 3-месячных животных концентрация фосфора ДНК максимальна; с возрастом животных наблюдается ее постепенное понижение. Это, по-видимому, можно объяснить тем, что нарастание общей массы клеточных ядер в печени крыс в процессе их онтогенеза превышает накопление в ядрах ДНК. Значительное увеличение массы ядер клеток печени с возрастом крыс показано рядом исследователей [7].

Начиная с 3-месячного возраста, количество ДНК в расчете

Содержание ДНК и активность ДНК-аз в печени белых крыс разного возраста в норме, при регенерации и сдерживающем рост питания

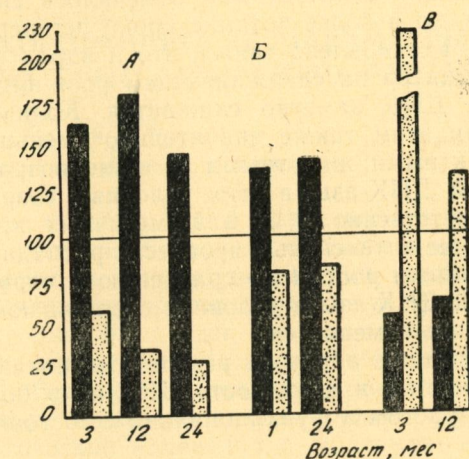
Условия опыта	Возраст, месяц	Кол-во опытов	Содержание ДНК		Активность ДНК-аз в условных ед.	
			концентрация фосфора, мг %	кол-во, пг/ядро	кислая	нейтральная
Интактные животные	1	25	166,26	6,02	0,535	0,151
	3	12	197,36	9,86	0,520	0,091
	12	14	p < 0,001	p < 0,001	p > 0,05	p < 0,001
Контроль	12	14	179,48	10,85	0,478	0,054
	24	21	p > 0,05	p < 0,001	p > 0,05	p < 0,001
	24	21	144,17	8,83	0,615	0,047
Регенерация, 48 часов	1	7	136,61	8,25	0,531	0,120
	24	7	p > 0,05	p < 0,002	p > 0,05	p < 0,02
	24	7	99,34	12,48	0,420	0,039
Сдерживающее рост питание	3	9	116,51	5,36	0,550	0,210
	12	9	p < 0,001	p < 0,001	p > 0,05	p < 0,001
	12	9	104,59	6,80	0,487	0,079
	12	9	p < 0,001	p < 0,001	p > 0,05	p < 0,02

на одно ядро значительно увеличивается по сравнению с 1-месячными животными. Это может быть следствием возрастной полиплоидизации клеток печени [8—11]. Сходные с нашими результаты по абсолютному увеличению в онтогенезе животных количества ДНК получены и в других исследованиях [12—14]. Возрастное накопление ДНК в ядрах клеток печени показано группой авторов [15]. Так, в пересчете на ядро количество ДНК в ядрах клеток плодов крыс составляло 4,8 пг, в ядрах новорожденных животных 5,7 пг, а в ядрах печени взрослых крыс 9,6 пг. В исследовании Томпсона и др. [16] оно составляет 9,5 пг, у Кемпбелла и др. [17] 10,8 пг. Эти данные также согласуются с нашими результатами.

Таким образом, увеличение количества ДНК в ядрах клеток печени белых крыс в процессе их онтогенеза является достоверным фактом. В связи с этим важно проследить, какие же изменения ДНК-азной активности имеют место в печени крыс в процессе их развития. Результаты экспериментов показывают (см. табл.), что в печени интактных животных 1-, 3-, 12- и 24-месячного возраста активность кислой ДНК-азы соответственно в 3,5, 6,9 и 13 раз выше, чем нейтральной.

Активность кислой ДНК-азы практически одинакова у крыс 1-, 3- и 12-месячного возраста и несколько повышена у 24-месячных крыс. Возможно, это повышение объясняется накоплением в организме старых животных клеточных компонентов и «старых» клеток, ликвидация которых является функцией лизосомальных ферментов, в частности присутствующей там кислой ДНК-азы [18—20]. Активность нейтральной ДНК-азы, начиная с 3-месячного возраста крыс, значительно понижается. При сопоставлении ДНК-азной активности в ткани печени крыс разного возраста и количества ДНК в ядрах клеток печени крыс соответствующих возрастов в большинстве опытов выявляется обратная зависимость между количеством ядерной ДНК и активностью нейтральной ДНК-азы (см. рис.). В связи с этим логично допустить, что возрастное накопление ДНК в ядрах клеток печени в известной степени может быть связано со снижением активности нейтральной ДНК-азы в печени животных в процессе их онтогенеза.

Существенный интерес представляет изучение взаимосвязи между количеством ядерной ДНК и ДНК-азой активностью при усилении процесса белкового синтеза в регенерирующей печени. В этой серии исследований установлено, что через 48 часов после частичной гепатэктомии концентрация фосфора ДНК в ядрах понижена как у молодых, так и у старых животных. Однако абсолютное количество ДНК на одно ядро у молодых и старых крыс увеличивается соответственно на 137 и 142%. В исследованиях ряда авторов [21] также указано, что один из максимумов синтеза ДНК в регенерирующей печени крыс приходится на 48-й час после операции. В регенерирующей печени не установлено значимых различий в активности кислой ДНК-азы у молодых животных, однако у старых крыс



■ Количество ДНК
▨ Активность нейтральной ДНК-азы

Содержание ДНК и активность нейтральной ДНК-азы в печени белых крыс разного возраста, %: А — интактные животные, Б — регенерация, В — задерживающее рост питание. За 100% приняты для А — показатели 1-месячных животных; для Б и В — показатели нормальных животных.

она понижается. Активность нейтральной ДНК-азы в этих условиях значительно понижается у обеих групп животных. Таким образом, и при стимуляции белкового синтеза наблюдается обратная зависимость между увеличением количества ДНК и понижением активности нейтральной ДНК-азы в печени. Следует отметить, что в некоторых исследованиях [22] после частичной гепатэктомии отмечалось снижение активности нуклеаз, но в более поздние сроки регенерации печени.

Установлено также, что в ядрах клеток печени крыс, находящихся на сдерживающем рост питания концентрация фосфора ДНК заметно снижается. Количество ДНК в одном ядре при этом также значительно уменьшается по сравнению с интактными животными того же возраста. Активность нейтральной ДНК-азы в этих условиях возрастает в 2,3—1,5 раза соответственно у 3- и 12-месячных крыс. Этот факт говорит более интенсивных процессах распада ДНК у животных с задержанным ростом по сравнению с нормальными. Активность нуклеаз ДНК-азы в условиях сдерживающей рост диеты существенно не изменяется.

Таким образом, результаты показывают, что уровень ДНК в клетке и активность ДНК-аз в большой мере определяются возрастом и функциональным состоянием организма животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. М. Мс. Kay, M. F. Crowell, L. A. Maynard. J. Nutrition, 1935, 10, 63.
2. В. Н. Никитин, Л. И. Ставицкая. Труды н.-и. ин-та биологии и биол. ф-та Харьковского ун-та, 1960, 29, 111.
3. G. M. Higgins, R. M. Anderson. Arch. Path., 1931, 12, 186.
4. А. И. Клименко, Мат-лы симпозиума по основным проблемам возрастной физиологии и биохимии, 15—19 октября 1963 г. Изд-во Харьковского ун-та, 1965, 90.
5. Р. Г. Цанев, Г. Г. Марков. Биохимия, 1960, 25, 1, 151.
6. В. С. Шапот, В. А. Чудинова, Р. Д. Кречетова. В кн. «Современные методы в биохимии». «Медицина», М., 1964, 1, 267.
7. Н. П. Гребенникова, Н. М. Новикова. Труды н.-и. ин-та биол. и биол. ф-та Харьковского ун-та, 1960, 29, 149.
8. В. Я. Бродский, А. А. Куш. ДАН СССР, 1962, 147, 713.
9. В. Я. Бродский. Трофика клетки. «Наука», М., 1966.
10. A. Pogo, F. J. Cordero, J. Mordon. Expl. Cell Res., 1960, 21, 482.
11. H. Naora. J. Biophys. and Biochem. Cytol., 1957, 3, 949.
12. H. Naora. Publs. Union internat. sci. biol., B, 1957, 13, 26, 45.
13. Е. Е. Симонов. Лабораторное дело, 1966, 5, 263.
14. J. N. Davidson, I. Leslie, J. C. White. J. Pathol. Bact., 1951, 63.
15. E. Bresnick, K. Lanclos, J. Sage, A. Schwartz, D. Yawn. H. Busch, T. Unuma. Expl. Cell Res., 1967, 46, № 2, 396.
16. R. Y. Thomson, F. C. Neagy, W. C. Hutchinson, J. N. Davidson. Biochem. J., 1953, 53, 460.
17. R. M. Campbell, H. W. Kosterlitz. J. Physiol., 1947, 106, 12.
18. C. De Duve, R. Wattiaux. Annual. Rev. Physiol., 1966, 28, 435.

19. H. Beaufay, C. De Duve. Arch. Intern. Physiol. et Biochem., 1957, 65, 156.
20. А. А. Покровский, В. А. Тутельян. Биохимия, 1968, 33, 4, 809.
21. S. M. Lehnerst, S. Okada. J. Radiat. Biol., 1962, 5, № 4, 323.
22. О. П. Чепинога, Е. Б. Сквирська, П. П. Рукіна, Т. П. Силич. Укр. біохім. журнал, 1952, 24, 177.

НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ДНК ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

В. Н. Карвонен

Кафедра физиологии человека и животных

Одной из важных задач, стоящих перед возрастной физиологией и биохимией, является изучение старения организма на молекулярном уровне, особенно в аспекте возрастной эволюции макромолекулярных компонентов протоплазмы — нуклеиновых кислот и белков. В последние годы этот процесс исследуется на индивидуальных белках и нуклеиновых кислотах организмов высших животных [1—4]. Вопрос ставится так: происходят ли в онтогенезе какие бы то ни было (на любом уровне структуры молекулы) постсинтетические изменения в молекулах нуклеиновых кислот и белков организма. Результаты ряда исследований не вполне однозначны [5—8].

Цель нашей работы — дальнейшее изучение возможности возрастных изменений некоторых физико-химических параметров ДНК, отражающих особенности ее структуры.

Объектом исследования были белые крысы линии Вистар в возрасте 1, 3, 12 месяцев. ДНК выделяли фенольным методом по Г. П. Георгиеву [9]. Растворяли ДНК в растворе 0,15 М NaCl с 0,015 М цитратом Na, pH 7,0 и ставили на диализ. Диализ проводился при 0—4°C в течение 2—3 суток при постоянной смене раствора. Препараты ДНК хранили в растворе 0,15 М NaCl с 0,015 М цитратом Na (pH 7,0) с добавлением хлороформа в качестве антисептика при 0—4°C. В таких условиях препараты ДНК могут сохраняться в течение 2—3 недель (10). Концентрацию ДНК определяли спектрофотометрически по А. С. Спирину [11].

Отношение N/P в препаратах ДНК было 1,69—1,71. Ультрафиолетовые спектры поглощения ДНК снимали на СФ-4 в диапазоне от 230 до 300 мкм. Как критерий нативности определяли величину поглощения E_p на 1 М фосфора ДНК. Наши образцы ДНК имели значения $E_p = 6100—6300$, что характерно для нативных ДНК [12]. Препараты ДНК (конц. — 30 мкг/мл) плавляли в специально термостатированных кюветах на СФ-4 при 260 мкм. Исследовали температуры от 20 до 95°C с интер-

валом в 5° и выдерживали указанные препараты при каждой температуре в течение 8—10 мин. Точку плавления ДНК находили по кривой плавления. Она соответствует середине зоны подъема относительной экстинкции и обозначается $T_{пл}$ [13].

Гиперхромный эффект определяли по увеличению ультрафиолетового поглощения при тепловой денатурации ДНК при 260 мкм на СФ-4.

Результаты исследования представлены в таблице. Никаких достоверных различий в содержании азота и фосфора в препаратах ДНК печени крыс разного возраста не обнаружено. Спектры ультрафиолетового поглощения выделенных препаратов ДНК в диапазоне от 230 до 300 мкм у всех исследованных возрастов представляют собой характерные для ДНК кривые с максимумом поглощения при 260 мкм. Отношение E_{260}/E_{230} равно 2,10—2,18; E_{260}/E_{280} — 2,0, что свидетельствует о чистоте выделенных препаратов.

Температурный интервал плавления ДНК относительно узок. Температура перехода спираль — клубок есть прямой показатель стабильности структуры ДНК [14]. Спиральная двунитчатая структура ДНК характеризуется высокой степенью упорядоченности и сохраняется при воздействии $t=80^\circ\text{C}$. Температура плавления ДНК, выделенной из печени крыс в возрасте 1, 3 и 12 месяцев, составила соответственно 85,2; 86,7; 86,6°. Можно видеть, что на исследуемом участке онтогенеза наблюдается незначительное увеличение $T_{пл}$ ДНК с возрастом. Интересно сопоставить наши результаты с данными фон Хана, который исследуя ДНК, выделенную из зубной железы телят (1—2 мес.) и быков (около 10 лет), нашел увеличение термостабильности ДНК старых животных [15, 16]. Фон Хан и Эльвира пришли к такому же выводу, изучая ДНК печени двухлетних крыс. Они объясняют это появлением у стареющего организма прочно связанных с ДНК гистонов [17].

Характеристика препаратов ДНК печени белых крыс разного возраста

Возраст, месяц	E_0	$\frac{E_{260}}{E_{280}}$	$\frac{E_{260}}{E_{230}}$	N	P	N/P	$T_{пл}$	%ГХЭ
1	6110 ± 38	2,0	2,1 ± 0,09	15,7 ± 0,23	9,28 ± 0,2	1,69	85,2	30,6
3	6195 ± 51	2,0 ± 0,05	2,1 ± 0,12	16,0 ± 0,4	9,47 ± 0,5	1,70	86,3	32,0
12	6266 ± 39	2,0 ± 0,05	2,18 ± 0,06	15,8 ± 0,4	9,23 ± 0,27	1,71	86,4	30,3

О степени упорядоченности структуры молекул выделенных нами препаратов ДНК судили по величине гиперхромного эффекта (ГХЭ).

Распад, или денатурация, нуклеиновых кислот сопровождается интенсификацией их ультрафиолетового поглощения — гиперхромным эффектом [18]. Причины этого явления полностью еще не вскрыты [19]. Для ДНК найдена прямая корреляция между количеством водородных связей, соединяющих основания двух параллельных цепей, и величиной гиперхромизма. Разрыв водородных связей сопровождается гиперхромным эффектом, а деполимеризация молекулы при сохранении водородных связей не дает этого эффекта. Тем не менее нельзя исключать влияние других сил, способных стабилизировать двойную спираль молекулы ДНК [20, 21].

Все исследованные препараты ДНК печени крыс обладали примерно одинаковым приростом ультрафиолетового поглощения при тепловой денатурации. Гиперхромный эффект составлял соответственно 30,6; 32,0; 30,3%. Небольшая разница находится в пределах ошибки используемого метода и поэтому недостоверна.

Данные об отсутствии значительных физико-химических изменений в ДНК печени крыс разного возраста свидетельствуют о чрезвычайной устойчивости структуры ДНК и ее обмена в клетках животного организма. Мы продолжаем исследования в этом направлении.

Изучались физико-химические свойства выделенных фенольным методом препаратов ДНК печени белых крыс разного возраста. Полученные результаты свидетельствуют, что с возрастом наблюдается незначительная тенденция к увеличению термостабильности ДНК. Температура плавления ДНК печени крыс в возрасте 1, 3 и 12 мес. была соответственно 85,2; 86,7 и 86,6°. Никаких возрастных различий в величине гиперхромного эффекта не обнаружено.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Нагорный, В. Н. Никитин, И. Н. Буланкин. Проблема старения и долголетия. Медгиз, 1962, стр. 79.
2. В. Н. Никитин, Ц. М. Шерешевская. Труды н.-и. ин-та биологии и биол. ф-та ХГУ. 33—34, 1962, стр. 48.
3. И. Н. Буланкин, Е. В. Парина. Труды н.-и. ин-та биологии и биол. ф-та ХГУ. 29, 1960, стр. 29.
4. В. Н. Никитин. Сборник АН УССР, серия «Молекулярная биология». «Наукова думка», Киев 1966, стр. 146.
5. Е. В. Парина. Возраст и обмен белков. Изд-во Харьковск ун-та, 1967.
6. В. Н. Никитин, Ц. М. Шерешевская. Труды н.-и. ин-та биологии и биол. ф-та ХГУ. 33-34, 1962, стр. 110.
7. R. L. Herrmann, A. P. Russell и др. The Gerontologist, 6, 1966, 13.
8. G. E. Schaiberger, B. Sallmann и др. J. Gerontol., 20, 1965, 23.
9. Г. П. Георгиев. «Биохимия», 24, 1959, 427.
10. В. А. Стручков. «Биофизика», 7, 1962, 538.

11. А. С. Спирин. «Биохимия», 23, 1958, 656.
12. Д. М. Спитковский. Современные методы в биохимии. Медицина, М., 1964, стр. 233.
13. Б. И. Сухоруков, Ю. Ш. Мошковский и др. «Биофизика», 8, 1963, 288.
14. P. Doty, H. Boedtker и др. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 45, 1959, 482.
15. H. P. von Hahn. Gerontologia, 10, 1964/1965, 174.
16. H. P. von Hahn. Experimentia, 21, 1965, 90.
17. H. P. von Hahn, F. Elvira. Gerontologia, 12, 1966, 237.
18. А. С. Спирин, Л. П. Гаврилова и др. «Биохимия», 24, 1959, 600.
19. С. Е. Бреслер. Введение в молекулярную биологию. «Наука», М.-Л., 1966, стр. 220.
20. Д. М. Спитковский, В. Т. Андрианов и др. Радиационная биофизика нуклеопротеида, Атомиздат, М., 1969, стр. 30.
21. Ю. М. Евдокимова, Я. М. Варшавский. «Биофизика», 11, 1966, 7.

ВЛИЯНИЕ СДЕРЖИВАЮЩЕГО РОСТ ПИТАНИЯ НА ФОНД СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС В ОНТОГЕНЕЗЕ

Н. С. Белоконов

Кафедра физиологии человека и животных

В ряде работ было показано, что длительная задержка роста, вызываемая полноценной по белку, витаминами и солям, но калорийно недостаточной диетой, приводит к замедлению старения и значительному удлинению жизни подопытных животных [1—3].

В. Н. Никитин и сотрудники установили, что в основе этого процесса лежит возникновение в организме особого состояния — «возбужденного синтеза», которое связано с улучшением качественного состава протоплазмы у подопытных животных, выражающемся в ее обогащении нуклеиновыми кислотами и нуклеопротеидами, характерном для более молодых животных, и вследствие этого, с повышением синтетических возможностей протоплазмы [4—8].

Известно, что с возрастом уровень синтеза белка снижается. Об этом можно судить по изменению содержания в онтогенезе свободных аминокислот, которые являются предшественниками белка [9—10].

В настоящее время имеются данные о том, что фонд указанных аминокислот с возрастом значительно уменьшается [11]. В связи с этим важно выяснить, каким образом изменяется фонд свободных аминокислот и концентрация отдельных аминокислот у крыс с удлинённой жизнью в одном из основных «метаболических котлов» организма — печени.

Для опыта брали белых крыс-самцов двух групп: 1) контрольные животные, получавшие пищу *ad libitum*; 2) подопытные

животные, получавшие полноценную по белку, но калорийно недостаточную диету. В контрольной группе исследовались животные в возрасте 1, 12, 24 месяцев, в подопытной — 12 и 24 месяцев.

Содержание свободных аминокислот определялось по методу Т. С. Пасхиной [12] с некоторыми модификациями. Хроматография производилась на немецкой хроматографической бумаге марки FN-15. Спектрофотометрирование элюатов аминокислот выполнялось на спектрофотометре СФ-4А. Полученные данные были обработаны статистически [13] и считались достоверными при $P < 0,01$.

В результате исследований (см. таблицу) обнаружены известные индивидуальные колебания в содержании свободных аминокислот. Несмотря на эти колебания, удалось вывести общие закономерности функциональных изменений концентраций отдельных аминокислот и их общего фонда. Концентрация аргинина, аспарагиновой и глутаминовой кислот, треонина, аланина, суммы метионина и валина, лейцина и изолейцина снижается у контрольных животных в возрасте 12 месяцев, не изменяясь в дальнейшем, за исключением аспарагиновой кислоты, содержание которой уменьшается еще и в возрасте 24 месяцев. Концентрация цистина, лизина, глицина, тирозина падает в 12-месячном возрасте, увеличиваясь к 24 месяцам. Содержание гистидина и серина у животных 12 месяцев остается таким же, как в месячном возрасте, увеличиваясь затем к 24 месяцам.

У подопытных животных концентрация цистина, лизина, гистидина, серина, глицина и аланина повышается в 12-месячном возрасте, снижаясь затем к 24-месячному возрасту, содержание аргинина, треонина, тирозина, суммы метионина и валина, лейцина и изолейцина уменьшается в возрасте 12 месяцев и затем еще снижается в 24 месяца. Концентрация аспарагиновой и глутаминовой кислот не изменяется в 12-месячном возрасте и уменьшается в 24 месяца. Содержание фенилаланина с возрастом не изменяется.

Сравнивая фонд свободных аминокислот у контрольных и подопытных животных, видим, что содержание всех аминокислот, за исключением фенилаланина, концентрация которого не изменяется, гораздо выше у подопытных животных 12-месячного возраста, чем у контрольных животных и приближается к уровню аминокислот месячного (молодого, интенсивно синтезирующего белки) возраста, а часто равно или превосходит такой уровень. Это еще раз подтверждает положение В. Н. Никитина о том, что сдерживающее рост питание, вызывающее состояние «возбужденного синтеза», замедляет процессы старения, сохраняя в тканях животных до 12-месячного возраста высокий уровень общего фонда аминокислот. Подобная картина, однако, не наблюдается у подопытных животных в возрасте

Концентрация свободных аминокислот в печени белых крыс разного возраста в норме и при сдерживающем рост питании, мг % на сырой вес

Аминокислоты	1 месяц	12 месяцев		24 месяца	
	Общий контроль	Конт-роль	Опыт	Конт-роль	Опыт
Цистин	8,86±1,20	2,50±0,30	13,57±0,93	5,00±0,50	5,44±0,7
Лизин	10,52±1,08	8,43±1,08	20,61±1,08	11,50±0,85	6,13±0,6
Гистидин	4,90±0,69	4,50±0,67	9,66±1,00	7,33±1,95	6,60±0,7
Аргинин	13,52±2,37	7,10±1,31	9,28±1,31	7,60±0,92	7,30±0,7
Аспарагиновая кислота	30,72±4,40	21,08±3,65	28,00±6,37	12,30±2,06	7,14±1,3
Серин	6,96±0,79	6,96±0,54	8,90±1,56	9,33±2,38	4,11±0,4
Глицин	7,34±0,53	2,58±0,29	9,40±1,28	4,35±0,60	3,17±0,3
Глутаминовая кислота	36,40±8,78	11,60±0,80	37,67±7,46	12,50±3,16	12,26±0,8
Треонин	12,00±2,11	2,48±0,46	5,02±0,65	2,94±0,36	2,23±0,06
Аланин	34,00±2,08	20,50±0,83	47,31±3,23	20,70±1,40	27,12±1,42
Тирозин	4,90±0,61	6,66±0,21	3,8±1,20	5,50±0,71	1,49±0,49
Метионин+валин	7,60±1,05	2,00±0,43	5,25±1,80	2,42±0,15	2,73±0,16
Фенилаланин	2,65±0,52	2,65±0,44	2,50±0,61	2,46±0,13	1,90±0,26
Лейцин+изолейцин	8,50±0,73	2,60±0,34	6,33±1,40	4,00±1,14	3,47±0,61

24 месяцев. Содержание цистина, аспарагиновой кислоты, серина, глицина, тирозина, фенилаланина у контрольных животных выше, чем у подопытных. Концентрация гистидина, аргинина, глутаминовой кислоты, треонина, суммы лейцина и изолейцина у подопытных животных не изменяется по сравнению с контрольными. Уровень же аланина и суммы метионина и валина у подопытных животных выше, чем у контрольных.

Сумма концентраций свободных аминокислот у контрольных и подопытных животных с возрастом уменьшается, однако, при сравнении этой суммы у контрольных и подопытных животных обнаружено увеличение ее у последних.

Таким образом, в онтогенезе у контрольных животных наблюдается снижение концентраций большинства свободных аминокислот. У подопытных животных содержание свободных аминокислот в 12-месячном возрасте такое же, как в месячном, а в 24-месячном концентрация свободных аминокислот падает. В то время, как у контрольных животных уже в 12-месячном возрасте наблюдается уменьшение концентрации ряда свободных аминокислот, у животных с задержанным ростом содержание свободных аминокислот в 12-месячном возрасте находится на уровне месячных животных, что говорит о замедлении процессов старения у животных с продленной жизнью.

ЛИТЕРАТУРА

1. C. M. McCay, M. F. Growell and Maynard. The Journal of nutrition, 10, 1935, 63—83.
2. C. M. McCay, G. H. Ellis, Le Roy L. Barnes, C. A. Smith and G. Sperling. The Journal of nutrition, 18, № 1, 1939, 1—14.
3. C. M. McCay, L. A. Maynard, G. Sperling and Le Roy L. Barnes. The Journal of nutrition, 18, № 1, 1939.
4. В. Н. Никитин и Л. И. Ставицкая. Труды ин-та биологии и биол. ф-та ХГУ, т. 29, 1960, стр. 125—135.
5. В. Н. Никитин и Л. И. Ставицкая. Труды ин-та биологии и биол. ф-та ХГУ, т. 29, 1960, стр. 111—124.
6. В. Н. Никитин и Т. М. Воробьева. Труды ин-та биологии и биол. ф-та ХГУ, т. 29, 1960, стр. 135—142.
7. Л. И. Ставицкая. Труды ин-та биологии и биол. ф-та ХГУ, т. 33—34, 1962, стр. 147—159.
8. В. Н. Никитин и О. И. Галавина. Труды ин-та биологии и биол. ф-та ХГУ, т. 33—34, 1962, стр. 160—165.
9. H. N. Christensen, J. A. Streicher. «Y. Biol. chem.», 175, 1948.
10. И. Б. Збарский и К. А. Перевощикова. «Биохимия» 25, 808 (1960).
11. Е. В. Парина и В. П. Мищенко. «Журнал эволюционной биохимии и физиологии», т. 2, № 5, 1966, стр. 439—445.
12. Т. С. Пасхина. В кн. «Современные методы в биохимии», Медицина, 1964, стр. 162.
13. Н. Бейли. «Статистические методы в биологии», «Мир», 1963.

II. ГЕНЕТИКА И ЦИТОЛОГИЯ

О НЕКОТОРЫХ БИОФИЗИЧЕСКИХ, ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЯХ ГЕТЕРОЗИСА

*В. Г. Шахбазов, Н. Г. Шестопалова, Ц. М. Шерешевская,
Н. В. Ходорова, Л. В. Карева*

Кафедра генетики и цитологии

Природа гетерозиса далеко не ясна. «Гетерозис все еще представляет собой одну из самых больших загадок генетики» [1]. Но современная генетика не знает другого явления, которое позволяло бы так же быстро и значительно повышать жизнеспособность и продуктивность животных и растений, как гетерозис. В связи с этим понятны большие усилия генетиков, направленные на раскрытие биологических причин, вызывающих это явление.

Литература по проблеме гетерозиса обширна, но мы коснемся лишь вопросов, непосредственно связанных с темой статьи. В последние годы на кафедре генетики и цитологии Харьковского университета гетерозис рассматривается как особое биофизическое состояние клеток, возникающее при взаимодействии гетерогенных хромосом и проявляющееся в некоторых морфофизиологических и биохимических особенностях клеток. В настоящей статье обобщаются некоторые новые данные, полученные при исследовании ряда объектов разными методами, но дополняющие общую картину гетерозиса.

Результаты экспериментальных исследований проявлений гетерозиса и инбредной депрессии, выполненных на организменном уровне, публиковались ранее [2, 3]. В этих работах были отмечены физиологические особенности гибридных организмов, которые трудно объяснить на основе существующих генетических теорий гетерозиса. К числу таких особенностей относятся обнаруженная нами повышенная терморезистентность гетерозисных гибридов, повышенная водоудерживающая способность их тканей, некоторые отличия в реакции на действие магнитных и электромагнитных полей от постоянных до СВЧ-диапазона [4—8].

С 1963 г. на кафедре были начаты сравнительные исследования биоэлектрических потенциалов покоя клеток инбредных и гибридных организмов посредством микроэлектродов. В результате были установлены некоторые отличия клеток гетерозисных растений в распределении биоэлектрических потенциалов. На клеточной мембране и в фазе цитоплазмы различий в величинах биопотенциалов между клетками инбредных и гибридных растений обнаружить не удалось, но при вторжении микроэлектрода в зону клеточного ядра в клетках гетерозисных гибридов были отмечены более высокие уровни скачков биоэлектрических потенциалов, которые на 7—12% превосходили соответствующие величины, полученные для инбредных форм [9, 10].

Новые и весьма своеобразные проявления гетерозиса, которые также можно отнести к числу биофизических, были недавно обнаружены в Харьковском университете Н. П. Залюбовской и В. М. Медведевым при измерении сверхслабого свечения корней проростков кукурузы в нормальных условиях и под влиянием высокой температуры. В первом случае корни гибридов имели пониженную интенсивность хемилюминесценции, а во втором — более устойчиво сохраняли исходный уровень свечения. Сходные результаты почти одновременно получили и москвичи [11].

Наряду с изучением некоторых биофизических проявлений гетерозиса на организменном и клеточном уровнях, нами проводились цитологические исследования и, естественно, основное внимание было обращено на состояние ядерных структур. Связь размеров ядра с физиологическим состоянием клетки показана многими исследователями (12). Поэтому мы считали целесообразным использовать кариометрию в сравнительном изучении клеток инбредных и гибридных растений. Удобными объектами для этой цели служили клетки лука сортов Балаклеевского и Харьковского острого и межсортового гибрида. На этих формах были проведены измерения интерфазных ядер и ядрышек, а также метафазных хромосом в норме и после действия высокой температуры. Окрашивание ядер и хромосом проводилось по Фельгену, по прописи Баталя (13). Для кариометрии использовался микроскоп МБИ-6 (окуляр — 10*, объектив — 90*) с винтовым окулярмикрометром. Некоторые результаты приведены в табл. 1.

Размеры ядер и ядрышек в клетках гибридов оказались меньшими, чем у родительских форм, отличие статистически достоверно и составляло в среднем соответственно 30 и 18%. Таким образом, гибриды отличались от исходных форм также по ядерно-ядрышковому отношению; для клеток указанных сортов лука с одним ядрышком оно составляло в среднем 2,5, для гибридов — 2,2. Разница между этими соотношениями может

Таблица 1
Некоторые кариометрические показатели клеток родительских сортов и гибрида лука

Формы лука	Ядро		Ядрышко		Количество ядер в расчете на 1000			Среднее количество ядрышек в ядре
	диаметр, в делениях винтового окулярного микрометра	% по отношению к F ₁	диаметр	% по отношению к F ₁	с одним ядрышком	с двумя	с тремя и более	
Материнский сорт	97,2 ± 5,3	126,1	39,6 ± 1,6	116,6	595	394	11	1,41
Отцовский сорт	104,0 ± 6,1	134,7	43,3 ± 0,6	127,0	672	318	18	1,36
Гибрид первого поколения (F ₁)	77,2 ± 4,6	100,0	34,1 ± 2,3	100,0	366	575	62	1,70

быть более значительной, так как в ядрах гибридных клеток значительно чаще встречается два, три и более ядрышек. Это отражено в таблице.

По линейным размерам наиболее крупные хромосомы исходных форм лука и гибридов существенно не различались. Однако под действием высокой температуры у исходных форм длина хромосом изменялась раньше, чем у гибридных (табл. 2).

Таблица 2
Изменение длины метафазных хромосом сортов и гибрида лука под влиянием высокой температуры¹

Формы лука	Время фиксации после прогрева, ч	Средняя длина одной из двух наиболее крупных хромосом, мк		Вероятность отличия от нормы, t	% по отношению к контролю
		норма	после прогрева		
Материнский сорт	1	9,8	11,9	3,94	121,4
	3	10,3	8,0	4,92	77,6
Отцовский сорт	1	9,7	12,6	5,10	129,8
	3	9,1	10,7	3,49	117,5
Гибрид первого поколения	1	10,5	10,7	0,30	101,9
	3	10,3	13,0	5,19	126,5

¹ Лук прогревался при температуре 45°С на протяжении 5 минут.

что может рассматриваться как показатель более высокой терморезистентности гибридных хромосом и хорошо согласуется с данными, полученными для гибридов на организменном уровне. При анализе этого свойства ранее было сделано предположение о роли ядерных нуклеопротеидов [2].

Изучение молекулярных особенностей гетерозисных гибридов проводится на кафедре специально на ряде объектов и различными методами. Новые данные о содержании нуклеиновых кислот были получены на разных тканях гибридных и инбредных мышей. Мыши линии С57В1 и АКР до скрещивания инбридировались на протяжении четырех поколений. У гибридов проявлялся гетерозис по плодовитости, жизнеспособности, приросту. Для опытов использовались инбредные и гибридные животные месячного возраста. Концентрация РНК и ДНК в тканях мышц, мозга, печени и семенников определялась по методу Владимирова, Ивановой и Правдиной [14]. В таблице 3 приведены средние результаты. Как видим, различия в содержании ДНК у трех форм мышей незначительны и в ряде случаев лежат в пределах ошибки опыта. Значительными и достоверными они оказались в содержании РНК¹. В мышцах и мозге гибридов РНК обнаружено больше, чем у исходных форм в среднем на 20%, в печени — на 30%, а в семенниках — на 180%. Соответственно и отношение РНК к ДНК у гибридных форм выше.

Эти данные о различиях в содержании нуклеиновых кислот у инбредных и гибридных мышей соответствуют полученным ранее на нашей кафедре, а также в других лабораториях [15—18].

Изложенные результаты являются пока еще отдельными штрихами и не позволяют достаточно полно показать своеобразие гетерозисного состояния клетки. Однако уже можно установить некоторые новые связи между фактами, обнаруженными на организменном, клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях. Биофизический аспект исследования с нашей точки зрения особенно полезен для объединения этих данных.

Обнаруженные нами ранее повышенная теплоустойчивость и водоудерживающая способность гетерозисных организмов, по-видимому, не объяснимы на основе существующих генетических теорий гетерозиса, однако эти свойства хорошо согласуются с биоэлектрическими особенностями клеточных ядер гетерозисных организмов. Степень электрической поляризации нуклеопротеидов, очевидно, обуславливает терморезистентность и репарационную способность клеток. Эти же особенности, вероятно, имеют прямое отношение к связыванию молекул воды и водоудерживающей способности.

¹ Исключением является содержание РНК в печени мышей гибрида и линии С57В1, где различия в этом показателе не достоверны (p > 0,1).

Таблица 3

Концентрация фосфора РНК, ДНК и отношение РНК/ДНК в тканях инбредных и гибридных мышей, мкг на 1 г сырого веса

Объекты	Мышцы			Мозг			Печень			Семенники		
	РНК	ДНК	РНК/ДНК	РНК	ДНК	РНК/ДНК	РНК	ДНК	РНК/ДНК	РНК	ДНК	РНК/ДНК
Линия C ₅₇ Bl	65,0±3,0	63,0±3,0	1,03	139,0±4,0	57,0±5,0	2,4	390,0±1,60	254,0±10,0	1,49	41,0±9,0	350,0±20,0	0,11
Линия AKR	65,0±4,0	68,0±4,0	0,98	165,0±2,0	60,0±1,5	2,7	267,0±10,0	185,0±7,0	1,46	28,0±3,0	304,0±22,0	0,09
Гибрид, C ₅₇ BXAKR	77,0±3,0	51,0±2,0	1,51	184,0±2,0	63,0±1,3	2,9	420,0±24,0	0,242±10,0	1,73	97,0±20,0	290,0±71,0	0,34

Морфологические отличия, замеченные в строении ядерно-ядрышкового аппарата клеток гетерозисных растений также по-видимому, влияют на описываемые свойства. Чем больше ядрышек у гибридов, тем больше поверхность контакта фаз ядра и ядрышка, что, вероятно, отражается на электрических свойствах структур клеточного ядра, определяет его метаболическую активность. Значение увеличенного количества ядрышек для активации синтетических процессов в клетке в последние годы показано для многих объектов (19—21).

Более высокая термостабильность метафазных хромосом в гибридных клетках также может быть объяснена большей величиной их электрического заряда. Вопрос о возможной биологической роли распределения электрических зарядов в хромосомах и нуклеопротеидах рассматривался ранее [22].

Обнаруженные нами наряду с другими авторами молекулярные особенности гетерозисных гибридов также хорошо согласуются с другими разделами работы. Вероятно, количество ядрышек в гибридных клетках и их размеры по отношению к ядру находятся в прямой зависимости от содержания РНК в тканях гибридов, но последний показатель, естественно, зависит также от цитоплазматических фракций РНК. С другой стороны, более высокое содержание РНК оказывается связанным с большей термостабильностью клеток.

Более подробный анализ всех поднятых в статье вопросов будет дан в следующих публикациях. Исследование природы гетерозиса по всем названным показателям нами продолжается.

ВЫВОДЫ

1. Гетерозис на организменном уровне проявляется как комплекс физиолого-биофизических свойств, необъяснимых с позиций современных генетических теорий.
2. Клетки гетерозисных растений содержат большее количество ядрышек, метафазные хромосомы гибридов обладают большей термостабильностью.
3. Ткани гетерозисных животных содержат более высокую концентрацию РНК, при концентрациях ДНК, мало отличающихся от исходных родительских форм.
4. Свойства гетерозисных организмов, по-видимому, связаны не только с генетическими, но и с биоэлектрическими особенностями клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ф. Хатт. Генетика животных. «Колос», М., стр. 322, 1969.
2. В. Г. Шахбазов. Бюлл. Московск. об-ва и испыт. природы, 71, 3, 1966.
3. В. Г. Шахбазов. Сб. «Гетерозис в животноводстве», «Колос», Л., 1968.
4. В. Г. Шахбазов, Н. Г. Шестопалова, Л. В. Котенко. Сб. «Вопросы генетики и зоологии», Изд-во Харьковск. ун-та, 1964.
5. В. Г. Шахбазов, В. А. Грабина, Г. Е. Жилина, Л. И. За-стелла. Сб. «Вопросы генетики и зоологии», Изд-во Харьковск. ун-та, 1964.
6. В. Г. Шахбазов, Л. В. Котенко, Л. М. Чепель. Совещание по изучению влияния магнитных полей на биологические объекты. Тезисы, Изд-во АН СССР, М., 1966.

7. В. Г. Шахбазов, Л. М. Чепель, Г. Е. Жилина. Ж. «Электронная обработка материалов», Изд-во АН МССР, 3, 1968.
8. В. Г. Шахбазов, Л. М. Чепель. Материалы второго Всесоюзного совещания по изучению влияния магнитных полей на биологические объекты 24—26 сентября 1969 года. Тезисы, Изд-во АН СССР, М., 1969.
9. В. Г. Шахбазов, Л. В. Котенко. Известия АН СССР, серия биологическая, 6, 1967.
10. V. G. Schakbazov. XII International Congress of Genetics, v. 1, p. 115, Tokyo, 1968.
11. Я. В. Доскоц, А. П. Яковлев, Б. Н. Тарусов. «Биофизика», т. XIV, вып. 3, 561, 1969.
12. Я. Е. Хесин. Размеры ядра и функциональное состояние клеток, «Медицина», М., 1967.
13. E. Battaglia. Cariologia, 9, 368, 1956.
14. Г. Е. Владимиров, Т. Н. Иванова, Н. И. Правдина. «Биохимия», 19, 578, 1954.
15. М. П. Воловик, И. П. Филиппова. Труды биол. ф-та ХГУ, 36, 5, 1963.
16. М. П. Воловик, Ц. М. Шерешевская, Н. В. Ходорова. Ж. Д. Закарлюк. Биологическая наука в университетах и педагогических институтах Украины за 50 лет. Изд-во Харьковск. ун-та, Х., 1963.
17. Г. И. Семененко, О. И. Тимашева. «Биохимия», 19, 543, 1954.
18. А. В. Чечоткин. Укр. биохим. ж., 34, 262, 1962.
19. O. Bucher, R. Klöt, Zellforsch., 42, 193—211, 1955.
20. H. Barr, H. Fsperr. Exptl. cell Res., 31, 1, 211—214, 1963.
21. Ю. С. Ченцов, В. П. Боровягин, В. Д. Бродский. «Биофизика», 6, 5, 1961.
22. В. Г. Шахбазов. 36. «Організм як система». Вид-во АН УРСР Київ, 1966.

О РАЗЛИЧИЯХ В УСТОЙЧИВОСТИ К ГОЛОДАНИЮ ОСОБЕЙ РАЗНОГО ПОЛА ДРОЗОФИЛЫ И ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

З. Т. Сало, Р. Я. Нехаенко
Кафедра генетики и цитологии

Рядом исследователей неоднократно отмечалась повышенная жизнеспособность и большая устойчивость к действию неблагоприятных факторов организмов женского пола по сравнению с мужским [3—9, 11—13, 15, 17, 18, 21]. Однако некоторые авторы констатируют отсутствие подобного рода различий [2, 20]. М. Т. Туркменов [14] не находит определенной закономерности, и чувствительность обоих полов в его экспериментах зависела от характера действия вредных факторов.

В данной статье изложены результаты исследований, в которых критерием жизнеспособности избрана реакция на голодание.

Имеющиеся в литературе сведения по поводу половых различий в реакции на голодание [3, 6, 11] касаются организмов с мужской гетерогаметностью [наследование пола по типу XY]

и свидетельствуют о большей устойчивости к голоданию особей женского пола.

В отношении связанных с полом различий в чувствительности к повреждающим факторам организмов с женской гетерогаметностью (наследование пола по типу ZW, ZZ) единого мнения не существует. П. Г. Светлов, проводя опыты с зимующими гусеницами бабочки *Dasychira* sp., обнаружил повышенную устойчивость женского пола к губительным агентам [9]. Коломбо (Colombo, 16) и Ватанабэ (Watanabe, 19), экспериментировавшие с тутовым шелкопрядом, приводят противоположные результаты, или вообще не отмечают различий между полами в чувствительности к повреждающим факторам.

Объектами наших исследований были *Drosophila melanogaster* Mg. (мужская гетерогаметность) и *Bombyx mori* L. (женская гетерогаметность).

В опытах с дрозофилой использовались линии разного географического происхождения, инбридированные на протяжении многих поколений (линии Л, 42—45-е поколение инбридинга, и линия Д-32, 141—143-е поколение). Эксперименты с тутовым шелкопрядом проводились на линиях, породах и гибридах, меченых по полу на стадии яйца (5, 9, 5×9, 9×5, Сов. 5, Сов. 12 и Сов. 5×Сов. 12), [1, 10].

Половые различия в реакции на голодание изучались у дрозофилы на стадии имаго, у шелкопрядов — на стадии гусениц всех возрастов сразу после линьки.

Таблица 1
Сравнительная устойчивость к голоданию самок и самцов имаго дрозофилы

Линия	Покое- ние	Число особей в опыте		Средняя продолжитель- ность жизни одной мухи без питания, часов		Достовер- ность разницы, Р
		♀	♂	♀	♂	
Л	42	170	170	81,47±2,38	46,32±1,97	>0,999
Л	43	110	110	111,07±1,87	99,6±1,51	>0,999
Л	44	390	390	112,06±0,85	96,08±0,79	>0,999
Л	45	540	540	90,5±0,61	77,08±0,56	>0,999
Д-32	141	90	90	73,42±1,27	65,29±1,24	>0,999
Д-32	142	390	390	83,67±0,47	76,79±0,44	>0,999
Д-32	143	380	380	64,95±0,64	58,24±0,51	>0,999

Методика проведения опытов с дрозофилой заключалась в следующем: мухи из одной культуры через сутки после выхода разделялись по полу и отсаживались по 10 особей (отдельно самки и самцы) в специальные пробирки без питательной

среды, но снабжаемые водой через специальные фитильки. Гибель мух учитывалась через определенные равные промежутки времени. Критерием жизнеспособности служила средняя продолжительность жизни одной мухи без питания.

Эксперименты с тутовым шелкопрядом проводились по методике, в основном однотипной с предыдущей, но учитывающей специфику объекта. Гусениц помещали под чашки Петри (одинаковое число самок и самцов) с прокладками для доступа воздуха. Через определенные равные промежутки времени учитывали число погибших гусениц. Критерием жизнеспособности

Таблица 2

Сравнительная устойчивость к голоданию самок и самцов гусениц тутового шелкопряда

Линия, порода, гибрид	Воз- раст	Число особей в опыте		Средняя продолжи- тельность жизни одной гусеницы без питания, часов		Досто- верность разницы Р
		♀	♂	♀	♂	
1967 г.						
5	2-й	165	169	83,0 ± 1,06	91,58 ± 1,03	> 0,999
9	2-й	81	84	68,03 ± 1,3	75,74 ± 1,19	> 0,999
5	3-й	137	131	83,61 ± 1,54	88,88 ± 1,28	0,992
9	3-й	233	232	113,9 ± 1,01	118,59 ± 1,03	> 0,999
5	4-й	244	244	163,25 ± 1,31	179,42 ± 1,32	> 0,999
9	4-й	268	268	167,9 ± 1,03	175,47 ± 1,07	> 0,999
5	5-й	110	110	147,45 ± 2,39	166,03 ± 2,29	> 0,999
9	5-й	120	119	163,93 ± 1,86	173,6 ± 2,1	0,997
1968 г.						
5	2-й	151	150	137,15 ± 1,28	151,22 ± 1,56	> 0,999
9	2-й	198	196	104,66 ± 1,41	125,12 ± 1,62	> 0,999
5×9	2-й	115	115	135,44 ± 1,86	144,59 ± 1,68	> 0,999
9×5	2-й	175	175	106,3 ± 1,79	144,25 ± 1,27	> 0,999
Сов. 5	2-й	124	124	83,45 ± 1,46	15,76 ± 1,92	> 0,999
Сов. 12	2-й	125	125	106,73 ± 1,84	119,51 ± 1,61	> 0,999
Сов. 5×Сов. 12	2-й	197	198	114,48 ± 1,3	121,67 ± 1,47	> 0,999
5	3-й	113	115	95,52 ± 1,06	105,23 ± 1,34	> 0,999
9	3-й	116	120	93,28 ± 0,99	102,66 ± 1,1	> 0,999
9×5	3-й	160	158	110,32 ± 0,88	122,19 ± 0,82	> 0,999
Сов. 5	3-й	100	100	79,96 ± 0,93	90,92 ± 1,45	> 0,999
Сов. 12	3-й	200	200	86,99 ± 0,79	94,31 ± 0,77	> 0,999
Сов. 5×Сов. 12	3-й	200	200	92,64 ± 0,9	96,57 ± 1,1	0,994
5	4-й	93	98	108,96 ± 1,93	115,34 ± 1,6	0,989
9	4-й	96	97	138,62 ± 2,57	137,42 ± 2,93	0,243
9×5	4-й	158	148	111,78 ± 1,07	117,82 ± 1,27	> 0,999
Сов. 12	4-й	260	260	106,98 ± 0,95	113,0 ± 0,91	> 0,999
Сов. 5×Сов. 12	4-й	300	300	110,16 ± 0,78	111,66 ± 0,78	0,826
9×5	5-й	94	96	162,64 ± 2,45	168,23 ± 2,68	0,876
Сов. 12	5-й	58	60	191,65 ± 5,14	219,2 ± 5,06	> 0,999
Сов. 5×Сов. 12	5-й	170	170	173,23 ± 3,15	190,42 ± 3,82	> 0,999

также как и в опытах с дрозофилой, служила средняя продолжительность жизни одной гусеницы без питания.

Результаты опытов с дрозофилой представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы, средняя продолжительность жизни одной мухи без питания для обеих линий больше у самок. Отличия от средней продолжительности жизни самцов статистически достоверны. Эти данные свидетельствуют о большей устойчивости к голоданию особей женского пола (гомогаметного у дрозофилы).

Результаты опытов с тутовым шелкопрядом представлены в таблице 2. Установлено, что средняя продолжительность жизни одной гусеницы без питания больше у самцов. Исключение составляют два случая: незначительное превышение устойчивости к голоданию самок в 4-ом возрасте у линии 9 в 1968 г., но разница статистически недостоверна ($P=0,243$), и большая устойчивость самок по сравнению с самцами во 2-ом возрасте у породы Сов. 5. Последний случай объясняется наличием у самцов этой породы двойной рецессивной мутации (отсутствие пигмента в покровах гусениц, отсутствие пигмента в серозной оболочке яйца и белые глаза у бабочек), значительно понижающей жизнеспособность гусениц, особенно первых возрастов.

Принимая во внимание все остальные показатели средней продолжительности жизни одной гусеницы без питания, можно сделать вывод о большей устойчивости к голоданию особей мужского пола (гомогаметного у тутового шелкопряда).

Полученные данные о связанных с полом различиях в устойчивости к голоданию дрозофилы и тутового шелкопряда свидетельствуют о большей в этих условиях жизнеспособности гомогаметного пола.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л. М. Гуламова. Сб. «Новое в биологии шелкопрядов», М., Сельхозгиз, 1959, 45—54.
2. М. П. Домшак, Н. Г. Даренский, Л. Б. Козлова и В. Г. Хрущев. «Мед. радиология», № 12, 1959, 3.
3. М. И. Ефимов. Тезисы докл. на научн. конф. Киргизск. гос. мед. ин-та, Фрунзе, 1959, 23—24.
4. В. И. Левин. ДАН СССР, 66, № 4, 1949.
5. В. Л. Левин. ДАН СССР, 78, № 1, 1951.
6. П. Г. Светлов. ДАН СССР, 41, № 8, 1943, 354—357.
7. П. Г. Светлов и О. В. Чекановская. ДАН СССР, 46, № 7, 1945, 321—324.
8. П. Г. Светлов. ДАН СССР, 48, № 5, 1945, 377—379.
9. П. Г. Светлов и О. В. Чекановская. Известия АН СССР, № 2, 1949, 201—207.
10. В. А. Струнников, Л. М. Гуламова. Авт. св. СССР, № 139 876, 5.08.61.
11. А. С. Султаналиев. Тез. докл. на научн. сессии, посвященной 15-летию Киргизск. гос. мед. ин-та, Фрунзе, 1954, 28—32.

12. А. С. Султаналиев. ДАН СССР, 102, № 5, 1955, 1051—1052.
13. А. С. Султаналиев. ДАН СССР, 109, № 6, 1956, 1215—1217.
14. М. Т. Туркменов. Сб. «Проблемы влияния высокогорья на организм», Тр. 1-й выезд. научн. сессии ин-та краевой медицины, Фрунзе, 1961, 93—137.
15. Childs Barton, Cantolino Salvatore, Dyke Myriel K. Bull. Johns Hopkins Hospital, 110, № 3, 1962, 134—144.
16. Colombo Giuseppe. Cariologia, 11, № 3, 1959, 273—296.
17. C. E. Hall, O. Hall, E. Cross, A. R. Adams. Texas Repts Biol. and Med., 17, № 2, 1959, 210—214.
18. Shettles Landrum B. J. Obstetr. and Gynaekol. Brit. Empire, 65, № 2, 1958, 288—295.
19. Watanabe Hitoshi. J. Sericult. Sci. Japan, 28, № 3, 1959, 114—119.
20. J. A. Weir, Haubenstok Harriette, S. L. Beck. J. Heredity, 49, № 5, 1958, 217—222.
21. Yoshioka Hiroto, Isikawa Toru. Yokohama Med. Bull., 1962, 13, № 1, 27—35.

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФЕРТИЛЬНОСТИ И ПРОЯВЛЕНИЕ ГЕТЕРОЗИСА В ОНТОГЕНЕЗЕ КУКУРУЗЫ

Т. А. Червоненко

Кафедра генетики и цитологии

Цитоплазматическая мужская стерильность, характеризующаяся отсутствием пыльцы, широко распространена среди цветковых растений. Мутанты с подобной аномалией обнаружены у большинства сельскохозяйственных культур. Наличие стерильности позволяет с наибольшей эффективностью использовать явление гетерозиса.

Исследователи, изучающие ЦМС у кукурузы, пришли к выводу о том, что при этом мы постоянно сталкиваемся с проявлением гетерозиса (М. И. Хаджинов [5], Г. С. Галеев [1], Б. П. Соколов [4], В. Е. Козубенко [2], А. Е. Коварский [3] и др.). Установлено, что если в обычных условиях некоторые стерильные формы и не превосходят свои фертильные аналоги, то в «жестких» условиях (почвенная и атмосферная засуха, загущенные посевы) бесспорное преимущество принадлежит стерильным формам.

Изучение особенностей развития стерильных форм [7] позволило установить, что женские репродуктивные органы на фоне измененных физиолого-биохимических систем растения развиваются быстрее, нежели у фертильных аналогов, в результате чего за сравнительно короткий период у стерильных форм по длине початка появляется большее число колосковых буторков, а в итоге и зерен. Закладывается и развивается также большее число пазушных почек (потенциальных початков).

Аналогичные результаты мы получили при исследовании особенностей органогенеза гетерозисных форм кукурузы и их ис-

ходных форм самоопыленных линий [6]. Поскольку стерильные формы и их фертильные аналоги идентичны по генотипу и различаются лишь цитоплазмой, значит, в проявлении гетерозиса у стерильных форм кукурузы имеет место реализации не только ядерной генетической информации, но и цитоплазматической. В 1964—1968 гг. были изучены особенности роста и развития восстановленного по цветению сорто-линейного гибрида кукурузы Буковинской-3 ТС, созданного на базе стерильности, и выявлены его отличия по сравнению с обычной фертильной формой гибрида.

Наблюдения за интенсивностью появления всходов и листьев показали некоторые преимущества восстановленной формы. Органогенез метелки у этой формы на ранних этапах несколько опережает дифференциацию метелки фертильных форм: у 77% растений, восстановленных по цветению форм 30 мая отмечена фаза образования первичных валиков, в то время как у фертильных форм наблюдалась лишь фаза удлинения стеблевого конуса нарастания. Микроспорогенез и гаметогенез у обеих форм протекал без отклонений, в сходные сроки. После распада тетрад были получены примерно одинаковые по величине пыльцевые зерна (величина пыльцевого зерна 4 июня у восстановленной формы — 5,6 мк, а у фертильной — 5,0 при $t=0,04$; а 12 июля соответственно 6,3 и 5,7 мк при $t=0,4$). Молодые микроспоры были хорошо выполнены зернистой цитоплазмой, содержали большое количество пластических и физиологически активных веществ, число которых у восстановленной и фертильной форм было одинаковым и не уменьшалось у зрелой пыльцы, что свойственно для стерильных форм. Цитологический анализ пыльников восстановленной формы позволил установить, что выстилающий слой пыльника (тапетум) исчезает полностью, в то время как у стерильной формы тапетум сохраняется и вследствие нарушения питания растущих пыльцевых зерен происходит их дегенерация.

Таким образом, введение генов-восстановителей фертильности в генотип восстановленного гибрида Буковинский-3 ТС способствует полному восстановлению фертильности (нормальное анатомическое развитие пыльников, нормализация физиолого-биохимических процессов в организме).

К интересным выводам приводят наблюдения за особенностями развития женских репродуктивных органов. У восстановленной формы гибрида Буковинский-3 ТС появляется большое количество пазушных почек, атрофия пазушных почек происходит медленнее. Это ведет к развитию большого числа початков на одно растение у восстановленной формы (1,2 против 1,1 у фертильной), кроме того конус нарастания удлиняется быстрее у восстановленной формы (см. таблицу). Одновременно у восстановленной формы наблюдается ускорение темпов дифференциации початка: 13 июня у 40% растений восстановленной фор-

мы отмечена фаза образования колосковых, а у 60% — цветковых бугорков, в то же время у 10% растений фертильной формы наблюдалось лишь образование колосковых бугорков. В результате более быстрой дифференциации початка по его длине развивается большое число колосковых, а затем и цветковых бугорков, что в итоге приводит к более высокой озерненности початка. С быстрым развитием початка связано ранее появление и увядание рылец у восстановленной формы гибрида по сравнению с фертильной.

Развитие женских соцветий

Формы	Количество па- зушных почек на одно растение				Длина початка, см				Количество ко- лосковых бугор- ков по длине початка			
	8.VI	13.VI	8.VII	14.VII	8.VI	13.VI	8.VII	14.VII	8.VI	13.VI	8.VII	14.VII
Восстановленная	3,6	5,4	6,4	6,0	1,8	2,3	7,0	16,0	41	38	39	38
Фертильная . . .	3,0	4,2	5,2	5,1	1,5	1,7	5,5	14,0	37	31	33	35

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что введение генов-восстановителей фертильности в генотип сортолинейного гибрида кукурузы Буковинский-3 ТС полностью нормализует все физиолого-биохимические процессы растения, способствует развитию нормальной фертильной пыльцы, богатой физиологически активными и пластическими веществами; нормализует своевременный распад выстилающего слоя пыльников, используемого растущими пыльцевыми зернами в качестве запасных питательных веществ.

Однако использование в качестве материнской формы сорта Глория Янецкого ТС для растений не проходит бесследно: восстановленная форма сортолинейного гибрида Буковинский-3 ТС более скороспела и устойчива к неблагоприятным внешним условиям, что свойственно всем гетерозисным формам кукурузы.

Это дает основание предполагать, что в реализации сложного явления гетерозиса у кукурузы, очевидно, происходит взаимодействие генетической информации ядра и цитоплазмы, что и подлежит дальнейшему изучению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. С. Галеев. Сб. «Стерильность в селекции кукурузы». Изд-во Академии сельскохозяйств. наук. УССР, К., 1962.

2. В. Е. Козубенко и др. Изменчивость стерильности и продуктивности растений кукурузы при разных условиях выращивания.— Вестник сельскохозяйственной науки, № 1, 1963.

3. А. Е. Коварский др. Сб. «Стерильность в селекции кукурузы», Изд-во Академии сельскохозяйственных наук УССР, К., 1962.
4. Б. П. Соколов. Сб. «Стерильность в селекции кукурузы», Изд-во Академии сельскохозяйств. наук УССР, К., 1962.
5. М. И. Хаджинов. Сб. «Стерильность в селекции кукурузы». Изд. Академии сельскохозяйств. наук УССР, К., 1962.
6. Т. А. Червоненко. Сб. «Морфогенез растений», т. 1, Изд-во МГУ, М., 1961.
7. Т. А. Червоненко. Тр. Укр. ин-та растениеводства, селекции и генетики, т. 7, X., 1962.

О БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОТЕНЦИАЛЕ КЛЕТОЧНОГО ЯДРА

В. Г. Шахбазов, Е. Ф. Копейка, А. Л. Набоков

Кафедра генетики и цитологии

Вопросу о биоэлектрическом потенциале (БЭП) мембраны клеточного ядра посвящено несколько исследований. На мембране крупных ядер клеток слюнной железы дрозофилы и на ядрах нейронов моллюсков были отмечены более высокие в сравнении с клеточной мембраной значения отрицательного потенциала [1—4]. Однако, этот вопрос изучен пока недостаточно. Многие исследователи выражают сомнение в реальности более высокого потенциала ядерной мембраны. Высказывались предположения о разной степени шунтирования клетки при прохождении через нее электрода, что и создает впечатление второго скачка отрицательного потенциала. Основанием для скепсиса является также обнаруженная посредством электронной микроскопии пористая структура ядерной мембраны. Новыми измерениями в клетках слюнной железы дрозофилы ядерные потенциалы не были обнаружены [5].

На кафедре генетики Харьковского университета измерения клеточных БЭП проводились в связи с исследованием физиологических и биофизических различий между организмами инбредными и гибридными, гетерозисными. В 1963 г., изучая БЭП проростков кукурузы, мы обнаружили двойные повышения отрицательного потенциала при прохождении электрода через клетку, причем повторные более высокие величины БЭП отмечались значительно чаще при измерениях в области меристемы корня, чем в зоне растяжения клеток. На основании этих измерений был сделан вывод о том, что второе повышение потенциала наблюдается тогда, когда электрод попадает в клеточное ядро. Это предположение подкреплялось совпадением большей частоты повторных повышений потенциалов с большей плотностью клеточных ядер в зоне меристемы по сравнению с зоной роста клеток. По величинам потенциалов в зоне клеточного ядра между гибридными и инбредными проростками

были отмечены различия [6, 7]. Предположение, сделанное ранее о более высоких потенциалах зоны клеточного ядра, требовало дальнейших доказательств. С этой целью проведено настоящее исследование.

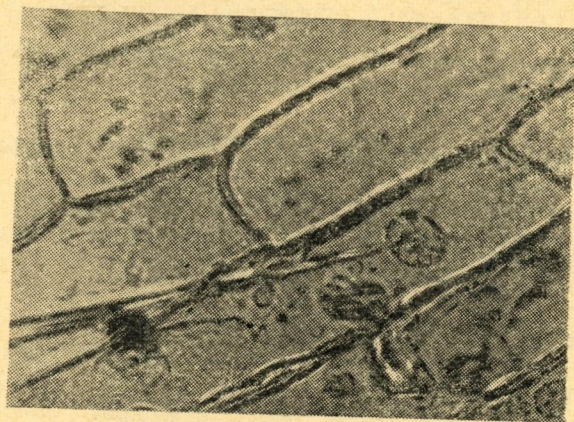


Рис. 1. Микроэлектрод в ядре клетки эпидермиса лука (окуляр 15, объектив 45).

Удобными объектами для измерений БЭП с визуальным контролем за положением кончика микроэлектрода в клетке оказались клетки эпидермиса чешуй лукавицы (*Allium sera*).

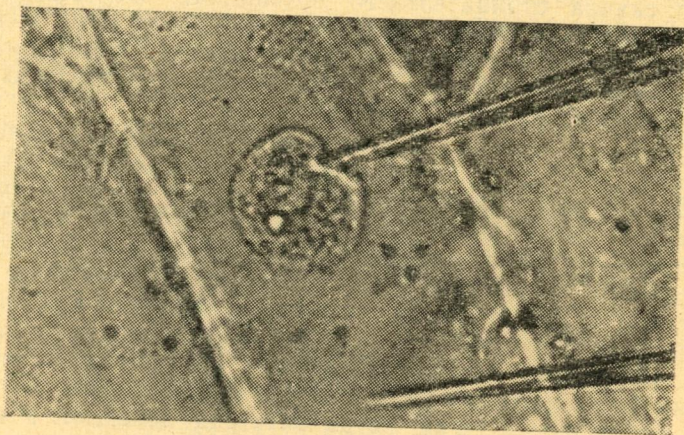


Рис. 2. Измерение ядерного потенциала по отношению к индифферентному электроду в цитоплазме той же клетки.

Применялись микроэлектроды из стекла пирекс с толщиной кончика около 0,5 мк. Для регистрации использовался уси-

тель постоянного тока, с высокоомным симметричным входом. Микроэлектрод в клетку и в ядро вводился посредством оригинального микроманипулятора. Индифферентный электрод помещали в небольшую кювету с водой, в которой находился исследуемый объект. Введение электрода в клеточное ядро четко контролировалось визуально. Определялась разность потенциалов между органоидами клетки и внешней для клетки и ткани средой (рис. 1). В других случаях в клетку вводились два электрода и измерялась разность потенциалов между мембраной или фазой ядра и цитоплазмой той же клетки (рис. 2).

Применение оригинальной методики позволило получить кривые распределения БЭП (рис. 3) при прокалывании электродом клеточной и ядерной мембран и при прохождении электрода в фазе цитоплазмы и карิโอплазмы. Переход электрода из цитоплазмы в ядро обычно сопровождается изменением БЭП. Однако, в отличие от мембраны клетки на мембране клеточного ядра обнаружены как отрицательные, так и положительные величины БЭП. Изменения потенциалов напоминают плато, которое отмечается самописцем, за время пребывания электрода в клеточном ядре. Высота этого плато бывает разной. Для исследованных клеток лука и кукурузы она колебалась по отношению к фазе цитоплазмы в пределах от +13 до -18 мВ. Различия в величинах и знаке БЭП ядерной мембраны и фазы ядра связаны с функциональным состоянием клеток и с их генотипом.

По мере повреждения клеток под влиянием неблагоприятной среды и прокола электродом БЭП и клетки и ядра снижается и в процессе отмирания доходит до нуля. Специальные опыты с прогревом клеток также показали, что тепловое повреждение резко снижает потенциалы клеточной мембраны и мембраны ядра.

Все результаты измерений свидетельствуют о том, что величина потенциала ядра весьма лабильна; этим, по-видимому, и объясняется сложность получения воспроизводимых результатов. Как можно судить по форме кривых, вся фаза ядра (хро-

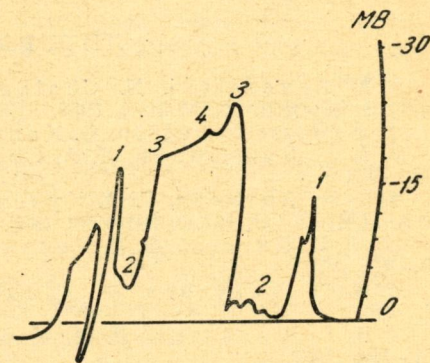


Рис. 3. Кривые изменений величины БЭП при прохождении электрода через клетку: 1 — клеточная мембрана, 2 — цитоплазма, 3 — мембрана ядра, 4 — карิโอплазма.

матин и кариоплазма) по электрическим свойствам — это единое целое. Представления о значении фазы в биоэлектrogenезе в отношении ядра, по-видимому, еще более вероятны, чем в отношении всей клетки.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что для данного объекта мембраны клеточного ядра обладают БЭП, отличным от клеточных мембран. В генерации потенциала ядра очевидно, участвует весь ядерный аппарат. БЭП клеточного ядра связан с состоянием клетки и генотипом и исчезает при ее отмирании.

ЛИТЕРАТУРА

1. A. Arvanitaki, N. Chalazonitis. Bull. de L Institut Océanograph. Monaco, 53, № 1079, 1956.
2. W. R. Lowenstein, G. Kanpo. Nature, 195, № 4840, 462, 1962.
3. Б. Н. Вепринцев, Д. А. Сахаров. Ж. «Биофизика», т. 8 № 4, 526, 1963.
4. В. Ф. Антонов, Г. А. Курелла, И. Ф. Мещинин, У. Бенц. ДАН СССР, 161, 3, 691—693, 1965.
5. А. Н. Кислов, Б. Н. Вепринцев. Ж. «Биофизика», т. 15, в. 1, 99—103, 1970.
6. В. Г. Шахбазов. Ж. «Цитология и генетика», т. 1, № 4, 74—79, 1967.
7. В. Г. Шахбазов, Л. В. Котенко. Известия АН СССР, № 6, 891—894, 1967.

ВЛИЯНИЕ МИЛЛИМЕТРОВЫХ, СУБМИЛЛИМЕТРОВЫХ ВОЛН И ИЗЛУЧЕНИЙ ЛАЗЕРА НА РАЗВИТИЕ

Drosophila melanogaster

Н. П. Залюбовская, Л. М. Чепель, В. Г. Шахбазов

Кафедра генетики и цитологии

В комплексе физических факторов, повседневно действующих на живые организмы, энергия электромагнитного поля различной частоты и напряженности играет важную роль. Поэтому в последние годы растет число исследований, связанных с выяснением биологической эффективности ЭМП различных диапазонов. Действие электромагнитных волн миллиметрового и субмиллиметрового диапазонов на живые организмы остается мало изученным. Однако в связи с широким использованием указанных частот в радиотехнике, телевидении и целом ряде других отраслей науки и техники оценка биологических эффектов этих волн является крайне важной.

На основании литературных данных можно заключить, что электромагнитные поля сантиметрового и миллиметрового диапазонов обладают выраженным биологическим действием на

живые организмы [1]. Сведения же о генетических эффектах этих излучений немногочисленны, отрывочны и часто противоречивы [2]. Было показано [3], что у насекомых, бактерий, растений путем воздействия импульсными ЭМП можно вызвать мутации, подобные возникающим при ионизирующих облучениях. При воздействии на дрозофилу [4] импульсными полями СВЧ в диапазоне частот от 5 до 40 МГц и при напряженности поля от 250 до 6000 в/м отмечались как патологические, наследуемые, так и наследуемые изменения. Неоднократно возникавшие определенные мутации, по-видимому, указывали на особую чувствительность к ЭМП некоторых генов. После воздействия ЭМП отмечалось изменение плодовитости, способности к размножению, менялась величина реакций разных линий дрозофилы на действие СВЧ, ЭМП были нами отмечены ранее [5].

Широкое применение в биологии квантовых генераторов (лазеров) вызвало интерес и к взаимодействию когерентного монохроматического электромагнитного излучения с различными биологическими системами. Для успешного изучения этого нового вопроса важен подбор хорошей биологической модели. В наших опытах удобным во всех отношениях объектом служила плодовая мушка *Drosophila melanogaster*.

Наша задача состояла в изучении эффектов, наблюдаемых при указанных облучениях в первом и втором поколениях. При этом большое внимание уделялось наследованию изменений таких количественных признаков, как плодовитость, жизнеспособность, скорость роста. Изменения такого типа, возникающие при некоторых внешних воздействиях, затухающие в ряду поколений, называют в отличие от мутаций длительными модификациями. Однако практическое значение последних может оказаться не меньшим, чем мутаций.

С целью выяснения специфического, т. е. нетеплового, действия излучений, использовались генераторы малой мощности. В качестве источников облучения применяли генератор, работающий на ОВ-12 8÷5 мм с мощностью 10 мвт; лазер, работающий на СО₂ с длиной волны 300, 30 и 10 мк и лазер типа ОКГ-13, с длиной волны, 0,638 мк и мощностью 0,2 мвт.

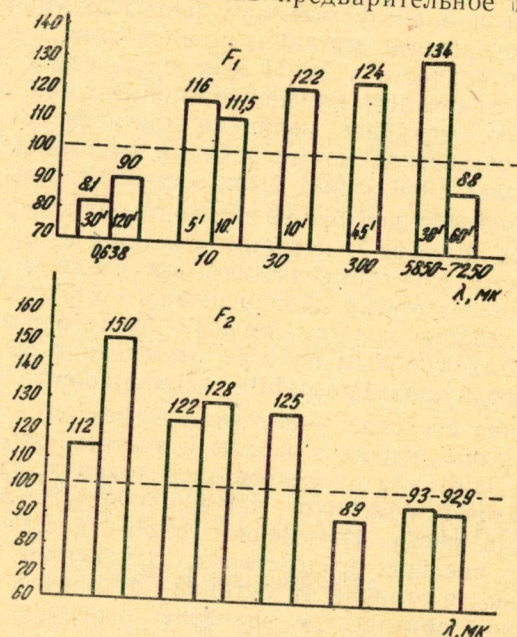
Имаго инбредных линий дрозофилы подвергались указанным воздействиям перед спариванием. Экспозиции облучений подбирались эмпирически в зависимости от мощности источника. При мощности лазера 0,2 мвт — 120 мин; 10 мвт (10, 30 мк) — 10 мин; 1 мвт (300 мк) — 45 мин; 10 мвт (5—7 мм) — 30, 60 мин.

Как видно на рисунке, по мере увеличения λ в первом поколении проявляется эффект стимуляции плодовитости и жизнеспособности, однако во втором поколении эти эффекты исчезают. При действии излучений лазера и более коротких волн

(10—30 мк) во втором поколении наблюдается заметный эффект стимуляции. Интересно отметить, что эффекты облучения в первом и втором поколениях часто оказывались противоположными.

Эти данные нуждаются в проверке и дополнении. Для установления частоты необходимо получение дозовых кривых.

Наши результаты отражают начальный этап исследования и позволяют высказать лишь предварительное предположение



Влияние электромагнитных волн разных частот на плодовитость *Drosophila melanogaster* в первом и втором поколениях после облучения, % по отношению к контролю.

о большей генетической активности излучений лазера и коротких субмиллиметровых волн в сравнении с длинными в изучаемом диапазоне частот.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. С. Пресман. Электромагнитные поля и живая природа. Изд. «Наука», М., 1968.
2. М. М. Виленчик. «Успехи современной биологии», т. 63, № 1, 1969.
3. Heller J., Teixeira-Pinto A., Nature, 183, 905, 1959.
4. Mickey G., N. Y. state, J. Med., 63, 1935, 1963.
5. В. Г. Шахбазов, Л. М. Чепель, Г. Е. Жилина. Ж. «Электронная обработка материалов». Изд. АН МССР, 3, 71—74, 1968.

СОДЕРЖАНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ У ГИБРИДНЫХ И ИСХОДНЫХ ФОРМ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

А. И. Булавин, Ю. Г. Довгаль

Кафедра генетики и цитологии

Известно, что гетерозисные гибридные растения обладают повышенной продуктивностью, поэтому мы исследовали содержание нуклеиновых кислот у гибридных и исходных форм сахарной свеклы с целью изучения гетерозиса.

Исходным материалом в нашей работе были сорт многосемянной свеклы сахаристого направления ЯНАШ-3 м.с. (потомство растений с мужской стерильностью); гибрид, полученный от скрещивания сорта ЯНАШ-3 м.с. с БЦО-4 п; сорт белоцерковская односемянная, тетраплоидная форма — БЦО-4 п. Опыт был заложен в полевых условиях весной 1967 г. Площадь учетной делянки каждого варианта опыта составляла 20 кв.м при четырехкратной повторности.

В течение периода вегетации 15 июня, 15 июля и 15 сентября брались средние пробы листьев с 10 растений каждого варианта в четырех повторностях. Содержание нуклеиновых кислот в листьях сахарной свеклы определяли по фосфору методом Шмидта и Танхаузера.

Таблица 1

Урожай и сахаристость гибридных растений

Варианты опыта	Урожай корней		Сахаристость	Сбор	Сахара
	ц/га	% от контроля	%	ц/га	% от контроля
ЯНАШ-3 м.с.	372	101,3	18,4	68,4	104,1
ЯНАШ-3 м.с × БЦО 4 п	391	106,5	18,3	71,5	108,8
БЦО 4 п-контроль	367	100,0	17,9	65,7	100,0

В период уборки мы провели анализ урожая с целью определения продуктивности растений (табл.1). Данные табл. 1 свидетельствуют о том, что гибрид, полученный от свободного перекрестного опыления сорта ЯНАШ-3 м.с. и сорта БЦО тетраплоидной формы, превосходит исходные сорта по урожайности и сбору сахара, несколько уступая по сахаристости сорту ЯНАШ-3 м.с.

Результаты биохимических исследований показывают, что гибридные растения содержат больше общего фосфора нуклеиновых кислот и фосфора РНК, чем растения родительских сортов, особенно в начальный период роста (табл. 2).

Таблица

Динамика содержания нуклеиновых кислот в листьях сахарной свеклы, M_2
1 г сухого вещества

Варианты опыта	15 июня			15 июля	15 сентября		
	НК	РНК	ДНК	НК	НК	РНК	ДНК
ЯНАШ-3 м.с	0,141	0,036	0,105	0,153	0,088	0,068	0,087
ЯНАШ-3 м.с $\times$ БЦО 4 п .	0,178	0,109	0,069	0,154	0,131	0,103	0,087
БЦО 4 п	0,087	0,032	0,055	0,133	0,192	0,072	0,087

Полученные данные свидетельствуют о том, что повышенное содержание РНК у гибридных растений, очевидно, обусловлено более интенсивным синтезом белка, это в свою очередь приводит к повышению их продуктивности. Более высокое содержание нуклеиновых кислот в конце вегетации у тетраплоидной формы в сравнении с гибридными и диплоидными растениями, вероятно, можно объяснить их позднеспелостью, а также полиплоидностью.

Изложенные выше результаты следует рассматривать как предварительные.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МЯСА КРОЛИКОВ ПРИ ЧИСТОПОРОДНОМ РАЗВЕДЕНИИ И ПРОМЫШЛЕННОМ СКРЕЩИВАНИИ

М. П. Тихонова

Кафедра зоологии позвоночных

Гетерозис широко используется во всех отраслях животноводства, в том числе и в кролиководстве, являясь одним из наиболее эффективных средств повышения продуктивности сельскохозяйственных животных. При промышленном разведении кроликов с теоретической и практической точек зрения большое значение имеет качественный состав мяса. Для определения его от каждой группы чистопородных и помесных животных нами было забито в 6-месячном возрасте по 5 кроликов, всего 35 голов. Результаты химического анализа мяса чистопородных и помесных кроликов приведены в таблице.

Из данных таблицы видно, что мясо помесных кроликов по сравнению с мясом чистопородных меньше содержит воды и больше белка. По содержанию золы и жира помесные кролики не отличаются от чистопородных.

Химический состав мяса чистопородных и помесных животных, %

Животные	Химические элементы	Группа	M	$\pm m$	t	$t_{0,950}$
Серый великан Шиншилла Помеси	Вода	1	77,49	0,20	20,5	2,31
		2	76,77	0,08	5,5	
		3	75,77	0,17		
	Сухое вещество	1	22,51	0,20	9,5	2,31
		2	23,23	0,08	5,3	
		3	24,23	0,17		
	Белок	1	19,39	0,20	6,8	2,31
		2	19,39	0,19	6,8	
		3	20,57	0,37		
	Жир	1	1,98	0,23	2,4	2,31
		2	1,86	0,24	2,8	
		3	2,6	0,11		
Серый великан Бабочка Помеси	Вода	1	77,49	0,20	20,2	2,31
		2	77,81	0,25	9,1	
		3	75,42	0,08		
	Сухое вещество	1	22,51	0,20	8,9	2,31
		2	22,19	0,20	5,5	
		3	24,58	0,08		
	Белок	1	19,39	0,20	6,9	2,31
		2	18,65	0,23	7,3	
		3	20,97	0,22		
	Жир	1	1,98	0,23	2,0	2,31
		2	2,34	0,14	0,87	
		3	2,48	0,30		
Серый великан Белый великан Помеси	Вода	1	77,49	0,20	20,4	2,31
		2	77,18	0,20	6,8	
		3	74,23	0,36		
	Сухое вещество	1	22,51	0,20	8,9	2,31
		2	22,81	0,23	13,2	
		3	25,77	0,36		
	Белок	1	19,39	0,20	32	2,31
		2	19,62	0,30	19,8	
		3	22,18	0,06		
	Жир	1	1,98	0,23	1,5	2,31
		2	2,04	0,35	1,08	
		3	2,46	0,22		