

Ю. Б. ФИЛИППОВИЧ, Г. А. СЕВАСТЬЯНОВА, О. Д. ВИДУТА

ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНОГО СОСТОЯНИЯ ДНК В ОНТОГЕНЕЗЕ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

(Представлено академиком А. С. Спириным 6 II 1974)

В процессе развития насекомых, особенно во время перехода из одного фазового состояния в другое, наблюдается активный синтез нуклеиновых кислот, белков и других биополимеров. При этом происходит разрыхление отдельных участков ДНК, дестабилизация ее вторичной структуры, что сопровождается редупликацией ДНК и появлением способности к синтезу РНК на ней в качестве матрицы ⁽¹⁾. Имеющиеся в литературе данные о структурном состоянии ДНК ^(2, 3), в качестве реального показателя метаболической активности генома, побудили нас обратиться к изучению этого явления у тутового шелкопряда (*Bombyx mori* L.) в процессе его онтогенеза.

Объектом исследования служил тутовый шелкопряд породы СК-2 в следующие фазы и сроки развития: грена (неоплодотворенная, свежееотложенная, грена через 3, 12, 24, 36 час. после кладки, диапаузирующая, зимующая, грена на 2-й, 4-й, 6-й и 9-й дни весеннего развития), личинки (начало и конец всех пяти возрастов), предкуколка, куколка и бабочка. Начиная со стадии предкуколки самцов и самок брали раздельно.

Выделение ДНК проводили по методу Кирби в модификации Кита ⁽⁴⁾. Для характеристики структурного состояния ДНК использовали реакцию препарата ДНК с формальдегидом ^(2, 5) и фракционирование ее хлороформом ^(2, 6, 7). Полученные данные (рис. 1) показывают, что закономерности, обнаруженные в опытах с формальдегидом, воспроизводятся и в опытах по фракционированию препаратов ДНК хлороформом.

Максимальная степень высвобождения метаболически активной ДНК в грене наблюдается через 12 час. после кладки; в период диапаузы и зимовки метаболически активная ДНК в грене отсутствует. Она обнаруживается с самого начала весеннего развития грены, причем ее количество резко возрастает на 2-й день постдиапаузного развития, несколько снижается к 6-му дню и снова возрастает на 9-й день развития, т. е. перед выходом мурашей. Отмеченные результаты согласуются с ранее полученными данными по динамике содержания ДНК и РНК в грене тутового шелкопряда ⁽⁸⁾, так как максимальная степень дестабилизации ДНК зародыша тутового шелкопряда предшествует увеличению содержания в нем указанных нуклеиновых кислот (грена через 36 час. после кладки и на 6-й день весеннего развития).

Стадия диапаузы у насекомых определяется как состояние глубокой депрессии метаболизма ⁽⁹⁾, а именно — сокращение до минимума дыхания, остановка процессов роста и развития и прекращение клеточных делений. Именно на этой стадии мы не обнаружили фракции метаболически активной ДНК. Период весеннего развития зародыша характеризуется быстрым ростом его в первые 2—3 дня и перед выходом мурашей. В этих точках весеннего развития ДНК зародыша имеет наибольшую величину дестабилизации биспиральной структуры.

В ходе личиночного развития (рис. 1) наблюдается цикличность процессов дестабилизации и стабилизации структуры ДНК: наибольшее со-

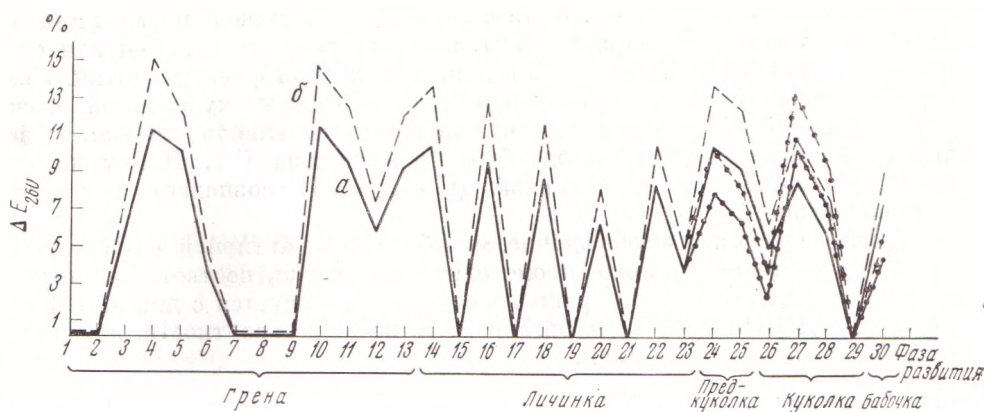


Рис. 1. Изменение оптической плотности растворов ДНК, выделенной из грены, личинок, куколок и имаго тутового шелкопряда после инкубации с формальдегидом (а) и фракционирования хлороформом (б). Точками обозначена ДНК самок. 1 — неоплодотворенная гrena, 2 — свежееотложенная, 3 — 3 часа после кладки, 4 — 12 час., 5 — 24 часа, 6 — 36 час., 7 — диапаузирующая гrena, 8 — начало зимовки, 9 — конец зимовки, 10 — 2-й день развития, 11 — 4-й, 12 — 6-ой, 13 — 9-й, 14 — начало I возраста, 15 — конец I возраста, 16 — начало II возраста, 17 — конец II возраста, 18 — начало III возраста, 19 — конец III возраста, 20 — начало IV возраста, 21 — конец IV возраста, 22 — начало V возраста, 23 — конец V возраста, 24 — 1-й день завивки кокона, 25 — 3-й день завивки кокона, 26 — 1-й день развития, 27 — 4-й, 28 — 7-й, 29 — 10-й, 30 — бабочка в день вылета из кокона

держание метаболически активной ДНК характерно для начала каждого возраста (сразу после линьки), наименьшее — в конце каждого возраста (перед линькой). Ясно вырисовывается также тенденция к снижению количества метаболически активной ДНК у только что прошедших линьку гусениц от I к IV возрасту и увеличение этого показателя сразу после линьки на V возраст. Динамика синтеза ядерной ДНК и РНК в различных тканях тутового шелкопряда такова ⁽¹⁰⁾, что ясно подтверждает наличие максимального ее новообразования именно в процессе линьки. Возрастные циклы, выявленные при исследовании активности окислительно-восстановительных ферментов и интенсивности газообмена у этого же насекомого ⁽¹¹⁾, довольно четко коррелируют с цикличностью дестабилизации и стабилизации структуры ДНК у него в процессе личиночного развития шелкопряда, отмеченной в наших опытах.

Вслед за личиночной фазой развития шелкопряда наступает период глубокой морфологической перестройки его организма — метаморфоз. В период окукливания (рис. 1) метаболически активная ДНК в первый день завивки кокона представлена в большей степени у самцов, что, вероятно, связано с завершением у них к этому времени процесса сперматогенеза. Количество метаболически активной ДНК несколько уменьшается к моменту образования куколки, а затем существенно возрастает к 4-му дню куколочной фазы развития, но уже в большей степени у самок, у которых как раз здесь интенсивно протекает процесс овогенеза. В период с 4-го по 7-й день куколочной фазы развития содержание метаболически активной ДНК несколько снижается, совсем не выявляясь в момент завершения линьки на бабочку и характеризуется сравнительно невысоким значением у только что вышедшей из кокона бабочки.

Метаморфоз насекомых и морфогенетические процессы у них в целом, равно как и биосинтез нуклеиновых кислот, находятся под гормональным контролем ⁽¹²⁾. Экспериментально показано, что экдизон прямо или косвенно активизирует гены и стимулирует образование мРНК ⁽¹³⁾, контролирует синтез белков ⁽¹⁴⁾ и ДНК ⁽¹⁵⁾. Поэтому известный интерес представляет сравнение титров экдизона и метаболически активной ДНК в про-

цессе онтогенеза насекомых. Экдизон не был обнаружен перед линькой личинок тутового шелкопряда (^{16, 17}), высокий титр его отмечен для стадии предкуколки, низкий — на 2-й день куколочной фазы развития. Увеличение титра экдизона характерно для середины куколочной фазы (^{16, 18}), уменьшение — к периоду кукольно-имагинальной линьки, и затем повышение — в день выхода бабочки из кокона (¹⁸). Динамика содержания метаболически активной ДНК (рис. 1) совпадает с таковой титра экдизона.

Таким образом, высвобождение метаболически активной ДНК в онтогенезе тутового шелкопряда происходит циклически, соответствуя основным фазам и этапам в развитии насекомого, согласуется с динамикой содержания ДНК и РНК в его организме и, по всей вероятности, находится под гормональным контролем.

Московский государственный
педагогический институт
им. В. И. Ленина

Поступило
1 II 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ И. И. Кикнадзе, Функциональная организация хромосом, «Наука», 1972.
- ² В. С. Дашкевич, Исследование состояния ДНК интенсивно делящихся клеток. Кандидатская диссертация, Новосибирск, 1965.
- ³ А. Ф. Яковлев, Гетерогенность препаратов ДНК печени кур в их онтогенезе при разных методах разведения. Автореф. кандидатской диссертации, Л.—Пушкин, 1968.
- ⁴ S. Kit, Arch. Biochem. and Biophys., v. 87, № 2, 318 (1960).
- ⁵ N. K. Sarkar, A. L. Dounce, Arch. Biophys., v. 92, № 2, 321 (1961).
- ⁶ M. Piechowska, D. Shugar, Acta biochim. polonica, v. 10, № 3, 263 (1963).
- ⁷ M. Piechowska, D. Shugar, Acta biochim. polonica, v. 12, № 1, 11 (1965).
- ⁸ А. С. Коничев, Уч. зап. МГПИ им. В. И. Ленина, т. 16, 135 (1974).
- ⁹ Р. С. Ушагинская, Журн. общ. биол., т. 34, № 2, 194 (1973).
- ¹⁰ H. Akai, K. J. Park, Appl. Entomol and Zool., v. 6, № 2, 63 (1971).
- ¹¹ Н. М. Тихонравова, Особенности обмена веществ некоторых Holometabola на разных стадиях и этапах онтогенеза. (Соотношение процессов окисления и дегидрирования). Автореф. кандидатской диссертации, М., 1973.
- ¹² Ю. Б. Филиппович, Биохимия, т. 38, № 3, 644 (1973).
- ¹³ P. Karlson, Perspect Biol. Med., v. 6, № 2, 203 (1963).
- ¹⁴ E. Shaaya, C. Sekeris, Gen. Comp. Endocrinol., v. 5, № 1, 35 (1965).
- ¹⁵ A. Krishnakumaran, S. Berry et al., J. Insect. Physiol., v. 13, № 1, 1 (1967).
- ¹⁶ D. Feir, G. Winkler, J. Insect Physiol., v. 15, № 5, 721 (1969).
- ¹⁷ E. Shaaya, P. Karlson, Develop. Biol., v. 11, № 3, 424 (1965).
- ¹⁸ W. J. Burdette, Science (N. Y.), v. 135, № 3502, 432 (1962).