

Г. Г. РУНКОВА, Н. Ф. ЗАВАДА

## ВНУТРИВИДОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ МЫШЦ ДВУХ ВИДОВ ПОЛЕВОК

(Представлено академиком С. С. Шеварцем 15 III 1974)

В процессе изучения биохимических механизмов микроэволюции нами были обнаружены явные признаки дифференциации внутри вида полевки-экономки по таким показателям, как эндогенная активность оксидаз, скорость анаэробного гликолиза, активность лактатдегидрогеназы и ее изоэнзимов (<sup>1</sup>, <sup>2</sup>). Данные результаты были получены в условиях кратковременного экстремального охлаждения животных и их акклимации к температуре 0, +6°. Представляло интерес исследовать в том же направлении сукцинатдегидрогеназу мышц (1.3.99.1). В литературе существует много высказываний и соответствующих данных относительно особой роли янтарной кислоты и фермента, обеспечивающего ее окисление, в адаптации организма к низким температурам (<sup>3-8</sup>). Сведения относительно изменений активности сукцинатдегидрогеназы мышц в процессе адаптации к охлаждению у разных видов и внутривидовых групп, насколько нам известно, отсутствуют.

В настоящей работе представлены результаты сравнительного изучения активности сукцинатдегидрогеназы мышц у южных и северных подвидов полевки-экономки и узкочерепной полевки в условиях экстремального охлаждения и акклимации.

В опытах на полевках-экономках (*Microtus oeconomus oeconomus* Pallas, *Microtus oeconomus chachlovi* Scalon) использованы 2—3-месячные самцы 7—10-го поколения животных, полученных при разведении в виварии. В опыты на узкочерепных полевках (*Microtus gregalis gregalis* Pallas, *Microtus gregalis major* Ognev) брали самцов и самок того же возраста, полученных в тех же условиях разведения. Основатели модельных популяций привезены из районов Среднего Урала (южные подвиды) и с полуострова Ямал (северные подвиды).

Исследования проводились по плану полного факторного эксперимента типа 2<sup>3</sup> (<sup>9</sup>). На северных и южных полевках-экономках (серия 1) исследовалось влияние экстремального 20-минутного охлаждения (при —15°), 9-дневная акклимация (при 0,2°) и указанное экстремальное охлаждение (—15°) животных, после предварительной акклимации к температуре 0, 2°. На узкочерепных полевках (серия 2) изучалось влияние экстремального 20-минутного общего охлаждения при температуре —15° в зависимости от принадлежности животного к южному или северному подвиду и полу.

Активность сукцинатдегидрогеназы определялась в гомогенатах скелетной мышцы полевок тетразолным методом по Куну и Абуда (<sup>10</sup>). Животное обезглавливали, извлекали бедренную мышцу, взвешивали и гомогенизировали с 0,05 M фосфатным буфером при pH 7,5. Гомогенат центрифугировали 30 мин. при 10 000 g, к осадку добавляли тот же буфер до получения 7,5% гомогената. Инкубация 1 мл гомогената в присутствии 0,1 мл 0,3 M сукцината натрия, 0,1 мл 3% 2,3,5-трифенилтетразолийхлорида проводилась в течение 2 час. при 37°. Образовавшийся формазан экстрагировали 96% этанолом (3 мл на пробу). Спиртовой центрифугат формазана отделяли путем 15-минутного центрифугирования при 1500 g и спек-

трофотометрировали при длине волны 494 нм против воды. Активность сукцинатдегидрогеназы представлена в единицах (Е) на 1 г сырого веса ткани. Все операции при определении активности фермента до стадии инкубации проводились в условиях охлаждения при температуре 0,2°. Параллельно с определением активности сукцинатдегидрогеназы в обеих сериях опытов у животных замерялась ректальная температура. В процессе регрессионного анализа результатов использованы стандартные методы статистической обработки в соответствии с планом полного факторного эксперимента типа 2<sup>3</sup> (11).

Результаты 1-й серии опытов, полученные при изучении активности сукцинатдегидрогеназы мышц в различных вариантах охлаждения северных и южных подвидов полевки-экономки, представлены в табл. 1. Регрессионный анализ данных показывает, что признаки дифференциации внутри вида *M. oeconomus* по сукцинатдегидрогеназе в исследованных условиях вивария (18°) и низких (-16°) температур отсутствуют ( $b_1$  и  $b_{13} < ts\{b_i\}$ ). Полевка-экономка реагирует на экстремальное общее охлаждение снижением активности сукцинатдегидрогеназы ( $b_3 > ts\{b_i\}$  и  $b_{13} < ts\{b_i\}$ ) и это снижение одинаково у северного и южного подвида.

Результаты 2-й серии опытов, полученные при сравнительном изучении активности сукцинатдегидрогеназы мышц в условиях экстремального охлаждения южных и северных самцов и самок узкочерепной полевки, представлены в табл. 1. Регрессионный анализ данных позволяет утверждать,

Таблица 1

Данные регрессионного анализа

№ серии	$b_0$	$b_1$	$b_2$	$b_3$	$b_{12}$	$b_{13}$	$b_{23}$	$b_{123}$	$ts\{b_i\}$
1	9,25	-0,12	-0,15	+1,6	+0,4	-0,3	0,4	+0,8	1,52
2	10,7	+0,24	+0,91	-1,16	+0,71	-0,86	-1,58	-0,39	1,49

Примечание.  $b$  — коэффициенты регрессии, характеризующие степень влияния изученных факторов.  $s\{b_i\}$  — ошибка в определении коэффициента регрессии.

что в исследованных условиях охлаждения сукцинатдегидрогеназа южных и северных подвидов узкочерепной полевки изменяется неоднозначно. Полевка северного подвида реагирует на экстремальное охлаждение, снижая активность мышечной сукцинатдегидрогеназы; южный подвид, напротив в тех же условиях увеличивает активность фермента, обеспечивающего окисление янтарной кислоты [ $b_2 \approx ts\{b_i\}$  и  $b_{23} > ts\{b_i\}$ ].

Измерения ректальной температуры животных показали, что в наших опытах полевки-экономки оказались более чувствительны к охлаждению. Северные и южные подвиды полевок-экономок снижали ректальную температуру в среднем на 9°, те же подвиды узкочерепной полевки — на 4° ( $b_3 > ts\{b_i\}$ ,  $b_{13}$  в 1-й серии и  $b_{23}$  во 2-й серии  $< ts\{b_i\}$ ).

Если учесть, что при охлаждении, так же как в условиях гипоксии, может иметь место торможение окисления на уровне динуклеотидов и переключение клеточного дыхания с НАД-зависимых субстратов на сукцинат (12, 13), то полученные нами данные, по-видимому, можно трактовать как проявление разной степени приспособляемости к низким температурам у исследованных в наших экспериментах видов и внутривидовых групп.

Вероятно, 20-минутное общее охлаждение в условиях -15° воспринимается полевкой-экономкой, наименее приспособленной к охлаждению, как экстремальное воздействие. В связи с этим организм этих животных не в состоянии за исследованный промежуток времени мобилизовать механизмы, необходимые для поддержания температуры тела в пределах физиологической нормы (переключения дыхания на сукцинат, активации сукцинат-

дегидрогеназы не происходит). Узкочерепная полевка более приспособлена к низким температурам и более лабильна в отношении переключения окисления на НАД-зависимые субстраты. Животные реагируют на то же температурное воздействие повышением активности сукцинатдегидрогеназы.

Однако, вероятно, механизмы адаптации к охлаждению у северного подвиды узкочерепной полевки не всегда связаны с активацией окисления янтарной кислоты, так как *M. gregalis major*, обладая большей устойчивостью к охлаждению в сравнении с полевкой-экономкой, в условиях наших опытов не увеличивает активность сукцинатдегидрогеназы, а снижает ее. По-видимому, дифференциация внутри вида *M. gregalis*, обнаруженная нами в условиях охлаждения при температуре  $-15^{\circ}$ , направлена по линии замены хорошо известных биохимических механизмов адаптации, связанных с активацией окисления янтарной кислоты и, следовательно, интенсификацией обмена, на качественно иные механизмы, не имеющие отношения к интенсификации.

Данный вывод, вероятно, представляет интерес в связи с существующей гипотезой (<sup>14</sup>) о принципиально различных путях адаптации специализированных видов и внутривидовых групп.

Поступило  
6 II 1974

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Г. Г. Рункова, Н. Ф. Завада, В. В. Купцова, Экология, № 3 (1974). <sup>2</sup> Н. Ф. Завада, Г. П. Павлов, Тез. докл. Урал. конфер. молодых ученых: Человек и биосфера, Свердловск, Изд. АН СССР, 1973. <sup>3</sup> R. R. J. Chaffee, S. M. Horvath et al., Federat. Proc., v. 25, № 4, Part I, 1177 (1966). <sup>4</sup> И. С. Ирлина, Сборн. Изменчивость теплоустойчивости клеток животных в онто- и филогенезе, Л., 1967, стр. 37. <sup>5</sup> И. Г. Березина, Цитология, т. 11, № 6, 731 (1969). <sup>6</sup> В. А. Елисеев, Бюлл. эксп. биол. и мед., т. 68, № 10, 43 (1969). <sup>7</sup> R. S. Caldwell, Comp. Biochem. and Physiol., v. 31, № 1, 79 (1969). <sup>8</sup> J. P. Hannon, Federat. Proc., v. 19, Part II, Suppl. 5, 100 (1970). <sup>9</sup> В. Н. Максимов, В. Д. Федоров, Применение методов математического планирования эксперимента при отыскании оптимальных условий культивирования микроорганизмов, 1969. <sup>10</sup> E. Kup, L. G. Abood, Science, v. 109, № 2820, 144 (1949). <sup>11</sup> В. В. Нахимов, Применение математической статистики при анализе вещества, М., 1960. <sup>12</sup> В. П. Скулачев, Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи, Изд. АН СССР, 1962. <sup>13</sup> М. Н. Кондрашева, Г. Д. Миронова, Р. Н. Ахмеров, Матер. к конфер. Клеточное дыхание в норме и в условиях гипоксии (Горький), «Наука», 1973. <sup>14</sup> С. С. Шварц, Тр. Инст. экологии растений и животных УФАН СССР, т. 65 (1969).