Доклады Академии наук СССР
1975. Том 220, № 5

УДК 591.105+597.6 *ЭКОЛОГИЯ*

Г. Г. РУНКОВА, Л. А. КОВАЛЬЧУК

О ВЛИЯНИИ МЕТАБОЛИТОВ ВОДНОЙ СРЕДЫ ГОЛОВАСТИКОВ НА ИХ ЭНДОГЕННЫЙ МЕТАБОЛИЗМ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ГИПОКСИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА И УСЛОВИЙ РАЗВИТИЯ ДОНОРА И РЕЦИПИЕНТА

(Представлено академиком С. С. Шварцем 14 X 1974)

Регуляторные свойства метаболитов водной среды головастиков некоторых видов амфибий, их видо-, стадио- и органоспецифичность в действии на эндогенный метаболизм были обнаружены нами при изучении загущенных популяций, в условиях опыта in vitro при непосредственном введении водной среды в гомогенаты тканей целого головастика ([1], [2]).

В настоящей работе представлены результаты сравнительного изучения стадиоспецифичного действия метаболитов из популяций с различной плотностью, включая одиночные аквариумы, на эндогенный метаболизм в гомогенатах и чувствительность к гипоксии у интактных головастиков, которые так же развивались в условиях неодинаковой плотности.

В качестве объектов исследования использованы головастики Rana arvalis, Rana macrocnemis Pelobutes syriacus, взятые из модельных популяций на 26, 27, 28 и 29 стадиях развития. Интенсивность эндогенного метаболизма определялась по чувствительности тетразоловой реакции к кислороду воздуха ранее описанным способом ([3]). Белковые фракции водной среды получены гель-фильтрацией на сефадексе G-25 ([2]). Чувствительность к гипоксии у интактных головастиков определялась следующим образом: в пробирки типа сосуда Варбурга вводили по 10 мл водопроводной, предварительно выдержанной воды, или водной среды из модельных популяций различной плотности. В каждую из пробирок переносили по одному головастику, газовое пространство насыщали аргоном (30 мин.), перекрывали краны, герметизируя пробы, и определяли процент выживаемости в разные сроки наблюдения или в течение 60 мин. в группах из пяти или десяти головастиков. Поставлено три серии опытов. Данные статистически обработаны в соответствии с использованными в сериях планами.

В 1-й серии опытов водная среда из загущенных популяций (110 головастиков на 4 л) и незагущенных (3 головастика на 3 л) вводилась в гомогенаты головастиков, которые развивались в условиях высокой плотности и нормальной (в загущенных популяциях и незагущенных). Параллельно определялась выживаемость личинок из тех же аквариумов в условиях нарастающей гипоксии в присутствии водной среды из популяций с высокой и нормальной плотностью, а также без метаболитов, в водопроводной, предварительно выдержанной воде. Результаты 1-й серии представлены в табл. 1. Данные показывают, что водная среда из популяций, где имела место нормальная плотность, обладает регуляторными по отношению к обмену отдельной особи свойствами. Водная среда из незагущенных популяций не только ингибирует эндогенный метаболизм (у головастиков из популяций с нормальной плотностью), но и способна резко увеличивать активность оксидаз (у головастиков из загущенных популяций). Разнообразие в действии метаболитов из незагущенных популяций на эндогенный метаболизм головастика проявляется и в условиях опыта in vivo. Водная среда из популяций с нормальной плотностью способна увеличивать приспособляемость интактного животного к гипоксии (у го-

Таблица 1

Влияние метаболитов из популяций с различной плотностью на эндогенный метаболизм и чувствительность к гипоксии у головастиков своего вида в зависимости от условий их развития

Дата постановки опытов	Вид и стадия развития	Водная среда	Реципиенты из загущенной популяции				Реципиенты из незагущенной популяции			
			ТТХ аргон	ТТХ воздух	выживаемость в условиях гипоксии, %	время наблюдения, мин.	ТТХ аргон	ТТХ воздух	выживаемость в условиях гипоксии, %	время наблюдения, мин.
21 V	Rana macrochemis	Загущенные популяции	2,2	0	70		—	0	30	
		Незагущенные популяции	7,1	60	80		—	20	40	
	26	Не добавлялась	1,9	20	80		—	20	40	
12 VI	Rana arvalis (южная)	Загущенные популяции	2,0	0	30		3,0	0	10	
		Незагущенные популяции	13,6	50	60		4,2	0	20	
	27	Не добавлялась	4,0	0	60		6,5	0	40	
27 VI	Rana arvalis (северная)	Загущенные популяции	1,5	0	30		3,0	0	30	
		Незагущенные популяции	3,1	40	50		2,0	0	30	
	26	Не добавлялась	2,2	20	50		1,9	0	30	

Примечание. Данные по активности эндогенных оксидаз — средние из трех повторностей. При определении выживаемости в условиях гипоксии исходное количество головастиков 5 штук. ТТХ — тетразолхлорид.

головастиков из загущенных популяций на 26 стадии развития) и не изменяет или снижает эту приспособляемость у головастиков, развивающихся в нормальных условиях, на 29 стадии развития. В данной серии, при изучении популяций головастиков разных видов, включая северные (R. arvalis), был использован нестандартный в отношении возраста материал. В связи с этим для уточнения полученного вывода о зависимости характера действия метаболитов от плотности популяции донора и реципиента, следующие серии были поставлены с применением активного планирования, по плану ПФЭ типа 2^3 ([4]). Во второй серии изучалось влияние водной среды (x_1) из загущенных популяций и одиночных аквариумов на эндогенный метаболизм (табл. 1) отдельных особей (y) и их чувствительность к гипоксии в зависимости от возраста реципиента (x_3) и условий его развития (x_2), одиночного или совместного. Уравнение регрессии, полученное на основе статистического анализа данных 2-й серии, имеет следующий вид. Для водной среды из загущенной популяции

$$y=5{,}28+0{,}7\,x_1+1{,}7\,x_2-2{,}14\,x_3-0{,}35\,x_1x_2+0{,}7\,x_1x_3-2{,}8x_2x_3+0{,}49\,x_1x_2x_3\ *.$$

Для водной среды из одиночных аквариумов

$$y=6{,}9+2{,}3x_1+1{,}0x_2-1{,}8x_3-1{,}1x_1x_2+1{,}1x_1x_3-0{,}6x_2x_3+1{,}7x_1x_2x_3\ **$$

Результаты 2-й серии по эндогенной активности оксидаз и чувствительности интактных личинок к гипоксии представлены на рис. 1*а*.

В 3-й серии изучалось влияние белков водной среды (x_1) из загущенной и незагущенных популяций на эндогенный метаболизм отдельных особей (y) в зависимости от их стадии развития (x_2) и степени генетиче-

* Независимые переменные и их уровни для 2-й и 3-й серии соответственно: $x_1(+1)$ 1,2 мл водной среды, $x_1(-1)$ вода не добавлялась, $x_2(+1)$ 1 головастик в 1 л, $x_2(-1)$ 110 головастиков в 4 л, $x_3(+1)$ 26 стадия развития, $x_3(-1)$ 28 стадия, $x_1(+1)$ 0,6 мл белковой фракции из водной среды, $x_1(-1)$ вода не добавлялась, $x_2(+1)$ 27 стадия развития, $x_2(-1)$ 28 стадия, $x_3(+1)$ своя кладка, $x_3(-1)$ чужая кладка.

** Обнаруженный нами значительный эффект активации обмена и увеличение выживаемости в условиях гипоксии при введении водной среды из одиночных аквариумов, возможно, связан с более однородным химическим составом регулирующих экзобелков из одиночных аквариумов, где содержались головастики одного возраста (27 или 26 стадия). В загущенных популяциях находились особи разных стадий развития.

ского родства с донором (x_3). Уравнение регрессии, полученное на основе статистического анализа данных 3-й серии, имеет следующий вид.

Для белков водной среды из загущенной популяции *

$$y = 2{,}29 + 1{,}03x_1 + 0{,}65x_2 + 0{,}85x_1x_2 + 0{,}68x_1x_2x_3.$$

Для белков водной среды из троек $y = 1{,}18 + 0{,}41x_1 - 0{,}36x_1x_2x_3$.

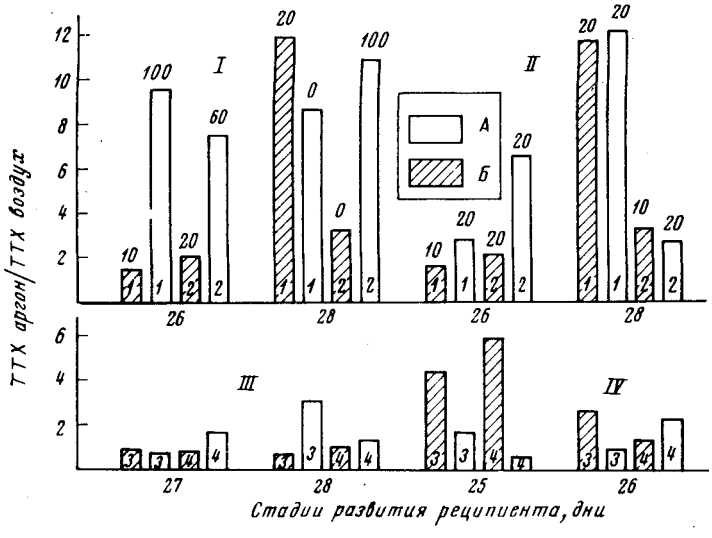

Рис. 1. Эндогенная активность оксидаз в гомогенатах головастиков и чувствительность их к гипоксии в присутствии экзометаболитов (*А*) и без них (*Б*) в зависимости от возраста, степени генетического родства и условий развития донора и реципиента. *I* – Введение водной среды из одиночных аквариумов (P. syriacus), *II* – из загущенных популяций, *III* – введение белков водной среды из популяций с нормальной плотностью P. arvalis, *IV* – из загущенных популяций. *1* – Реципиенты P. syriacus из одиночных аквариумов своей кладки, *2* – реципиенты P. syriacus из загущенных популяций своей кладки, *3* – реципиенты P. arvalis из загущенных популяций своей кладки, *4* – реципиенты P. arvalis из загущенных популяций чужой кладки. Числа над столбиками – выживаемость головастиков в %

Непосредственные результаты 3-й серии опытов по эндогенной активности оксидаз представлены на рис. 1*Б*. Анализ данных показывает, что регуляторными свойствами по отношению к эндогенному метаболизму отдельных головастиков обладают метаболиты, накапливающиеся не только в загущенных популяциях личинок исследованных видов, но и в условиях нормальной плотности, включая одиночные аквариумы. Разнообразие в действии внешних метаболитов имеет место и в условиях опыта in vivo, при изучении их влияния на чувствительность личинок к кислородному голоданию (рис 1*Б*). По-видимому, общность регуляторных свойств водной среды из одиночных аквариумов незагущенных и загущенных популяций экспериментально подтверждает ранее высказанное заключение ([5]) о том, что обнаруженные в популяциях метаболиты-регуляторы являются обычными продуктами межуточного обмена. В то время как белки тканей, синтезируясь в соответствии с генетической программой непосредственно в эмбрионе, регулируют его обмен и направляют развитие отдельного головастика, белки, выделяемые за пределы эмбриона, регулируют его обмен на популяционном уровне в зависимости от степени генетической разнородности популяции, ее плотности и возрастного состава. В свете этой гипотезы, кажется, представляют интерес полученные нами данные о периодичности влияния внешних метаболитов на анаэробные и аэробные звенья обмена в гомогенатах особей популяции в различные пе-

* Белковые фракции получены З. Л. Степановой.

Таблица 2

Влияние метаболитов из загущенных популяций головастиков на анаэробные и аэробные звенья обмена отдельных особей в популяции в различные периоды ее развития (по данным 1972—1974 гг.)

Вид	Дата постановки опытов (периоды в развитии популяций)	Объем водной среды, мл	Тетразолвосстанавливающая активность гомогената, г/мл		ТТХ аргон: /ТТХ воздух
			аргон	воздух	
Rana macrocnemis	6 VI 1972	Не вводилась	0,270	0,070	3,92
		1,2	0,680	0,040	16,50
	13 VI	Не вводилась	0,272	0,070	3,80
		1,2	0,593	0,068	8,70
	15 VI	1,2	1,09	0,185	5,90
	20 VI	1,2	0,332	0,227	1,04
Rana macrocnemis	11 V 1973	Не вводилась	0,800	0,500	1,60
		1,2	1,200	0,400	3,00
	21 V	Не вводилась	0,500	0,260	1,90
		1,2	0,520	0,080	7,10
P. syriacus	27 VI	Не вводилась	0,100	0,06	1,60
		1,2	0,420	0,09	4,60
	3 XI	Не вводилась	0,300	0,13	3,10
		1,2	0,460	0,08	5,80
	15 I 1974	Не вводилась	0,100	0,04	2,50
		1,2	0,175	0,04	4,37
	19 II	Не вводилась	0,070	0,13	0,53
		1,2	0,170	0,025	6,80

Примечание. Гомогенаты готовились из головастиков 26 стадии развития.

риоды ее развиты (табл. 2). Увеличение ТТХ аргон/ТТХ воздух в гомогенатах, коррелирующее с увеличением в скорости регенерации ([1]) и с повышением приспособляемости к гипоксии у интактных личинок, происходит на ранних стадиях развития популяций за счет активации анаэробного обмена (увеличивается скорость восстановления тетразолхлорида при инкубации пробы в аргоне и не изменяется при инкубации в воздухе). На поздних стадиях, напротив, повышение коэффициента ТТХ аргон/ /ТТХ воздух сопровождается усилением эффективности аэробного окисления (снижается резко скорость восстановления тетразолхлорида в атмосфере воздуха, появляется новый, мощный акцептор водорода, действующий, по-видимому, в дыхательной цепи и увеличивающий по нашим данным приспособляемость к гипоксии). Аналогичная последовательность в смене анаэробных и аэробных процессов обмена, регулируемая тканевыми ферментами, характерна для развивающихся эмбрионов рыб и амфибий ([6–9]).

Институт экологии растений и животных
Уральского научного центра Академии наук СССР
Свердловск

Поступило
26 IX 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] *Г. Г. Рункова*, Матер. отчетной сессии лаборатории популяционной экологии животных Инст. экол. раст. и животн. УНЦ АН СССР, 1974. [2] *Г. Г. Рункова, З. Л. Степанова, Л. А. Ковальчук*, ДАН, т. 217, № 3 (1974). [3] *Г. Г. Рункова, Н. Ф. Завада, В. И. Купцова*, Экология, № 3 (1974). [4] *В. Н. Максимов, В. Д. Федоров*, Применение математического планирования экспериментов в микробиологических исследованиях, М., 1969. [5] *С. С. Шварц, О. А. Пястолова*, Экология, № 2 (1970). [6] *H. B. Burch, O. H. Lowry et al.*, J. Biol Chem., v. 238, № 2 (1963). [7] *A. I. Cohen*, Physiol. Zool., v. 27, 129 (1954). [8] *M. A. Lea, D. G. Walker*, Biochem. J., v. 91, № 3 (1964). [9] *T. Nishida, O. E. Nakano*, Embriologia, v. 2, 67 (1954).