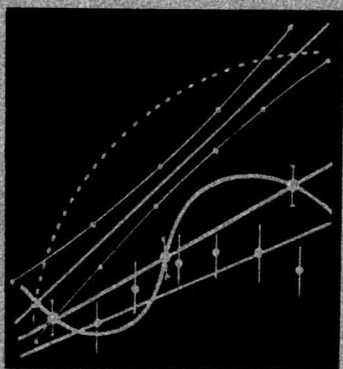


АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

**МАТЕМАТИЧЕСКОЕ
ПЛАНИРОВАНИЕ
ЭКСПЕРИМЕНТА
В БИОЛОГИЧЕСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЯХ**



СВЕРДЛОВСК • 1975

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ
ПЛАНИРОВАНИЕ
ЭКСПЕРИМЕНТА
В БИОЛОГИЧЕСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЯХ

Математическое планирование эксперимента в биологических исследованиях. Сб. статей. Свердловск, 1975 (УНЦ АН СССР).

На примере изучения ряда актуальных проблем популяционной экологии показаны явные преимущества практического использования отдельных методов математического планирования эксперимента в эколого-физиологическом и эколого-биохимическом исследовании перед пассивным. В результате применения полного и дробного факторного эксперимента, а также планирования по типу латинского квадрата получен ряд моделей, позволяющих предвидеть тип метаболической реакции при воздействии некоторых экологических факторов на нескольких изученных уровнях интеграции, включая вид, подвид, генетические варианты, отдельный организм, гомотенаты, гиалоплазму и изоэнзимы, связанные с молекулярной структурой фермента.

Сборник рассчитан на биохимиков, экологов, физиологов, радиобиологов и биологов, интересующихся прикладной стороной современной теории эксперимента.

Ответственный редактор **С. С. ШВАРЦ**

Г. Г. РУНКОВА, В. Н. МАКСИМОВ, Л. А. КОВАЛЬЧУК,
И. М. ХОХУТКИН

**ИНТЕНСИВНОСТЬ ЭКСТРАМИТОХОНДРИАЛЬНЫХ
И МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ПУТЕЙ ОКИСЛЕНИЯ
У РАЗЛИЧНЫХ МОРФ *BRADYBAENA LANTZI*
В УСЛОВИЯХ ОХЛАЖДЕНИЯ**

В опытах на моллюсках и амфибиях *Bradybaena schrencki* и *Rana arvalis* были обнаружены достоверные различия в эндогенной активности оксидаз у полосатых и бесполосых морф указанных видов в условиях +15, +18°С (Рункова, статья в наст. сборнике).

Цель настоящей работы — выяснить вопрос о наличии тех же различий у лево- и правовращающих морф *Bradybaena lantzi* при определении эндогенной активности оксидаз в гомогенатах и гиалоплазме животных в условиях более широкого диапазона температур.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Моллюски *Bradybaena lantzi*, использованные в опытах, собраны в районе г. Алма-Аты (исследовалась природная популяция). Методика приготовления гомогената и определение активности эндогенных оксидаз по чувствительности тетразоловой реакции к кислороду воздуха описана нами ранее (Ковальчук и др., 1974). Гиалоплазму готовили из гомогенатов ноги взрослой особи при центрифугировании в условиях 9000 *g*. Опыты ставили по плану полного факторного эксперимента типа 2²·4 и активность оксидаз определяли в гиалоплазме и гомогенате тканей ноги моллюска в зависимости от принадлежности его к лево- и правовращающему генетическому варианту в условиях выдерживания животного при 30, 20, 10 и 0°С в течение 15 мин.

Расчет коэффициентов регрессии выполнен по схеме Ятса (Максимов, Федоров, 1969). Значимость коэффициентов регрес-

Таблица 1

Независимые переменные и их уровни

| Уровень | Морфа \tilde{x}_1 | Вид препарата \tilde{x}_2 | Температура 15-минутного воздействия, in vivo, °C \tilde{x}_3 |
|--------------------------|------------------------|--------------------------------|---|
| Первый (+1) | Правозакрученная | Гомогенат | +30 |
| Второй (-1) | Левозакрученная | Гиалоплазма | +20 |
| Третий (+3) | — | — | +10 |
| Четвертый (-3) | — | — | 0 |

Таблица 2

Матрица планирования ПФЭ 2².4, результаты опытов и данные регрессионного анализа

| № опыта | Кодированные переменные | | | ТТХ _а ТТХ _в — У _{ил} | Этапы формализованной схемы Ятса | | | | Эф-фekt | Обо-значе-ние Эф-фекта | b _i | Ранжировка | |
|---------|-------------------------|----------------|----------------|--|----------------------------------|------|-------|------|---------|---|----------------|------------|-------|
| | x ₁ | x ₂ | x ₃ | | 1 | 2 | 3 | √d | | | | № | Сумма |
| 1 | -1 | -1 | -3 | 2,0 | 5,0 | 11,0 | 88,9 | 4,0 | — | «1» | 5,56 | — | — |
| 2 | +1 | -1 | -3 | 3,0 | 6,0 | 11,3 | 18,5 | 4,0 | 4,6 | x ₁ | — | 1 | 0,3 |
| 3 | -1 | +1 | -3 | 2,1 | 3,0 | 21,7 | 59,5 | 4,0 | 14,9 | x ₂ | 3,72 | 2 | 0,8 |
| 4 | +1 | +1 | -3 | 3,9 | 8,3 | 44,9 | 23,0 | 4,0 | 5,8 | x ₃ x ₂ | — | 3 | 1,6 |
| 5 | -1 | -1 | -1 | 2,0 | 3,2 | 2,8 | 112,1 | 8,94 | 12,5 | x ₃ | 1,40 | 4 | 1,7 |
| 6 | +1 | -1 | -1 | 1,0 | 18,5 | 2,9 | 25,3 | 8,94 | 2,8 | x ₁ x ₃ | — | 5 | 2,0 |
| 7 | -1 | +1 | -1 | 2,2 | 3,5 | 0,9 | 120,7 | 8,94 | 13,5 | x ₂ x ₃ | 1,51 | 16 | 2,7 |
| 8 | +1 | +1 | -1 | 6,1 | 41,4 | 11,9 | 38,0 | 8,94 | 4,2 | x ₁ x ₂ x ₃ | — | 7 | 2,8 |
| 9 | -1 | -1 | +1 | 2,2 | 1,0 | 1,0 | 27,9 | 4,0 | 5,7 | x ₂ ² | — | 8 | 4,2 |
| 10 | +1 | -1 | +1 | 1,0 | 1,8 | 5,3 | 10,9 | 4,0 | 2,7 | x ₁ x ₃ ² | — | 9 | 4,6 |
| 11 | -1 | +1 | +1 | 8,2 | -1,0 | 15,3 | 18,3 | 4,0 | 4,6 | x ₂ x ₃ ² | — | 10 | 4,6 |
| 12 | +1 | +1 | +1 | 10,3 | 3,9 | 37,9 | 6,6 | 4,0 | 1,6 | x ₁ x ₂ x ₃ ² | — | 11 | 5,7 |
| 13 | -1 | -1 | +3 | 2,3 | -1,2 | 0,8 | 2,7 | 8,94 | 0,3 | x ₃ ³ | — | 12 | 5,8 |
| 14 | +1 | -1 | +3 | 1,2 | 2,1 | 4,9 | 15,1 | 8,94 | 1,7 | x ₁ x ₃ ³ | — | 13 | 12,5 |
| 15 | -1 | +1 | +3 | 14,2 | -1,1 | 3,3 | 6,9 | 8,94 | 0,8 | x ₂ x ₃ ³ | — | 14 | 13,5 |
| 16 | +1 | +1 | +3 | 27,2 | 13,0 | 14,0 | 18,0 | 8,94 | 2,0 | x ₁ x ₂ x ₃ ³ | — | 15 | 14,9 |

Примечание. Этапы 1, 2 и 3 заполнены в соответствии с алгоритмом Ятса для факторных экспериментов типа 2ⁿ.4^m; значения эффектов рассчитаны делением чисел этапа 3 на соответствующие им величины √d; коэффициенты регрессии b_i найдены для факторов x₁ и x₂ делением чисел этапа 3 на 16, а для x₃ — на 8 (Good, 1958; Margolin, 1967; Максимов, Федоров, 1969).

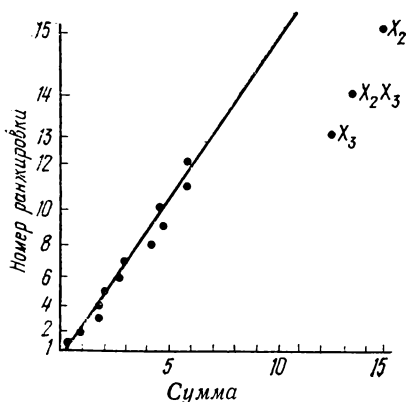


Рис. 1. Полувероятностный график к табл. 2.

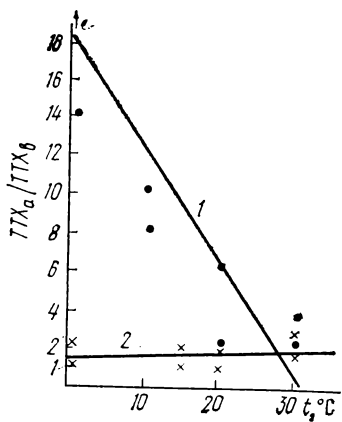


Рис. 2. Эндогенная активность оксидаз в гомогенатах и гиалоплазме лево- и правовращающих морф *Bradybaena lantzi* после 15-минутного выдерживания интактных животных в условиях разных температур.
1 — гомогенат, 2 — гиалоплазма.

сии, а следовательно, и достоверность различий в активности оксидаз в гиалоплазме и гомогенате лево- и правовращающих морф среднеазиатского вида моллюсков в условиях четырех исследованных температур определяли методом построения полувероятностного графика (Margolin, 1967). Условия опытов (факторы) представлены в табл. 1, план опытов, результаты эксперимента и данные регрессионного анализа — в табл. 2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По данным поставленной серии опытов (см. табл. 2) построен полувероятностный график (рис. 1). Отчетливо видно, что точки, соответствующие меньшим, незначимым эффектам, хорошо ложатся на прямую, проходящую через начало координат. Это указывает на отсутствие значительных отклонений от нормального распределения у результатов измерения активности оксидаз в гомогенате и гиалоплазме животных ($ТТХ_a/ТТХ_b$). Эффекты, резко выпадающие из нормальной совокупности (x_2 , x_3 и x_2x_3), соответствуют значимым коэффициентам регрессии. Следовательно, активность эндогенных оксидаз в наших опытах достоверно неодинакова в гиалоплазме и гомогенате исследованных тканей (x_2), и эти различия зависят в свою очередь от температурного воздействия на интактное животное (x_2x_3). Уравнение с соответствующими значимыми коэффициентами регрессии имеет вид $y = 5,56 + 3,72x_2 + 1,4x_3 + 1,51x_2x_3$,

где y — активность оксидаз ($\text{ТТХ}_a/\text{ТТХ}_b$) и x_2, x_3, x_2x_3 — независимые переменные (факторы) в натуральных единицах. Используя условия кодирования ($x_2 = -1$ — гиалоплазма и $x_2 = +1$ — гомогенат), мы получаем соответствующие уравнения регрессии для гиалоплазмы и гомогената: $y = 1,84 - 0,11x_3$ и $y = 9,88 + 2,91x_3$. Данные уравнения позволили рассчитать теоретические величины активности оксидаз y для гиалоплазмы и гомогената тканей ноги моллюска в условиях четырех исследованных температур.

На рис. 2 представлены точки, соответствующие экспериментальным и расчетным данным, и построены соответствующие кривые зависимости активности оксидаза в гомогенате и гиалоплазме от температуры в условиях опыта *in vivo*. Незначимость эффектов x_1 и x_1x_3 указывает на отсутствие различий в активности оксидаз между лево- и правовращающими вариантами *Bradybaena lantzi* в пределах изученных температур. Анализ значимых коэффициентов регрессии (см. рис. 1 и 2) дает основание считать, что обе морфы *Bradybaena lantzi* увеличивают активность митохондриальных оксидаз при охлаждении. Экстрамитохондриальные пути окисления в механизмах адаптации лево- и правовращающих вариантов *Bradybaena lantzi* к низким температурам, по-видимому, не имеют существенного значения. Признаков дифференциации по эндогенной активности оксидаз внутри этого вида при изучении данной популяции нами не обнаружено.

ЛИТЕРАТУРА

- Ковальчук Л. А., Рункова Г. Г., Хохуткин И. М. Интенсивность окислительно-восстановительных процессов и их реакция на тироксин у различных морф амфибий и моллюсков.— Экология, 1974, № 3.
- Максимов В. Н., Федоров В. Д. Применение математического планирования эксперимента при обыскании оптимальных условий культивирования микроорганизмов. М., Изд-во МГУ, 1969.
- Good J. The interaction algorithm and practical fourier analysis.— J. Rog. Statist., Ser. B., 1958, vol. 20.
- Margolin B. H. Systematic methods for analysing $2^n 3^m$ factorial experiments with applications.— Technometrics, 1967, vol. 9, N 2.