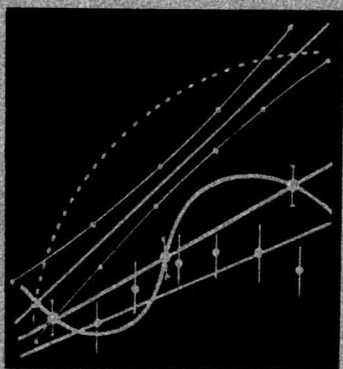


АКАДЕМИЯ НАУК СССР  
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

**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

## О ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЭНДОГЕННЫХ ОКСИДАЗ В ГОМОГЕНАТАХ ДВУХ МОРФ *BRADYBAENA LANTZI* К ТИРОКСИНУ

В поисках признаков биохимической дифференциации внутри видов и отдельных популяций животных нами обнаружены достоверные различия и склонность к их появлению у двух подвидов полевки-экономки и двух морф *Bradybaena schrencki* по активности оксидаз и чувствительности их к тироксину (Рункова и др., 1974; Ковальчук и др., 1974). При изучении в том же плане лево- и правозакрученных морф среднеазиатского вида моллюсков *Bradybaena lantzi* при охлаждении интактных животных достоверных различий между морфами по эндогенной активности оксидаз обнаружить не удалось (см. статью Рунковой и др. в наст. сборнике). Представляло интерес исследовать *Bradybaena lantzi* и в отношении чувствительности оксидаз обеих морф к тироксину, используя не одну, а несколько концентраций гормона и взяв в качестве объекта животных из двух природных популяций вида.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Моллюски *Bradybaena lantzi*, исследованные в данной серии опытов, собраны в районе г. Алма-Аты: левозакрученные морфы популяции А — на высокогорном участке (~2000 м), правозакрученные — у подножия гор (~1000 м). Лево- и правозакрученные морфы популяции В — с одного участка (~1200 м).

Методика приготовления гомогената из тканей ноги моллюска и методика измерения активности эндогенных оксидаз описана в предыдущей работе (см. статью Рунковой в наст. сборнике).

Опыты поставлены по плану полного факторного эксперимента типа 2<sup>3</sup>-4. В серии определяли тетразолвосстанавливаю-

Матрица планирования ПФЭ 2<sup>3</sup>.4, результаты опытов и данные регрессионного анализа

№ варианта	Кодированные независимые переменные				ТТХ-восста-навливающая активность, $\frac{\Delta}{\%/\text{мл}}$ $\bar{y}_{\text{те}} \cdot 10^3$	Этапы формализованной схемы опыта				Эффект	Обозначение эффекта	$b_i$	Ранжи-ровка		ТТХ-восста-навливающая активность, $\frac{\Delta}{\%/\text{мл}}$ $\bar{y}_{\text{дл}} \cdot 10^3$	ТТХ <sub>а</sub> ТТХ <sub>в</sub> у
	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_4$		1	2	3	4				№	сумма		
1	+	+	+	-	20	40	110	313	1701	5,6	—	«1»	1	8	13,51	1,96
2	+	+	-	-	20	70	203	383	467	5,6	83	$x_1$	2	10	18,63	1,70
3	+	+	-	-	10	63	123	370	407	5,6	72	$x_2$	3	12	12,72	1,87
4	+	+	-	-	60	140	260	635	385	5,6	68	$x_1x_2$	4	14	14,89	1,87
5	+	+	+	-	40	50	124	53	753	5,6	133	$x_3$	5	14	68,13	1,19
6	+	+	+	-	23	73	246	231	79	5,6	14	$x_1x_3$	6	16	26,49	—
7	+	+	+	-	60	90	117	130	127	5,6	22	$x_2x_3$	7	17	31,61	—
8	+	+	+	-	80	170	518	53	161	5,6	28	$x_1x_2x_3$	8	20	27,87	—
9	+	+	-	+	13	37	50	107	953	12,6	75	$x_4$	9	21	81,11	—
10	+	+	-	+	37	87	3	103	-101	12,6	8	$x_1x_4$	10	21	14,06	3,54
11	+	+	-	+	10	63	77	170	-173	12,6	14	$x_2x_4$	11	22	19,18	2,86
12	+	+	-	+	63	183	154	27	153	12,6	12	$x_1x_2x_4$	12	22	15,44	3,31
13	+	+	-	+	23	40	84	97	909	12,6	72	$x_3x_4$	13	22	68,68	1,52
14	+	+	-	+	67	77	46	95	287	12,6	23	$x_1x_3x_4$	14	24	49,76	—
15	+	+	-	+	30	264	-17	50	-269	12,6	21	$x_2x_3x_4$	15	25	58,88	—
16	+	+	-	+	140	254	70	153	513	12,6	40	$x_1x_2x_3x_4$	16	27	104,38	—
17	+	+	+	+	0	30	93	93	195	5,6	34	$x_5$	17	28	14,62	5,0
18	+	+	+	+	27	50	77	137	-255	5,6	45	$x_1x_5$	18	28	19,74	3,96
19	+	+	+	+	10	-17	23	122	-139	5,6	25	$x_2x_5$	19	29	16,00	4,65
20	+	+	+	+	77	20	80	401	95	5,6	17	$x_1x_2x_5$	20	34	69,24	1,84
21	+	+	+	+	20	24	50	-47	235	5,6	42	$x_3x_5$	21	36	73,04	—
22	+	+	+	+	53	120	77	155	5,6	27	27	$x_1x_3x_5$	22	40	78,16	—
23	+	+	+	+	80	44	37	-38	-127	5,6	22	$x_2x_3x_5$	23	42	74,42	—
24	+	+	+	+	103	110	-10	87	261	5,6	46	$x_1x_2x_3x_5$	24	45	127,66	—
25	+	+	+	+	20	17	50	47	361	12,6	29	$x_4x_5$	25	46	15,17	6,35
26	+	+	+	+	20	67	37	57	303	12,6	24	$x_1x_4x_5$	26	68	20,29	5,00
27	+	+	+	+	47	23	29	70	-281	12,6	22	$x_2x_4x_5$	27	72	16,55	5,90
28	+	+	+	+	30	23	66	-47	201	12,6	16	$x_1x_2x_4x_5$	28	72	69,79	2,16
29	+	+	+	+	157	0	50	-13	353	12,6	28	$x_3x_4x_5$	29	75	96,31	—
30	+	+	+	+	107	-17	0	37	251	12,6	20	$x_1x_3x_4x_5$	30	83	101,43	—
31	+	+	+	+	67	-50	-17	-50	-133	12,6	10	$x_2x_3x_4x_5$	31	133	97,69	—
32	+	+	+	+	187	120	170	187	461	12,6	36	$x_1x_2x_3x_4x_5$	32	—	150,93	—

## Независимые переменные и их уровни

Уровень	Популяция $x_1$	Морфа $x_2$	Условие инкубации гомогената $x_3$	Концентрация тироксина в гомогенате $x_4$
Первый (-3) . . . . .	A	Правозакрученные	Аргон	0,0
Второй (-1) . . . . .	B	Левозакрученные	Воздух	15,0
Третий (+1) . . . . .	—	—	—	30,0
Четвертый (+3) . . . . .	—	—	—	45,0

щую активность гомогената у двух морф  $x_2$  из двух популяций  $x_1$  в присутствии трех разных концентраций тироксина  $x_4$  в зависимости от условий инкубации (в атмосфере аргона или воздуха)  $x_3$ .

Коэффициенты регрессии рассчитаны по формализованной схеме Ятса (Максимов, Федоров, 1969) по данным тетразолвосстанавливающей активности (а не ТТХ<sub>а</sub>/ТТХ<sub>в</sub>). Значимость эффектов и коэффициентов регрессии определяли с помощью построения полувероятностного графика (Good, 1958; Margolin, 1967). На основании значимых коэффициентов регрессии составляли уравнение регрессии, по которому рассчитывали теоретические значения тетразолвосстанавливающей активности гомогената в атмосфере аргона и воздуха и по этим расчетным

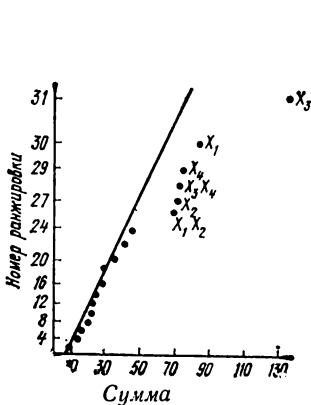


Рис. 1. Полувероятностный график, построенный по данным табл. 2.

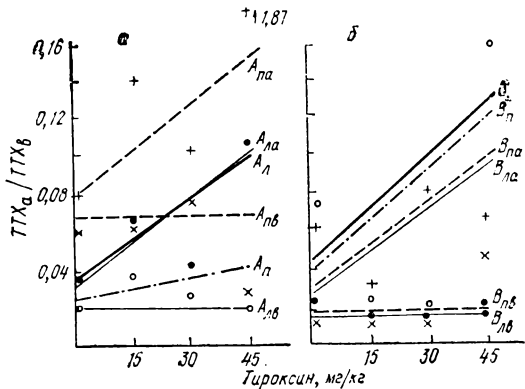


Рис. 2. Интенсивность восстановления тетразолхлорида и эндогенная активность оксидазы в гомогенатах двух морф *Bradybaena lantzi* при введении возрастающих концентраций тироксина.

а — популяция А, б — популяция В.  
Вл, Вп, Ал, Ап — ТТХ<sub>а</sub>/ТТХ<sub>в</sub> в гомогенатах левовли правозакрученной морфы популяции А или В;  
а, б — инкубация гомогената в атмосфере аргона или воздуха.

данным определяли активность эндогенных оксидаз ( $ТТХ_a/ТТХ_b$ ).

Этот прием позволил сгладить экспериментальные данные, «отсекая» случайные отклонения, и оперировать при анализе результатов не экспериментальными значениями тетразолвосстанавливающей активности, а рассчитанными величинами  $ТТХ_a/ТТХ_b$ , более близкими к истинным значениям эндогенной активности оксидаз. План опытов, результаты определения и данные регрессионного анализа представлены в табл. 1, а условия опытов (факторы) — в табл. 2.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Построение полувероятностного графика по данным эксперимента (рис. 1) показывает, что влияние тироксина, введенного в гомогенат, на интенсивность восстановления тетразолхлорида достоверно ( $x_4$ ). Однако это влияние зависит от условий инкубации гомогената ( $x_3x_4$ ). Тетразолвосстанавливающая активность гомогената изменяется в атмосфере аргона. С увеличением концентрации гормона она явно возрастает у обеих морф из обеих популяций (рис. 2). В атмосфере воздуха при введении тироксина тетразоловая реакция своей интенсивности не изменяет. Обнаружены различия и между морфами ( $x_2$ ), но они касаются только популяции А. В популяции В чувствительность к тироксину у обеих морф одинакова. Активность эндогенных оксидаз у левозакрученной морфы популяции А в присутствии возрастающих концентраций тироксина увеличивается в большей степени, чем у правозакрученной.

Таким образом, дифференциация по чувствительности эндогенных оксидаз к тироксину наблюдается в исследованной нами популяции А *Bradybaena lantzi* и не обнаружена в популяции В.

### 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 методов математического планирования эксперимента при отыскании оптимальных условий культивирования микроорганизмов. Изд-во МГУ, 1969.
- Рункова Г. Г. Опыт применения некоторых методов математического планирования эксперимента в эколого-биохимических исследованиях.— Статья в наст. сборнике.
- Рункова Г. Г., Завада Н. Ф., Купцова В. В. Особенности аэробного и анаэробного метаболизма в тканях двух подвидов полевки-экономки в условиях экстремального охлаждения и акклимации.— Экология, 1974, № 3.
- Рункова Г. Г., Максимов В. Н., Ковальчук Л. А., Хохуткин И. М. Интенсивность экстрамитохондриальных и митохондриальных путей окисления у различных морф *Bradybaena lantzi* в условиях охлаждения.— Статья в наст. сборнике.
- Good J. The interaction algorithm and practical fourier analysis.— J. Rog. Statist. Soc., Ser. B, 1958, vol. 20.
- Margolin B. H. Systematic methods for analysing  $2^n3^m$  factorial experiments with applications.— Technometrics, 1967, Bd 9, N 2.