Г. Г. РУНКОВА

О СПЕЦИФИКЕ БИОХИМИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ НА НЕКОТОРЫХ ВЫСШИХ УРОВНЯХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ИНТЕГРАЦИИ

СВЕРДЛОВСК

АКАДЕМИЯ НАУК СССР УРАЛЬСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

Г. Г. РУНКОВА

О СПЕЦИФИКЕ БИОХИМИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ НА НЕКОТОРЫХ ВЫСШИХ УРОВНЯХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ИНТЕГРАЦИИ

СВЕРДЛОВСК, 1989

УДК 577:591,5

Рункова Г. Г. **О специфике биохимической адаптации на некоторых высших уровнях биологической интеграции.** Свердловск: УрО АН СССР, 1990.

Обобщен экспериментальный материал, полученный при комплексном эколого-биохимическом исследовании механизмов адаптации на уровне вида, подвида, генетического варианта и популяции. В качестве объектов исследования использованы серые полевки, улитки и личинки амфибий. Биохимические изменения в энергетическом обмене изучали на полевках при действии низких температур, в популяции амфибий на стадии их личиночного развития — в условиях повышенной плотности. Серии опытов поставлены по планам многофакторного эксперимента. Использованы ионно-обменная хроматография, электрофорез в полиакриламидном геле, полярография, гельфильтрация, ультрафильтрация и спектрофотометрия. Выявленные особенности биохимической адаптации на видовом, подвидовом и популяционном уровнях рассматриваются с точки зрения их энергетической стоимости и той роли, которую они играют в поддержании оптимальной численности исследованных экологических групп и их гетерогенности. Обсуждаются перспективы применения полученных эколого-биохимических данных в медицинской и сельскохозяйственной практике.

Книга представляет интерес для биологов широкого профиля, работающих в области экологии, систематики, теории эволюции и биохимии, физиологии.

Табл. 92. Ил. 38. Библиогр. 656 назв.

Ответственные редакторы

академик АН СССР **В. Н. Большаков**, профессор **М. С. Волков**

Р $\frac{21005—1570—134(87)}{055(02)7}$

© УрО АН СССР, 1989

ВВЕДЕНИЕ

Механизм адаптации — одна из важнейших проблем в современной биологии. Действие естественного отбора, развитие, разрушение и восстановление биогеоценозов и биосферы в целом тесно связаны с приспособляемостью особей и популяций, с адаптированностью видов и внутривидовых групп. Изучение механизмов адаптации на любом из известных уровней биологической интеграции — один из перспективных путей управления органической эволюцией, основа экологического прогнозирования, охраны и рационального использования биологической среды.

Особый интерес представляет изучение диких животных. По Дарвину, «...произведения природы... неизмеримо лучше приспособлены к бесконечно сложным условиям жизни и ясно несут на себе печать более высокой отделки»[1]. Уникальная способность диких форм к быстрой адаптации при освоении разнообразных условий окружающей среды — богатый источник полезной информации для биолога, медика и инженера.

Многие биологи еще в 1950—1960 годах поднимали вопрос о необходимости комплексного подхода при изучении экологических проблем. Как считал Н. В. Тимофеев-Ресовский, классические методы изучения микроэволюции, являясь чисто феноменологическими, не позволяют однозначно решить вопрос о действительных механизмах эволюционного процесса и о тех путях, на которых происходит формирование эволюционных явлений [295]. Подвиды, виды и другие таксономические группы рассматривались как понятия биологические, изучение которых не может быть сведено к установлению только морфологической характеристики и географического распространения [86].

Синтез данных, полученных на всех существующих уровнях изучения живого — от молекулярно-генетического до биосферного, включая популяции, подвиды и виды,— главная задача синтетической теории эволюции [356].

Современные экологи проявляют повышенный интерес к методам биохимии, используя их для изучения границ и структуры популяций, роли изолирующих факторов в процессах преобразования экосистем [597, 643]. При исследовании биологического

[1] Цит. по: Филипченко Ю. А. Эволюционная идея в биологии. Исторический обзор эволюционных учений XIX века. М.: Наука, 1977. С. 49.

полиморфизма частоту встречаемости генетических вариантов изучают с помощью биохимических маркеров [507, 556, 557]. Для выявления признаков внутривидовой дифференциации определяются интенсивность газообмена, фракционный состав сывороточных белков, содержание витаминов, резервных метаболитов [338, 297, 166]. С этой же целью разработан [344] и используется в полевых экологических исследованиях метод морфофизиологических индикаторов [36—38, 206, 269, 328, 358, 90, 110, 217]. Биохимический анализ все чаще находит применение для решения спорных вопросов в систематике [609, 597, 599].

На стыке молекулярной биологии и эволюционной экологии возникла геносистематика как раздел биологии о классификации организмов, основанный на изучении содержания и характера нуклеиновых кислот в тканях животных [8, 7]. На основе биохимии и эволюционной экологии появилась протеиновая таксономия, или таксономическая биохимия, изучающая степень генетического родства между формами и группами животных путем анализа тканевых белков, в которых реализуется наследственная информация [609, 463]. Интересные и ценные данные получены при изучении механизмов внутривидовой дифференциации с помощью иммунологических методов [532, 535, 226, 292, 290, 98, 29 и др.]. Известны работы, в которых для решения сложного вопроса о причинах цикличности колебаний численности в популяциях применяются физиологические и биохимические методики [595, 607, 343, 191, 415, 416, 96]. Активно изучаются химические взаимодействия внутри видов и биоценозов [22, 315].

Уникальные данные, полученные с помощью прямых биохимических методов (на тканевом и молекулярном уровне) в работах по биологическому полиморфизму, в области геносистематики и протеиновой таксономии, как правило, не оцениваются с точки зрения их адаптивной значимости. В изучении веществ, участвующих в межвидовых и внутривидовых взаимодействиях, больше места уделяется характеру влияния на приспособляемость отдельных особей, а не групп. Акцентируется внимание на той степени пользы или вреда, которую приносят экзометаболиты организму-продуценту или организму-реципиенту.

В биохимии огромное количество исследований посвящено изучению механизмов биохимической адаптации отдельного организма к различным факторам среды: парциальному давлению кислорода, температуре, физическим нагрузкам, радиации и т. д. [143, 18—21, 183, 82, 106, 128, 178, 197, 277, 307, 306, 312—314, 479—482, 492, 494, 613, 614, 617, 616, 93, 311, 191, 326, 355, 303, 285, 14].

В самостоятельную биологическую дисциплину выделилась экологическая физиология [282—285]. Получены данные о специфике метаболизма животных Субарктики и пустынь, видов равнинных и высокогорных, обитающих на больших глубинах

и в латеральной зоне [74, 161, 13, 11, 92, 65, 32, 115, 123 и др.]. На биохимическом и физиологическом уровнях изучается влияние зимней спячки, длительного и кратковременного голодания, обезвоживания пищи, сезона, водной среды с разным содержанием солей [89, 160, 225, 104, 64, 27, 318 и др.]. На основе этих данных разработаны положения о характере биохимической стратегии адаптации [323], созданы представления о морфологических и тканевых адаптациях [143, 140, 139, 282, 285, 335, 337]. Однако в преобладающем числе биохимических работ вопрос о механизмах адаптации рассматривается в плане аутэкологии, с позиций отдельного организма и среды. Не учитывается влияние характеристик, связанных с групповым обитанием животных. Отсутствуют результаты изучения специфики биохимической адаптации в зависимости от половой, возрастной и генетической структуры популяций, ранга экологических групп и их плотности. Накоплен большой опыт в области исследования биохимической адаптации на уровне крупных таксонов [655, 52, 142, 456, 502, 117, 167, 12, 141], но почти отсутствуют данные по биохимической адаптации близких видов с разной степенью морфологической дифференциации. Совершенно не изучены механизмы биохимической адаптации у животных разных генераций, роль обмена отдельной особи в адаптации популяции.

С точки зрения современной экологии [203, 335, 337, 169, 170], каждый организм функционирует в составе экологических групп различной степени сложности (популяции, вида, подвида, биоценоза, биогеоценоза и биосферы в целом). Экология рассматривается как наука о структуре и функциях этих групп, а в конечном счете — о жизни биосферы [204].

При изучении биохимических механизмов адаптации в свете современной экологии необходимо учитывать особенности организма, связанные с рангом и параметрами экологических групп.

Такие эколого-биохимические исследования, посвященные изучению адаптации в зависимости от комплекса организменных и групповых характеристик, обусловлены потребностями не только современной биохимии, но и современной экологии.

Существуют экологические проблемы, решение которых зависит от использования биохимических подходов и биохимических методов. К ним относятся исследования в области микроэволюции и экзометаболической регуляции, изучение биохимических механизмов внутривидовой дифференциации, химической природы и механизмов действия продуктов обмена, выполняющих в экологических группах коммуникационную роль.

Возникает вопрос о механизмах участия биохимических процессов в функционировании экологических групп, в поддержании определенной численности и структуры вида, подвида, популяции. Особый интерес представляет сопоставление биохими-

ческих механизмов адаптации этих групп, так как именно в пределах вида, подвида и популяции происходит микроэволюция.

Основная цель настоящей работы — изучение специфики биохимической адаптации вида, подвида и популяции. Для ее достижения предполагалось выполнить следующие задачи.

1. На примере нескольких видов полевок и моллюсков изучить особенности биохимической адаптации вида, подвида и генетического варианта (в зависимости от степени морфологической дифференциации вида и ранга экологической группы).

2. На примере развивающихся личинок амфибий изучить особенности биохимической адаптации популяции (в зависимости от ее плотности и структуры).

В современной экологии большое внимание уделяется оценке энергетической стоимости адаптации [337, 204]. При изучении механизмов адаптации популяций отмечают значимость генетической разнородности, которая способствует сохранению оптимальной плотности популяций [294].

В настоящей работе сопоставлены результаты, полученные при изучении особенностей биохимической адаптации на выбранных трех высших уровнях биологической интеграции, дана оценка энергетической стоимости адаптации вида, подвида и популяции, выявлена роль, которую играют исследованные биохимические адаптивные реакции в поддержании оптимальной численности указанных экологических групп и их гетерогенности.

В ходе выполнения исследований автор пользовался консультациями по математическому планированию эксперимента доктора биологических наук ст. преподавателя МГУ В. Н. Максимова. Разведение полевок и получение лабораторных колоний проводила группа зоологов во главе с А. В. Покровским. В эколого-биохимических экспериментах участвовали сотрудники группы биохимии Института экологии растений и животных УрО АН СССР Н. Ф. Бабушкина, З. Л. Степанова и Л. А. Ковальчук. В иммунологических сериях принимала участие научный сотрудник Свердловского научно-исследовательского института курортологии и физиотерапии И. С. Голод, в экспериментах на тканевых культурах — старший научный сотрудник Свердловского научно-исследовательского института вирусных инфекций Г. Г. Колесникова. Определение концентрации микроэлементов эмиссионным спектральным методом проведено А. М. Вульфсон. Всем им автор крайне признателен.

Монография развивает идеи академика С. С. Шварца, по инициативе и под непосредственным руководством которого в Институте экологии растений и животных велась работа по созданию эколого-биохимической группы и эколого-биохимического направления. Автор благодарен его ученику и последователю В. Н. Большакову за ценные советы при планировании и выполнении экологической части исследования.

Глава 1
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Мы изучали биохимические механизмы адаптации к действию двух факторов — низких температур и плотности — у популяций четырех видов полевок, трех видов моллюсков и нескольких видов амфибий. Подбор объектов проводили таким образом, что в опытах на полевках биохимическую реакцию на охлаждение исследовали у животных, принадлежащих к видам с широким распространением и узким ареалом; одновременно в сериях на полевках изучали биохимические реакции на охлаждение у особей южного (номинального) и северного подвидов. В экспериментах на моллюсках рассматривали биохимическую адаптацию к низким температурам у разных генетических вариантов. Особенности биохимической адаптации популяций в условиях разной плотности изучали на головастиках. Действие плотности исследовали опосредованно, определяя влияние водной среды (и содержащихся в ней экзометаболитов) из популяций с разной плотностью в зависимости от стадии развития личинки, ее принадлежности к виду или семье и структуры популяции (в разные периоды, когда соотношение головастиков отдельных стадий непостоянно).

Для оценки энергетической стоимости адаптации определяли показатели интенсивности и эффективности окислительного обмена: общую активность оксидаз, активность цитохромоксидазы, лактат- и сукцинатдегидрогеназы (ЛДГ и СДГ), скорость гликолиза и дыхания, интенсивность окисления сукцината и соотношение *Н-* и *М*-субъединиц ЛДГ, чувствительность оксидаз к тироксину, коэффициент Вант-Гоффа для СДГ, скорость фосфорилирования АДФ при окислении сукцината, коэффициент сопряженности, соотношение свободного и фосфорилирующего окисления, содержание митохондриального белка.

1.1. ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты ставили на животных из модельных и природных популяций. Исследовали экономок, полевок узкочерепных, Миддендорфа, памирских и арчевых, белых мышей линии БАЛБ, а также

улиток рода *Bradybaena* и головастиков чесночницы, остромордой, травяной, закавказской и малоазиатской лягушек.

Полевка-экономка (*Microtus oeconomus* Pallas, 1776) является типичным представителем широко распространенного вида [336]. Она обитает в тундре и лесотундре, встречается в таежной и лесостепной зонах СССР (южная граница обитания — Северная Украина, Воронежская область, Южный Урал, Северный Казахстан и Семиречье), в северной половине Западной Европы и в Монголии [286, 329, 220, 222, 223, 114, 23]. Описано около 15 подвидов экономки из различных районов СССР [202, 61, 80]. Некоторые авторы [31] выделяют 11—12 подвидов.

Нами исследованы два из них: *Microtus oeconomus oeconomus* и *Microtus oeconomus chachlovi*. Основатели модельных популяций северного подвида экономки (*M. o. chachlovi*) привезены с п-ва Ямал, модельных популяций южного подвида (*M. oeconomus oeconomus*) — из районов Среднего Урала.

Географическая изоляция указанных подвидов произошла давно, продолжительность их самостоятельного существования, как отметил С. С. Шварц [336], измеряется десятками тысячелетий. Однако морфологические различия между северным и номинальным подвидами незначительны. Для северной экономки характерны более крупные размеры тела, более короткие хвост и ступня, неодинаковы у них и некоторые краниологические признаки [146, 222, 220, 332, 331, 325]. Нарушений нормального скрещивания между северным и южным подвидами экономки не обнаружено [201].

Своеобразие экологической приспособляемости экономки состоит в определенном распространении ее по биотопам. В любой зоне эти грызуны предпочитают влажные биотопы с богатой травяной растительностью [10, 61, 114].

Для экономок характерна низкая индивидуальная сопротивляемость по отношению к неблагоприятному сочетанию биотических и абиотических факторов, таких как присутствие хищников, бактериальные инфекции, весенние заморозки, пересыхание водоемов, вымирание растительности [334]. Одним из биологических приспособлений экономок к неблагоприятным условиям среды является способность к интенсивному размножению. Для них характерны раннее половое созревание, высокая плодовитость (6—12 детенышей в помете), способность давать по пяти генераций в год [222, 220]. Двигательная активность экономок невысока, им не свойственны частые перемещения [220].

Узкочерепная полевка (*Microtus gregalis* Pallas, 1779) как вид также имеет широкое распространение [337]. Она обитает в горах Азии, степях Северного и Восточного Казахстана, в степных районах Западной Сибири, на Алтае, в Саянах, Тувинской АССР, Прибайкалье, Забайкалье, Якутии и по всей полосе

тундры и лесотундры от Берингова пролива до горла Белого моря, встречается в Монголии и Северо-Восточном Китае [31]. Этот вид серых полевок представлен в природе десятью подвидами. Нами исследованы два подвида: *Microtus gregalis gregalis* и *Microtus gregalis major*. Некоторые исследователи [59] считают их самостоятельными видами. Основатели модельной популяции северного подвида узкочерепной полевки (*M. g. major*) привезены с п-ва Ямал, южного подвида (*M. g. gregalis*) — из районов Среднего Урала. Северный и южный подвиды узкочерепной полевки морфологически резко дифференцированы [342].

Аналогично экономкам и другим видам мышевидных грызунов узкочерепная полевка в условиях широкого расселения выбирает биотопы с определенным, специфическим для нее микроклиматом: предпочитает влажным кочкам сухие участки на возвышенностях [94, 80]. В зонах земледелия узкочерепная полевка сильно вредит посевам. Плодовитость данного вида так же, как и экономок, достаточно высока. Они размножаются несколько раз в год, в помете 4—12 детенышей [342]. Узкочерепные полевки ведут подвижный образ жизни [146, 53]. Для них характерны частые перемещения.

Полевка Миддендорфа (*Microtus Middendorfi*, 1881) — абориген Субарктики, представитель вида-автохтона, для которого характерен малый ареал. Полевка Миддендорфа встречается только в тундрах и лесотундрах Полярного Урала, низовьях рек Оби, Таза и Енисея, на Таймыре и в Северной Якутии [146, 341, 80]. Известны два подвида этого грызуна [31]. Нами исследована *Microtus Middendorfi* Poljakow. Основатели модельной популяции привезены с п-ва Ямал. Данные по экологии этого подвида немногочисленны. Установлено, что полевка Миддендорфа расселяется на болотистых участках, где роет норы в кочках и устраивает в покрывающей их траве и ползучем кустарнике наземные гнезда [31, 341]. Значительно реже эти животные встречаются в норах на более сухих участках тундры. Питаются они тундровыми травами и побегами кустарников. Поведенческие адаптации полевки Миддендорфа указывают на сходство ее с леммингом. Степень приспособляемости к условиям Крайнего Севера значительно выше, чем у проникающих в тундру и лесотундру широко распространенных видов полевок.

Осваивая разнообразные биотопы тундры (в отличие от экономок и узкочерепных полевок), полевки Миддендорфа проявляют повышенную способность к миграциям, что позволяет им избегать губительного действия паводков. Этому виду не свойственна высокая плодовитость. Его размножение начинается несколько позднее, чем у леммингов и узкочерепной полевки, но раньше, чем у субарктических популяций или широко распространенных видов [332, 324, 222]. При этом в течение всего сезона размножения, по данным тех же авторов, в нем прини-

мает участие большинство самок, в том числе и младшие возрастные группы (происходит раннее созревание). Среднее число эмбрионов у отдельных самок полевки Миддендорфа высокое, но меньше, чем у субарктических популяций широко распространенных видов [223, 341].

Арчевая полевка, по мнению некоторых зоологов [41, 42],— представитель вида с «ясной эволюционной судьбой». В природе известны два подвида (*Microtus juldaschi juldaschi*, или памирская полевка, и *Microtus juldaschi carrutersi* — арчевая полевка), которые дивергируют в сторону видового обособления [279]. Они встречаются в горах Тянь-Шаня, Памира и Гиссеро-Алтая.

В отличие от субарктических форм широко распространенных видов полевок (*M. o. chachlovi*, *M. g. gregalis*) памирская и арчевая полевки так же, как типичные горные виды, не способны к резкой интенсификации размножения. Интенсивность их размножения низка, хотя численность популяций остается достаточно стабильной [39, 35]. Нами исследованы оба подвида. Основатели модельной популяции памирской полевки привезены из района озера Қара-Куль, арчевой полевки — из заповедника Аксу-Джабаглы.

Домовая мышь (*M. musculus Linnaeus*, 1878) — широко распространенный вид, представленный в природе пятью обособленными географическими расами. Встречается почти повсеместно, кроме Крайнего Севера и некоторых глухих таежных районов. Его представители приносят большой ущерб как амбарные и полевые вредители. Нами исследованы белые мыши линии БАЛБ.

Bradybaena fruticum Nill.— широко распространенный вид моллюсков. Ареал включает всю европейскую часть СССР, а также Румынию, Болгарию, Швецию, Чехословакию, Швейцарию, Францию, Данию, Голландию, Англию и часть Испании [320]. Исследованные нами моллюски *B. fruticum* собраны в районе г. Сарапул (Удмуртская АССР). В опыты взяты животные из природной популяции.

Bradybaena lantzi Ludh.— один из среднеазиатских видов моллюска, для которого характерен относительно узкий ареал. Встречается в районах Алтайского и Ферганского хребтов, Заилийского и Джунгарского Алатау. Моллюски *Br. lantzi*, исследованные нами, собраны в районе г. Алма-Аты, левозакрученные генетические варианты популяции *A* — на высокогорном участке (200 м), правозакрученные варианты *A* — у подножия гор (1000 м), право- и левозакрученные генетические варианты популяции *B* — на одном участке (1200 м).

Лягушка остромордая (*Rana arvalis*) — представитель одного из типичных широко распространенных видов земноводных, один из трех видов рода *Rana*, проникающих в южную Субарктику [338]. *Rana arvalis* — животное равнин. Как правило, водоемы, в которых обитает остромордая лягушка, замкнутые.

Общая продолжительность метаморфоза для *R. arvalis* в условиях экологического оптимума для южных районов (лесостепь Зауралья), по данным Е. Л. Щупак, колеблется в пределах 70—80 дней (см. [339]). В экспериментальных условиях (при комнатной температуре и повышенной плотности) отдельные особи субарктических форм *R. arvalis* проходят личиночное развитие за 28—30 дней [339, 340]. Сроки развития в указанных пределах в природе варьируют, так как зависят от многих экологических факторов, среди которых особенно большое значение имеет температура [552, 551, 294, 15, 105]. За температурный оптимум для головастиков данного вида есть основание принять интервал 18—22 °С. В эксперименте [105] и полевых опытах [338] установлено, что плотность, обеспечивающая нормальное развитие головастиков остромордой лягушки,— один головастик на 1 л воды (в том числе и для аквариумов без смены воды). В настоящей работе исследовали головастиков южных популяций *R. arvalis* (кладки собраны в районе оз. Шарташ, г. Свердловск).

Лягушка травяная (*Rana temporaria*) принадлежит к видам с широким ареалом, распространена как в Европе, так и в Азии, известны субарктические популяции. В отличие от остромордой лягушки, *R. temporaria* обитает в горных частях ареала [338]. Продолжительность личиночного периода развития у травяной лягушки 50—60 дней [16], субарктические формы данного вида при средней температуре 15—16 °С могут закончить метаморфоз за 35—40 дней [300]. Температурный оптимум, установленный для *R. temporaria* как вида в целом, составляет 21—26 °С, для субарктических форм, по данным В. Г. Ищенко [110], 10—15 °С. Уровень нормальной плотности на стадии личиночного развития *R. temporaria* близок к нормальной плотности *R. arvalis* (три головастика на 1 л воды). Нами исследовались головастики южной популяции *R. temporaria* (кладки собраны в районе р. Исеть, Свердловская область).

Малоазиатская (*Rana macrocnemis*, 1885) и закавказская лягушки (*Rana camerani*, 1886) — две формы бурых лягушек, морфологически очень близкие к *R. temporaria*. Малоазиатская лягушка распространена преимущественно на Черноморском побережье Кавказа, в Предкавказье и Малой Азии, характеризуется отсутствием светлой дорсомедиальной полосы и гладкой кожей спины [16]. Закавказская лягушка в пределах СССР встречается в Южном Дагестане, Азербайджане, Грузии и Армении. Для нее характерны светлая спинная полоса и бугорчатость спины [293], более заостренная морда [208] и иные пропорции тела [377].

Существует мнение [112], что закавказская и малоазиатская лягушки — подвиды одного вида и могут быть соответственно названы *R. macrocnemis camerani* Blugr. и *R. macrocnemis macrocnemis* Blugr. (морфологические различия между ними не

превышают различий между популяциями, гибридные формы развиваются аналогично родительским). Данные подвиды заселяют предгорные и горные районы. Период личиночного развития 48—62 дня [105] или 56—59 дней [112]. Температурный оптимум личиночного развития [105] 18—20 °С. Для высокогорных популяций данного вида амфибий характерны ускоренное развитие и увеличенная скорость роста личинок [354]. Нами исследовались головастики *R. macrocnemis macrocnemis* (кладки собраны в районе Голубых озер, Кабардино-Балкарская АССР, 900 м над ур. моря) и *R. macrocnemis camerani* (кладки собраны из водоемов в окрестностях г. Еревана).

Чесночница обыкновенная (*Pelobates fuscus* Laur.) — широко распространенный вид жаб. Оптимальная плотность головастиков при развитии — три личинки на 10 л воды. Период метаморфоза в сравнении с лягушками рода *Rana* удлинен [105].

В экспериментах при изучении специфики биохимической адаптации у полевок мы использовали половозрелых самцов и самок, полученных в условиях вивария (2-, 5—6-, 7—10- и 20-е поколения). Исследовали животных, родившихся в августе, т. е. принадлежащих к осенней генерации. Достигнув возраста 2—2,5 мес, эти животные не размножаются и, только перезимовав, дают потомство весной, отмирая к середине лета. Отдельные особи осенней генерации полевок живут значительно дольше основной массы грызунов (до одного года) за счет продления таким образом периода «юности». «Осенняя популяция,— писал академик С. С. Шварц,— в высшей степени специфична. Животные этой генерации обладают еще более глубоким комплексом морфофизиологических особенностей, чем осенние животные долгоживущих видов, ...с момента рождения развиваются в своеобразных условиях среды и выполняют определенную экологическую функцию: они должны пережить зиму, весной дать потомство и передать эстафету следующим поколениям» [337, с. 165].

Способность популяции приобретать определенную структуру за счет определенного соотношения числа особей весенней и осенней генераций рассматривается в современной экологии как один из популяционных механизмов адаптации [336, 337].

Содержание и разведение полевок проводили по методике, разработанной в виварии Института экологии растений и животных Уральского отделения АН СССР (ИЭРиЖ) [276, 274]. Исследованные в работе белые мыши линии БАЛБ взяты из вивария лаборатории радиобиологии того же института.

В экспериментах на улитках исследовали выборки из природных популяций после 6, 12 дней содержания животных в лаборатории экологических основ изменчивости в условиях, адекватных естественным, по методике, разработанной И. М. Хохуткиным [320—322].

В сериях по экзометаболической регуляции использовали

методику содержания личинок амфибий, разработанную в лаборатории зоологии Института экологии растений и животных УрО АН СССР [339, 340, 105]. Модельные популяции формировали в аквариумах емкостью 30 л. Личинки проходили метаморфоз при температуре 18—22°С в условиях нормальной (один головастик на 1 л воды), повышенной (10 головастиков на 1 л) или высокой (30 головастиков на 1 л) плотности. В модельных популяциях головастиков чесночницы нормальная плотность составляла три личинки на 10 л воды. Недостатка в пище развивающиеся личинки не испытывали. В условиях нормальной и повышенной плотности содержание кислорода, по данным полярографического анализа [118], в водной среде головастиков не достигало пороговой и тем более критической концентрации. В качестве корма для головастиков использовали вареные листья одуванчика, капусты или щавеля. Модельные популяции личинок амфибий развивались в условиях, адекватных замкнутым водоемам (без смены воды).

Охлаждение животных в сериях на полевках и улитках проводили с помощью пульта глубокого охлаждения (производства ВНР) и холодильной камеры КХ-6 (отечественного производства). При экстремальном кратковременном охлаждении полевок их движения ограничивали, помещая животных в коробки из оргстекла. Девятидневную акклимацию к холоду производили без ограничения движения (полевок содержали в условиях, аналогичных контролю по световому режиму и кормлению в неотапливаемом помещении). Температура в опытах по акклимации автоматически фиксировалась. Всего исследовано 348 полевок, 185 белых мышей линии БАЛБ и около 2000 головастиков.

1.2. МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эндогенную активность оксидаз определяли по разработанному в группе биохимии ИЭРиЖ УрО АН СССР новому «экспресс-тетразоловому» методу [236] в гомогенатах тканей (исследовали скелетные мышцы полевок, белых мышей линии БАЛБ, улиток и гомогенаты, полученные при гомогенизировании головастика целиком)[1].

Цитохромоксидазную активность определяли в гиалоплазме сердечной мышцы полевок спектрофотометрическим методом по оптическому тесту Варбурга [583]. Животное декапитировали, мышцу извлекали, взвешивали и гомогенизировали при температуре 0—+5 °С в 0,05 *М* фосфатном буфере (pH 7,5, концентрация 25 мг ткани на 1 мл). Полученный гомогенат центрифугировали в течение 30 мин на центрифуге ЦЛР-1 при 10 тыс. об/мин. Для определения активности брали 0,1 мл гиалоплаз-

[1] Теоретическое обоснование метода и результаты его апробирования на лабораторных животных описаны в гл. 2.1.1.

мы. Использовали кювету объемом 3 мл. Состав реакционной среды: $1{,}67 \cdot 10^{-4}$ *М* $НАДН_2$: $6{,}67 \cdot 10^{-6}$ *М* цитохрома *С* и 0,033 *М* калийфосфатного буфера (pH 7,4). Скорость окисления $НАДН_2$ в НАД фиксировали спектрофотометрированием пробы при длине волны 340 нм в интервале 0,5—1 мин при температуре 26 °С. Цитохромоксидазная активность представлена в таблицах в микромолях $НАДН_2$, окисленного до НАД за 1 мин в расчете на 1 г сырой массы ткани.

Сукцинатдегидрогеназную активность определяли в гомогенатах скелетных мышц полевок с помощью 2, 3, 5-трифенилтетразолхлорида по стандартной методике [521].

Животное декапитировали, скелетные мышцы задних конечностей извлекали, взвешивали и гомогенизировали в 0,05 *М* фосфатном буфере (pH 7,5; 25 мг ткани на 1 мл). Полученный на первом этапе обработки гомогенат центрифугировали 30 мин на ЦЛР-1 (10 тыс. об/мин). Оставшийся после удаления гиалоплазмы осадок суспендировали в том же 0,05 *М* фосфатном буфере (pH 7,5) из расчета получения 7,5 мл гомогената, 1 мл данного гомогената инкубировали в течение 2 ч при температуре 37 °С в присутствии 0,1 мл 0,3 *М* сукцината натрия и 0,1 мл 3 %-го 2, 3, 5-трифенилтетразолхлорида. Образовавшийся формазан экстрагировали 96 %-м этанолом (3 мл на пробу), спиртовый экстракт формазана отделяли центрифугированием (1500 об/мин) и пробу спектрофотометрировали при длине волны 494 нм (в качестве контроля используя воду). Сукцинатдегидрогеназную активность измеряли в экстинкциях на 1 г сырой массы ткани (см. табл. 19).

Коэффициент Вант-Гоффа для сукцинатдегидрогеназы скелетных мышц полевок рассчитывали, определяя активность данного фермента при инкубации в условиях 30 и 40 °С описанным выше методом. В таблицах коэффициент Вант-Гоффа представлен как отношение активности сукцинатдегидрогеназы при 40 °С и активности фермента в том же гомогенате при инкубации его в условиях 30 °С.

Интенсивность аэробного и анаэробного гликолиза определяли по скорости накопления лактата при инкубации гиалоплазмы скелетных мышц полевок в присутствии фруктозо-1, 6-дифосфата. Инкубационная среда имела следующий состав (моль/л): неорганический фосфат $5 \cdot 10^{-2}$, $MgCl_2$ $7 \cdot 10^{-3}$, НАД $2 \cdot 10^{-3}$, никотинамид $8 \cdot 10^{-3}$, фруктозо-1,6-дифосфат $5 \cdot 10^{-2}$. Гиалоплазму получали центрифугированием гомогената (20 мл 0,15 *М* KCl на 1 г сырой массы ткани) в течение 10—15 мин при 8000 *q*. При определении интенсивности анаэробного гликолиза инкубацию проводили в атмосфере аргона, аэробного гликолиза — в атмосфере воздуха. Содержание лактата находили спектрофотометрическим методом. Все операции до момента инкубации проб (в атмосфере воздуха или аргона, в аппарате Варбурга) при определении интенсивности гликолиза прово-

дили на холоде (0 — +3 °С). Данные по гликолизу представлены в таблицах как накопление лактата за 1 ч инкубации гиалоплазмы при 28 °С (в мг на 100 г сырой массы ткани).

При определении лактата в мышце в условиях опыта in vivo ткань, извлеченную после декапитации животного, замораживали в жидком азоте. Общую лактатдегидрогеназную активность определяли в гиалоплазме скелетных мышц полевок: в первых сериях, на полевках 5—6-го поколений,— по Савелу и Товареку (цит. по [216]), в остальных сериях, на полевках 7—10-го и 20-го поколений,— по убыли $НАДН_2$ [116, 137]. Гиалоплазму получали так же, как в опытах при определении цитохромоксидазной активности, используя методику Савела и Товарека. В одну пробирку вносили 0,3 мл 0,3 %-го НАД и 0,1 мл гиалоплазмы, во вторую (контрольную) пробирку — 0,3 мл того же раствора НАД, в третью пробирку — смесь (4 : 1) 0,03 *М* пирофосфорнокислого натрия (pH 8,8) и 0,012 %-го молочнокислого кальция. Пробы выдерживали в водяной бане при температуре 37 °С в течение 10 мин. Затем в первую и вторую (контрольную) пробирки вводили по 1 мл смеси из третьей. Добавляя таким образом соответствующий буфер и субстрат, выдерживали пробы при той же температуре еще 15 мин. После введения в каждую из них по 0,5 мл 0,02 %-го и 2,4-динитрофенилгидрозина пробы вынимали из водной бани. В контрольную пробирку вносили 0,1 мл гиалоплазмы и выдерживали обе пробы 20 мин в условиях комнатной температуры, после чего добавляли по 5 мл 0,4 *N* NaOH, перемешивали и через 10—15 мин спектрофотометрировали (при длине волны 536 нм, используя в контрольной кювете воду). Активность лактатдегидрогеназы рассчитывали по формуле

$$A = \frac{\alpha RK}{80},$$

где A — активность фермента в микромолях пирувата на 1 мл гиалоплазмы за 1 ч инкубации; α — количество пирувата в пробе, мг; R — соответствующее разведение; K — коэффициент пересчета на 1 мл пробы и 1 ч инкубации при температуре 37 °С; 80 — масса микромоля пирувата, мг.

Определяя общую активность лактатдегидрогеназы по убыли $НАДН_2$ в кювете объемом 3 мл, вводили 2 мл 0,1 *М* калийфосфатного буфера (pH 7,5), содержащего 2,5 мг $НАДН_2$ и 1 мг пирувата натрия. Затем вносили 0,1 мл гиалоплазмы и определяли изменения экстинкции, спектрофотометрируя пробу при длине волны 340 нм и температуре 22 °С [9]. Использовали спектрофотометр «Specord», позволяющий вести графическую запись реакции. $\Delta\varepsilon$ за 1 мин определяли, проведя касательную к соответствующей точке графика, и по углу ее наклона устанавливали падение экстинкции.

Активность лактатдегидрогеназы, получаемую таким способом, рассчитывали в микромолях НАД·H_2/мл по формуле

$$A = \frac{\Delta\varepsilon}{3{,}11 \cdot v},$$

где A — общая активность лактатдегидрогеназы; $\Delta\varepsilon$ — изменение экстинкции за 1 мин; V — начальный объем гиалоплазмы; 3,11 — коэффициент экстинкции, или поглощение 1 мкмоля НАД·H_2 при длине волны 340 нм.

Для определения активности изоэнзимов лактатдегидрогеназы и соотношения *H*- и *M*-субъединиц в данном ферменте использовали метод энзимэлектрофореграмм [154]. Разделение изоферментов лактатдегидрогеназы проводили с помощью электрофореза в 5,5 %-м полиакриламидном геле [439].

Интенсивность окраски, возникшей в результате реакции как показатель активности отдельных изоферментов, определяли на микрофотометре МФ-2 с записывающей приставкой [214].

В полученной энзимограмме измеряли площадь каждого пика, которая прямо пропорциональна активности данного изофермента. Затем вычисляли процентное соотношение активности каждого изофермента в пробе по формуле

$$A = \frac{S_и\, 100\%}{S_{общ}},$$

где A — активность изофермента, %; $S_и$ — измеренная площадь пика изофермента; $S_{общ}$ — общая площадь всех пиков изоферментов пробы. Соотношение *H*- и *M*-субъединиц в лактатдегидрогеназе рассчитывали исходя из того, что ЛДГ-1 содержит 100% *H*; ЛДГ-2 — 75% *H* и 25% *M*; ЛДГ-3 — соответственно 50 и 50; ЛДГ-4 — 25 и 75; ЛДГ-5 — 100% *M* [214]. Использовали формулу: $H/M = \frac{\%H\ (\text{или } M) \cdot \text{общ. актив. ЛДГ}}{100}$.

Определение интенсивности эндогенного дыхания ($V_{энд}$), свободного (V_0) и фосфорилирующего окисления (V_{III}) янтарной кислоты, скорости фосфорилирования АДФ на данном субстрате ($V_ф$) и соответствующего дыхательного контроля (V_{III}/V_0) [524] в митохондриях печени полевок проводили полярографическим методом [71, 72, 147, 118, 57]. В качестве индикаторного электрода использовали вращающийся платиновый, в качестве электрода сравнения — каломельный [124, 118].

Дыхание регистрировали на полярографе ОН-102. Рабочее напряжение выбирали на основании записи полярограммы и наблюдаемого плато на инкубационной среде (0,65—0,75 В). Инкубационная среда при определении выбранных показателей в митохондриях печени полевок имела состав (моль/л): 0,18 сахарозы; 0,015 KCl; 0,01 $MgCl_2$; 0,02 *M* ЭДТА и 0,02 калий-фосфатного буфера; pH 7,4. Концентрация сукцината в ячейке — 5 мМ, аденозиндифосфата (АДФ) — 200 мМ.

Перед опытом ячейку и электроды промывали дистиллированной водой и раствором, в котором проводили инкубацию. Затем в ячейку добавляли 0,95 мл инкубационной среды, погружали в нее электроды и, спустя 1—1,5 мин, вводили 0,05 мл митохондриальной суспензии. Через 1 мин линейного дыхания в ячейку вносили 0,025 мл 0,2 *М* сукцината, а спустя еще 1 мин — 0,02 мл 0,01 *М* АДФ. По окончании фосфорилирования АДФ содержимое ячейки переносили в пробирку, трижды обмывали электроды дистиллированной водой, смывая среду в ту же пробирку, и определяли в пробе содержание белка, используя биуретовый реактив [418]. Скорость дыхания (в микроатомах на 1 мг белка в 1 мин) рассчитывали по формуле

$$V = \frac{A\ B}{T\ C},$$

где A — количество миллиметров, соответствующее уменьшению диффузного тока при дыхании митохондриальной суспензии за время T; B — цена одного деления в микроатомах кислорода, которую определяли как отношение концентрации кислорода в ячейке к первоначальному, диффузному току, выраженному в мм; C — концентрация белка митохондрий, мг. Начальную концентрацию кислорода находили по таблице [452].

Скорость дыхания митохондриальной суспензии до введения сукцината в пробу определяли как эндогенное дыхание ($V_э$), в присутствии сукцината, но без АДФ — как дыхание в состоянии 4 (V_0) [406], в присутствии сукцината и АДФ — как дыхание в состоянии 3 (V_{III}).

Дыхательный контроль [524] рассчитывали по формуле

$$ДК = \frac{V_{III}}{V_0}.$$

За коэффициент фосфорилирования, или сопряженности (АДФ/0) брали отношение добавленного АДФ (в микромолях) к количеству поглощенного кислорода (в микромолях) с момента добавления АДФ до его полного фосфорилирования.

Скорость фосфорилирования АДФ в АТФ определяли по формуле

$$V_ф = АДФ/T \cdot мг\ белка,$$

где $V_ф$ — скорость фосфорилирования; T — время фосфорилирования добавленного АДФ.

Для получения концентрированной митохондриальной суспензии печени полевок использовали общепринятый метод дифференциального центрифугирования [318, 216]. Животных декапитировали, печень извлекали, отмывали от крови в ледяной воде, быстро взвешивали и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком (в холодильной камере КХ-26). При этом использовали в качестве среды выделения

0,02 *М* трис-HClбуфер (pH 7,4), содержащий 0,25 *М* сахарозы и 0,001 *М* ЭДТА. В течение первых 40—45 с гомогенизации среду выделения добавляли до установления отношения 1 : 5, в следующие 10—15 с — до 1 : 10. Ядра и обломки клеток удаляли с помощью центрифугирования в рефрижераторной центрифуге ЦЛР-1 при 800 *q* (5 мин). Из полученного центрифугата осаждали митохондрии (при 8000 *q*) в течение 15 мин. Конечный осадок митохондрий суспендировали, добавляя 0,17—0,2 мл 0,02 *М* трис-HClбуфера с содержанием 0,3 *М* сахарозы и 0,001 *М* ЭДТА (pH 7,4).

В процессе работы с памирскими и арчевыми полевками в повторных сериях (1975 г.) использовали среды выделения и инкубации, не содержащие ЭДТА. Среда выделения имела состав (моль/л): 0,3 *М* сахарозы и 0,05 *М* трис-HCl (pH 7,4). Среда инкубации: 0,3 *М* сахарозы; 0,05 *М* KCl; 0,05 *М* трис-HCl и 0,003 калийфосфатного буфера (pH 7,4).

Концентрация белка, добавленного в виде митохондриальной суспензии в полярографическую ячейку, во всех опытах на полевках — 2—2,5 мг. Объем полярографической ячейки 1 мл.

Интенсивность общего потребления кислорода и соотношение свободного и фосфорилирующего окисления головастиков определяли с помощью полярографического метода, используя ингибитор окислительного фосфорилирования — амитал [178, 120]. Тип электродов, их приготовление, схема установки, тип полярографа, рабочий режим и т. д. такие же, как в сериях на полевках.

В опытах использовали полярографическую ячейку особой конструкции, позволяющей ограничивать произвольные движения головастиков в момент определения. В качестве инкубационной среды применяли водную среду из популяции с нормальной или повышенной плотностью (или отстоянную водопроводную воду). Головастика помещали в полярографическую ячейку, и сначала снимали полярограмму, измеряя падение тока диффузии в водной среде без амитала. Затем измеряли тот же показатель после семиминутного выдерживания личинки в водной среде с добавленным амиталом (2 мг/мл), после чего обычным способом на основании полярограммы рассчитывали скорость потребления кислорода личинкой (в микроатомах на 1 мг сырой массы в 1 мин). Определив скорость дыхания головастика в среде без амитала и после выдерживания в среде с амиталом, рассчитывали объем амиталрезистентного и амиталчувствительного дыхания (в процентах).

Содержание белка в митохондриальной суспензии печени полевок определяли по Бенедикту [137] с биуретовым реактивом (к 50 мл воды добавляли 13,3 г цитрата натрия и 10 г карбоната натрия; смесь нагревали, не доводя до кипения, пока не произойдет полное растворение солей; 1,73 г сернокислой меди растворяли в 10 мл воды; полученный раствор добавляли

к первому, и общий объем доводили водой до 100 мл). Содержимое полярографической ячейки (1 мл) после снятия полярограммы переносили в отдельную пробирку и добавляли 1 мл воды, 2 мл 6 %-й гидроокиси натрия и 0,2 мл биуретового реактива. Пробу перемешивали и через 15 мин выдерживания в условиях 18—20 °С спектрофотометрировали при длине волны 330 нм. Количество белка рассчитывали по соответствующей калибровочной кривой, для построения которой использовали 0,2 %-й стандарт альбумина.

Для выделения белково-пептидных компонентов из водной среды головастиков использовали гельфильтрацию на сефадексе Г-25 и высаливание с помощью сульфата аммония. Для выявления роли экзобелков в специфическом влиянии водной среды на обмен личинок водную среду пропускали через колонку 1,5 × 20 см со скоростью 2 мл/мин. Элюирование осуществляли водой, собирая элюат в отдельные пробирки (см. рис. 26). Контроль за разделением проводили, определяя в поступающем из колонки элюате содержание белка по поглощению в ультрафиолетовой части спектра (220 нм) за счет пептидных связей [544, 88].

При выделении экзобелков высаливанием к 500 мл водной среды головастиков порциями при непрерывном помешивании добавляли сульфат (до 60 %-го насыщения), и пробу выдерживали 24 ч при температуре 18—20 °С. Выпавший осадок центрифугировали (3000 об/мин) и растворяли в 10 мл дистиллированной воды. Обессоливание проводили пропусканием раствора через колонку с сефадексом Г-25 (объем 45 мл, элюат — дистиллированная вода). В вытекающем растворе определяли содержание белка по поглощению в области 220 нм и ионы аммония по Несслеру. Для изучения специфичности действия экзобелков использовали первые фракции элюата, не содержащие ионов аммония и поглощающие в области 220 нм.

Полученный после высаливания и обессоливания белковый раствор разбавляли водопроводной, предварительно выдержанной, водой до исходного содержания белка, определяя его в водной среде головастиков и в элюате по Лоури: 1 мл 0,5 %-го $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ в 1 %-м цитрате натрия смешивали с 50 мл 2 %-го Na_2CO_3 в 0,1 *М* NaOH и 2 мл полученной смеси вводили в 0,4 водной среды или элюата. Через 10 мин выдерживания проб в условиях комнатной температуры к ним добавляли по 0,2 мл реактива Фолина Чокальтеу [137], содержимое перемешивали, и через 30—40 мин измеряли величину оптической плотности в области 750 нм. Для построения калибровочной кривой использовали раствор альбумина с содержанием 0,25 мг белка в 1 мл. Пробы по 0,04; 0,08; 0,24; 0,32 мл доводили дистиллированной водой до 0,4 мл. Для определения белка в водной среде и элюате их брали также по 0,4 мл.

В сериях по изучению специфичности аминокислотного со-

става экзобелков водной среды сначала получали соответствующие гидролизаты. Водную среду головастиков фильтровали, удаляя нерастворимые частицы, и гидролизовали в 6 %-й соляной кислоте при температуре 105 °С в течение 22 ч. Затем гидролизат фильтровали для удаления гуминовых веществ, выдерживали на водяной бане при температуре 80 °С. Сухой остаток растворяли в 10 мл натрийцитратного буфера, pH 2,2.

Содержание аминокислот находили по методу Спекмана на анализаторе фирмы Hitachi. Свободные аминокислоты в водной среде не были обнаружены.

Лиофилизат водной среды головастиков получали через месяц с момента формирования загущенной популяции в Свердловском научно-исследовательском институте вирусных инфекций на промышленной установке типа К-30 фирмы Frigera (ЧССР) по рецепту, принятому для лиофилизации сывороточных белков.

1.3. МАТЕМАТИЧЕСКОЕ ПЛАНИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТА И СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Лабораторное разведение диких форм животных связано с большими трудностями, а определение показателей интенсивности и эффективности обмена требует сложного оборудования и не может осуществляться в условиях поля. Вероятно, эти обстоятельства являются одной из причин неизученности энергетической стоимости тканевых адаптаций на высших уровнях биологической интеграции.

Проведение эколого-биохимического эксперимента с учетом влияния многих биологических взаимодействий потребовало применения новых методологических подходов. Возникла необходимость в конкретном использовании таких способов, которые позволяют, минимизируя число опытов, а следовательно и число животных, без ущерба для достоверности и точности определения исследовать сложные биологические многофакторные системы. Этим требованиям отвечают методы математического планирования эксперимента. Являясь одним из важных в практическом отношении разделов новой научной дисциплины — математической теории эксперимента, методы математического планирования широко используются в области неорганической и органической химии [27, 32, 30, 345], в микробиологических исследованиях [172, 150, 76], в популяционной экологии [116, 299]. Их начинают применять в биохимии [84, 171] и медицинской биологии [162, 47]. Классический регрессионный анализ, базирующийся на современных теоретико-вероятностных представлениях, позволяет глубже понять и оценить результаты, получаемые методом наименьших квадратов. При изучении многокомпонентных систем, когда наблюдается вза-

имовлияние большого числа факторов, использование регрессионного анализа в классическом виде связано с серьезными трудностями, обусловленными большим числом вариантов и сложностью интерпретации уравнений регрессии, где в случае анализа многофакторных систем с помощью классического регрессионного метода все коэффициенты оказываются корреляционно связанными между собой [194].

При исследовании многофакторных явлений, особенно с отсутствием достаточного количества данных о механизме процесса, оказалось полезным соединение классического регрессионного анализа с дисперсионным, предложенным в свое время Фишером для оценки вклада, который вносится отдельными факторами в суммарную дисперсию. Так появились методы математического планирования эксперимента — новая ступень в развитии математической статистики, на которой совместное применение регрессионного и дисперсионного анализов позволяет получать математическую модель сложных многофакторных систем при постановке небольшого числа опытов и в условиях раздельной оценки всех коэффициентов регрессии, включая взаимодействия. Кроме этих двух особенностей, методы математического планирования отличаются тем, что позволяют проводить «активный» эксперимент в противоположность традиционному «пассивному». Если в классических исследованиях математика применяется на последнем, завершающем этапе при статистической обработке результатов, то в математическом планировании математике отводится активная роль. В зависимости от характера задачи (количества факторов, влияющих на поведение системы) ставится строго определенное число опытов по строго составленному плану или матрице, математические свойства которых позволяют при наименьших затратах с наибольшей точностью получить математические описания процесса в виде соответствующего уравнения регрессии.

Простейшим методом математического планирования является полный факторный эксперимент (ПФЭ). Матрица ПФЭ типа 2^2, т. е. план эксперимента, в котором ставится задача изучить влияние двух факторов на двух уровнях, включая влияние взаимодействий, имеет вид:

x_0	x_1	x_2	x_1x_2
+1	−1	−1	+1
+1	+1	−1	−1
+1	−1	+1	−1
+1	+1	+1	+1

Данная матрица, как и любая другая, соответствующая ПФЭ типа 2^k, обладает свойствами, на основе которых регрессион-

ный анализ данных проводится по следующим простым формулам:

$$b_i = \frac{\sum_{n=1}^{N} x_{in} y_u}{N} \quad (i = 0,\ 1, \ldots,\ k);$$

$$s^2\{b_i\} = \frac{s^2\{y\}}{Nn} \quad (i = 0,\ 1 \ldots,\ k),$$

где b_i — экспериментальная оценка коэффициента регрессии;
x_{in} — независимое переменное (фактор), измеренное в кодированных единицах;
u — номер строки в матрице планирования;
$s^2\{y\}$ — дисперсия воспроизводимости единичного значения (ошибка опыта);
$s^2\{b_i\}$ — дисперсия коэффициентов регрессии;
N — общее число строк в матрице планирования (число вариантов);
n — число повторностей в варианте.

Таким образом, при постановке опытов по планам ПФЭ типа $2^к$, как видно из формул, коэффициенты регрессии оцениваются с минимальной дисперсией. Доказательство этой теоремы впервые было дано Боксом [388] и может быть легко проиллюстрировано на примере анализа эффективности однофакторного и многофакторного экспериментов.

В многофакторном эксперименте одновременно варьируются все факторы и каждый из коэффициентов регрессии определяется независимо от остальных по результатам всех опытов плана:

$$s^2\{b_i\} = s^2\{y\}/Nn.$$

В однофакторном каждый из коэффициентов регрессии определяется только по двум точкам (сопоставляются опыт и контроль). Дисперсия в оценке коэффициентов регрессии оказывается вдвое меньше дисперсии единичного значения при определении показателя:

$$s^2\{b_i\} = s^2\{y\}/2n.$$

Если одна и та же задача решается одновременно в сериях однофакторного и многофакторного экспериментов в условиях равной точности и достоверности, то при

$$s^2\{b_i\}_м = s^2\{b_i\}_о;\ \frac{s^2\{y\}}{Nn_м} = \frac{s^2\{y\}}{2n_о} \text{ и } N_{n_м} = 2n_о$$

(м и о соответствуют обозначению формул многофакторного и однофакторного экспериментов). Последнее равенство возможно только при условии, если $n_м < n_о$, так как N в многофакторном эксперименте всегда больше двух. Если учесть, что число вариантов в многофакторном и однофакторном экспериментах

Таблица 1

Минимальное число опытов при изучении влияния количественных факторов в условиях равной точности и достоверности с использованием традиционного метода и математического планирования

Число факторов в изучаемой системе	Метод исследования							
	ПФЭ				Однофакторный			
	N_1	$s^2\{b_i\}$	n_1	N_1n_1	N_2	$s^2\{b_i\}$	n_2	N_2n_2
3	8	$\frac{s^2\{y\}}{8\cdot3}$	3	24	4	$\frac{s^2\{y\}}{2\cdot12}$	12	48
4	16	$\frac{s^2\{y\}}{16\cdot3}$	3	48	5	$\frac{s^2\{y\}}{2\cdot24}$	24	120
5	32	$\frac{s^2\{y\}}{32\cdot3}$	3	96	6	$\frac{s^2\{y\}}{2\cdot48}$	48	288
6	64	$\frac{s^2\{y\}}{64\cdot3}$	3	192	7	$\frac{s^2\{y\}}{2\cdot96}$	96	672

определяется по разным формулам ($N_м = 2^k$ и $N_о = k + 1$), то общее число опытов при решении одной и той же задачи «активным» и «пассивным» методами с одной и той же точностью при изучении многофакторной системы по плану ПФЭ всегда будет меньшим в сравнении с традиционным планом, где анализируются контроль и опыт. При этом различия в величине N_n возрастают по мере возрастания числа факторов в изучаемой системе. Чем сложнее процесс, который исследуется, и больше влияющих факторов, тем ярче проявляются преимущества полного факторного эксперимента как метода, обладающего высокой эффективностью.

Рассмотрим эффективность применения ПФЭ при изучении такой многофакторной системы, в которой факторы имеют количественную характеристику, например, изучается влияние введения в питательную среду микробов трех разных микроэлементов (табл. 1). В такой ситуации количество вариантов при использовании стандартного (однофакторного) плана всегда будет больше числа факторов на единицу (ставятся три варианта в случае изучения трехфакторной системы, в каждом из которых в питательную среду вводится один из микроэлементов; проводятся также опыты, где питательная среда не содержит ни одного из указанных микроэлементов). В большом количестве случаев, особенно при изучении биологических явлений, экспериментатор имеет дело с одновременным влиянием нескольких качественных факторов (или качественных и количественных одновременно). Очень часто наблюдается такая ситуация, ког-

Таблица 2

Минимальное число опытов при изучении влияния качественных факторов в условиях равной точности и достоверности с использованием традиционного метода и математического планирования

Число факторов в изучаемой системе	Метод исследования							
	ПФЭ				Однофакторный			
	$N_м$	$s^2\{b_i\}$	$n_м$	$N_м/n_м$	$N_о$	$s^2\{b_i\}$	$n_о$	$N_о/n_о$
3	8	$\frac{s^2\{y\}}{8\cdot3}$	3	24	8	$\frac{s^2\{y\}}{2\cdot12}$	12	96
4	16	$\frac{s^2\{y\}}{16\cdot3}$	3	48	16	$\frac{s^2\{y\}}{2\cdot24}$	24	384
5	32	$\frac{s^2\{y\}}{32\cdot3}$	3	96	32	$\frac{s^2\{y\}}{2\cdot48}$	48	1536
6	64	$\frac{s^2\{y\}}{64\cdot3}$	3	192	32	$\frac{s^2\{y\}}{2\cdot96}$	96	3072

да постановка «чистых» контролей (аналогично тому, как указывалось выше), где действие всех исследуемых факторов сведено к нулю, невозможна.

Например, изучая влияние плотности популяции и стадии развития личинок, составляющих эту популяцию, невозможно поставить вариант, в котором бы исследовались популяции, не имеющие плотности, и личинки, не находящиеся на той или иной морфологической стадии развития. Популяция как совокупность особей не может не иметь плотности (определенное количество особей в единице объема). Личинка или любая особь обязательно характеризуется определенной морфологической стадией развития. Поэтому очень часто, особенно в эколого-биохимических исследованиях, при изучении многофакторных систем количество вариантов при использовании ПФЭ и однофакторного эксперимента одинаково (табл. 2). В связи с этим эффективность применения ПФЭ при изучении таких многофакторных систем (с факторами качественными и количественными) еще выше.

Полный факторный эксперимент позволяет не только получить результаты с меньшими затратами труда, но одновременно дает возможность для приобретения более объективной информации, так как приближает условия опыта к естественным (изучается влияние одних факторов на фоне одновременного влияния других, количественно характеризуются влияния взаимодействий).

Проведение исследований по плану активного эксперимента дает сжатую, или «свернутую», информацию в виде конкретных

уравнений, дисциплинирует экспериментатора, так как требует ясности в постановке задачи, выбора определенного оптимального плана, позволяет целенаправленно менять тактику эксперимента, предполагает определенную стратегию исследования [235, 236, 233].

В настоящей работе при изучении биохимической специфики адаптаций на видовом, внутривидовом и популяционном уровнях мы использовали планы ПФЭ типа 2^2, 2^3, $2^4 \cdot 4$ и $2^3 \cdot 4$. В соответствии с характером задачи формировали неоднородные группы животных на основе планов ПФЭ и заданной точности (так как использовались планы ПФЭ 2^2, 2^3, 2^4, $2^2 \cdot 4$ и $2^3 \cdot 4$, исследованные неоднородные группы состояли как минимум из 8, максимум — из 24 или 96 особей).

В опытах на узкочерепных полевках и полевках Миддендорфа, отлов и разведение которых требуют особенно много затрат, мы стремились использовать всех имеющихся в виварии животных. Поэтому изучение основных факторов (температуры и принадлежности к таксону) в некоторых сериях проводили на фоне одновременного влияния пола и возраста. В некоторых сериях на головастиках и моллюсках применяли разноуровневые планы, т. е. изучали метаболизм у животных двух видов, используя два разных препарата, две разные морфологические стадии животных из двух модельных популяций с неодинаковыми плотностями при действии четырех концентраций тироксина или в течение четырех периодов развития популяции.

В экспериментах, поставленных по планам ПФЭ, регрессионный анализ проводили в четыре этапа: рассчитывали коэффициенты регрессии, статистически проверяли значимость коэффициентов регрессии, составляли соответствующие уравнения и проверяли адекватность уравнений процессу [194, 193, 172, 3, 316]. Использовали формулы: в сериях с неодинаковым числом животных в каждом из вариантов —

$$b_i = \frac{\sum_{n=1}^{8} x_{iu}\bar{y}_u}{8};$$

$$s^2\{y\} = \frac{\sum_{n=1}^{8}\sum_{j=1}^{8} y_{uj}^2 - \sum^{8} \frac{y^2 u}{n_u}}{\sum_{u=1}^{8} n_u - 8};$$

$$s^2\{\bar{y}\} = s^2\{\bar{y}\}/8;$$

$$s^2_{\text{ад}} = \frac{\sum_{n=1}^{8} (\bar{y}_u - \hat{y}_u)^2}{N - N_1};$$

в сериях с равным числом животных в каждом из вариантов —

$$s^2\{y_{ul}\} = \frac{\sum y_{ul}^2 - \frac{(\sum y_{ul})^2}{N}}{n-1};$$

$$s^2\{y\} = \frac{\sum s^2\{y_{ul}\}}{N};$$

$$s^2\{\bar{y}\} = \frac{s^2\{y\}}{N};$$

$$s^2\{b_i\} = \frac{s^2\{\bar{y}\}}{8},$$

где b_i — экспериментальная оценка коэффициента регрессии;
$s^2\{y_{ul}\}$ — построчная дисперсия;
$s^2\{y\}$ — дисперсия воспроизводимости среднего значения;
$s^2_{ад}$ — дисперсия неадекватности;
$\bar{y}_u$ — средний результат u-го опыта;
$\hat{y}_u$ — значение функции отклика, рассчитанное по уравнению регрессии;
j — номера факторов (номера столбцов в матрице планирования);
N_1 — число коэффициентов в уравнении регрессии.

Коэффициенты регрессии в отдельных сериях рассчитывали по формализованной схеме Ятса [172]. Значимость эффектов и коэффициентов регрессии определяли на основании неравенства $b_1 \geqslant t_{0,95}s\{b_i\}$ [194] или с помощью построения полувероятностного графика [44, 537].

Экспериментальные данные в сериях, где применяли планы ПФЭ, представлены в таблицах вместе с соответствующими матрицами планирования и результатами регрессионного анализа. Уравнения регрессии включены в текст работы. В рисунках, дополняющих таблицы, при построении графиков брали данные, рассчитанные по адекватным уравнениям регрессии. Латинский квадрат в серии на головастиках использовали в условиях дополнительной гипотезы о незначимости не всех, а только некоторых взаимодействий [175, 176, 649].

Дисперсию среднего единичного значения в серии по плану латинского квадрата рассчитывали по данным 16 вариантов, применяя формулы [193]

$$S^2\{y\} = \frac{\sum_{n=1}^{16}\sum_{j=1} y_{ul}^2 - \sum_{n=1}^{16}\frac{y^2}{3}}{\sum_{n=1}^{16} u_u - 16};$$

$$s^2\{\bar{y}\} = s^2\{y\}/3.$$

Достоверность различий в однофакторных экспериментах (t-критерий) определяли стандартным методом [305, 211, 230]. Опыты, поставленные по планам ПФЭ, рандомизировали.

Всего исследовано 214 экономок, 116 узкочерепных полевок, 18 полевок Миддендорфа, 12 памирских и 12 арчевых полевок, 185 белых мышей линии БАЛБ и около 2 тыс. головастиков.

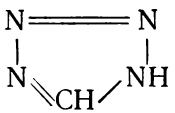
Достоверность полученных результатов составляет 95 % (было использовано неравенство $b_i \geqslant t_{0,95} s\{b_i\}$, t-критерий определяли по соответствующей таблице при 0,05 %-м уровне значимости). Регрессионный анализ проводили на ЭВМ БСМ-6 или «Мир» по программе, специально составленной совместно с вычислительным центром Свердловского государственного пединститута.

Глава 2
СПЕЦИФИКА БИОХИМИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ ВИДОВ И ВНУТРИВИДОВЫХ ГРУПП

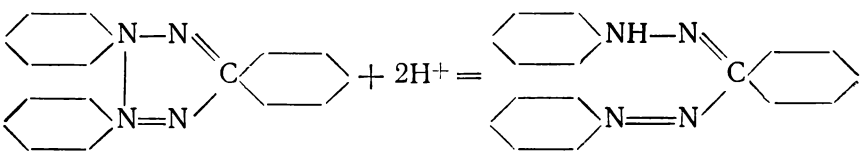
2.1. ЭНДОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ОКСИДАЗ ПРИ АДАПТАЦИИ К НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ НА ВИДОВОМ, ВНУТРИВИДОВОМ И ВНУТРИПОПУЛЯЦИОННОМ УРОВНЯХ

2.1.1. ТЕТРАЗОЛОВЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНДОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ОКСИДАЗ ПО ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ТЕТРАЗОЛОВОЙ РЕАКЦИИ К КИСЛОРОДУ ВОЗДУХА

Для изучения специфики адаптаций трех видов полевок и некоторых генетических вариантов улиток нами использовался 2, 3, 5-трифенилтетразолхлорид — производное тетразола.



Физические и химические свойства, а также способы получения моно- и дизамещенных тетразолов представлены в [381, 561, 505 и 210]. 2, 3, 5-трифенилтетразолхлорид обладает высоким потенциалом восстановления и способностью превращаться в окрашенный нерастворимый в воде формазан. При взаимодействии 2, 3, 5-трифенилтетразолхлорида с биологическими системами образуется нерастворимый продукт, обеспечивающий полный сдвиг реакции вправо:



Бесцветный тетразолхлорид — Красный формазан

В качестве индикатора восстановления в растительных клетках 2, 3, 5-трифенилтетразолхлорид был впервые использован в 1941 г. Р. Куном и Д. Ерхелем [520]. В 1942 г. Л. Лэкон применил реакцию с тетразолхлоридом как тест для определения

жизнеспособности семян [522]. О восстановлении тетразола в растительных клетках сообщено в [427, 579]. Известны работы, где тетразоловая реакция описывается у молочнокислых бактерий [527] и дрожжей [512]. В [656, 598] тетразолхлорид впервые использован для окраски тканевых срезов. Ряд исследователей [374, 604] на основе экспериментов с различными производными тетразола рекомендовали для окраски тканевых срезов неотетразол, тетразол синий, тетразол фиолетовый.

На первых же этапах использования тетразола обнаружилась корреляция между скоростью его восстановления микробами и их жизнедеятельностью. В [512] установлено наличие этой зависимости для кишечной палочки. Для клеток дрожжей аналогичные результаты получены в [453]. В 1955 г. с помощью солей тетразола определено количество живых клеток в бактериальных суспензиях [441]. В 1950 г. появился микроскопический метод оценки живых клеток в культурах тканей [622]. Различные модификации этого метода были предложены в [436, 475, 442, 268, 164, 224 и др.]. В [528] впервые указана возможность использования «тетразоловой пробы» для дифференциации микробов. Открыта способность неферментирующих вариантов бактерий давать интенсивный рост красных колоний при высеве на агар с 0,005 %-м трифенилтетразолхлоридом и отмечено отсутствие этой способности у ферментирующих вариантов. В [499] дифференцированы бактериальные виды и вариации внутри видов по интенсивности окрашивания колоний микробов, выращенных на триптическом агаре, в который предварительно вводился тетразол. В [493] изучено восстановление тетразолхлорида 92 штаммами 12 семейств и показано, что интенсивность окрашивания бывает различной у разных микробов.

На основании реакции восстановления тетразола оказалась возможной дифференциация стрептококков, атипичных кислотоустойчивых бацилл и туберкулезных бактерий от других микобактерий [461], грибков рода *Candida* [567].

В [219] предлагается быстрый метод дифференциации *S* и *R* форм микроорганизмов по их сукцинатдегидрогеназной активности, которая определяется использованием тетразолхлорида. В [81] дано состояние морфологически дифференцированных клеток в развивающихся культурах синезеленых водорослей, определенное также с помощью солей тетразола. Методика дифференцирования штаммов клубеньковых бактерий на основе тетразолового способа определения активности «бессубстратных» дегидрогеназ изложена в [348].

Параллельно с исследованиями прикладного характера велись многочисленные работы по изучению механизма тетразоловой реакции. В 1942 г. впервые высказана мысль об участии в восстановлении тетразола ферментных систем [522]. Отмечается, что восстановление тетразола катализируется дегидро-

геназами, и в частности сукцинатдегидрогеназой [548]. Это же положение содержится и во многих других исследованиях [385, 598, 389, 454, 419].

При гистохимическом определении сукцинатдегидрогеназы с помощью неотетразола сукциноксидаза подавляется введением цианистого калия [605]. Введение ингибиторов конкурентной системы, за которую принимается также сукциноксидаза, использовано в [625], при гистохимическом дифференцировании сукцинатдегидрогеназы и сукциноксидазы с помощью солей тетразола.

Большинство исследователей [386, 81, 476 и др.], применяя тетразоловую реакцию в гистохимических целях или для определения числа живых клеток, проводят реакцию восстановления данного акцептора в аэробных условиях. Некоторые, напротив, считают, что тетразоловая реакция более активна при отсутствии кислорода. Существует предположение [199], что соли тетразола восстанавливаются, принимая электроны с НАД и НАДФ в присутствии флавопротеиновых ферментов. Некоторые исследователи [656] считают, что тетразоловая реакция требует присутствия редуктаз. Другие [555] предполагают участие в данной реакции диафораз.

В энзимологических исследованиях с применением солей тетразола отчетливо выявляются три направления. Большое количество энзимологических работ посвящено изучению локализации и распределения сукцинатдегидрогеназы по отложению формазана в клеточных структурах [579, 457, 511, 604, 619, 500, 395, 505 и др.].

Наименьшее количество исследований связано с методиками извлечения формазана из биологических объектов в процессе определения в них сукцинатдегидрогеназной активности [521, 512, 453, 642, 431, 558, 302 и др.]. Авторы этих работ апробируют в качестве экстрагента для формазана ацетон, этиловый спирт, смесь этилового спирта и этиленацетата. Методика количественной оценки дегидрогеназной активности живых клеток в этих исследованиях — определение степени окрашенности элюата.

Третье направление, представленное наименьшим количеством работ,— изучение роли ферментов с помощью производных тетразола в адаптации микро- и макроорганизмов к отдельным экологическим факторам. В [152] определяется с помощью тетразолхлорида сукцинатдегидрогеназная активность кишечной палочки в свежей культуре и после лиофильного высушивания. При этом авторы обнаруживают, что жизнеспособнее микробы, обладающие сукцинатдегидрогеназой, наиболее устойчивой к воздействию замораживания — высушивания. В [83] исследуется термотолерантность дрожжей *Sacharomices corevis* при различном pH среды, определяется их дегидрогеназная активность по восстановлению тетразола.

Известны работы по изучению токсического действия некоторых веществ на биологические объекты, где основой также является определение дегидрогеназной активности с помощью солей тетразола [380].

Устойчивость сперматозоидов к охлаждению [172] коррелирует с их сукцинатдегидрогеназной активностью, которую автор определяет по восстановлению тетразолхлорида.

При исследовании деятельности сукцинатдегидрогеназной системы в эксплантатах лимфатических узлов человека показано [325], что активность данного фермента, определяемая с помощью тетразола, может служить цитохимическим показателем функционального состояния клеток макроорганизма. Та же закономерность на культивируемых клетках легочной ткани и нейронах была обнаружена в [46, 101, 103]. Корреляция между активностью цитохромоксидазы и сукцинатдегидрогеназы, определяемых с помощью тетразолхлорида, и функциональным состоянием тканей была обнаружена при изучении кортиева органа животных в условиях звукового воздействия [55], в митохондриях некоторых клеток в состоянии покоя и возбуждения [56].

Во всех перечисленных работах (при изучении числа живых микробов, их дифференциации, активности сукцинатдегидрогеназы, жизнеспособности микробов, отдельных клеток и тканей макроорганизма при действии холода, высоких температур, токсинов, звука и т. д.) исследователи определяли степень восстановления солей тетразола в биологических препаратах, рассматривая этот тест как показатель бессубстратной активности дегидрогеназ (если субстрат не добавлялся) или активности конкретного фермента (если вводился субстрат, чаще всего янтарная кислота, как показатель сукцинатдегидрогеназы).

В нашей лаборатории впервые [232, 235] для изучения механизмов адаптации макроорганизма к отдельным экологическим факторам была использована не восстановительная способность производных тетразола, а чувствительность реакции восстановления тетразола к кислороду воздуха (интенсивность восстановления 2, 3, 5-трифенилтетразолхлорида определялась одновременно в двух пробах одного гомогената при инкубации в атмосфере аргона и воздуха). О чувствительности реакции к кислороду воздуха судили по коэффициенту $ТТХ_{артон}/ТТХ_{воздух}$, который рассматривали как тест, характеризующий активность конкурентной по отношению к тетразолу системы, как показатель оксидаз, или эндогенного аэробного метаболизма (субстрат в гомогенаты не добавлялся). Мысль о данном принципиально новом использовании тетразолхлорида в биологическом эксперименте возникла в связи с большим разнообразием методических приемов, которые применяются исследователями при изучении тетразоловой реакции у разных биологических объектов (определение тетразоловой реакции проводят при введении

субстрата или без него, добавляя в пробу цианиды или не добавляя, при инкубации пробы в вакууме, атмосфере азота или на воздухе, у кишечной палочки, дрожжей, клубеньковых бактерий, в препаратах из различных отделов мозга млекопитающих, на культурах многих тканей, лимфатических узлов и т. д.).

Если разные организмы, имеющие определенное таксономическое положение и функциональное состояние, восстанавливают тетразолхлорид в зависимости от перечисленных условий проведения тетразоловой реакции, то возможно обратное явление — изучение таксономии и специфики адаптации разных биологических объектов на основе наблюдения за особенностями данной реакции, в частности, за чувствительностью к анаэробным условиям проведения. Это легко достигается параллельной инкубацией пробы в атмосфере инертного газа (аргона), не содержащего кислород, и в атмосфере воздуха, когда создаются условия для нормального доступа кислорода. Апробирование нового подхода к практическому использованию тетразолхлорида мы осуществили на белых мышах линии БАЛБ при изучении особенностей адаптации к γ-радиации [236, 244, 243].

2.1.2. ТЕТРАЗОЛОВЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНДОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ОКСИДАЗ ПРИ ИЗУЧЕНИИ БИОХИМИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

При определении эндогенной активности оксидаз новым тетразоловым методом — по чувствительности реакции восстановления 2, 3, 5-трифенилтетразолхлорида к кислороду воздуха — животное декапитировали. Ткань извлекали, обмывали охлажденным трис-буфером, содержащим 0,005 *М* KCl, 0,001 *М* $MgCl_2$, и гомогенизировали в том же растворе при pH 7,4 и температуре 0 — +2 °С. Затем гомогенат разводили до нужного содержания ткани (15 мг/мл для печени и 30 для селезенки) и переносили в пробирки типа сосуда Варбурга с двумя отростками, кранами на шлифах и стеклянной, хорошо пришлифованной пробкой.

Предварительно вводили 1,0 мл трис-буфера указанного состава в основное пространство пробирок и 0,2 мл 1,6 %-го раствора 2, 3, 5-трифенилтетразолхлорида в боковой отросток.

Часть пробирок тщательно закрывали для создания полной герметичности, аналогично сосудам Варбурга, и содержимое насыщали аргоном в течение 30 мин. Затем перекрывали краны, раствор тетразолхлорида из боковых отростков переносили в пробы, и все пробирки с аргоном и воздухом ставили в воздушный термостат (на 24 ч при температуре +37 °С). Образовавшийся в результате восстановления формазан последовательно экстрагировался при непрерывном встряхивании с 2 мл ацетона, 2 мл толуола, 2 мл бутанола. Окрашенный верхний слой

содержимого пробирок толщиной 1 см спектрофотометрировали при длине волны 494 ммк в кювете, используя в качестве эталона контрольную пробу, которая содержала все реактивы, указанные выше, кроме гомогената (вместо него добавляли равный объем дистиллированной воды). Коэффициент $ТТХ_{артон}/ТТХ_{воздух}$ рассчитывали, взяв в числителе тетразолвосстанавливающую активность гомогената, который инкубировался в атмосфере аргона, а в знаменателе — тот же показатель, но полученный при инкубации гомогената в атмосфере воздуха.

Как источник при тотальном внешнем облучении использовали ГУТ-499 Co^{60}. Мощность облучения 32—38 Р/мин, расстояние от источника 38 см, фильтр 0,5 мм латуни, 15 мм гетинакса. Проведено три серии опытов.

В первой серии изучали влияние возрастающих доз радиации на эндогенную активность оксидаз в селезенке и печени белых мышей. Коэффициент $ТТХ_{артон}/ТТХ_{воздух}$ определяли в гомогенатах через 1 сут после облучения. Опыты ставили методом классического эксперимента.

Во второй серии исследовали действие сублетальных и летальных доз γ-радиации на эндогенную активность оксидаз в печени и селезенке через 1 сут после облучения в зависимости от исходного уровня активности оксидаз у животных в тех же тканях до облучения. Животных исследовали осенью и весной. Для каждого сезона были взяты две группы мышей: контрольная, не подвергавшаяся облучению — для определения исходного уровня теста, и опытная, в тканях животных которой определяли коэффициент $ТТХ_{артон}/ТТХ_{воздух}$ через 1 сут после облучения. Опыты во второй серии ставили по плану ПФЭ типа 2^2 [172], т. е. изучали влияние двух факторов — исходного уровня теста (x_1) и дозы γ-радиации (x_2) на эндогенную активность оксидаз через 1 сут после облучения (y).

В третьей серии опытов прослеживали влияние ряда известных радиопротекторов на эндогенную активность оксидаз в селезенке тех же животных. Радиопротекторы вводили в дозах, которые, согласно литературным данным, дают радиозащитный эффект. Активность ферментов определяли через разные промежутки времени после введения радиопротектора. Для опыта было взято 129 белых мышей-самок 2—3-месячного возраста.

Исследуя эндогенную активность оксидаз новым методом в разных по чувствительности к радиации тканях облученного животного, мы преследовали две цели: экспериментальное изучение возможностей нового использования тетразоловой реакции в экологическом исследовании и выявление возможностей экспресс-прогноза эффективности радиозащиты.

Данные первой серии опытов (табл. 3, рис. 1) показывают, что в октябре у необлученных животных достоверных различий по исходному уровню эндогенной активности оксидаз в селезенке и печени не обнаружено ($P>0{,}05$).

Таблица 3

Активность эндогенных оксидаз в гомогенатах селезенки и печени мышей в норме и при γ-облучении

Доза, Р	№ опыта	Кол-во животных	$\frac{ТТХ_а}{ТТХ_в}$ через 24 ч после облучения	% к контролю	Достоверность
			Селезенка		
0	1	8	1,58±0,12	100	—
400	2	7	2,88±0,12	182	$t_{1,2}=6,9$
575	3	10	2,78±0,11	175	$t_{1,3}=6,8$
625	4	15	3,30±0,25	171	$t_{1,4}=4,7$
800	5	12	3,53±0,26	223	$t_{1,5}=4,2$
			Печень		
0	6	12	1,53±0,15	100	—
400	7	9	1,14±0,07	75	$t_{6,7}=2,05$, $t_{2,7}=3,9$
575	8	18	2,23±0,21	145	$t_{6,8}=2,31$, $t_{3,8}=1,7$
625	9	14	2,30±0,21	150	$t_{6,9}=2,76$, $t_{4,9}=3,0$
800	10	14	2,37±0,12	154	$t_{6,10}=4,09$, $t_{5,10}=3,2$

При летальных дозах γ-радиации, когда смертность животных составляет 100, 86, 67 % [1] и приспособительные механизмы, по-видимому, сведены к минимуму, происходит активация эндогенных оксидаз. Эти изменения в сторону увеличения активности в селезенке выражены значительно сильнее и в тканях обоих органов достоверны ($P < 0,05$).

При действии сублетальных доз радиации (400 Р) реакция на облучение по выбранному тесту в печени и селезенке приобретает явно противоположный характер: в то время, как селезенка продолжает реагировать на облучение увеличением эндогенной активности оксидаз, в печени наблюдается достоверное значительное снижение теста. При действии дозы 200 Р сдвиги в эндогенной активности оксидаз в печени и в селезенке облученных животных отсутствуют ($P > 0,05$).

Создается впечатление, что увеличение коэффициента $ТТХ_{аргон}/ТТХ_{воздух}$ в исследованных тканях через сутки после облучения — проявление патологии их обмена, и напротив, понижение данного теста при облучении — одна из полезных, приспособительных реакций организма. Она свойственна радиорезистентной печени, не типична для радиочувствительной селе-

[1] Процент выживаемости по нашей просьбе определен сотрудником лаборатории радиобиологии Э. А. Тарахтий.

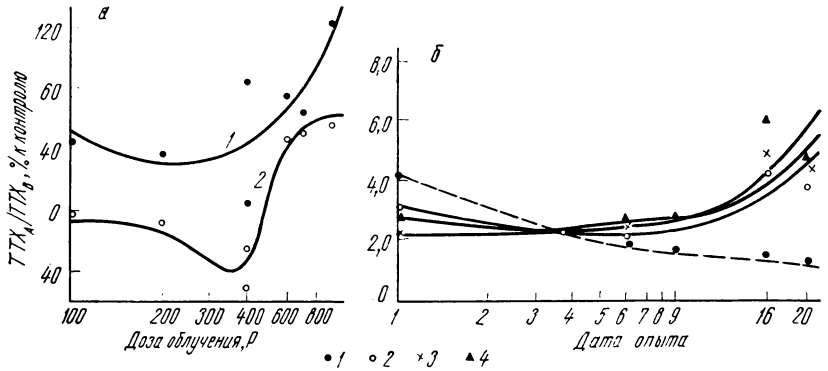


Рис. 1. Изменение эндогенной активности оксидаз в гомогенатах селезенки и печени белых мышей линии БАЛБ в условиях γ-облучения (октябрьская серия опытов).

а — динамика изменений в относительных единицах (обобщенные данные): *1* — селезенка, *2* — печень; *б* — динамика абсолютных значений коэффициентов $ТТХ_а/ТТХ_в$ в гомогенатах селезенки в соответствии с датами опытов в течение месяца: *1* — контроль, *2—4* — доза облучения, Р: *2* — 575, *3* — 625, *4* — 800.

зенки и проявляется при действии сублетальных доз радиации, когда наблюдалась 100 %-я выживаемость животных.

Анализ данных табл. 3 по группам соответственно дням опытов (см. рис. 1, *б*) показывает, что селезенке не всегда свойственно повышение эндогенной активности оксидаз при облучении. В определенных условиях она приобретает черты, характерные для радиорезистентной ткани. Когда контрольные животные в наших опытах имели высокий исходный уровень исследуемого теста, селезенка реагировала на облучение понижением активности оксидаз. По мере снижения исходного уровня показателя $ТТХ_{аргон}/ТТХ_{воздух}$ в контрольных пробах наблюдали изменения реакции теста в обратную, не свойственную печени и типичную для селезенки сторону. В печени подобных явлений не наблюдалось. Такой «перекрестный эффект», по мнению статистиков [305], как правило, связан с взаимодействием факторов.

Результаты второй серии опытов (табл. 4, 5), где количественно учитывали влияние исходного уровня теста в селезенке животных на эффект активации его в том же органе при облучении, подтверждают правильность данного предположения.

Для количественной оценки значимости влияния исследуемых факторов (исходного уровня оксидаз и дозы радиации) на активность оксидаз через 1 сут после облучения были рассчитаны основные эффекты и соответствующие им значения [77].

Для печени: $A = -0{,}21$; $B = +1{,}85$; $AB = -0{,}23$; $t_A = 0{,}82$; $t_B = 3{,}64$; $t_{AB} = 0{,}90$;

для селезенки: $A = -0{,}885$; $B = +0{,}98$; $AB = -0{,}52$; $t_A = 2{,}57$; $t_B = 2{,}57$; $t_{AB} = 1{,}36$.

Таблица 4

Эндогенная активность оксидаз в гомогенатах селезенки и печени облученных мышей в зависимости от дозы γ-радиации и исходного уровня ферментов (независимые переменные и их уровни)

Уровень	Печень		Селезенка	
	$\frac{ТТХ_а}{ТТХ_в}$ в гомогенатах контрольных необлученных животных $\hat{x}_1$	Доза радиации, Р $\hat{x}_2$	$\frac{ТТХ_а}{ТТХ_в}$ в гомогенатах контрольных необлученных животных $\hat{x}_1$	Доза радиации, Р $\hat{x}_2$
Основной	2,33	500	2,30	687
Интервал варьирования	0,81	100	0,72	113
Верхний	3,14 (май)	600	3,02 (май)	800
Нижний	1,53 (октябрь)	400	1,58 (октябрь)	575

Таблица 5

Эндогенная активность оксидаз в гомогенатах селезенки облученных мышей в зависимости от дозы γ-радиации и исходного уровня ферментов (матрица планирования ПФЭ2² и результаты эксперимента)

№ варианта	Независимые кодированные переменные		Кол-во животных	$\frac{ТТХ_а}{ТТХ_в}$ в гомогенатах селезенки животных через 24 ч после облучения	
	x_1	x_2		$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	13	3,08	3,01
2	+	—	5	1,67	2,13
3	—	+	12	3,53	3,99
4	+	+	15	3,17	3,10

Примечание. Статистические показатели: $b_0=3,062$; $b_1=0,442$; $b_2=0,487$; $b_{1,2}=0,262$; $s^2\{\bar{y}\}=1,445$; $ts\{b_i\}=0,363$; $y=3,062-0,442x_1+0,487x_2$; $F_{0,95(1,41)}=4,1$; $s^2_{ад}=0,443<Fs^2\{\bar{y}\}=3,9$ (F — критерий Фишера).

Эффекты влияния исходного уровня оксидаз и дозы радиации в опытах на селезенке и эффект влияния дозы радиации в опытах на печени оказались значимыми ($t_{0,05(41)}=2,02$).

Таким образом, в печени эффект активации эндогенных оксидаз при облучении явно не связан с уровнем активности этих ферментов в момент облучения (t_A и $t_{AB}<t_{0,05}$). В селезенке влияние радиации на активность оксидаз при облучении и исходного уровня этих ферментов — на результат облучения до-

Таблица 6

Результаты биохимического и биологического действия средств радиозащиты

№ серии	Радиопротектор, доза и время определения теста	Кол-во животных	$ТТХ_а/ТТХ_в$ в гомогенате селезенки стандартных мышей	Эффективность радиозащиты по литературным данным (выживаемость), %
1	Осень (октябрь)*	10	1,59±0,12	10,6 [229]
2	Меркамин, 150 мг/кг, 60 мин	15	2,26±0,25	Не защищает [229]
3	Весна (апрель)*	12	3,02±0,36	21,6 [14]
4	Меркамин, 150 мг/кг, 15 мин	9	3,20±0,56	50—60 [14]
5	Янтарная кислота, 250 мг/кг, 5 мин	4	3,54±0,28	Умеренный защитный эффект [365]
6	Тиомочевина, 1,28 мг/кг, 5 мин	10	3,84±0,54	То же [14]
7	Меркамин, 150 мг/кг, 5 мин	12	4,49±0,55	90—92 [14]

* Радиопротектор не вводили.

стоверны (t_A и $t_B > t_{0,05}$) и имеют противоположную направленность.

Полученные при изучении селезенки результаты позволяют представить зависимость между указанными величинами в виде математической модели

$$y = 3{,}062 - 0{,}44x_1 + 0{,}487x_2,$$

где

$$x_1 = \frac{x_1 - 2{,}30}{0{,}72} \quad \text{и} \quad x_2 = \frac{x_2 - 687}{113}.$$

Адекватность данной модели ($s^2_{ад} = 0{,}44 < Fs^2\{\bar{y}\} = 5{,}9$) дает основание приближенно прогнозировать «защитный» исходный уровень коэффициента $ТТХ_{аргон}/ТТХ_{воздух}$ в селезенке животных данного пола, возраста и линии, гарантирующий при действии летальных доз γ-радиации сохранение нормального, свойственного необлученным животным уровня исследуемого теста. При дозе 700 Р защитный уровень эндогенной активности оксидаз составляет величину порядка 3—4 единиц для исследованных нами животных.

Прогнозирование эффективности радиопротекторов, по-видимому, может быть осуществлено путем определения у них способности к созданию защитного уровня активности эндогенных оксидаз в селезенке стандартных мышей в соответствии с дозой γ-радиации.

В третьей серии опытов предлагаемый нами экспресс-биохимический метод определения эффективности радиозащиты апробировался на ряде известных радиопротекторов (табл. 6).

Полученные данные показывают, что, по-видимому, между способностью радиопротекторов создавать защитный уровень активности эндогенных оксидаз в селезенке стандартных мышей и способностью их к радиозащите в условиях летальных доз радиации существует определенная корреляция.

Таким образом, определение не только интенсивности восстановления тетразолхлорида в гомогенатах указанных тканей животных, но и чувствительности данной реакции к кислороду воздуха позволило отчетливо выявить явную корреляцию между коэффициентом $ТТХ_{аргон}/ТТХ_{воздух}$ в гомогенатах и выживаемостью организма при действии такого экологического фактора, как γ-радиация.

В радиочувствительной селезенке и радиорезистентной печени выявлены изменения в обмене, коррелирующие с радиорезистентностью, и показана принципиальная возможность экспресс-прогноза эффективности радиозащиты с помощью нового метода определения эндогенной активности оксидаз. Последнее особенно важно. Полученные результаты убеждают, что определение чувствительности тетразоловой реакции к кислороду воздуха как тест, созданный для опытов in vitro, может быть использовано для интерпретации данных по отношению к интактному организму.

В работе с тетразолом выявились и другие преимущества нового подхода, полезные для экологии. Одновременное определение тетразолвосстанавливающей активности в пробах одного гомогената при инкубации их в атмосфере аргона или воздуха позволило отказаться от параллельного измерения общего азота, белка или сухого остатка в этих пробах, что в любом энзимологическом сравнительном исследовании обязательно. Это обстоятельство значительно сократило продолжительность экспериментального изучения активности оксидаз. Апробированный нами новый метод определения эндогенной активности оксидаз высокочувствителен (количество ткани в гомогенате 10—20 мг в 1 мл), универсален, так как связан с присутствием окислительно-восстановительных ферментных систем, которые функционируют в любой жизнеспособной клетке, позволяет получать характеристику суммарного показателя в эндогенных условиях.

Последнее обстоятельство имеет существенное значение, особенно в тех исследованиях, где проводится поиск зависимостей, связанных с адаптацией организма в сложном экологическом окружении. Указанные особенности нового метода позволили нам использовать его на первых этапах изучения видовой, внутривидовой и внутрипопуляционной дифференциации в многофакторных экспериментах с учетом биологических взаимодействий на разных в таксономическом отношении биологических объектах [236, 253, 238, 234, 239, 251, 254, 255, 258, 264, 260—262].

2.1.3. ЭНДОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ОКСИДАЗ В МЫШЦАХ ДВУХ ПОДВИДОВ ЭКОНОМКИ, УЗКОЧЕРЕПНОЙ ПОЛЕВКИ, ПОЛЕВКИ МИДДЕНДОРФА И НЕКОТОРЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ МОЛЛЮСКОВ В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ ОХЛАЖДЕНИЯ

Результаты использования нового тетразолового метода определения эндогенной активности оксидаз при изучении специфики адаптации двух подвидов экономки представлены в табл. 7 и 8 и на рис. 2.

Группа экспериментальных животных была неоднородной по принадлежности к внутривидовой форме (состояла из самцов 3—4-месячного возраста, взятых из модельных популяций северной и южной экономки). Исследовали животных 5—6-го поколений и животных 7—10-го поколений (две серии). Опыты ставили по плану ПФЭ типа 2^3. Определяли эндогенную активность оксидаз (y) в гомогенатах скелетных мышц южных и северных экономок (x_1) 5—6-го (или 7—10-го) поколений в зависимости от температур (18 и 0 — +3 °С) 9-дневной акклимации (x_2) и температур (18 и —15 °С) 20-минутного воздействия (x_3).

Уравнение регрессии в серии опытов на экономках 5—6-го поколений имеет вид:

$$y = 0{,}39 - 0{,}15\,x_1 - 0{,}32\,x_3 - 0{,}13\,x_1x_2 + 0{,}20\,x_1x_2x_3;$$

$$t_{0{,}95}s\,\{b_i\} = 0{,}13;\quad s^2_{\text{ад}} = 0{,}07 < Fs^2\{\bar{y}\} = 0{,}12.$$

Анализ полученных результатов показывает, что в декабрьской серии опытов на экономках 5—6-го поколений получены очень низкие величины коэффициента $\text{ТТХ}_{\text{аргон}}/\text{ТТХ}_{\text{воздух}}$. Активность оксидаз контрольных, неохлажденных экономок 5—6-го поколений выходила за пределы чувствительности метода.

При охлаждении эндогенная активность оксидаз в гомогенатах мышц экономок увеличивается. При экстремальном охлаждении (—15 °С) это увеличение одинаково у северного и юж-

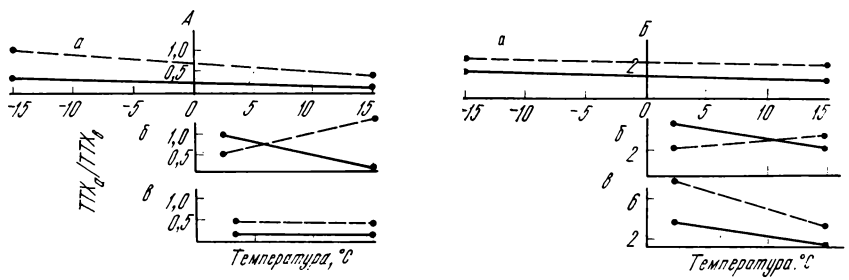


Рис. 2. Изменение эндогенной активности оксидаз в гомогенатах скелетных мышц двух подвидов полевки-экономки 5—6-го (*А*) и 7—10-го (*Б*) поколений.

Условия: *а* — экстремальное охлаждение; *б* — то же после предварительной акклимации; *в* — после 9-дневной акклимации при температуре 0—+3 °С. *Штриховая линия* — северный подвид, *сплошная* — южный.

Таблица 7

Эндогенная активность оксидаз в гомогенатах скелетных мышц южных и северных подвидов экономки в условиях нормы и экстремального охлаждения без предварительной акклимации к холоду и после нее (5—6-е поколения, декабрь 1971 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Подвид $\widehat{x_1}$	Температура 9-дневного содержания животных до опыта, °С $\widehat{x_2}$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widehat{x_3}$
Верхний (+)	*M. oeconomus*	+15	+18
Нижний (—)	*M. chachlovi*	0— +3	—15

Кодированные независимые переменные				Тетразолвосстанавливающая активность гомогената (г/мл) в атмосфере								$TTX_a/TTX_в$				
				аргона				воздуха								
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	0,20	0,105	—	0,152	0,22	0,160	—	0,19	0,90	0,65	—	0,77	0,53
2	+	—	—	0,10	0,12	—	0,110	0,612	0,105	—	0,112	0,83	1,14		0,98	0,89
3	—	+	—	0,195	0,08	0,165	0,179	0,135	0,135	0,175	0,152	1,44	0,59	1,66	1,15	1,19
4	+	+	—	0,0	0,0	0,0	0,0	0,13	0,155	0,132	0,138	0,0	0,0	0,0	0,0	0,23
5	—	—	+	0,08	0,01	—	0,045	0,17	0,10	—	0,135	0,47	0,10	—	0,28	0,49
6	+	—	+	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
7	—	+	+	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,35
8	+	+	+	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Примечание. Статистические показатели: $b_0=0,06$; $b_1=-0,33$; $b_2=-0,16$; $b_3=-0,049$; $b_{12}=-0,11$; $b_{13}=0,022$; $b_{23}=0,004$; $b_{123}=0,022$; $s^2y=0,019$; $t_{0,95}sb_i=0,023$ (аргон). $b_0=0,09$; $b_1=-0,028$; $b_2=-0,018$; $b_3=-0,057$; $b_{12}=0,025$; $b_{13}=0,005$; $b_{23}=-0,15$; $b_{123}=0,009$; $s^2y=0,001$; $t_{0,95}sb_i=0,05$ (воздух). $b_0=0,39$; $b_1=-0,15$; $b_2=-0,11$; $b_3=-0,32$; $b_{12}=-0,13$; $b_{13}=0,08$; $b_{33}=-0,04$; $b_{123}=0,20$; $s_2y=0,061$; $t_{0,95}sb_i=0,231$ ($TTX_a/TTX_в$).

Таблица 8

Эндогенная активность оксидаз и их реакция на тироксин в гомогенатах скелетных мышц южных и северных подвидов экономки в условиях нормы и экстремального охлаждения без предварительной акклимации к холоду и после нее (7—10-е поколения, декабрь 1972 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные: Подвид $\tilde{x}_1$	Температура 9-дневного содержания до опыта, °C $\tilde{x}_2$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °C $\tilde{x}_3$
Верхний (+)	*M. o. oeconomus*	+15	+18
Нижний (—)	*M. o. chachlovi*	0—+3	—15

Кодированные независимые переменные				Тетразолвосстанавливающая активность гомогената (е/мл) в атмосфере								$TTX_a/TTX_в$					Чувствительность эндогенного метаболизма к тироксину, % к исходному уровню			
				аргона				воздуха												
№ варианта	x_1	x_2	x_3	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3
1	—	—	—	0,362	0,360	0,365	—	0,260	0,095	—	0,177	2,2	1,39	3,80	—	2,6	108,4	156,8	60,0	—
2	+	—	—	0,360	0,405	0,215	0,46	0,130	0,035	0,205	0,090	4,8	3,10	6,10	4,3	4,5	389,4	464,5	340,9	363,8
3	—	+	—	0,319	0,276	0,280	0,40	0,060	0,070	0,190	0,106	3,89	4,45	4,00	2,1	3,5	130,4	89,9	156,3	144,8
4	—	—	—	0,253	0,230	0,290	0,24	0,085	0,080	0,070	0,078	2,8	2,70	3,6	3,4	3,2	129,2	88,9	169,4	—
5	—	—	+	0,240	0,167	0,345	0,21	0,018	0,033	0,025	0,025	7,4	9,2	10,5	9,1	9,6	131,1	141,3	102,4	149,5
6	+	—	+	0,253	0,030	0,240	0,49	0,011	0,100	0,100	0,070	3,8	3,00	2,4	4,9	3,4	276,0	500,0	416,6	212,2
7	—	+	+	0,575	—	0,660	0,49	—	0,185	0,170	0,177	3,6	—	3,5	2,8	3,2	54,3	65,7	42,9	—
8	+	+	+	0,242	—	0,175	0,31	—	0,055	0,215	0,135	1,9	—	3,2	1,4	2,3	548,6	312,5	7,84	—

Примечание. Статистические показатели: b_0=0,325; b_1=—0,048; b_2=0,002; b_3=0,002; b_{12}=—0,031; b_{123}=—0,035; b_{13}=0,031; s^2y=0,0067; $t_{0,95}sb_i$=0,0339 (аргон).

b_0=0,107; b_1=—0,014; b_2=0,017; b_3=0,005; b_{12}=—0,0035; b_{13}=0,0147; b_{123}=—0,0185; s^2y=0,0063; $t_{0,95}\,sb_i$=0,0341 (воздух).

b_0=4,03; b_1=—0,7; b_2=—0,99; b_3=0,60; b_{12}=0,40; b_{13}=—1,08; b_{23}=—0,89; b_{123}=—0,93; s^2y=0,41; $t_{0,95}sb_i$=0,5 ($TTX_a/TTX_в$).

b_0=233,4; b_1=127,4; b_2=—17,9; b_{12}=—4,09; b_{13}=57,4; b_{23}=41,8; b_{123}=66,45; s^2y=7333,8; $t_{0,95}sb_i$=66 (чувствительность эндогенного метаболизма к тироксину).

ного подвидов (см. рис. 2, *Аа*), т. е. не связано с принадлежностью полевок к внутривидовой форме ($b_3 > t_{0,95}sb_i$ и $b_{13} < t_{0,95}sb_i$). В условиях 9-дневной акклимации к температуре 0—+3 °С у северной экономки наблюдается увеличение эндогенной активности оксидаз, в то время как у южной оксидазы имеют низкую активность, выходящую за пределы чувствительности метода ($b_{12} > tsb_i$, см. рис. 2, *Ав*).

Предварительная акклимация к холоду изменяет у обоих подвидов экономки реакцию на экстремальное охлаждение (см. рис. 2, *Аб*). При этом поведение эндогенных оксидаз зависит от принадлежности животного к южному или северному подвиду ($b_{123} > t_{0,95}sb_i$). Северная экономка, реагирующая на 20-минутное охлаждение при —15 °С увеличением активности эндогенных оксидаз, после предварительной акклимации при выдерживании животных при —15 °С достоверно снижает эту активность. Экономки южного подвида при экстремальном охлаждении после акклимации продолжают увеличивать активность эндогенных оксидаз. Общий уровень активности оксидаз в гомогенатах скелетных мышц северных неохлажденных экономок выше, чем южных ($b_1 > t_{0,95}sb_i$).

Уравнение регрессии для коэффициента $ТТХ_{аргон}/ТТХ_{воздух}$ в серии опытов на экономках 7—10-го поколений имеет вид:

$$y = 4{,}03 - 0{,}7x_1 - 0{,}99x_2 + 0{,}6x_3 - 1{,}08x_1x_3 - \\ - 0{,}89x_2x_3 + 0{,}93x_1x_2x_3;$$

$$t_{0,95}sb_i = 0{,}50;\ s^2_{ад} = 5{,}87 < Fs^2\bar{y} = 1{,}93.$$

Анализ данных, полученных при изучении северного и южного подвидов экономки 7—10-го поколений, показывает, что эндогенная активность их оксидаз уже в норме выше, чем у экономок 5—6-го поколений (2—3 усл. ед. вместо 0,3). При этом показатели изменений оксидаз, несмотря на различия в исходном уровне, аналогичны данным первой серии опытов. В условиях экстремального охлаждения после 9-дневной акклимации и предварительной акклимации в мышцах южного подвида экономок наблюдается активация эндогенных оксидаз (коэффициент $ТТХ_{аргон}/ТТХ_{воздух}$ возрастает). В мышцах северного подвида эта интенсификация аэробного эндогенного метаболизма выражена слабее при экстремальном охлаждении ($b_{13} > t_{0,95}sb_i$) и совсем не наблюдается в условиях экстремального охлаждения у предварительно адаптированных к холоду животных ($b_{123} > t_{0,95}sb_i$).

Биохимическая дифференциация так же, как в первой серии опытов у экономок 5—6-го поколений, ярко выражена при экстремальном охлаждении предварительно адаптированных животных (см. рис. 1, *Бб*). У северных экономок активность окси-

даз так же, как у северных экономок 5—6-го поколений, выше, чем у южных ($b_1 > t_{0,95}sb_i$).

В декабрьской серии опытов на экономках 7-го поколения по тому же плану (ПФЭ 2^3) исследовали чувствительность эндогенных оксидаз к тироксину (см. табл. 8). Определяли коэффициент $ТТХ_{аргон}/ТТХ_{воздух}$ в гомогенатах мышц южных и северных экономок (x_1) в условиях 9-дневной акклимации (x_2) и экстремального охлаждения (x_3) в присутствии тироксина и без него.

Уравнение регрессии для чувствительности эндогенных оксидаз к тироксину в серии опытов на экономках 7—10-го поколений имеет вид:

$$y = 233{,}4 + 127{,}4\,x_1 + 66{,}4\,x_1x_2x_3;\ t_{0,95}sb_i = 66{,}0.$$

Регрессионный анализ данных показывает, что введение 30 мг/кг тироксина непосредственно в гомогенат мышц экономки вызывает достоверное увеличение коэффициента $ТТХ_{аргон}/ТТХ_{воздух}$. Характер этого изменения зависит от принадлежности животного к южному или северному подвидам ($b_{123} > t_{0,95}sb_i$).

Обратная корреляция между исходным уровнем эндогенной активности оксидаз и чувствительностью их к тироксину наблюдается в условиях нормы и охлаждения. Северная экономка имеет более высокий исходный уровень оксидаз в контроле (3,6), и при введении тироксина эта активность не увеличивается, а снижается (чувствительность оксидаз к гормону 54,3 %). Южная экономка в норме имеет более низкий уровень эндогенных оксидаз (1,9), и при введении тироксина активность резко увеличивается (чувствительность к гормону 548,6 %). При охлаждении северная экономка либо не изменяет, либо снижает эндогенную активность оксидаз в мышцах. Чувствительность оксидаз к тироксину в тех же вариантах охлаждения возрастает.

У южных экономок, которым свойственны низкая исходная эндогенная активность оксидаз и их высокая исходная чувствительность к тироксину, при охлаждении увеличивается активность оксидаз, а чувствительность их к гормону достоверно снижается.

Изучение эндогенной активности оксидаз и их чувствительности к тироксину в гомогенатах скелетных мышц узкочерепных полевок проводили по плану ПФЭ типа 2^3. Группа животных была неоднородной по полу и принадлежности к подвиду (исследовали 3—4-месячных животных 7—10-го поколений). Эндогенную активность оксидаз и их реакцию на 30 мг/кг тироксина (y) определяли у самок и самцов (x_1) южных и северных узкочерепных полевок (x_2) после 20-минутного выдерживания при температуре +18 и —15 °С (x_3) (табл. 9, рис. 3).

Таблица 9

Эндогенная активность оксидаз и их реакция на тироксин в гомогенатах скелетных мышц двух подвидов узкочерепной полевки в условиях нормы и экстремального охлаждения (7—10-е поколения, декабрь 1972 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Пол $\hat{x}_1$	Подвид $\hat{x}_2$	Температура 20-минутного воздействия, °С $\hat{x}_3$
Верхний (+)	Самка	*M. g. gregalis*	+18
Нижний (—)	Самец	*M. g. chachlovi*	—15

Кодированные независимые переменные				$TTX_a/TTX_в$					Чувствительность эндогенного метаболизма к тироксину, % к исходному уровню				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	1,7	1,6	3,3	7,2	1,68	312,5	969,6	—	641,0	664,7
2	+	—	—	1,5	2,6	3,5	2,5	4,02	69,3	53,8	—	61,6	182,4
3	—	+	—	5,5	2,2	—	3,8	4,02	354,0	1022,7	—	688,3	664,7
4	+	+	—	2,6	1,9	4,0	2,8	1,68	103,8	368,4	437,5	303,2	182,4
5	—	—	+	6,8	7,3	15	9,7	7,42	123,5	210,9	180	171,5	140,8
6	+	—	+	4,2	3,7	8,9	5,6	5,08	116,6	324,3	105,6	182,1	159,5
7	—	+	+	2,9	—	—	2,9	5,08	110,3		—	110,3	140,8
8	+	+	+	5,3	—	8,3	6,8	7,42	90,5	183,1	—	136,8	159,5

Примечание. Статистические показатели: $b_0=4,55$; $b_1=-0,11$; $b_2=-0,46$; $b_{12}=0,83$; $b_3=1,7$; $b_{13}=0,06$; $b_{23}=-0,04$; $b_{123}=1,27$; $s^2y=6,23$; $s_2\bar{y}=3,11$; $s^2b_i=0,38$; $t_{0,95}sb_i=1,36$($TTX_a/TTX_в$). $b_0=268,8$; $b_1=-115,9$; $b_2=22,8$; $b_{12}=26,3$; $b_3=-136,6$; $b_{13}=125,2$; $b_{2,3}=-49,4$; $b_{223}=-22,3$; $s^2y=54021,7$; $s^2\bar{y}=27010,8$; $s^2b_i=3376,3$; $t_{0,95}sb_i=129,5$(чувствительность $TTX_a/TTX_в$ к тироксину).

Уравнение регрессии для эндогенной активности оксидаз имеет вид:

$$y = 4,55 + 1,7x_3 + 1,27x_1x_2x_3;\ t_{0,95}sb_i = 1,36;$$
$$s^2_{ад} = 2,8 < Fs^2;\ \bar{y} = 9,65.$$

Уравнение регрессии в той же серии для чувствительности оксидаз к тироксину имеет вид:

$$y = 286,8 - 115,9x_1 - 136,6x_3 + 125,2x_1x_3;$$
$$t_{0,95}sb_i = 129,5;\ s^2_{ад} = 8306,9 < Fs^2,\ \bar{y} = 75630,4.$$

Анализ данных показывает, что общий исходный уровень эндогенной активности оксидаз в гомогенатах скелетных мышц узкочерепных полевок 7—10-го поколений значительно выше активности этих ферментов у экономок того же поколения (5—7 ед. вместо 2—4).

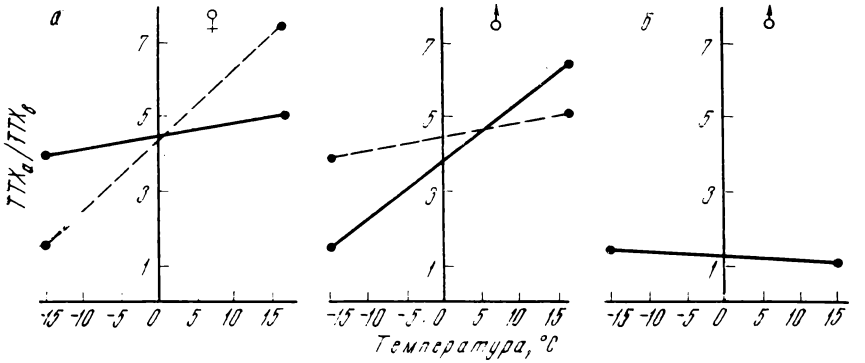


Рис. 3. Эндогенная активность оксидаз в гомогенатах скелетных мышц узкочерепных полевок (*а*) и полевок Миддендорфа (*б*) в условиях нормы и экстремального охлаждения. *Штриховая линия* — северный подвид, *сплошная* — южный.

При охлаждении активность эндогенных оксидаз узкочерепных полевок снижается ($b_3 > t_{0,95}sb_i$), это снижение зависит от пола полевки и принадлежности к южному или северному подвиду ($b_{123} > t_{0,95}sb_i$). Наблюдается сходство в изменении активности эндогенных оксидаз и их исходного уровня у южных самок и северных самцов, у северных и южных самцов (см. рис. 3). Первая пара (южные самки и северные самцы) имеет более низкий исходный уровень эндогенной активности оксидаз, при охлаждении изменяющийся незначительно. У второй пары (северных самок и южных самцов), напротив, более высокий исходный уровень эндогенных оксидаз, который при охлаждении животных резко понижается ($b_{123} > t_{0,95}sb_i$).

Чувствительность оксидаз к тироксину в гомогенатах скелетных мышц узкочерепных полевок 7—10-го поколений увеличивается у южных и северных подвидов одинаково ($b_{123} < t_{0,95}sb_i$), она зависит от пола животного. У самцов чувствительность возрастает (см. табл. 9) так же резко, как у экономок. Самки, напротив, имея высокий исходный уровень оксидаз в гомогенатах мышц, при охлаждении реакцию на тироксин изменяют незначительно.

Независимые переменные, их уровни, результаты эксперимента и данные регрессионного анализа серии опытов на полевках Миддендорфа представлены в табл. 10. Уравнение регрессии для эндогенной активности оксидаз данной серии имеет вид:

$$y = 1{,}09 - 0{,}22\,x_3;\ t_{0,95}sb_i = 0{,}16.$$

Группа животных была неоднородной по возрасту (исследовали самцов 2-го поколения). Эндогенную активность оксидаз находили у 8—4-месячных самцов после 20-минутного выдер-

аблица 10

Эндогенная активность оксидаз и чувствительность их к тироксину в гомогенатах скелетных мышц полевок Миддендорфа в условиях нормы и экстремального охлаждения (2-е поколение, декабрь 1973 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Возраст, мес $\hat{x}_1$	Температура 20-минутного воздействия, °С $\hat{x}_2$	Концентрация тироксина, мг/кг $\hat{x}_3$
Верхний (+)	8	+18	30
Нижний (—)	4	—15	—

Кодированные независимые переменные				$ТТХ_а/ТТХ_в$					
№ варианта				y_1	y_2	y_3	y_4	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	1,50	—	—	—	1,55	1,31
2	+	—	—	1,60	1,67	1,13	—	1,47	1,31
3	—	+	—	2,21	—	—	—	1,21	1,31
4	+	+	—	0,52	0,95	1,53	1,30	1,08	1,31
5	—	—	+	0,87	—	—	—	0,87	0,87
6	+	—	+	0,82	1,00	1,12	—	0,98	0,87
7	—	+	+	0,87	—	—	—	0,87	0,87
8	+	+	+	0,62	1,00	0,74	0,75	0,78	0,87

Примечание. Статистические показатели: b_0=1,09; b_1=0,02; b_2=—0,11; $t\,b_3$=—0,22; b_{12}=—0,12; b_{13}=0,02; b_{23}=0,06; b_{123}=—0,01; s^2y=0,08; $s^2\bar{y}$=0,04; $_{0,95}sb_i$=0,16.

живания при температуре +18 и —15 °С (x_2) при введении в гомогенат тироксина или без него (x_3). Опыты ставили по плану ПФЭ типа 2^3.

Регрессионный анализ данных показывает, что эндогенная активность оксидаз в исследованной группе полевок Миддендорфа зависит от введения тироксина в гомогенат ($b_3 > t_{0,95}sb_i$) и не зависит от пола животных и температурного воздействия (b_{13}, b_2, $b_{23} < tsb_i$). Исходный уровень эндогенных оксидаз у полевок Миддендорфа незначителен (1,3 ед.). Чувствительность оксидаз к тироксину у полевки Миддендорфа не повышается, как у южной экономки и самцов обоих подвидов узкочерепной полевки (чувствительность к испытанной концентрации гормона составляет 66 %). Коэффициент $ТТХ_{аргон}/ТТХ_{воздух}$ при введении 30 мг/кг тироксина в гомогенат снижается у полевок Миддендорфа с 1,3 до 0,87 ед.

Изменение эндогенной активности оксидаз и их реакции на гормональное воздействие внутри популяций изучали на полосатых и бесполосых право- и левовращающих генетических вариантах улиток из рода *Bradybaena* [258—260].

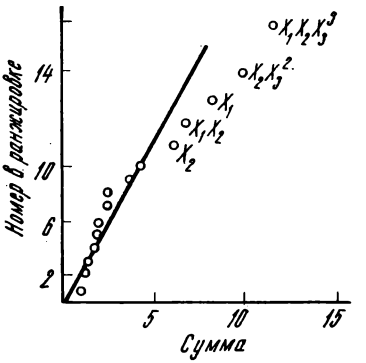


Рис. 4. Полувероятностный график, построенный на основе данных табл. 11 (серия опытов на *Br. fruticum*).

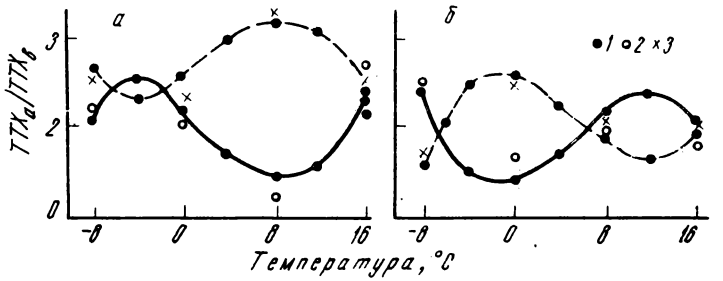


Рис. 5. Эндогенная активность оксидаз и их реакция на тироксин в гомогенатах бесполосых (*а*) и полосатых (*б*) морф *Br. fruticum* в условиях разных температур.

Результаты: *1* — рассчитанные по уравнению; *2* — полученные в эксперименте при изучении гомогенатов, не содержащих тироксин; *3* — то же в гомогенатах с тироксином. *Штриховая линия* — расчетная кривая для гомогенатов с тироксином, *сплошная* — без тироксина.

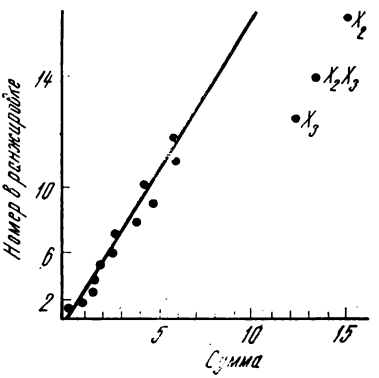


Рис. 6. Полувероятностный график, построенный по данным табл. 12.

Таблица 11

Эндогенная активность оксидаз и их реакция на тироксин в гомогенатах популяция)

Уровень	Независимые переменные натуральные
	Морфа $\widetilde{x_1}$
Первый (—3)	Полосатые
Второй (—1)	Бесполосые
Третий (+1)	—
Четвертый (+3)	—

Кодированные независимые переменные				$\frac{ТТХ_а}{ТТХ_в}$	Этап формализованной схемы Ятса			
№ варианта	x_1	x_2	x_3		1	2	3	$\sqrt{d}$
1	—1	—1	—3	2,7	45	87	345	4,0
2	+1	—1	—3	1,8	42	83	—31	4,0
3	+1	+1	—3	2,4	31	86	23	4,0
4	+1	+1	—3	1,8	52	89	—25	4,0
5	—1	—1	—1	1,2	38	—15	9	8,94
6	+1	—1	—1	1,9	48	—9	37	8,94
7	—1	+1	—1	3,4	47	—2	—17	8,94
8	+1	+1	—1	1,8	42	—5	—13	8,94
9	—1	—1	+1	2,1	—9	—3	7	4,0
10	+1	—1	+1	1,7	—6	+21	—9	4,0
11	—1	+1	+1	2,3	7	10	—39	4,0
12	+1	+1	+1	2,5	—16	—5	9	4,0
13	—1	—1	+3	2,2	—4	3	—7	8,94
14	+1	—1	+3	2,5	2	—23	—11	8,94
15	—1	+1	+3	2,5	3	6	31	8,94
16	+1	+1	+3	1,7	—8	11	—101	8,94

Примечание. Опыт по плану повторяли три раза.

Исследовали группу улиток, неоднородную по принадлежности к полосатому и бесполосому генетическим вариантам. Опыты ставили по плану ПФЭ $2^2 \cdot 4$. Определяли эндогенную активность оксидаз (коэффициент $ТТХ_{аргон}/ТТХ_{воздух}$) в гомогенатах полосатых и бесполосых морф (x_1) при введении тироксина и без него (x_2) у животных, предварительно выдержанных в условиях +15, +8, 0 и —8 °С. Независимые переменные, их уровни, результаты эксперимента и данные регрессионного анализа серий на улитках *B. fruticum* представлены в табл. 11. Коэффициент регрессии рассчитывали по схеме Ятса [172].

двух морф *Br. fruticum* в условиях разных температур (природная

Независимые переменные натуральные	
Концентрация тироксина, мг/кг $\widetilde{x_2}$	Температура 15-минутного воздействия, °С $\widetilde{x_3}$
0,45	+15
0,0	+8
—	0
—	—8

Эффект	Обозначение эффекта	b_i	Ранжировка	
			№	Сумма
—	«1»	2,156	1	0,8
7,8	x_1	—0,194	2	1,0
5,8	x_2	0,144	3	1,2
6,2	x_1x_2	—0,156	4	1,5
1,0	x_3	—	5	1,8
4,1	x_1x_3	—	6	1,9
1,9	x_2x_3	—	7	2,2
1,5	$x_1x_2x_3$	—	8	2,2
1,8	x_3^2	—	9	3,5
2,2	$x_1x_3^2$	—0,244	10	4,1
9,8	$x_2x_3^2$		11	5,8
2,2	$x_1x_2x_3^2$		12	6,2
0,8	x_3^2		13	7,8
1,2	$x_1x_3^3$		14	9,8
3,5	$x_2x_3^3$		15	11,3
11,3	$x_1x_2x_3^3$	—0,126	16	—

Значимость эффектов и коэффициентов регрессии определяли с помощью построения полувероятностного графика (рис. 4).

Уравнение регрессии в данной серии опытов имеет вид:

$$y = 2{,}156 - 0{,}19x_1 + {,}449x_2 - 0{,}15x_1x_2 - 0{,}61x_2x_3^2 + \\ + 0{,}61x_1x_3^2 + 0{,}42x_1x_2x_3 - 0{,}52x_1x_2x_3^3.$$

Расчетные результаты, полученные с помощью уравнения ($\hat{y}$), даны вместе с экспериментальными (рис. 5). Анализ уравнения показывает, что уровень эндогенных оксидаз у исследо-

Таблица 12

Эндогенная активность оксидаз в гомогенатах и гиалоплазме лево- и право- в условиях разных температур (природная популяция)

Уровень	Натуральные независимые переменные
	Морфа $\widetilde{x_1}$
Первый (+1)	Правовращающие
Второй (—1)	Левовращающие
Третий (+3)	—
Четвертый (—3)	—

Кодированные независимые переменные				$\frac{ТТХ_а}{ТТХ_в}$	Этап формализованной схемы Ятса			
№ варианта	x_1	x_2	x_3		1	2	3	$\sqrt{d}$
1	—1	—1	—3	2,0	5,0	11,0	88,9	4,0
2	+1	—1	—3	3,0	6,0	11,3	18,5	4,0
3	—1	+1	—3	2,1	3,0	21,7	59,5	4,0
4	+1	+1	—3	3,9	8,3	44,9	23,0	4,0
5	—1	—1	—1	2,0	3,2	2,8	112,1	8,94
6	+1	—1	—1	1,0	18,5	2,9	25,3	8,94
7	—1	+1	—1	2,2	3,5	0,9	120,7	8,94
8	+1	+1	—1	6,1	41,4	11,9	38,0	8,94
9	—1	—1	+1	2,2	1,0	1,0	27,9	4,0
10	+1	—1	+1	1,0	1,7	5,3	10,9	4,0
11	—1	+1	+1	8,2	—1,0	15,3	18,3	4,0
12	+1	+1	+1	10,3	3,9	37,9	6,6	4,0
13	—1	—1	+3	2,3	—1,2	0,8	2,6	8,94
14	+1	—1	+3	1,2	2,1	4,9	15,1	8,94
15	—1	+1	+3	14,2	—1,1	3,3	6,9	8,94
16	+1	+1	+3	27,2	13,0	14,0	18,0	8,94

Примечание. Этапы 1—3 выполнены в соответствии с алгоритмом Ятса для фак этапа на соответствующую им величину $\sqrt{d}$; коэффициенты регрессии b_i найдены для

ванного вида зависит от принадлежности к полосатой и бесполосой морфам и температуры и что оксидазы реагируют на введение в гомогенат тироксина, но эта реакция также определяется таксономическим положением улитки и температурой ее содержания (эффекты $x_1x_2x_3$, $x_1x_2x_3^3$ и соответствующие им коэффициенты регрессии значимы).

Внутри вида *B. fruticum* (см. рис. 5) наблюдается корреляция между изменениями в уровне интенсивности аэробного эндогенного метаболизма и чувствительности к тироксину.

При наличии высокой активности оксидаз их чувствитель-

вращающих морф *Br. lantzi* после 15-минутного выдерживания улиток

Натуральные независимые переменные	
Вид препарата $\widehat{x_2}$	Температура 15-минутного воздействия, °С $\widehat{x_3}$
Гомогенат	+30
Гиалоплазма	+20
—	+10
—	0

Эффект	Обозначение эффекта	b_i	Ранжировка	
			№	Сумма
—	«1»	5,56	—	—
4,6	x_1	—	1	0,3
14,9	x_2	3,72	2	0,8
5,8	x_3x_2	—	3	1,6
12,5	x_3	1,40	4	1,7
2,8	x_1x_3	—	5	2,0
13,5	x_2x_3	1,51	6	2,7
4,2	$x_1x_2x_3$	—	7	2,8
5,7	x_3^2	—	8	4,2
2,7	$x_1x_3^2$	—	9	4,6
4,6	$x_2x_3^2$	—	10	4,6
1,6	$x_1x_2x_3^2$	—	11	5,7
0,3	x_3^3	—	12	5,8
1,7	$x_1x_3^2$	—	13	12,5
0,8	$x_2x_3^3$	—	14	13,5
2,0	$x_1x_2x_3^3$	—	15	14,9

торных экспериментов типа $2^n \cdot 4^m$; значения эффектов рассчитаны делением чисел 3-го факторов x_1 и x_2 делением чисел 3-го этапа на 16, а для x_3 — на 8 [464, 537, 172].

ность к испытанной дозе гормона падает, и напротив, резкое понижение интенсивности эндогенного метаболизма сопровождается значительным повышением чувствительности к тироксину. У бесполосого генетического варианта (см. рис. 5) преобладающим является понижение активности оксидаз, коррелирующее с ярко выраженной реакцией на тироксин (при +8 и —8 °С). У полосатой морфы (см. рис. 5) данный тип адаптации к холоду выражен слабее и в условиях изученного диапазона температур проявляется реже (при 0 °С).

Эндогенный метаболизм и его чувствительность к тироксину

Таблица 13

Интенсивность восстановления тетразолхлорида и эндогенная активность оксидаз в гомогенатах двух морф *B. lantzi* при введении возрастающих концентраций тироксина (природные популяции)

Уровень	Натуральные независимые переменные			
	Популяция $\widetilde{x}_1$	Морфа $\widetilde{x}_2$	Условия инкубации гомогената $\widetilde{x}_3$	Концентрация тироксина в гомогенате $\widetilde{x}_4$
Первый (—3)	A	Правовращающие	Аргон	0,0
Второй (—1)	B	Левовращающие	Воздух	15,0
Третий (+1)	—	—	—	30,0
Четвертый (+3)	—	—	—	45,0

Кодированные независимые переменные					ТТХ-восстанавливающая активность, г/мл·10³	Этап формализованной схемы Ятса					Эффект	Обозначение эффекта	b_i	Ранжировка		ТТХ-восстанавливающая активность, г/мл·10³	$\frac{\text{ТТХ}_а}{\text{ТТХ}_в}$
№ варианта	x_1	x_2	x_3	x_4		1	2	3	4	$\sqrt{d}$				№	Сумма		
1	—	—	—	—3	20	40	110	313	1701	5,6	—	«1»	53,15	1	8	13,51	1,96
2	+	—	—	—3	20	70	203	383	467	5,6	83	x_1	14,59	2	10	18,63	1,70
3	—	+	—	—3	10	63	123	370	407	5,6	72	x_2	12,72	3	12	14,89	1,87
4	+	+	—	—3	60	140	260	635	385	5,6	68	x_1x_2	12,3	4	14	68,13	1,19
5	—	—	+	—3	40	50	124	53	753	5,6	133	x_3	23,53	5	14	26,49	—
6	+	—	+	—3	23	73	246	231	79	5,6	14	x_1x_3	—	6	16	61,61	—
7	—	+	+	—3	60	90	117	130	127	5,6	22	x_2x_3	—	7	17	27,87	—
8	+	+	+	—3	80	170	518	53	161	5,6	28	$x_1x_2x_3$	—	8	20	81,11	—
9	—	—	—	—1	13	37	50	107	953	12,6	75	x_4	5,96	9	21	14,06	3,44
10	+	—	—	—1	87	87	3	103	—101	12,6	8	x_1x_4	—	10	22	19,18	2,86

Окончание таблицы 13

Кодированные независимые переменные					ТТХ-восстанавливающая активность, ε/мл·10³	Этап формализованной схемы Ятса					Эффект	Обозначение эффекта	b_i	Ранжировка		ТТХ-восстанавливающая активность, ε/мл·10³	$\frac{ТТХ_а}{ТТХ_в}$
№ варианта	x_1	x_2	x_3	x_4		1	2	3	4	$\sqrt{d}$				№	Сумма		
11	—	+	—	—1	10	63	77	170	—173	12,6	14	x_2x_4	—	11	22	15,44	3,31
12	+	+	—	—1	63	183	154	27	153	12,6	12	$x_1x_2x_4$	—	12	22	68,68	1,52
13	—	—	+	—1	23	40	84	87	909	12,6	72	x_3x_4	5,68	13	23	49,76	—
14	+	—	+	—1	67	77	46	95	287	12,6	23	$x_1x_3x_4$	—	14	24	58,88	—
15	—	+	+	—1	30	264	—17	50	—269	12,6	21	$x_2x_3x_4$	—	15	25	51,14	—
16	+	+	+	—1	140	244	70	153	513	12,6	40	$x_1x_2x_3x_4$	—	16	27	104,38	—
17	—	—	—	+1	10	0	30	93	195	5,6	34	x_5	—	17	28	14,62	5,0
18	+	—	—	+1	27	50	77	137	—255	5,6	46	x_1x_5	—	18	28	19,74	3,96
19	—	+	—	+1	10	—17	23	122	—139	5,6	25	x_2x_5	—	19	29	16,0	4,65
20	+	+	—	+1	77	20	80	401	95	5,6	17	$x_1x_2x_6$	—	20	34	69,24	1,84
21	—	—	+	+1	20	24	50	—47	235	5,6	42	x_3x_5	—	21	36	73,04	—
22	+	—	+	+1	43	53	120	77	155	5,6	27	$x_1x_3x_5$	—	22	40	78,16	—
23	—	+	+	+1	80	44	37	—38	—127	5,6	22	$x_2x_3x_5$	—	23	42	74,42	—
24	+	+	+	+1	103	110	—10	87	261	5,6	46	$x_1x_2x_3x_5$	—	24	45	127,66	—
25	—	—	—	+3	20	17	50	47	361	12,6	29	x_4x_5	—	25	46	15,17	6,36
26	+	—	—	+3	20	67	37	52	303	12,6	24	$x_1x_4x_5$	—	26	68	20,29	5,00
27	—	+	—	+3	47	23	29	70	—281	12,6	22	$x_2x_4x_5$	—	27	72	16,55	5,90
28	+	+	—	+3	30	23	66	—47	201	12,6	16	$x_1x_2x_4x_5$	—	28	72	69,79	2,16
29	—	—	+	+3	157	0	50	—13	353	12,6	28	$x_3x_4x_5$	—	29	75	96,31	—
30	+	—	+	+3	107	—17	0	37	251	12,6	20	$x_1x_3x_4x_5$	—	30	83	101,43	—
31	—	+	+	+3	67	—50	—17	—50	—133	12,6	10	$x_1x_3x_4x_5$	—	31	133	97,69	—
32	+	+	+	+3	187	120	170	187	461	12,6	36	$x_1x_2x_3x_4x_5$	—	32	—	150,93	—

изучали в гомогенатах мышц *B. lantzi* (табл. 12, 13, рис. 6—9). Ставили две последовательные серии опытов: в одной изучали изменения указанного биохимического показателя при охлаждении животных, в другой — при введении в гомогенат тироксина. При изучении реакции на охлаждение параллельно исследовали гомогенат и гиалоплазму с целью получения дополнительной информации о локализации эндогенных оксидаз.

Данную серию ставили по плану ПФЭ $2^2 \cdot 4$. Определяли эндогенную активность оксидаз (y) в гомогенате и гиалоплазме мышц ноги (x_2) у право- и левовращающих (x_1) морф *B. lantzi* в условиях 15-минутного выдерживания улиток при температурах +30, +20, +10 и 0 °С. Уравнение регрессии имеет вид:

$$y = 5{,}561 + 3{,}72\,x_2 + 1{,}4\,x_3 + 1{,}51\,x_2x_3.$$

Таким образом, уровень эндогенных оксидаз в исследованной группе улиток, неоднородной по принадлежности к генетическому варианту, зависит от способа приготовления биологического препарата и температуры 15-минутного воздействия (эффекты x_2, x_3, x_2x_3 и соответствующие им коэффициенты регрессии значимы). Гиалоплазма мышц улиток не изменяет активности эндогенных оксидаз при охлаждении. Экстрамитохондриальные пути окисления, по-видимому, не играют существенной роли в адаптации исследованного вида моллюсков к низким температурам. Эндогенная активность оксидаз в гомогенатах, а следовательно и в митохондриях, напротив, коррелирует с температурой воздействия, достоверно увеличиваясь по мере ее снижения, но увеличение не зависит от принадлежности животных к право- и левовращающему варианту (эффекты x_1, x_3 и соответствующие им коэффициенты регрессии незначимы).

Серия опытов по изучению реакции оксидаз на тироксин у улиток *Br. lantzi* поставлена по плану ПФЭ типа $2^3 \cdot 4$ (см. табл. 13). Группа животных была неоднородной по месту обитания и генотипу. Исследовали тетразолвосстанавливающую активность (y) в гомогенатах мышц улиток из двух популяций (x_1) право- и левозакрученных генетических вариантов (x_2) при введении тироксина в трех концентрациях и без него (x_4). В качестве третьего фактора (x_3) использовали условия инкубации гомогената (в атмосфере аргона или воздуха), что позволило улучшить статистические свойства плана (см. табл. 13). Конечные результаты по эндогенной активности оксидаз (коэффициенту $ТТХ_{аргон}/ТТХ_{воздух}$) находили по соответствующим расчетным данным ($\hat{y}$) для тетразолвосстанавливающей активности гомогенатов.

Результаты регрессионного анализа данных (см. рис. 9) о скорости восстановления тетразолхлорида и коэффициенту $ТТХ_{аргон}/ТТХ_{воздух}$ показывают, что обе исследованные морфы *B. lantzi* и обе популяции чувствительны к тироксину. Проис-

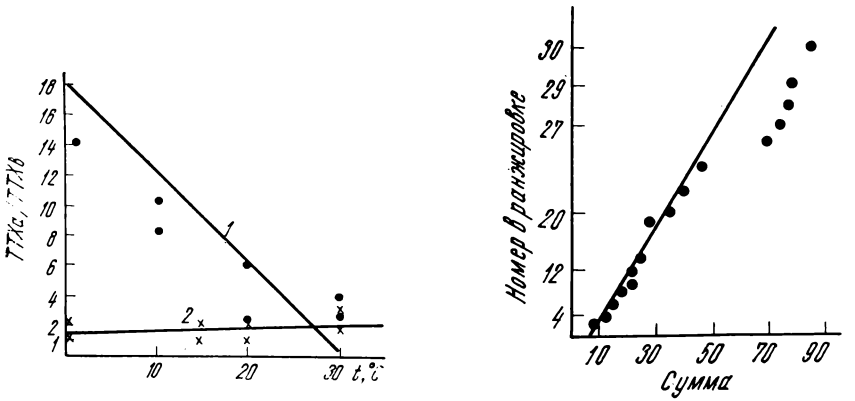


Рис. 7. Эндогенная активность оксидаз в гомогенатах (*1*) и гиалоплазме (*2*) лево- и правовращающихся морф *Br. lantzi* после 15-минутного выдерживания животных в условиях разных температур.

Усл. обозн. те же, что на рис. 5.

Рис. 8. Полувероятностный график, построенный по данным табл. 13.

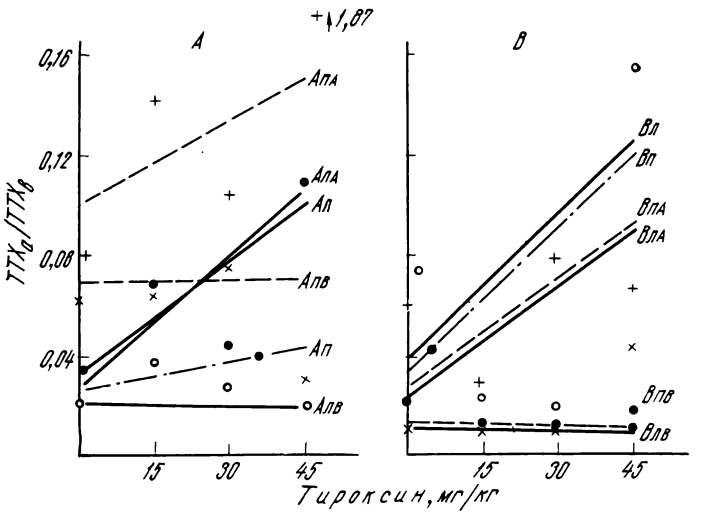


Рис. 9. Интенсивность восстановления тетразолхлорида и эндогенная активность оксидаз в гомогенатах двух морф *Br. lantzi* популяций *A* и *B* при введении возрастающих концентраций тироксина.

В индексах: п — правозакрученная морфа, л — левозакрученная, *A* — инкубация гомогената в атмосфере аргона, *B* — воздуха.

Таблица 14

Эндогенная активность оксидаз и их реакция на тироксин в гомогенатах мышц полосатых и бесполосых морф *Br. schrencki* (природная популяция)

Уровень	Натуральные независимые переменные	
	Морфа $\tilde{x}_1$	Концентрация тироксина, мг/кг $\tilde{x}_2$
Верхний (+)	Полосатая	30,0
Нижний (—)	Бесполосая	0,0

Кодированные независимые переменные			Тетразолвосстанавливающая активность гомогената (ε/мл) в атмосфере								$TTX_a/TTX_в$					
			аргона				воздуха									
№ варианта	x_1	x_2	y_1	y_2	y_3	y_4	y_1	y_2	y_3	y_4	y_1	y_2	y_3	y_4	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	0,85	0,81	0,80	0,90	0,095	0,1	0,115	0,095	8,90	8,10	6,90	9,5	8,4	9,2
2	+	—	0,405	0,40	0,35	0,35	0,015	0,015	0,2	0,018	27,0	26,6	17,5	19,4	22,6	20,6
3	—	+	0,625	0,592	0,80	0,75	0,065	0,075	0,06	0,08	9,6	7,9	13,3	9,4	10,0	9,2
4	+	+	0,23	0,23	0,255	0,215	0,014	0,012	0,012	0,012	16,4	19,2	21,3	17,9	16,4	20,6

Примечание. Статистические показатели: $b_0=14,9$; $b_1=5,7$; $b_2=-0,58$; $b_{12}=-4$; $s^2y=2,17$; $t_{0,95}sb_i=2,2$.

ходит достоверное увеличение тетразолвосстанавливающей активности гомогенатов при инкубации их в аргоне и явное увеличение эндогенной активности оксидаз (коэффициент $ТТХ_{аргон}/ТТХ_{воздух}$) при нарастании дозы тироксина. Различия между морфами в чувствительности оксидаз к гормону достоверны для популяции *A*. В популяции *B* признаков биохимической дифференциации по исследованному тесту не обнаружено.

В следующей серии опытов (табл. 14) группа животных была неоднородной по принадлежности к полосатому и бесполосому вариантам. Опыты ставили по плану ПФЭ 2^2. Исследовали эндогенную активность оксидаз (y) в гомогенатах мышц ноги полосатых и бесполосых морф улиток *Br. schrencki* (x_1) при введении тироксина и без него (x_2).

Уравнение регрессии имеет вид:

$$y = 14{,}9 + 5{,}7\,x_1;\ t_{0,95}sb_i = 2{,}2;$$

$$s_{ад} = 4{,}4 < Fs^2\bar{y} = 8{,}6.$$

Регрессионный анализ результатов показывает, что уровень исследованного теста зависит в данной группе молюсков от принадлежности животного к полосатому или бесполосому генотипу ($b_1 > t_{0,95}sb_i$).

Тироксин в условиях исследованных температур (+18 °С) не вызывает достоверных сдвигов в активности оксидаз у обеих морф ($b_{12} < t_{0,95}sb_i$, хотя, вероятно, на основании соответствующего коэффициента регрессии по взаимодействиям ($b_{12} = -1{,}4$) можно предполагать существование противоположной тенденции у полосатых и бесполосых морф в реакции их оксидаз на тироксин.

2.2. ЦИТОХРОМОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ ПОЛЕВОК ЭКОНОМОК, УЗКОЧЕРЕПНЫХ И МИДДЕНДОРФА В УСЛОВИЯХ НОРМЫ И ЭКСТРЕМАЛЬНОГО ОХЛАЖДЕНИЯ

Цитохромоксидаза (или система цитохром $a + a_3$) — замыкающий фермент в дыхательной цепи, восстанавливающий молекулярный кислород тканей за счет водорода и электронов окислительных субстратов. С функционированием данного фермента связан третий пункт дыхательного фосфорилирования, в котором окисление цитохрома *C* в присутствии кислородного акцептора электронов и протонов сопряжено с образованием макроэргической фосфатной связи в виде аденозинтрифосфата (первичный акцептор энергии и предшествующий фактор данного этапа дыхательного фосфорилирования так же, как всей цепи транспорта электронов, неизвестны).

Цитохромоксидаза состоит не из протопорфина, который содержится в гемоглобине, миоглобине и большинстве цитохромов,

а из порфина *А*, близкого по структуре к порфину хлорофилла. Существует предположение, что этот ферментный комплекс с молекулярной массой 240 тыс. состоит из шести, вероятно, идентичных субъединиц, каждая из которых содержит одну группу гема *А* и один атом меди. Две субъединицы, составляющие цитохром a, отличаются от остальных по спектру поглощения. Четыре субъединицы, относящиеся к цитохрому a_3, могут непосредственно взаимодействовать с кислородом, тогда как цитохром a такой способностью не обладает. Вероятно, электроны принимаются субъединицами цитохрома a и передаются на субъединицы цитохрома a_3, которые могут передавать их кислороду. Атомы меди субъединиц цитохрома a_3 дают характерные сигналы на спектре электронного парамагнитного резонанса. При этом перенос электронов на кислород сопровождается превращением Cu (II) в Cu (I). Окисленная форма системы цитохром $a+a_3$, т. е. F (III)-форма, принимая электроны от восстановленного цитохрома *С*, переходит в F (II)-форму, которая вновь окисляется молекулярным кислородом в F (III)-форму. Цитохром a_3 так же, как гемоглобин, может соединяться с окисью углерода, которая конкурирует с кислородом. Цианид и сероводород ингибируют комплекс цитохром $a + a_3$. Многие вопросы, касающиеся структуры функционирования цитохромоксидазы, до сих пор остаются невыясненными [156].

Цитохромоксидаза как фермент терминального участка дыхательной цепи является в эволюционном отношении наиболее поздним приобретением, которое позволило резко увеличить интенсивность производства энергии в организмах при выходе их на сушу, в условиях среды с богатым содержанием кислорода.

По данным [49], различия в активности цитохромоксидазы мозга между группами животных с разной сложностью организации, разными таксономическим положением и экологией отчетливо выражены. Амфибии имеют низкий уровень активности данного фермента, рептилии — более высокий, активность цитохромоксидазы у теплокровных животных в 4—5 раз выше, чем у амфибий. При этом наиболее подвижные представители указанных классов обладают и более высокой активностью цитохромоксидазы.

Интересно, что в филогенетическом ряду позвоночных обнаруживаются объекты, цитохромоксидаза мозга которых представлена белками, по-разному реагирующими на температурное воздействие и содержание кислорода в среде [49]. Эти факты указывают на существование цитохромоксидазы разного качества.

При измерении активности цитохромной системы мозга некоторых водных холоднокровных без введения цитохрома *С* были получены очень низкие величины потребления кислорода, в то время как активность непосредственно цитохромоксидазы оказалась у животных отчетливо выраженной. Это несоответ-

ствие между данными по цитохромоксидазе и цитохромной системе исчезает в сериях на амфибиях [49]. У рептилий и особенно у теплокровных животных уровень активности цитохромной системы в целом уже явно выше, чем цитохромоксидазы. Высказано предположение, что у некоторых классов животных, в частности у рыб, в мозгу нет сформированной цитохромной системы и цитохромоксидаза образует комплекс не с цитохромами, а с какими-то другими веществами, которые, возможно, следует рассматривать как прототипы цепи дыхательных ферментов, обеспечивающих высокую энергетическую эффективность аэробного окисления у высших млекопитающих.

Известны животные [514], имеющие активную цитохромоксидазу и не обладающие цитохромами, которые свойственны высшим позвоночным. По данным [301], в некоторых отделах мозга кошки дыхание не ингибируется цианидом, и следовательно, в метаболизме ткани функционирует цианрезистентное дыхание, в котором не участвуют цитохромы, и в первую очередь, цитохромоксидазы. Эти в какой-то мере рудиментарные механизмы аэробного окисления, не связанные с цитохромоксидазой, возможно, имеют приспособительное значение в условиях, когда дыхательные высокоэффективные ферменты митохондрий, содержащие легко окисляющееся и восстанавливающееся железо, подвергаются инактивации.

По-видимому, именно такую приспособительную роль играют цианрезистентные пути дыхания при облучении животных. Известно, что существует обратная корреляция между чувствительностью некоторых организмов к цианидам и их радиорезистентностью [167, 14]. При γ-радиации в первую очередь повреждаются системы переноса электронов на уровне цитохромов [174, 173], и животные, способные окислять энергетические субстраты в обход этих высокоэффективных, но и высокочувствительных к повреждениям ферментов, оказываются более выносливыми в условиях облучения.

Активность цитохромоксидазы при охлаждении животных, как, правило, резко увеличивается [479—482]: в гомогенатах скелетных мышц белых крыс при 33-дневной акклимации к температуре +5 °С — на 31 %, в гомогенатах почек — на 17%.

Аналогичные результаты получены на разных органах белых крыс при 10-дневной акклимации к температуре +6 °С. При определении активности цитохромоксидазы в жабрах золотых рыбок, акклиматизированных к температуре +10 °С, обнаружено увеличение на 25—60 % [507, 399].

На достоверное увеличение активности цитохромоксидазы и концентрации цитохрома *С* при акклимации к низким температурам указывают и другие авторы [506, 434, 411]. Некоторые исследователи подчеркивают, что на характер и степень изменения активности терминальных дыхательных ферментов накладывают отпечаток экологические особенности животных. Так,

Таблица 15

Активность цитохромоксидазы в гомогенатах сердечной мышцы экономок и узкочерепных полевок в условиях нормы и экстремального охлаждения (20-е поколение, декабрь 1873 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Подвид $\widehat{x}_1$	Вид $\widehat{x}_2$	Температура 20-минутного воздействия, °C $\widehat{x}_3$
Верхний (+)	Южный	*M. oeconomus*	+18
Нижний (—)	Северный	*M. gregalis*	—15

Кодированные независимые переменные				Активность фермента, мкмоль НАД/г сырой массы ткани в 1 мин·10^3				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	2,70	3,02	3,21	7,98	2,98
2	+	—	—	3,53	3,43	3,85	3,60	3,62
3	—	+	—	2,73	2,44	2,89	2,69	2,98
4	+	+	—	3,56	4,40	3,85	3,94	3,62
5	—	—	+	3,08	3,21	2,18	2,82	2,98
6	+	—	+	3,02	3,31	3,66	3,33	3,62
7	—	+	+	3,43	2,76	4,04	3,41	2,98
8	+	+	+	3,63	3,31	3,85	3,60	3,62

Примечание. Статистические показатели: b_0=3,30; b_1=0,32; b_2=0,11; b_3=0,006; b_{12}=0,04; b_{13}= —0,15; b_{23}=0,10; b_{123}= —0,12; s^2y=0,16; $t_{0,95}sb_2$=0,17.

снегири, хорошо приспособленные к охлаждению, в условиях низких температур обладают высокой дыхательной активностью и сохраняют стабильный уровень цитохрома *C* в широком диапазоне температур [411]. У голубей и воробьев, обитающих в южных областях вблизи человеческого жилья и способных использовать в зимнее время разного рода укрытия, при акклимации к низким температурам резко увеличивается содержание миоглобина и цитохрома *C* в грудной мышце. Наблюдаемые у птиц особенности тканевых метаболических реакций, включая изменения активности цитохромоксидазы, Л. А. Исаакян [109] рассматривает как результат индивидуальной и наследственно видовой термической адаптации.

В наших опытах активность цитохромоксидазы определяли в гомогенатах сердечной мышцы экономок, узкочерепных полевок и полевок Миддендорфа при общем 20-минутном охлаждении животных в условиях —15 °C и при экстремальном охлаждении после предварительной 9-дневной акклимации к температуре 0—+3 °C. Опыты ставили по плану ПФЭ типа 2^3 и 2^2. Исследовали животных 20-го поколения, полученных в виварных условиях.

Таблица 16

Активность цитохромоксидазы в гомогенатах сердечной мышцы экономок и узкочерепных полевок в условиях нормы и экстремального охлаждения после 9-дневной акклимации к температуре 0— +3 °С (20-е поколение, декабрь 1973 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Подвид $\widetilde{x_1}$	Вид $\widetilde{x_2}$	Температура 20-минутного воздействия после акклимации, °С $\widetilde{x_3}$
Верхний (+)	Южный	*M. oeconomus*	+18
Нижний (—)	Северный	*M. gregalis*	—15

Кодированные независимые переменные				Активность фермента, мкмоль НАД/г сырой массы ткани в 1 мин·10^3				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	3,63	3,40	3,02	3,35	3,33
2	+	—	—	4,40	3,79	3,66	3,95	3,73
3	—	+	—	2,66	3,29	4,04	3,50	3,77
4	+	+	—	3,40	5,01	4,11	4,17	4,13
5	—	—	+	3,21	3,15	2,50	2,95	2,93
6	+	—	—	3,05	3,47	2,76	3,09	3,37
7	—	+	+	3,11	4,04	3,34	3,50	3,33
8	+	+	+	4,01	3,79	3,40	3,73	3,73

Примечание. Статистические показатели: b_0=3,53; b_1=0,20; b_2=0,20; b_3= —0,21; b_{12}=0,02; b_{13}= —0,11; b_{23}=0,10; b_{123}=0,002; s^2x=0,26; $t_{0,95}sb_i$=0,0 2.

Группа полевок в первых двух сериях опытов (табл. 15, 16) была неодинаковой по подвидам и видам. Определяли активность цитохромоксидазы в гомогенатах сердечной мышцы (y) южных и северных популяций (x_1) экономок и узкочерепных полевок (x_2) при 20-минутном выдерживании их при температуре +18 и —15 °С (x_3) без предварительной акклимации и после нее. Группа полевок третьей серии опытов (табл. 17) была неоднородной по возрасту.

Определяли активность цитохромоксидазы в гомогенатах сердечной мышцы полевок Миддендорфа (y) 8- и 4-месячного возраста (x_1) после 20-минутного выдерживания их при температуре +18 и —15 °С (x_2).

Уравнения регрессии для акклиматизированных полевок

$$y = 5{,}53 + 0{,}2\,x_1 + 0{,}2\,x_2 - 0{,}2\,x_3, \quad t_{0,95}sb_i = 0{,}23;$$

для неакклиматизированных полевок

$$y = 330 + 0{,}32\,x_1, \quad t_{0,95}sb_i = 0{,}17.$$

Таблица 17

Активность цитохромоксидазы в гомогенатах сердечной мышцы полевок Миддендорфа в условиях нормы и экстремального охлаждения (2-е поколение, декабрь 1973 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные	
	Возраст животных, мес $\widetilde{x}_1$	Температура 20-минутного воздействия, °С $\widetilde{x}_2$
Верхний (+)	8	+18
Нижний (—)	4	—15

Кодированные независимые переменные			Активность фермента, мкмоль НАД/г сырой массы ткани в 1 мин · 10^3					
№ варианта	x_1	x_2	y_1	y_2	y_3	y_4	$\overline{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	1,70	—	—	—	1,70	1,54
2	+	—	1,57	1,32	1,70	—	1,53	1,54
3	—	+	1,30	—	—	—	1,38	1,54
4	+	+	1,61	1,67	1,35	1,61	1,56	1,54

Примечание. Статистические показатели: $b_0=1{,}54$; $b_1=0{,}002$; $b_2=0{,}07$; $b_{12}=-0{,}09$; $s^2y=0{,}026$; $t_{0,95}sb_i=0{,}15$; $s^2b_i=0{,}0032$; $s^2y=0{,}05$.

По расчетным данным этих серий опытов на экономках и узкочерепных полевках построены графики (рис. 10).

Регрессионный анализ данных показывает, что экономки и узкочерепные полевки 20-го поколения имеют примерно одинаковый уровень цитохромоксидазы, который составляет величину порядка 3—4 ед. Исследованные нами северные экономки и узкочерепные полевки имеют более низкий уровень цитохромоксидазной активности в сердечной мышце, чем южные ($b_1 > > t_{0,95}sb_i$). При действии низких температур цитохромоксидаза экономок и узкочерепных полевок активируется незначительно ($b_3 > t_{0,95}sb_i$).

Анализ результатов серии опытов, поставленных на полевках Миддендорфа, показывает (см. табл. 17), что у этой группы животных уровень активности цитохромоксидазы низкий (порядка 1,5 ед.), независимо от возраста. У 8- и 4-месячных полевок Миддендорфа в условиях 20-минутного охлаждения при температуре —15 °С активность цитохромоксидазы не повышается.

Таким образом, полевки Миддендорфа, взятые из модельной популяции (2-е поколение), имеют значительно менее активную сердечную цитохромоксидазу, чем исследованные пред-

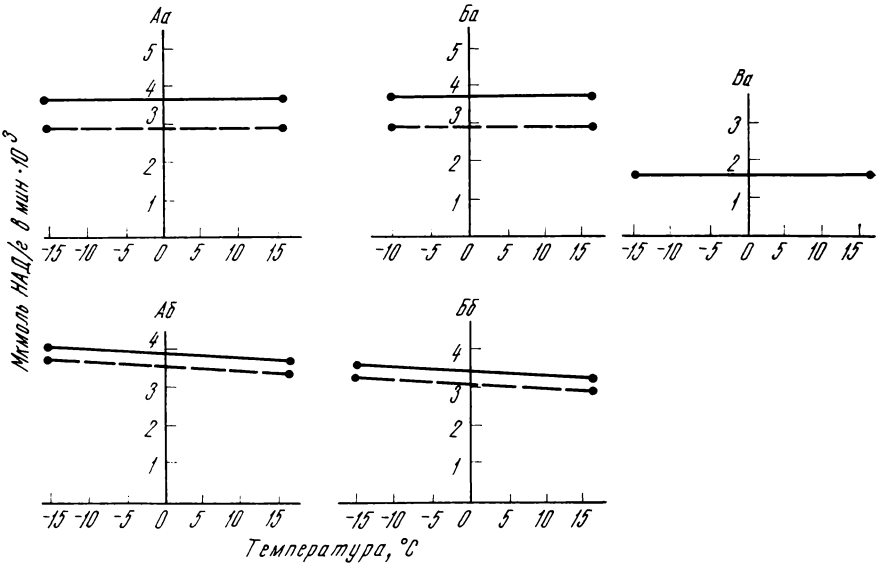


Рис. 10. Цитохромоксидазная активность в гиалоплазме сердечной мышцы экономок (*А*), узкочерепных полевок (*Б*) и полевок Миддендорфа (*В*) в условиях нормы и экстремального охлаждения без предварительной адаптации к температуре 0—+3 °С (*а*) и после нее (*б*).

Штриховая линия — северный подвид, *сплошная* — южный.

ставители типичных внутривидовых форм (20-е поколение), более близкую к цитохромоксидазе северных узкочерепных полевок (см. рис. 10) и устойчивую к температуре —15 °С.

2.3. СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЕ ПОЛЕВОК С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ СПЕЦИАЛИЗАЦИИ В УСЛОВИЯХ НОРМЫ И ЭКСТРЕМАЛЬНОГО ОХЛАЖДЕНИЯ

Сукцинатдегидрогеназа занимает особое положение в группе ферментов трикарбонового цикла. Она входит в состав одного из четырех комплексов дыхательных ферментов, который может быть выделен из мембранных структур митохондрий [469, 470] и представляет собой флавопротеид, способный окислять янтарную кислоту в фумаровую, восстанавливая при этом убихион. Сукцинатдегидрогеназа имеет сложную структуру и состоит из субъединиц [156]. У фермента, полученного из сердца быка, молекулярная масса приблизительно 175 тыс. Его молекула содержит один остаток ковалентно связанного флавинаденинди нуклеотида (ФАД), который отщепляется только при обработке фермента трипсином так же, как и его четыре атома

железа. Кроме того, сукцинатдегидрогеназа содержит четыре атома серы в неизвестной химической форме, которые в кислых условиях образуют H_2S. Представляется вероятным, что в сукцинатдегидрогеназной реакции атомы железа, входящие в состав фермента, изменяют свою валентность: $Fe(II) \rightarrow Fe(III)$. Поскольку сукцинатдегидрогеназа не содержит гемогрупп (которые имеются в цитохроме), входящее в ее состав железо называют негеминовым. Негеминовое железо и лабильные атомы серы локализуются в определенных субъединицах фермента, которые принято называть белками. Доказано, что сукцинатдегидрогеназа отщепляет атомы водорода метиленовых групп сукцината в трансположении. Включение янтарной кислоты в дыхательную цепь происходит на уровне флавопротеида, минуя никотинамидадениндинуклеотид.

Так как некоторые исследователи [640, 468, 383, 501 и др.] указывают на возможность функционирования в дыхательной цепи дополнительного пункта фосфорилирования, при окислении одного моля янтарной кислоты образуется две или три молекулы АТФ.

Соответственно, коэффициент Р/О, характеризующий эффективность окисления субстрата, для янтарной кислоты равен 2 или 3, в то время как для субстратов типа яблочной и изолимонной кислот, включающихся в дыхательную цепь на уровне НАД, он равен 3 или 4 [524, 422]. Эффективность сукцинатдегидрогеназы как фермента ниже в сравнении с малатдегидрогеназой и другими ферментами НАД-зависимых субстратов, но скорость окисления сукцината в 10 раз выше по сравнению с метаболитами, восстанавливающими пиридиндинуклеотид [405].

Во время окисления сукцината с помощью сукцинатдегидрогеназы в единицу времени эстерифицируется больше фосфата, так как путь, который проходят электроны в дыхательной цепи, намного короче, и вместе с увеличением скорости потребления кислорода резко возрастает скорость окислительного фосфорилирования [404, 127].

В условиях острого дефицита энергии (при гипоксии, физических нагрузках, охлаждении) в митохондриях, как правило, происходит накопление эндогенных запасов янтарной кислоты [129, 131, 563, 564]. Предполагается, что источником такого рода «подкачки», автоматически возникающей при накоплении восстановленных пиридиндинуклеотидов [129], могут быть компенсаторная активация гликолиза и окисление липидов [125, 133]. При этом создаются условия для мощного накопления энергии за счет резкого увеличения скорости окисления переключением дыхательного фосфорилирования с НАД-зависимых на НАД-независимые субстраты, и в первую очередь, на янтарную кислоту. Преимущественное окисление янтарной кислоты и увеличение активности сукцинатдегидрогеназы, которая обеспечивает это окисление, рассматриваются как адаптационно-компен-

саторные приспособления окислительного обмена к неблагоприятным условиям среды. В эволюционном отношении сукцинатдегидрогеназа, аналогично другим ферментам дыхательной цепи, является приобретением поздних этапов эволюции. Возможно, на ранних этапах янтарная кислота была конечным продуктом метаболизма. Существует предположение [125], что способность к окислению данного субстрата с помощью флавопротеидов и системы цитохромов, благодаря образованию таких специфических органелл, как митохондрии, позволила организмам сделать качественно новый скачок в процессе эволюции и «перейти» на новый уровень существования с несравненно более высоким окислительным и энергетическим обменом, совершить, как пишет М. Н. Кондрашева [129], биохимический ароморфоз.

В условиях низких температур активность сукцинатдегидрогеназы, по данным многих исследователей, увеличивается. Дж. Хеннон и его коллеги [479—482], изучая дыхание в гомогенатах скелетных мышц и печени белых крыс, выдержанных в течение 29—33 сут при температуре +5 °С, обнаружили, что активность сукцинатдегидрогеназы мышц возрастает на 45, печени — на 31 %.

Аналогичные результаты были получены в [616]. По данным [87], изменения активности сукцинатдегидрогеназы при акклимации животных к низким температурам в различных мышцах неоднозначны (в условиях длительного охлаждения наблюдается увеличение числа волокон с высокой активностью фермента главным образом в локомоторных мышцах).

Существуют факты, которые указывают на неоднозначность реакции по сукцинатдегидрогеназе мышц у животных разных видов. В то время как у лабораторных белых крыс при длительной акклимации к холоду активность сукцинатдегидрогеназы мышц увеличивается [479, 481], у золотистых хомячков аналогичные сдвиги отмечены только в митохондриях печени [409, 410, 583], а у обезьян саймири — только в митохондриях почек [412[.

В настоящем исследовании сукцинатдегидрогеназу определяли в гомогенатах скелетных мышц южных и северных подвидов экономки и узкочерепной полевки 7—10-го поколений в условиях нормы, экстремального охлаждения и акклимации к температуре 0—+3 °С. Одновременно изучали влияние экстремального охлаждения после 9-дневной акклимации к указанной температуре [238]. Поставлено две серии опытов по плану ПФЭ типа 2^3 [242].

В первой серии (на экономках) группа животных была неоднородной по принадлежности к подвиду. Исследовали активность сукцинатдегидрогеназы в гомогенатах мышц (y) экономок южной и северной популяции (x_1) в зависимости от температуры 9-дневной акклимации (x_2) и 20-минутного экстремального охлаждения (x_3, табл. 18).

Таблица 18

Активность сукцинатдегидрогеназы в гомогенатах скелетных мышц южных и северных экономок в условиях нормы и при экстремальном охлаждении без предварительной акклиматизации к холоду и после нее (7—10-е поколения, декабрь 1972 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Подвид $\widetilde{x_1}$	Температура в течение 9 дней до опыта, °C $\widetilde{x_2}$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °C $\widetilde{x_3}$
Верхний (+)	*M. o. oeconomus*	+18	+18
Нижний (—)	*M. o. chachlovi*	0	−15

Кодированные независимые переменные				е/г сырой массы ткани	
№ варианта	x_1	x_2	x_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	7,3	7,7
2	+	—	—	8,5	7,7
3	—	+	—	7,6	7,7
4	+	+	—	7,2	7,7
5	—	—	+	12,5	10,8
6	+	—	+	0,3	10,8
7	—	+	+	10,1	10,8
8	+	+	+	11,5	10,8

Примечание. Статистические показатели: $b_0=9{,}25$; $b_1=-0{,}12$; $b_2=-0{,}15$; $b_3=1{,}6$; $\widetilde{b}_{12}=0{,}4$; $b_{13}=-0{,}3$; $\widetilde{b}_{23}=-0{,}8$; $b_{23}=0{,}1$; $s^2y=8{,}21$; $s^2b_i=0{,}58$; $t_{0,95}sb_i=1{,}52$; Эксперимент по данному плану ставился трижды.

Во второй серии (на узкочерепных полевках) группа животных была неоднородной по полу и по принадлежности к подвиду. Исследовали активность сукцинатдегидрогеназы в гомогенатах скелетных мышц (y) самок и самцов (x_1) южных и северных (x_2) узкочерепных полевок после 20-минутного выдерживания при температуре +18 и —15 °C (x_3) (табл. 19).

Анализ данных показывает, что у экономок при охлаждении не ускоряется процесс окисления янтарной кислоты в скелетных мышцах. Уравнение регрессии имеет вид:

$$y = 9{,}25 + 11{,}6\,x_3,\ t_{0,95}sb_i = 1{,}52.$$

Из него следует, что активность сукцинатдегидрогеназы в гомогенатах скелетных мышц обоих подвидов экономки при охлаждении подавляется ($b_3>$ и $b_{13}<t_{0,95}sb_i$). Внутривидовая дифференциация по сукцинатдегидрогеназе у исследованного поколения экономок не обнаружена ($b_{13} < t_{0,95}sb_i$). При этом рек-

Таблица 19

Активность сукцинатдегидрогеназы в гомогенатах скелетных мышц южных и северных узкочерепных полевок в условиях нормы и экстремального охлаждения (7—10-е поколения, декабрь 1972 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Пол $\widetilde{x}_1$	Подвид $\widetilde{x}_2$	Температура 20-минутного воздействия, °С $\widetilde{x}_3$
Верхний (+)	Самка	*M. g. gregalis*	+18
Нижний (—)	Самец	*M. g. major*	—15

Кодированные независимые переменные				е/г сырой массы ткани	
№ варианта	x_1	x_2	x_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	9,4	9,1
2	+	—	—	9,4	9,1
3	—	+	—	12,2	12,2
4	+	+	—	16,6	12,2
5	—	—	+	11,2	12,2
6	+	—	+	9,3	12,2
7	—	+	+	9,2	9,1
8	+	+	+	8,6	9,1

Примечание. Статистические показатели: $b_0=10,7$; $b_1=0,24$; $b_2=0,91$ $b_3=-1,16$; $b_{12}=0,71$; $b_{13}=-0,86$; $b_{23}=-1,58$; $b_{123}=-0,39$; $s^2y=7,48$; $t_{0,95}sb_i=1,94$ Эксперимент по данному плану ставился трижды.

Таблица 20

Коэффициент Вант-Гоффа сукцинатдегидрогеназы печени серых полевок при экстремальном охлаждении животных и в условиях физиологической нормы

№ варианта	Объект обследования	Температура 20-минутного воздействия, °С	n	$\bar{x}\pm m$	Достоверность	
1	*M. gregalis major*	—15	10	2,79±0,118	$t_{1,2}=1,66$	$t_{2,3}=4,98$
2	*M. gregalis gregalis*	—15	10	3,10±1,132	$t_{1,4}=2,38$	$t_{3,4}=4,36$
3	*M. middendorfi*	—15	6	1,87±0,220	$t_{2,5}=0,04$	$t_{3,5}=3,74$
4	*M. gregalis major*	18	8	3,44±0,231	$t_{1,3}=3,96$	—
5	*M. gregalis gregalis*	18	8	3,11±0,207	$t_{4,5}=1,01$	—

тальная температура у охлажденных экономок снижается на +9 °С. Южные и северные узкочерепные полевки, как видно из табл. 19, независимо от пола реагируют на экстремальное охлаждение по-разному ($b_{13}, b_{123} < t_{0,95}sb_i$, $b_{23} > t_{0,95}sb_i$). Уравнение регрессии имеет вид:

$$y = 10{,}7 - 1{,}58\,x_2x_3,\ t_{0,95}sb_i = 1{,}49.$$

Из него следует, что в гомогенатах мышц южных охлажденных узкочерепных полевок наблюдается повышение активности сукцинатдегидрогеназы, в гомогенатах северных подвидов — понижение, хотя оба подвида адаптируются к температуре —15 °С одинаково (снижают ректальную температуру на +4 °С).

Таким образом, в наших опытах экономки 7—10-го поколений оказались неспособными к быстрой мобилизации такого адаптационного механизма, как переключение дыхания на сукцинат (активации сукцинатдегидрогеназы в скелетных мышцах охлажденных экономок 7—10-го поколений нами не обнаружено).

Узкочерепная полевка в большей степени приспособлена к низким температурам и более лабильна к переключению на высокоэффективные энергетические субстраты. Южные узкочерепные полевки реагируют на то же температурное воздействие повышением активности сукцинатдегидрогеназы. Вероятно, механизмы адаптации к охлаждению у северного подвида этих животных не связаны с активацией окисления янтарной кислоты. Обладая большей устойчивостью к охлаждению в сравнении с полевкой-экономкой, северная узкочерепная полевка в наших опытах снижает активность сукцинатдегидрогеназы. В процессе адаптации к различным факторам внешней среды существенную роль играют изменения в кинетических параметрах ферментных систем. Преимущество сукцинатдегидрогеназы перед другими ферментами, в частности перед теми, которые обеспечивают окисление НАД-зависимых субстратов, связано с большими — 10—100-кратными — различиями в величине константы Михаэлиса [405].

Благодаря большому сродству сукцинатдегидрогеназы и НАД в присутствии янтарной кислоты в тканях образуется значительное количество восстановленного пиридиндинуклеотида (НАДН), который необходим для трансгидрогеназных и биосинтетических реакций и препятствует окислению НАД-зависимых субстратов, так как наличие больших количеств НАДН означает резкое снижение в содержании окислительной формы пиридиндинуклеотидов (НАД).

Таким образом, низкая величина константы Михаэлиса (K) для сукцинатдегидрогеназы обеспечивает легкое вхождение янтарной кислоты в дыхательную цепь, переключение дыхания с НАД-зависимых субстратов на янтарную кислоту, способную

накапливать макроэрги с большей скоростью. Этому же способствует и существенная разница между сукцинатдегидрогеназой и дегидрогеназами других субстратов по времени жизни фермент-субстратного комплекса [60]. Оно очень мало для сукцинатдегидрогеназы и велико для других дегидрогеназ. Поэтому активность сукцинатдегидрогеназы в меньшей степени зависит от концентрации своего субстрата, в связи с чем скорость окисления янтарной кислоты значительно выше, чем у других органических кислот.

Одним из существенных кинетических параметров, кроме K, с которой связаны преимущества сукцинатдегидрогеназы как фермента, обеспечивающего переключение обмена на более эффективные пути, является степень влияния данного биокатализатора на энергию активации янтарной кислоты (количество калорий, необходимое для перевода всех молекул одного моля сукцината в активированное состояние). Ферменты ускоряют химические реакции, понижая свободную энергию активации. Связывание реагирующих веществ с катализатором приводит к появлению нового переходного состояния, которое характеризуется меньшей свободной энергией активации по сравнению с переходным состоянием некатализируемой реакции. Образование продуктов реакции сопровождается регенерацией свободного катализатора [156].

По данным [313], 5-недельная акклимация белых крыс к холоду вызывает не только усиление скорости окисления сукцината в митохондриях скелетных мышц животных, но и явные изменения кинетических параметров сукцинатдегидрогеназы. Указывается на существенное повышение сродства исследованного сукцинатдегидрогеназного комплекса и субстрата (снижение K) и явное уменьшение его энергии активации. При исследовании влияния 5-недельной акклимации к холоду на зависимость скорости сукцинатоксидазной реакции в мышечных митохондриях белых крыс от температуры обнаруживается явное снижение энергии активации. Полученные результаты рассматриваются исследователем как свидетельство значительных конформационных перестроек в звене сукцинатдегидрогеназы, связанных с селективной активацией или дифференциальным синтезом форм фермента, обладающих повышенной каталической активностью [313].

В наших опытах определялся коэффициент Вант-Гоффа — изменение активности фермента при повышении температуры на +10 °С [245, 100]. Данный показатель косвенно характеризует энергию активации фермента. Коэффициент Вант-Гоффа определяли для сукцинатдегидрогеназы гомогенатов печени узкочерепных полевок и полевок Миддендорфа в условиях нормы и после 20-минутного выдерживания животных при температуре —15 °С (табл. 20).

Для сукцинатдегидрогеназы печени южных и северных узко-

черепных полевок характерен один порядок коэффициента Вант-Гоффа (3,4—3,1). В исследованных условиях охлаждения (—15 °С) происходит внутривидовая дифференциация этого показателя. Южная узкочерепная полевка не реагирует на охлаждение изменениями энергии активации сукцинатдегидрогеназы печени, в то время как в гомогенатах северного подвида после 20-минутного выдерживания полевки при температуре —15 °С коэффициент Вант-Гоффа достоверно снижается (с 3,4 до 2,79), приближаясь к уровню соответствующего коэффициента для сукцинатдегидрогеназы печени полевки Миддендорфа.

При сравнительном анализе величин коэффициента Вант-Гоффа у узкочерепных полевок и полевок Миддендорфа обнаруживается, таким образом, явное сближение между северным подвидом исследованного широко распространенного таксона и субарктическим видом (см. табл. 20).

Способность к эффективному приобретению макроэргов за счет усиления окисления субстрата, для которого характерен более короткий путь электронов в дыхательной цепи (янтарной кислоты) у полевки Миддендорфа связана с тем, что сукцинатдегидрогеназа ее печени резко понижает количество энергии, необходимое для вовлечения сукцината в реакцию окисления.

Сукцинатдегидрогеназа печени узкочерепной полевки в этом смысле значительно слабее, но внутри исследованного нами широко распространенного таксона есть зачатки этой полезной приспособительной реакции, ярко выраженной у субаркта. При охлаждении в печени северной узкочерепной полевки, вероятно, происходят структурные конформационные изменения в молекулах сукцинатдегидрогеназы, которая приобретает, аналогично субаркту, способность (хотя и менее ярко выраженную) получать энергию более эффективным способом за счет усиления окисления сукцината, благодаря незначительному, но явному снижению энергии активации данного фермента.

2.4. ИНТЕНСИВНОСТЬ АЭРОБНОГО И АНАЭРОБНОГО ГЛИКОЛИЗА ПРИ АДАПТАЦИИ К НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ НА ВИДОВОМ И ВНУТРИВИДОВОМ УРОВНЯХ

Процесс анаэробного окисления глюкозы до молочной кислоты известен как процесс гликолиза. Последовательные реакции гликолиза катализируются группой из одиннадцати ферментов, бо́льшая часть которых получена в кристаллическом виде и тщательно изучена. Для процесса гликолиза (рис. 11) характерны две основные стадии. На первой глюкоза фосфорилируется и расщепляется с образованием трехуглеродного соединения — глицеральдегид-3-фосфата. На второй стадии глицеральдегид-3-фосфат превращается в лактат. Первая стадия гликолиза обычно рассматривается как подготовительный этап, на кото-

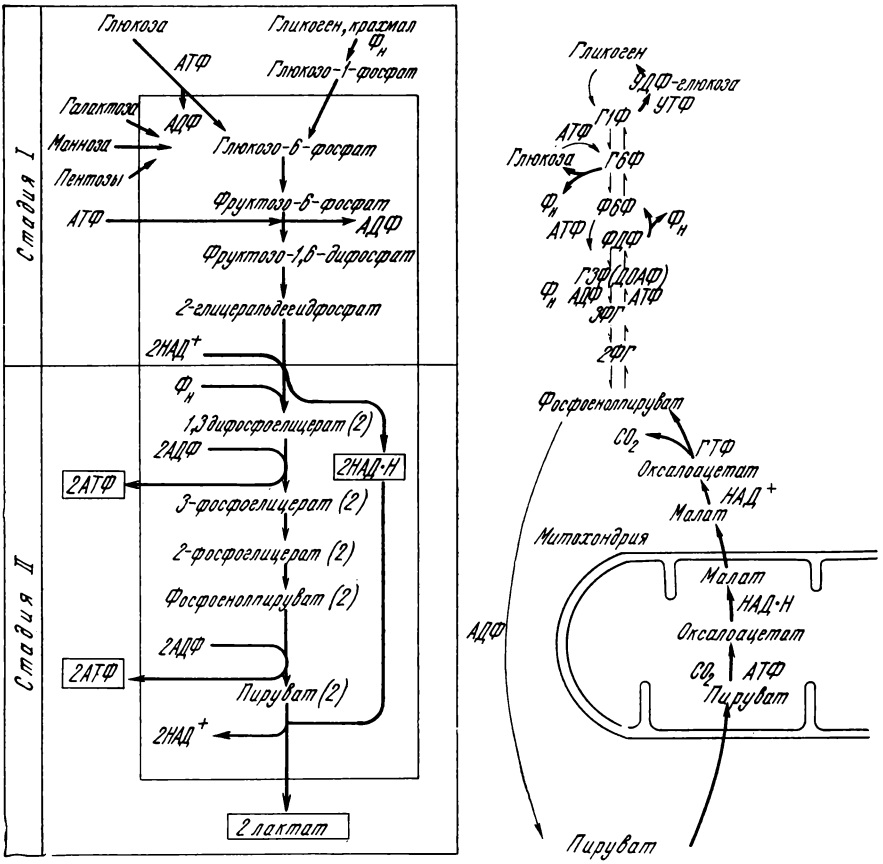


Рис. 11. Две стадии гликолиза (по [156]).

I — накопление простых сахаров и их превращение в глицеральдегидфосфат; расходование АТФ; *II* — окисление — восстановление и сопутствующее образование АТФ; образование лактата.

Рис. 12. Биосинтез глюкозы и гликогена из пирувата, включающий «обходные реакции» [156].

ром различные гексозы вовлекаются в гликолиз, фосфорилируясь за счет АТФ и образуя общий продукт — глицеральдегид-3-фосфат.

Вторая стадия включает окислительно-восстановительные реакции и механизмы накопления энергии, в ходе которых АДФ фосфорилируется в АТФ. Источником макроэргических связей в процессе гликолиза являются две реакции: окисление глицеральдегид-3-фосфата до 1,3-дифосфоглицериновой кислоты и дегидратация 2-фосфоглицерата с образованием фосфоэнолпирувата.

В эволюционном отношении гликолиз — одно из самых ранних приобретений, которое обеспечило существование организма в анаэробных условиях. Это простейшая форма биологического механизма, с помощью которого клетка оказывается способной получать химическую энергию из глюкозы в отсутствие молекулярного кислорода.

Существующие другие типы анаэробного расщепления данного субстрата (формы брожения) рассматриваются большинством исследователей как варианты основного пути — гликолиза.

В процессе эволюции анаэробное окисление глюкозы у факультативных микробов, дрожжей, мицелиальных грибов и почти всех высших животных и растений превратилось в обязательную первую стадию, за которой следует аэробная фаза — дыхание. В анаэробных условиях пировиноградная кислота восстанавливается до молочной кислоты за счет НАДН, появившегося на окислительном этапе гликолиза. НАДН при этом окисляется до НАД, который вновь может быть использован при окислении глицеральдегид-3-фосфата. В аэробных условиях пировиноградная кислота, образующаяся как конечный продукт гликолиза, подвергается полному окислению до CO_2 и воды в ходе реакции трикарбонового цикла и окислительного фосфорилирования.

При этом получающийся в процессе гликолиза восстановленный пиридиндинуклеотид (НАДН) также может иметь доступ к митохондриям клетки и, окислившись с помощью системы дыхательных ферментов, превратиться в источник макроэргических молекул АТФ.

Наглядной иллюстрацией возрастающей роли второй, аэробной, стадии окисления в процессе эволюции клетки являются данные Н. А. Вержбинской [49], которая изучила соотношение активности гликолиза и дыхания в мозгу животных с разной степенью сложности организации. Как оказалось, анаэробный гликолиз и дыхание мозга позвоночных претерпевают в эволюции изменения противоположной направленности. У низших позвоночных гликолиз в энергетическом обмене мозга составляет высокий процент (у некоторых амфибий за счет гликолиза вырабатывается больше энергии, чем в процессе аэробного окисления). У рептилий наблюдается явное преобладание анаэробной окислительной энергии. Высокого уровня достигает интенсивность дыхания мозга у птиц, и явное, очень резкое преобладание аэробного окисления над гликолизом отмечено в мозгу млекопитающих.

С появлением значительно более эффективного механизма приобретения энергии в виде дыхательного фосфорилирования в процессе эволюции возникли и новые способы реализации энергетической функции гликолиза.

Гликолитическое, анаэробное расщепление глюкозы усиливается, когда возникает дефицит в энергии. При напряженной

работе клеток гликолиз резко возрастает [256, 266] и продуцирование АТФ за счет него становится приблизительно таким же, как и за счет дыхания. Но дополнительная энергия в условиях ее дефицита образуется в клетке и в результате поступления в митохондрии добавочных количеств сукцината, который накапливается благодаря активному вовлечению в трикарбоновый цикл гликолитической пировиноградной кислоты [197, 226, 126, 129]. Дополнительную энергию клетка получает за счет окисления в дыхательной цепи восстановленного в процессе гликолиза цитоплазматического пиридиннуклеотида, который в результате функционирования глицерофосфатного челночного механизма, вступая в реакцию с диоксиацетонфосфатом, восстанавливает его в глицероль-3-фосфат. Последний легко проникает через митохондриальную мембрану и с помощью глицерофосфатдегидрогеназы передает водород и электроны флавопротеиду. Данный акцептор вводит приобретенные им электроны в дыхательную цепь на уровне *KQ* и через систему цитохромов передает их на молекулярный кислород воздуха.

Гликолиз — источник предшественников для биосинтетических реакций и, следовательно, играет существенную роль в пластическом обмене клетки. Четырехуглеродистый скелет янтарной кислоты, который образуется и путем «инверсии» цикла Кребса в условиях накопления больших количеств CO_2, НАДН и пирувата, лежит в основе синтеза аспарагиновой кислоты, лизина, гомосерина, метионина, треонина, а также пиримидинов, пуринов и порфинов [129].

Большинство стадий хорошо изученного биосинтеза глюкозы и гликогена из пирувата также осуществляются с помощью гликолитических ферментных систем [517] и представляют собой обращение реакций, которые реализуются в процессе гликолиза (рис. 12). Правда, способность к образованию глюкозы из пирувата в результате обращения гликолитического процесса сравнительно ограничена и известна для некоторых растений, а также клеток печени, почек и тонкого кишечника позвоночных. Образование крахмала и гликогена из конечных продуктов гликолиза считается универсальным. Инверсия гликолиза с синтезом гликогена и крахмала определяется потребностями обмена и ресурсами питания.

Функционирование гликолиза как первой анаэробной стадии окисления глюкозы и гликогена локализовано в гиалоплазме и находится под контролем процессов, происходящих в митохондриях и связанных с окислительным фосфорилированием. Накопление лактата резко подавляется в аэробных условиях (эффект Пастера). Гликолиз, в свою очередь, способен к подавлению дыхания (эффект Крэбтри, или антипастеровская реакция).

Эффекты Пастера и Крэбтри — проявление функционирования в организме регуляторного механизма, который обеспечивает взаимоконтроль и взаимовлияние между двумя основными

звеньями энергетического обмена — гликолизом и дыханием. В анаэробных условиях при окислении глюкозы образуются две молекулы АТФ, при аэробном — 38. Клетка, попадая в анаэробные условия, резко увеличивает потребление глюкозы, так как для удовлетворения своих энергетических потребностей гликолитическим путем она вынуждена окислять в 19 раз больше субстрата, чем в присутствии молекулярного кислорода.

Аэробные условия делают излишним высокий уровень гликолиза. У клетки появляется возможность за счет эффективного окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи приобретать энергию, используя меньшие количества глюкозы. Начинают действовать механизмы регуляции, изменяющие скорость двух основных энергетических процессов в клетке. Происходит затормаживание образования лактата и сбраживания глюкозы. Одновременно активируются процессы окислительного фосфорилирования, накопление АТФ за счет транспорта электронов в дыхательной цепи.

Со времени открытия эффекта Пастера опубликовано много работ, в которых разными авторами высказываются гипотезы о биологическом механизме саморегуляции дыхания и гликолиза [397]. Ранние теории, основанные исключительно на влиянии кислорода, были быстро отвергнуты после обнаружения веществ (динитрофенол и др.), способных подавлять эффект Пастера, одновременно активируя дыхание. В. А. Энгельгардтом [351—353] и другими исследователями [375, 516, 462, 590, 408, 373 и др.] установлено, что в регуляции гликолиза и дыхания имеют значение фосфорилированные продукты промежуточного обмена. В настоящее время известно, что накопление АТФ и цитрата, а также глюкозо-6-фосфата вызывает ингибирование фосфофруктокиназы и гексокиназы, которые катализируют реакции, лимитирующие скорость гликолиза. Доказано, что механизмы подавления анаэробного окисления глюкозы дыханием связаны с конкуренцией из-за АДФ между митохондриями и теми ферментами гликолиза, которые требуют АДФ (фосфоглицераткиназой и пируваткиназой). Гликолитические ферменты обладают менее сильным сродством с акцептором фосфата и в условиях низких концентраций АДФ становятся причиной снижения скорости гликолитического процесса. Кроме того, эффект Пастера связан с вовлечением цитоплазматического (т. е. гликолитического) НАДН в дыхательную цепь, в результате чего пируват не восстанавливается до лактата, а окисляется аэробным путем до углекислоты и воды.

Длительное время появление в процессе эксперимента аэробного гликолиза в клетках, особенно в биологических препаратах, исследователи рассматривали как патологию, нарушение регуляторных механизмов метаболической клетки [637, 559].

Сейчас известен ряд тканей, помимо раковой, в том числе микробов и специализированных клеток макроорганизма, где

интенсивное накопление лактата в присутствии кислорода воздуха не является патологией, так как характерно для нормально функционирующих здоровых тканей. Так, в мозгу и в хрусталике глаза идет интенсивный аэробный гликолиз [460, 421]. Он же обнаружен в мозговом веществе почки [477, 437]. Для данной ткани характерна хорошо выраженная антипастеровская реакция [591]. Аэробный гликолиз происходит в слизистой тонкого кишечника [437, 438, 33], слизистой желудка [198], сетчатке глаза различных животных [638], хрящевой ткани [593, 591], роговице [523], сперматозоидах [102], лейкоцитах различного происхождения [271]. Высоким аэробным гликолизом отличаются регенерирующая мышечная ткань, подвергающиеся инволюции семенники и т. д.

В. И. Агол [2] пишет, что следует помнить об условности термина «повреждение» при применении его к окислительным процессам в раковой ткани. Несмотря на «поврежденное» дыхание, опухолевая клетка обладает большой жизнеспособностью и обычно выходит победителем из борьбы с клетками, обладающими «нормальным» дыханием. Вероятно, в этой большой жизнеспособности раковых тканей играет определенную роль и высокий уровень гликолитического окисления. Известно, что в лейкоцитах, которые имеют также высокий уровень аэробного гликолиза, количество гликогена в аэробных и анаэробных условиях одинаково [165], что указывает на эффективность гликолитического процесса, в том числе и аэробного, не только в энергетическом, но и в пластическом отношении. Установлена ведущая роль аэробного и анаэробного гликолиза в осуществлении лейкоцитами фагоцитарной функции [168]. Аэробный гликолиз при воспалении, когда снабжение тканей кислородом резко ухудшено, не только служит источником энергии и субстратов для синтеза гликогена, но и за счет накопления лактата обладает высокой бактерицидностью, создает неблагоприятные условия для патогенных микробов [95]. Известно, что регенерирующая костная ткань резистентна к γ-облучению. В [14] приведены результаты, доказывающие повышение радиорезистентности животных, нечувствительных или малочувствительных к цианидам.

Если принять во внимание, что регенерация тканей сопровождается усилением анаэробных процессов обмена, вероятно, и аэробного гликолиза, а введение цианидов резко повышает скорость гликолитического окисления [271], можно предположить, что гликолиз играет положительную роль в адаптации к действию ионизирующего облучения.

Известно большое количество экспериментальных работ, где отчетливо показано, что ряд других экологических факторов, вызывающих дефицит энергии в организме, также индуцирует повышение гликолиза как мощного приспособительного механизма, обеспечивающего ткань дополнительным количеством макроэргических фосфорных соединений.

При гипоксии мозга, миокарда и других органов обнаружены признаки активации гликолиза и его относительное преобладание над дыханием, что проявляется в увеличении концентрации пирувата, лактата, отношения лактат/пируват, в падении концентрации гликогена [85, 73, 70, 21, 18, 274—276].

Изменение поведенческой реакции на экологические воздействия, в частности адаптация к физическим нагрузкам, вызывает одновременную интенсификацию аэробного гликолиза и дыхания. Эти сдвиги обнаружены в условиях активной деятельности скелетных мышц [226], мозга [63], симпатического ганглия [498], при гиперфункции сердца [181].

Установлено [536], что в условиях субмаксимальной физической нагрузки — при беге со скоростью 18 км/ч вверх по наклонной плоскости под углом 15° концентрация лактата в крови здоровых людей, оставаясь на уровне нормы в течение первых 10 с, начинает расти, достигая через 35—40 с 50—60 мг %, и бег становится невозможным. Исследователи пишут, что 25 с отдыха, следующие за 10-секундной максимальной нагрузкой,— то минимальное время, которое необходимо для восстановления алактатного энергетического резерва. В первые 10 с мышца работает за счет расходования имеющихся запасов макроэрга (которые составляют восемь молекул АТФ, что эквивалентно 100 ккал). Через 10 с в условиях указанной нагрузки в ответ на снижение количества АТФ до определенного критического уровня происходят мобилизация гликолиза, накопление лактата в крови. Для его удаления при максимальной нагрузке организм расходует в течение 25 с дополнительное количество кислорода (20 мл на 1 кг массы тела).

Таким образом, при физических нагрузках, в первую очередь при активации работы мышц (скелетных или миокарда), интенсификация аэробного гликолиза протекает на фоне резкого увеличения дыхания. Гликолиз становится весьма полезным механизмом, когда возникает острая потребность в быстром получении максимума энергии (у тренированных спортсменов). Активация аэробного гликолиза в таких ситуациях, аналогично фагоцитирующему лейкоциту, раковой клетке и любой аэробно функционирующей ткани, может, по-видимому, играть существенную роль в адаптации, когда организм не в состоянии в короткий промежуток времени обеспечить высокоэффективную дыхательную цепь резко повышенными порциями кислорода. В этих случаях и малоэффективный гликолиз становится, благодаря временной мощной активации, решающим звеном в приспособлении к большим физическим нагрузкам.

В условиях холодовой адаптации значительно повышается активность гликолиза и дыхания. В [81] показано, что в печени и мышцах крыс во время 30-дневной акклимации при температуре 5 °С происходит существенное адаптивное увеличение активности ряда гликолитических ферментов (глюкокиназы, глю-

Таблица 21

Интенсивность аэробного и анаэробного гликолиза в гиалоплазме мышц южных и северных подвидов экономки в условиях нормы и экстремального охлаждения без предварительной акклимации к холоду и после нее (5—6-е поколения, декабрь 1971 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Подвид $\widetilde{x_1}$	Температура 9-дневного выдерживания до опыта, °С $\widetilde{x_2}$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widetilde{x_3}$
Верхний (+)	*M. o. oeconomus*	15	+15
Нижний (—)	*M. o. chachlovi*	3	—18

Кодированные независимые переменные				Накопление лактата за 1 ч инкубации при 28°С, мг/100 г сырой массы ткани, в атмосфере								$\frac{Q_{\text{аргон}}}{Q_{\text{лактат}}} / \frac{Q_{\text{воздух}}}{Q_{\text{лактат}}}$				
				аргона				воздуха								
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	1,41	2,92	0,78	1,70	1,79	1,81	0,75	1,45	0,78	3,60	1,04	1,80	1,81
2	+	—	—	1,47	1,37	—	1,42	0,21	0,22	—	0,21	7,00	6,22	—	6,61	6,61
3	—	+	—	0,77	1,30	—	1,03	1,85	2,21	—	2,03	0,41	0,58	—	0,50	0,49
4	+	+	—	0,90	0,48	—	0,69	0,32	1,94	—	1,13	2,81	1,24	—	1,52	1,53
5	—	—	+	0,96	0,79	—	0,87	1,66	1,18	0,59	1,14	0,57	0,66	—	0,61	0,63
6	+	—	+	0,48	1,22	—	0,85	2,12	1,87	—	1,99	0,22	0,652	—	0,43	0,43
7	—	+	+	0,74	0,36	0,49	0,53	0,84	1,04	—	1,26	0,88	0,14	0,34	0,45	0,47
8	+	+	+	1,14	1,28	—	1,21	1,63	2,82	—	2,22	0,67	0,44	—	0,57	0,59

Примечание. Статистические показатели: b_0=1,04; b_1=0,005; b_2=—0,17; b_{12}=0,08; b_3=—0,17; b_{13}=0,18; b_{23}=0,18; b_{123}=0,10; s^2y=0,30; $s^2\bar{y}$=0,15; s^2b_i=0,02; sb_i=0,31 (аргон).

b_0=1,39; b_1=—0,04; b_2=0,19; b_{12}=0,05; b_3=0,18; b_{13}=0,49; b_{23}=—0,18; b_{123}=—0,03; s^2y=0,31; $s^2\bar{y}$=0,15; s^2b_i=0,02; $t_{0,95}sb_i$=0,31 (воздух).

b_0=1,57; b_1=0,72; b_2=—0,80; b_{12}=—0,43; b_3=—1,04; b_{13}=—0,74; b_{23}=0,80; b_{123}=0,51; s^2y=0,80; $s^2\bar{y}$=0,49; s^2b_i=0,05; $t_{0,95}sb_i$=0,49 $\left(\frac{Q_{\text{аргон}}}{Q_{\text{лактат}}} / \frac{Q_{\text{воздух}}}{Q_{\text{лактат}}}\right)$

Таблица 22

Интенсивность аэробного и анаэробного гликолиза в гиалоплазме скелетных мышц южных и северных подвидов экономок в условиях нормы и экстремального охлаждения без предварительной акклимации к холоду и после нее (7—10-е поколения, декабрь 1972 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Подвид $\widetilde{x}_1$	Температура 9-дневного выдерживания до опыта, °С $\widetilde{x}_2$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widetilde{x}_3$
Верхний (+)	*M. o. oeconomus*	+15	+18
Нижний (—)	*M. o. chachlovi*	0— +3	—15

Кодированные независимые переменные				Накопление лактата за 1 ч инкубации при 28°С, мг/100 г сырой массы ткани, в атмосфере									
				аргона					воздуха				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	2,09	2,72	—	2,40	2,17	2,59	1,12	—	1,85	1,31
2	+	—	—	1,27	1,99	1,11	1,45	1,53	0,82	—	—	0,82	1,31
3	—	+	—	—	0,27	3,34	1,80	2,17	0,63	0,51	—	0,57	0,39
4	+	+	—	—	1,96	1,44	1,70	1,53	0,14	0,62	0,04	0,27	0,39
5	—	—	+	—	0,18	0,91	0,54	0,81	0,65	0,73	—	0,69	0,85
6	+	—	+	2,03	1,59	1,94	1,85	1,45	0,83	0,92	1,12	0,97	0,85
7	—	+	+	1,13	0,58	1,21	0,97	0,81	1,51	0,49	—	1,00	0,85
8	+	+	+	0,79	1,68	0,97	1,10	1,45	0,60	0,13	1,25	0,66	0,85

Примечание. Статистические показатели: b_0=1,49; b_1=0,05; b_2=—0,08; b_{12}=—0,04; b_3=—0,36; b_{13}=0,32; b_{23}=001; b_{123}=—0,25; s^2y=0,54; $s^2\bar{y}$=0,27; s^2b_i=0,03; $t_{0,95}sb_i$=0,40 (аргон).

b_0=0,85; b_1=—0,17; b_2=—0,23; b_{12}=0,01; b_3=—0,02; b_{13}=0,16; b_{23}=0,23; b_{123}=—0,16; s^2y=0,24; $s^2\bar{y}$=0,12; s^2b_i=0,01; $t_{0,95}sb_i$=0,28 (воздух).

козо-6-фосфатазы) и скорости накопления пирувата и 3-фосфоглицерата.

Усиление гликолитического окисления в тканях при хроническом воздействии холода описано в [434, 554].

В [190] представлены результаты определения интенсивности накопления лактата и убыли фруктозо-6-дифосфата в гомогенатах и гиалоплазме скелетных мышц голубей в условиях их общего экстремального охлаждения и отогревания. Было установлено, что при холодовой адаптации лимитирующим звеном гликолитического окисления в скелетной мускулатуре является участок гликолитической цепи от фруктозо-6-дифосфата до 3-фосфоглицерата или лактата (в целом, как считает автор, активация гликолиза в исследованных условиях зависит от ускорения фосфоглицеринальдегид-дегидрогеназной и 3-фосфоглицераткиназной реакции). Кроме того, были показаны активация аэробного гликолиза и соответствующее ослабление эффекта Па-

Таблица 23

Интенсивность аэробного и анаэробного гликолиза в гиалоплазме скелетных мышц узкочерепных полевок в условиях нормы и экстремального охлаждения (7—10-е поколения, декабрь 1972 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные	
	Подвид $\widehat{x_1}$	Температура 20-минутного воздействия, °С $\widehat{x_2}$
Верхний (+)	*M. g. gregalis*	+18
Нижний (—)	*M. g. major*	—15

Кодированные независимые переменные			Накопление лактата за 1 ч инкубации при 28°С, мг/100 г сырой массы ткани, в атмосфере					
			аргона		воздуха			
№ варианта	x_1	x_2	y_1	$\hat{y}$	y_1	y_2	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	2,77	2,77	3,58	2,12	2,85	3,41
2	+	—	1,22	1,22	1,30	1,50	1,40	1,68
3	—	+	2,98	2,98	3,68	1,92	2,80	2,53
4	+	+	2,49	2,49	2,65	2,38	2,51	2,25

Примечание. Статистические показатели: b_0=2,73; b_1=—0,51; b_2=0,32; b_{12}=0,27 (аргон).
b_0=2,39; b_1=—0,43; b_2=0,22; b_{12}=0,29 (воздух); $t_{0,95}sb_i$=0,30 (по данным предыдущих серий).

стера в гомогенатах мышц голубей при их отогревании. Существенно, что активация гликолиза при охлаждении в скелетных мышцах животных, по данным [510, 572], сопровождается одновременной активацией гликонеогеназа в печени. Эти явления некоторыми исследователями рассматриваются как аналогия неполному голоданию, которое также приводит к активации ресинтеза гликогена в одних органах при условии усиленного его расходования в других [510]. Особенно резко (в 6 раз) увеличивается скорость глюконеогенеза в печени животного в условиях периодических экстремальных охлаждений. Предполагается также [182], что в условиях экстремального охлаждения продукты гликолиза реализуются по пути гликоген — пируват — O_2 [280], т. е. окисляются в трикарбоновом цикле и дыхательной цепи. При длительной адаптации к холоду промежуточные продукты гликолиза частично включаются в синтез [618, 491, 546] триглицеридов, а следовательно, и жиров.

Активация процессов аэробного окисления, синтеза гликогена и липидов, которая происходит параллельно с усилением гликолитического окисления, по-видимому, является причиной того, что, как правило, при адаптации к холоду, несмотря на интенсивный гликолиз в мышцах, в крови и непосредственно в мышцах не обнаруживается существенного накопления молочной кислоты [83, 190].

Таблица 24

Интенсивность аэробного и анаэробного гликолиза в гиалоплазме скелетных мышц полевок Миддендорфа и узкочерепных в условиях нормы и экстремального охлаждения (7—10-е и 2-е поколения, февраль 1973 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Пол $\widehat{x_1}$	Объект исследования $\widetilde{x_2}$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widetilde{x_3}$
Верхний (+)	Самки	7—10-е поколения (*M. g. gregalis*)	+18
Нижний (—)	Самцы	2-е поколение (*M. middendorfi*)	—15

Кодированные независимые переменные				Накопление лактата за 1 ч инкубации при 28 °С, мг/100 г сырой массы ткани, в атмосфере							
				аргона				воздуха			
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	2,22	2,24	2,23	2,38	0,95	1,73	1,34	1,67
2	+	—	—	1,72	0,98	1,35	1,62	1,52	1,20	1,36	1,61
3	—	+	—	0,92	0,29	0,60	0,48	2,05	3,28	2,66	2,01
4	+	+	—	0,40	0,95	0,67	1,24	3,82	2,52	3,67	3,71
5	—	—	+	4,64	—	4,64	4,06	1,77	1,22	1,49	1,75
6	+	—	+	2,55	3,86	3,20	3,30	1,35	1,38	1,37	1,69
7	—	+	+	0,65	0,73	0,69	0,44	0,59	0,72	0,65	0,73
8	+	+	+	1,72	1,06	1,39	1,20	3,32	2,87	3,09	2,43

Примечание. Статистические показатели: $b_0=1,85$; $b_1=-0,19$; $b_3=-1,01$; $b_{12}=0,39$; $b_{13}=0,63$; $b_{123}=0,01$; $b_{23}=-0,43$; $b_{123}=0,15$; $s^2y=0,23$; $t_{0,95}sb_i=0,29$ (аргон).
$b_0=1,89$; $b_1=0,35$; $b_2=0,50$; $b_{22}=0,38$; $b_{12}=0,22$; $b_{23}=-0,28$; $b_3=-0,24$; $b_{123}=0,26$; $s^2y=0,27$; $t_{0,95}sb_i=0,30$ (воздух).

При изучении роли гликолиза в адаптации видов и внутривидовых форм мы исследовали интенсивность аэробного и анаэробного гликолиза, а также содержание лактата в скелетных мышцах экономок, узкочерепных полевок и полевок Миддендорфа в нескольких вариантах охлаждения [236, 241]. Поставлено пять серий опытов. Использованы планы ПФЭ типа 2^2 и 2^3.

В первых трех сериях группа животных была неоднородной по подвидам. Определяли интенсивность аэробного и анаэробного гликолиза в гиалоплазме скелетных мышц южных и северных (x_1) экономок (или узкочерепных полевок) в условиях 20-минутного выдерживания животных при температурах +18 и —15 °С (x_3) после предварительной акклимации к холоду или без нее (x_2) (табл. 21, 22, 23).

В четвертой серии группа животных была неоднородной по полу и видам. Исследовали скорость гликолиза в гиалоплазме

Таблица 25

Содержание молочной кислоты в скелетной мышце южных и северных подвидов экономки в условиях нормы и экстремального охлаждения без предварительной акклимации к холоду и после нее (5—6-е поколения, декабрь 1971 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Подвид $\widetilde{x_1}$	Температура 9-дневного содержания до опыта, °С $\widetilde{x_2}$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widehat{x_3}$
Верхний (+)	*M. o.oeconomus*	+15	+18
Нижний (—)	*M. o. chachlovi*	0— +3	—15

Кодированные независимые переменные				Мг молочной кислоты/1 г сырой массы ткани				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	y_4	$\bar{y}$
1	—	—	—	0,203	0,221	0,461	0,123	0,252
2	+	—	—	0,208	0,304	0,181	0,240	0,283
3	—	+	—	0,407	0,288	0,218	0,210	0,281
4	+	+	—	0,277	0,369	0,300	0,406	0,338
5	—	—	+	0,282	0,322	—	—	0,302
6	+	—	+	0,342	0,354	0,205	0,209	0,277
7	—	+	+	0,401	0,477	0,803	0,506	0,547
8	+	+	+	0,143	0,109	0,434	0,165	0,213

Примечание. Статистические показатели: b_0=0,305; b_1=—0,40; b_2=0,039; b_3=0,034; b_{12}=—0,029; b_{13}=—0,049; b_{23}=0,005; b_{123}=—0,048; $t_{0,95}sb_i$=0,068.

скелетных мышц (y) самок и самцов (x_1) узкочерепных полевок и полевок Миддендорфа (x_2) после 20-минутного выдерживания в условиях +8 и —15 °С (x_3) (табл. 24).

В пятой серии определяли интенсивность гликолиза в условиях, близких опыту in vivo. Находили количество молочной кислоты в скелетных мышцах (y) южных и северных экономок (x_1) в условиях 20-минутного экстремального охлаждения и нормы (x_3) после предварительной акклимации и без нее (x_2). Скелетную мышцу замораживали в жидком азоте, и лактат определяли в трихлоруксусном экстракте (табл. 25). По средним данным первых четырех серий построены номограммы (рис. 13).

Анализ результатов первой серии (см. табл. 21 и рис. 13) показывает, что в исследованный сезон (ноябрь — декабрь) в гиалоплазме скелетных мышц экономок 5—6-го поколений обеих популяций наблюдаются необычные, но аналогичные данным по эндогенному метаболизму соотношения анаэробного и аэробного гликолиза. У контрольных животных полностью подавлен эффект Пастера: образование молочной кислоты при инкубации

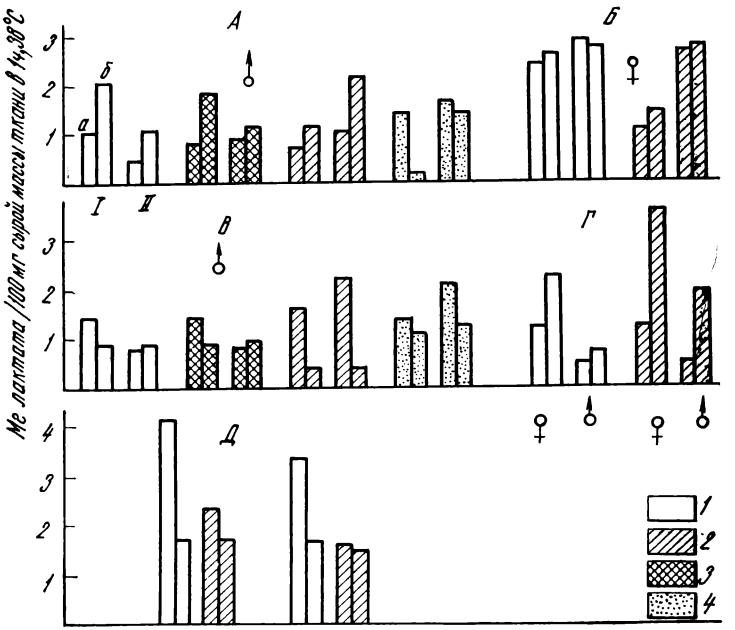


Рис. 13. Интенсивность анаэробного (*а*) и аэробного (*б*) гликолиза в гиалоплазме скелетных мышц серых полевок с разной степенью специализации в условиях нормы и охлаждения.

А — экономки, 5—6-е поколения, 4-месячные; *Б* — узкочерепные полевки, 7—10-е поколения, 4-месячные; *В* — экономки, 70—10-е поколения; *Г* — узкочерепные полевки, 6-месячные; *Д* — полевки Миддендорфа, 6-месячные.
I, II — южный и северный подвиды соответственно. *1* — норма; *2* — 20 мин при —15 °С; *3* — 9 дней при 0—+3 °С; *4* — 20 мин при —15 °С после 9-дневного содержания при 0—+3 °С.

гиалоплазмы в атмосфере воздуха в присутствии субстрата идет не с меньшей, а даже с большей скоростью, чем в атмосфере аргона. По-видимому, имела место отчетливо выраженная антипастеровская реакция (эффект Кребтри) — подавление дыхания за счет активации гликолитического окисления добавленного фруктозо-1-6-дифосфата. В результате регрессионного анализа данных первых двух серий опытов получены следующие уравнения.

Экономки 5—6-го поколений:
для аэробного гликолиза

$$y = 1{,}39 + 0{,}49\, x_1 x_3;\quad t_{0{,}95} s b_i = 0{,}31;$$

$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}14 < Fs^2\, \bar{y} = 0{,}48;$$

для коэффициента $Q_{\text{аргон}}^{\text{лактат}} / Q_{\text{воздух}}^{\text{лактат}}$

$$y = 1{,}57 + 0{,}72\, x_1 - 0{,}80\, x_2 - 0{,}43\, x_1 x_2 - 1{,}04\, x_3 - 0{,}74\, x_1 x_3 + 0{,}80\, x_2 x_3 + 0{,}51\, x_1 x_2 x_3;\quad t_{0{,}95} s b_i = 0{,}49;$$

$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}003 < Fs^2 \bar{y} = 1{,}28.$$

Экономки 7—10-го поколений:
для анаэробного гликолиза

$$y = 1{,}49 - 0{,}36\,x_3 + 0{,}32\,x_1x_3,\ t_{0,95}sb_i = 0{,}40;$$

$$s^2_{ад} = 0{,}11 < Fs^2y = 0{,}84;$$

для аэробного гликолиза

$$y = 0{,}85 - 0{,}23\,x_2 + 0{,}23\,x_2x_3;\ t_{0,95}sb_i = 0{,}28;$$

$$s^2_{ад} = 0{,}13 < Fs^2\bar{y} = 0{,}40.$$

Общий анализ результатов, полученных на экономках, показывает, что охлаждение нормализует отношения между анаэробным и аэробным гликолизом в мышцах исследованного вида. У животных 5—6-го поколений южного подвида (в том числе и у акклиматизированных к холоду южных экономок) это проявляется за счет достоверного подавления аэробного гликолиза при 20-минутном экстремальном охлаждении.

Особенно отчетливо проявляется дифференциация по выраженности эффекта Пастера при анализе коэффициентов $Q_{\text{аргон}}/Q_{\text{воздух}}$ (лактат / лактат). Величина коэффициента, характеризующего соотношения между анаэробным и аэробным гликолизом, увеличивается у охлажденных животных, зависит от предварительной акклимации к низким температурам и принадлежности к подвиду ($b_{423} > t_{0,95}sb_i$). Наиболее ярко выраженным эффект Пастера оказывается в мышцах южного подвида экономки в варианте с экстремальным охлаждением после 9-дневной предварительной акклимации к температуре 0+3 °С (см. рис. 13). У исследованной нами группы южных экономок 7—10-го поколений эффект Пастера в гиалоплазме скелетных мышц был обнаружен во всех вариантах (накопление лактата при инкубации пробы в атмосфере аргона, как правило, выше, чем в воздухе). Установлены достоверные сдвиги в величине обоих типов гликолиза. Наблюдаются увеличение интенсивности анаэробного гликолиза и подавление аэробного, но в обоих случаях действует зависимость эффекта от условий охлаждения или принадлежности к подвиду (b_{23} или $b_{13} > t_{0,95}sb_i$).

У исследованных нами экономок 7—10-го поколений эффект Пастера (максимальный анаэробный гликолиз и минимальный аэробный) наиболее ярко выражен в условиях кратковременного экстремального охлаждения (см. рис. 13). В мышцах экономок, предварительно акклиматизированных к холоду, наблюдается повышенный и анаэробный и аэробный гликолиз. Эффект Пастера выражен менее резко.

Анализ данных третьей и четвертой серий опытов, поставленных на узкочерепных полевках и полевках Миддендорфа (см. табл. 23, 24), показывает, что для этих животных характерны

иной общий уровень гликолиза и иные отношения между двумя его типами. В условиях нормы скелетные мышцы узкочерепных полевок и полевок Миддендорфа имеют значительно более высокую интенсивность анаэробного гликолиза в сравнении с экономками. Уравнения регрессии следующие.

Узкочерепные полевки, 4-месячные:
для аэробного гликолиза

$$y=2{,}39-0{,}43x_1+0{,}29x_1x_2;\ t_{0,95}sb_i=0{,}30;$$

для анаэробного гликолиза

$$y=2{,}73-0{,}51x_1+0{,}32x_2+0{,}27x_1x_2;\ t_{0,95}sb_i=0{,}30.$$

Узкочерепные полевки и полевки Миддендорфа, 6-месячные:
для анаэробного гликолиза

$$y=1{,}85-1{,}01x_2+0{,}39x_1x_2+0{,}63x_3-0{,}43x_2x_3;$$
$$t_{0,95}sb_i=0{,}29;\ s^2_{ад}=0{,}15<Fs^2\bar{y}=0{,}52;$$

для аэробного гликолиза

$$y=1{,}89+0{,}35x_1+0{,}50x_2+0{,}38x_1x_2-0{,}28x_1x_3;$$
$$t_{0,95}sb_i=0{,}30;\ s^2_{ад}=0{,}39<Fs^2y=0{,}73.$$

Из уравнений и соответствующих расчетных данных (см. табл. 20, 21 и рис. 13) видно, что 4-месячные узкочерепные полевки, так же, как 6-месячные, не реагируют на охлаждение повышением анаэробного гликолиза и подавлением аэробного. Последний в мышцах узкочерепных полевок либо одинаков по интенсивности с анаэробным, либо выше его. В мышцах полевки Миддендорфа высокий уровень анаэробного и аэробного гликолиза сочетается с ярко выраженным эффектом Пастера. Различия по данным показателям между полевками Миддендорфа и узкочерепными достоверны ($b_2>t_{0,95}sb_i$) и определяются температурой 20-минутного охлаждения ($b_{23}t_{0,95}sb_i$). Значимых изменений (см. табл. 25) в содержании конечного продукта гликолиза (молочной кислоты) непосредственно в скелетной мышце экономок, независимо от их подвида и варианта охлаждения, нами не обнаружено ($b<t_{0,95}sb_i$).

2.5. ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ И ЕЕ ИЗОЭНЗИМНЫЙ СПЕКТР У ОХЛАЖДЕННЫХ ПОЛЕВОК В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ВИДА И РАНГА ГРУПП

Лактатдегидрогеназа (лактат-НАД-оксидоредуктаза) — конечный фермент гликолиза, катализирующий реакцию

$$\underset{\text{лактат}}{CH_3CHONCOOH}+НАД\overset{\text{ЛДГ}}{\rightleftharpoons}\underset{\text{пируват}}{CH_3COCOOH}+НАДН+Н.$$

При анаэробном окислении данная реакция смещена в сторону образования лактата, в условиях интенсивного аэробного окисления — пирувата.

Этот фермент функционирует в тканях организма в виде нескольких молекулярных форм — изоэнзимов, которые представляют собой белки, имеющие одинаковую молекулярную массу и катализирующие одну реакцию, но различающиеся между собой по ряду физико-химических свойств, в частности, по величине суммарного заряда [304]. Последняя особенность позволяет разделить существующие множественные формы указанного фермента гликолиза с помощью электрофореза на различных носителях [304]. Относительное количество изоэнзимов лактатдегидрогеназы в разных тканях животного варьирует. При электрофорезе тканевых экстрактов у сухопутных млекопитающих и птиц, как правило, четко выявляются пять различных белков (изоэнзимов), обладающих лактатдегидрогеназной активностью [304, 356, 600]. Их принято обозначать арабскими цифрами в зависимости от электрофоретической подвижности к аноду при щелочных значениях ph: ЛДГ-1, ЛДГ-2, ЛДГ-3, ЛДГ-4 и ЛДГ-5 [641]. Все эти лактатдегидрогеназы представляют собой тетрамеры [372], которые состоят из полипептидных субъединиц двух типов, обозначаемых *А* и *В* (или *М* и *Н*).

Структура субъединиц лактатдегидрогеназы в деталях неизвестна, но изучение их аминокислотного состава показывает, что они различаются аминокислотными последовательностями и комбинируются в изоэнзимах ЛДГ пятью способами:

ЛДГ-1 — ВВВВ ($А_0В_4$), или НННН ($М_0Н_4$);
ЛДГ-2 — ВВВА ($А_1В_3$), или НННМ ($М_1Н_3$);
ЛДГ-3 — ВВА ($А_2В_2$), или ННММ ($М_2Н_2$);
ЛДГ-4 — ВАААА ($А_3В$), или НМММ ($М_3Н_1$);
ЛДГ-5 — АААА ($А_4В_0$), или ММММ ($М_4Н_0$).

Количество изоэнзимов лактатдегидрогеназы в тканях водных животных (рыб, беспозвоночных, млекопитающих и птиц, для которых характерно длительное погружение в воду) колеблется от 1, 3, 5 до 9, 18, 27 [541, 562, 465, 547, 542, 597, 582].

Существуют две различные точки зрения на вопрос о происхождении изоэнзимов в органах и тканях организмов. Одни исследователи считают, что распределение изоэнзимов в организме зависит от функций его отдельных частей, т. е. органов и тканей. Предполагается, что функция, проявляясь в определенном типе обмена веществ, создает соответствующую ему концентрацию метаболитов, которые регулируют деятельность ферментов, активизируя одни изоэнзимы и подавляя другие [459, 458]. Согласно второй точке зрения, появление разных форм изоэнзимов связано с хромосомной дубликацией [629] и их распределение в организме — результат мутационной эволюции. Из-

вестно, что субъединицы *M* и *H* кодируются двумя различными структурными генами «*a*» и «*b*» [603, 539].

Изоэнзимы ЛДГ, например, рассматривают как результат случайной по характеру сборки или ассоциации двух различных полипептидов *M* и *H*. Это предположение основывается на исследованиях по диссоциации различных изоферментных белков на субъединицы in vitro с помощью отдельных реагентов и обратной их рекомбинации с образованием продуктов, обладающих ферментативной активностью [538]. Увеличенное число изоэнзимов, например у рыб, с точки зрения мутационной теории их происхождения, объясняется появлением большого числа генов, участвующих в их синтезе, дупликацией имеющегося генного материала. Так, 7-изоферментные рыбы представляют, как утверждают некоторые исследователи, гетерозиготные формы-гибриды, возникшие вследствие аллельных вариантов по *M* и *H* субъединицам [465, 547]. Полное отсутствие промежуточных гетеротетрамеров (ЛДГ-3, ЛДГ-4) или их слабая выраженность, приводящие к уменьшению числа изоэнзимов, трактуются как следствие ограничения сборки полипептидов в гетеротетрамеры механизмами генетического или эпигенетического контроля [541, 594, 562, 645, 646].

Для изучения роли лактатдегидрогеназы в адаптации интактного организма, вероятно, следует использовать гипотезу о связи характера распределения изоэнзимных форм данного фермента с функциями органов и тканей. Принято считать, что ЛДГ-5 типична для анаэробного метаболизма и тех органов, которые вынуждены функционировать в условиях кислородной недостаточности, ЛДГ-1, напротив, связывают с аэробно-метаболизирующими тканями. ЛДГ-5 обнаружена в печени, белых скелетных мышцах, лейкоцитах, эмбриональных тканях, для которых характерен интенсивный гликолиз. ЛДГ-1 найдена в сердце, почках, мозге, эритроцитах позвоночных, где происходит ярко выраженный окислительный обмен [398, 543, 630, 433, 508].

Изоэнзимы лактатдегидрогеназы отличаются друг от друга не только суммарным зарядом, аминокислотным составом, характером пептидных карт и антигенными свойствами [372, 540], но и кинетическими параметрами, оптимумом и субстратной концентрацией, чувствительностью к воздействию температуры и ингибированию субстратами [577, 398, 543, 627, 628, 574, 379].

Известно, что ЛДГ-5 более устойчива к большим концентрациям лактата [390, 445, 577, 390], щавелево-уксусной кислоты [446], β-оксибутирата [443].

Установлено, [445], что различия в чувствительности ЛДГ-1 и ЛДГ-5, выделенных из сердечной и скелетной мышц собак, к повышенным концентрациям пирувата и лактата ярче выражены в условиях нефизиологических, пониженных температур (25 и 6 °С). Различия (меньшая чувствительность со стороны ЛДГ-5 и бóльшая со стороны ЛДГ-1) сохраняются, как указывают ав-

торы, при pH щелочной (8,3), кислой (6,6) и нейтральной (7,0). Некоторые исследователи указывают на факт устойчивости ЛДГ-5 к действию больших концентраций пирувата как на доказательство правильности положения о принадлежности данного изоэнзима к ферментам анаэробного обмена, в процессе которого накапливается большое количество пирувата [433]. Разная чувствительность изоэнзимов ЛДГ к повышенным концентрациям отдельных метаболитов рассматривается как основа активного участия этих форм ЛДГ в регуляции энергетического обмена ткани. В соответствии с принципом регуляции по типу обратной связи накопление пирувата как продукта лактатдегидрогеназной реакции затормаживает процесс его образования. Лактатдегидрогеназная реакция оказывается сдвинутой влево, в сторону накопления лактата, увеличивается интенсивность гликолиза. Это явление длится до тех пор, пока концентрация пирувата не достигнет уровня, при котором лактатдегидрогеназная реакция приобретает прежнюю направленность и равновесие, сдвигается вправо, в сторону образования пирувата. При этом процесс вовлечения пирувата в аэробный трикарбоновый цикл снова активируется, превращение пирувата в лактат, т. е. гликолиз, затормаживается. Описанное подавление реакции образования пирувата и усиленное накопление лактата в присутствии больших концентраций пирувата осуществляется, как принято считать, при участии анаэробного изоэнзима ЛДГ-5. В условиях малых концентраций пирувата максимальную активность проявляют изоэнзимы ЛДГ-1 и ЛДГ-2, чувствительные к повышенным концентрациям пирувата. В результате лактатдегидрогеназной реакции в присутствии ЛДГ-1 и ЛДГ-2 образуется пируват. В этом случае гликолиз затормаживается, увеличивается вовлечение пирувата в трикарбоновый цикл. Накопление пирувата, как правило, наблюдается в условиях гипоксии или больших физических нагрузок. В связи с этим не случайно активно гликолизирующие ткани (печень, скелетная мышца, развивающий эмбрион) имеют высокую активность ЛДГ-5.

Интересно, что в скелетной мышце некоторых видов водных млекопитающих (тюлени *L. L. weddelli A. pusillus*) изоэнзимы ЛДГ-1 и ЛДГ-2 полностью отсутствуют, а активность изоэнзима ЛДГ-5 составляет 90 % от общей активности фермента [582]. Обычные тюлени имеют в скелетных мышцах изоэнзимный спектр ЛДГ, который приближается к спектру ЛДГ мышц большинства видов млекопитающих, т. е. содержит все пять изоэнзимов ЛДГ, хотя ЛДГ-5 и преобладает. Сердечная мышца глубоко ныряющих видов тюленей (*Callorhihus ursinus*), дельфинов (*Phocoenoides dalli ursinus*) и пингвинов (*Pygoscelis adelia*) также имеет необычный изоэнзимный спектр ЛДГ, который состоит преимущественно из ЛДГ-5. Сердечная мышца других видов тех же животных (*S. caeruleo — abb. Ciristats*) содержит в больших количествах ЛДГ-1 и ЛДГ-2. Во всех тканях ныряющей птицы

гаги (*Somateria mollisina*) обнаружен один изоэнзим — ЛДГ-5. В скелетной мышце пингвина *P. adellia*, напротив, находят значительное количество аэробных изоэнзимов ЛДГ-1 и ЛДГ-2.

Существует мнение, что изменение изоэнзимного спектра лактатдегидрогеназы в сердечной мышце у глубоко ныряющих водных животных (например, у *L. weddelli*) в сторону преобладания *M*-субъединиц — это приспособительная реакция к гипоксическим условиям [350]. В то время, как обычные тюлени находятся под водой не более 20 мин, тюлени *P. weddelli*, в сердечной мышце которых имеется активная ЛДГ-5, погружаются на 40, а в некоторых случаях на 60 мин [582].

Появление анаэробных изоэнзимов ЛДГ в сердечной мышце быстро плавающих водных животных (дельфинов *P. dalli P. trui*), по-видимому, связано с адаптацией к повышенным физическим нагрузкам, которые также требуют, несмотря на нормальный доступ кислорода, активации гликолитического окисления как дополнительного источника энергии.

Равномерное распределение активности между пятью изоэнзимами лактатдегидрогеназы в любой ткани, как считают некоторые исследователи [350], имеет в качестве причины два обстоятельства: либо животное вынуждено резко усилить приток энергии и нуждается в ферментах, которые в состоянии обеспечить максимальный уровень энергетического обмена (высокий аэробный и анаэробный гликолиз, интенсивное дыхание), либо организм постоянно находится в чередующихся аэробных и анаэробных условиях и должен иметь механизмы, обеспечивающие приобретение энергии при нормальном и пониженном снабжении кислородом. Данное положение иллюстрирует пример фоторецепторных клеток, имеющих высокий уровень как аэробного, так и анаэробного гликолиза [645]. Сетчатка обладает способностью потреблять кислород интенсивнее, чем все известные ткани [467].

Клетки рыб, связанные со зрением, содержат изоэнзим ЛДГ E_4 [647], близкий по структуре изоэнзиму ЛДГ-1, и одновременно изоэнзимы анаэробного типа. Другой иллюстрацией адаптивного значения равномерного распределения активности между изоэнзимами ЛДГ могут служить те виды водных млекопитающих и птиц, которые имеют в тканях все пять изоэнзимов ЛДГ, что позволяет им получать достаточное количество энергии в чередующихся аэробных и анаэробных условиях.

В эволюционном отношении способность лактадегидрогеназы функционировать в виде изоэнзимов, обладающих разной чувствительностью к продуктам промежуточного обмена, и в первую очередь субстратам,— закономерный этап процесса совершенствования механизмов регуляции обмена при адаптации живых существ к условиям существования.

Согласно современным представлениям, локусы *A* и *B*, под контролем которых находится синтез *M*- и *H*-субъединиц, сла-

Таблица 26

Лактатдегидрогеназная активность в гиалоплазме скелетных мышц южных и северных экономок в условиях нормы и экстремального охлаждения без предварительной акклимации к холоду и после нее (5—6-е поколения, декабрь 1971 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Подвид $\widetilde{x_1}$	Температура 9-дневного содержания животных до опыта, °С $\widetilde{x_2}$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widetilde{x_3}$
Верхний (+)	*M. o. oeconomus*	+18	+18
Нижний (—)	*M. o. chachlovi*	0	—15

Кодированные независимые переменные				Мкмолей субстрата/мл за 1 ч инкубации при 37 °С				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	7,17	6,04	4,51	5,90	6,14
2	+	—	—	7,25	5,43	4,30	5,66	5,00
3	—	+	—	3,48	2,15	—	2,81	3,47
4	+	+	—	0,92	1,10	2,02	1,34	1,15
5	—	—	+	12,30	1,2	13,7	12,40	12,9
6	+	—	—	8,30	9,6	6,6	8,16	7,82
7	—	+	+	1,83	1,22	4,57	2,54	2,79
8	+	+	+	14,3	13,3	8,6	12,06	11,44

Примечание. Статистические показатели: b_0=6,36; b_1=0,446; b_2= —1,67; b_3=2,40; b_{12}=1,56; b_{13}=0,873; b_{23}=0,181; b_{123}=1,87; $t_{0,95}sb_i$=0,720. Активность фермента определяли по Севелу и Товареку [9].

гающих молекулу изоэнзимов ЛДГ, возникли из общего древнего гена. Затем произошла дивергенция и появились гомотетрамеры *M* и *H* с разными кинетическими и физико-химическими свойствами [496]. Эволюционно более древним принято считать локус *A*, так как функция гена *B* прослеживается только в некоторых тканях [542]. Следовательно, анаэробные изоэнзимы типа ЛДГ-5, ЛДГ-4, древнее чем аэробные ЛДГ-1 и ЛДГ-2.

Мы исследовали [253, 235, 236, 240] общую активность лактатдегидрогеназы и активность ее отдельных изоэнзимов в гиалоплазме скелетных мышц экономок, полевок Миддендорфа и узкочерепных в условиях физиологической нормы и охлаждения. Поставлено шесть серий опытов.

В первой серии определяли общую активность лактатдегидрогеназы. Группа животных была неоднородной по подвидам. Использован план ПФЭ типа 2^3. Исследовали общую активность ЛДГ (y) в гиалоплазме скелетных мышц южных и северных (x_1) экономок в зависимости от температуры 9-дневного виварного содержания животных (x_2) и 20-минутного воз-

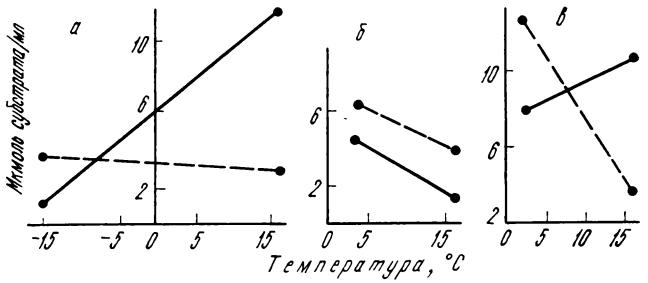


Рис. 14. Изменения активности ЛДГ в гиалоплазме скелетных мышц двух подвидов полевки-экономки (5—6-е поколения, ноябрь 1971 г.).

а — экстремальное охлаждение; *б* — экстремальное охлаждение после предварительной акклимации; *в* — после 9-дневной акклимации к температуре 0—+3 °С. *Сплошная линия* — южный подвид, *штриховая* — северный.

действия в опыте (x_3) (табл. 26). Уравнение регрессии для общей активности ЛДГ (по данным первой серии) имеет вид:

$$y = 6{,}36 - 1{,}67\,x_2 + 2{,}4\,x_3 + 1{,}56\,x_1x_2 + 0{,}873\,x_1x_3 + \\ + 1{,}87\,x_1x_2x_3;\ t_{0{,}95}sb_i = 0{,}72;$$

$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}92 < Fs^2y = 3{,}5.$$

Анализ уравнения показывает, что общая активность лактатдегидрогеназы в гиалоплазме скелетных мышц охлажденных экономок достоверно изменяется ($b_3 > t_{0{,}95}sb_i$). Эти изменения зависят от принадлежности животных к южному или северному подвиду и условий охлаждения (b_{13}, $b_{123} > t_{0{,}95}sb_i$). Внутри вида экономки обнаружены явные признаки биохимической дифференциации по данному тесту. При экстремальном кратковременном охлаждении (рис. 14, *а*) в гиалоплазме скелетных мышц южной экономки наблюдается снижение общей активности ЛДГ, в то время как в гиалоплазме скелетных мышц северного подвида активность данного фермента на уровне нормы ($b_{13} > t_{0{,}95}sb_i$). При экстремальном охлаждении после предварительной акклимации (рис. 14, *б*) лактатдегидрогеназа скелетных мышц обоих подвидов увеличивается, но у северной экономки общая активность фермента выше, чем у южной ($b_{123} > t_{0{,}95}sb_i$). В условиях 9-дневной акклимации к температуре 0 + 3 °С (рис. 14, *в*) различия в общей активности лактатдегидрогеназы в скелетных мышцах южных и северных экономок ярко выражены ($b_{12} > t_{0{,}95}sb_i$). Изменения теста имеют противоположную направленность.

Во второй серии группа животных была также неоднородной по подвидам. Исследовали активность лактатдегидрогеназы и ее изоэнзимов (y) в гиалоплазме скелетных мышц южных и северных (x_1) самцов экономки 7—10-го поколений в зависимости от температур 9-дневной акклимации (x_2) и кратковременного воздействия (x_3) (табл. 27 и рис. 15). В гиалоплаз-

Таблица 27

Активность лактатдегидрогеназы и ее изоэнзимов в гиалоплазме скелетных мышц южных и северных экономок в условиях нормы и экстремального охлаждения без предварительной акклимации к холоду и после нее (7—10-е поколения, декабрь 1972 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Подвид $\widehat{x}_1$	Температура 9-дневного содержания до опыта, °С $\widetilde{x}_2$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widehat{x}_3$
Верхний (+)	*M. o. oeconomus*	+18	+18
Нижний (—)	*M. o. chachlovi*	0	—15

Кодированные независимые переменные				Активность изоэнзимов ЛДГ, % к общей активности				Общая активность ЛДГ
				ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-4	
№ варианта	x_1	x_2	x_3	$\hat{y}$				$\hat{y}$
1	—	—	—	1,6	6,8	12,5	67,3	5,28
2	+	—	—	9,4	19,1	28,9	45,9	6,40
3	—	+	—	1,8	1,1	0,7	101,7	5,62
4	+	+	—	0,8	4,2	15,7	80,3	6,05
5	—	—	+	10,8	20,2	20,5	46,3	4,74
6	+	—	+	3,0	7,8	17,3	67,7	5,86
7	—	+	+	10,6	17,1	24,1	41,1	5,08
8	+	+	+	11,0	11,8	20,9	62,5	5,52

Примечание. Статистические показатели: $b_0=6{,}20$; $b_1=-0{,}47$; $b_2=-1{,}25$; $b_3=2{,}80$; $b_{12}=1{,}02$; $b_{13}=-1{,}67$; $b_{23}=2{,}15$; $b_{123}=2{,}22$; $s^2\{y\}=15{,}03$; $t_{0,95}s\{b_i\}=1{,}67$ (ЛДГ-1).

$b_0=11{,}70$; $b_1=0{,}17$; $b_2=-2{,}77$; $b_3=3{,}55$; $b_{12}=-1{,}35$; $b_{13}=-4{,}42$; $b_{23}=2{,}97$; $b_{123}=1{,}75$; $s^2\{y\}=12{,}38$; $t_{0,95}s\{b_i\}=1{,}52$ (ЛДГ-2).

$b_0=17{,}4$; $b_1=3{,}26$; $b_2=-2{,}44$; $b_3=3{,}31$; $b_{12}=1{,}56$; $b_{13}=-4{,}86$; $b_{23}=-4{,}24$; $b_{123}=-0{,}84$; $s^2\{y\}=25{,}66$; $t_{0,95}s\{b_i\}=2{,}18$ (ЛДГ-3).

$b_0=64{,}1$; $b_1=-1{,}89$; $b_2=7{,}29$; $b_3=-9{,}69$; $b_{12}=1{,}34$; $b_{13}=10{,}6$; $b_{23}=-4{,}24$; $b_{123}=-2{,}16$; $s^2\{y\}=42{,}9$; $t_{0,95}s\{b_i\}=2{,}82$ (ЛДГ-5).

$b_0=5{,}57$; $b_1=0{,}39$; $b_2=-0{,}10$; $b_3=-0{,}27$; $b_{12}=-0{,}17$; $b_{13}=-0{,}09$; $b_{23}=-0{,}03$; $b_{123}=-0{,}13$; $s^2\{y\}=0{,}16$; $t_{0,95}s\{b_i\}=0{,}17$ (ЛДГ$_{общ}$).

	ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-5	ЛДГ$_{общ}$
b_{123}	2,22	1,75	—0,84	—2,16	—0,13
$s^2\{y\}$	15,03	12,38	25,66	42,9	0,16
$ts\{b_i\}$	1,67	1,52	2,18	2,82	0,17

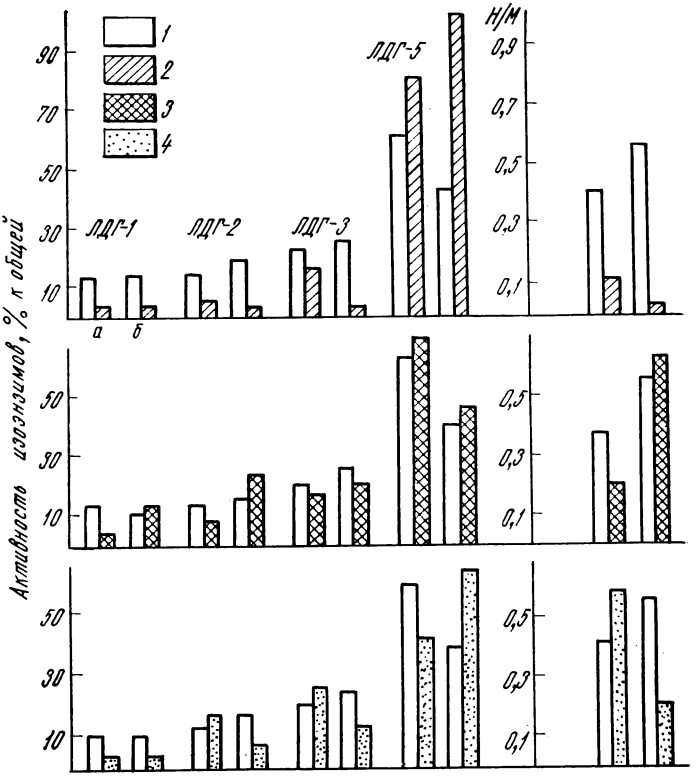


Рис. 15. Активность изоэнзимов ЛДГ и соотношение *H*- и *M*-субъединиц данного фермента в гиалоплазме скелетных мышц двух подвидов экономки в условиях нормы и охлаждения (7—10-е поколения, декабрь 1972 г.).

а, б — южный и северный подвиды соответственно. *1* — норма; *2* — 20 мин при —15 °С; *3* — 9 дней при 0—+3 °С; *4* — 20 мин при —15 °С после 9-дневной акклимации к температуре 0—+3 °С.

ме скелетных мышц исследованной нами группы экономок 7—10-го поколений обнаружено пять изоэнзимов лактатдегидрогеназы. Получены следующие уравнения регрессии:

$$y\ \text{ЛДГ}_{\text{общ}} = 5{,}57 + 0{,}39\,x_1 - 0{,}27\,x_3;$$

$$t_{0,95}sb_i = 0{,}17;\ s^2_{\text{ад}} = 0{,}05 < Fs^2\bar{y} = 0{,}15;$$

$$y\ \text{ЛДГ-1} = 6{,}2 + 2{,}8\,x_3 - 1{,}67\,x_1x_3 + 2{,}15\,x_2x_3 + 2{,}22\,x_1x_2x_3;$$

$$t_{0,95}sb_i = 1{,}67;\ s^2_{\text{ад}} = 7{,}63 < Fs^2\bar{y} = 16{,}0;$$

$$y\ \text{ЛДГ-2} = 10{,}7 - 2{,}8\,x_2 + 3{,}50\,x_3 - 4{,}42\,x_1x_3 + 2{,}9\,x_2x_3 + 1{,}75\,x_1x_2x_3;$$

$$t_{0,95}sb_i = 1{,}52;\ s^2_{\text{ад}} = 7{,}3 < Fs^2\bar{y} = 14{,}8;$$

$$y\ \text{ЛДГ-3} = 17{,}4 + 3{,}26\,x_122{,}44\,x_2 + 3{,}31\,x_3 - 4{,}86\,x_1x_3 + 4{,}24\,x_2x_3;$$

$$t_{0,95}sb_i = 2{,}18;\ s^2_{\text{ад}} = 12{,}5 < Fs^2\bar{y} = 30{,}8;$$
$$y\ \text{ЛДГ-5} = 64{,}1 + 7{,}3\,x_2 - 9{,}7\,x_3 + 10{,}7\,x_1x_3 - 9{,}9\,x_2x_3;$$
$$t_{0,95}sb_i = 2{,}82;\ s^2_{\text{ад}} = 26{,}9 < Fs^2\bar{y} = 45{,}8;$$
$$y\ H/M = 0{,}35 - 0{,}08\,x_2 + 0{,}11\,x_3 - 0{,}13\,x_1x_3 + 0{,}11\,x_2x_3 + 0{,}07\,x_1x_2x_3;$$
$$t_{0,95}sb_i = 0{,}06; s^2_{\text{ад}} = 0{,}003 < Fs^2\bar{y} = 0{,}02.$$

Анализ первого уравнения показывает, что у экономок 7—10-го поколений, независимо от того, из южного или северного они подвида, во всех вариантах охлаждения наблюдается увеличение общей активности лактатдегидрогеназы (реакция, типичная для северных экономок 5—6-го поколений, в 7—10-м поколениях становится ярко выраженной у обеих внутривидовых форм). Эти сдвиги незначительны (5,5—6,4; 5—5,3; 5,5—6; 5—5,6), но достоверны ($b_3 > t_{0,95}sb_i$).

Общий анализ уравнений регрессии для ЛДГ-1, 2, 3 и 5 показывает, что в изоэнзимном спектре ЛДГ скелетных мышц исследованных нами охлажденных экономок 7—10-го поколений происходят достоверные изменения активности отдельных изоэнзимов (b для всех изоэнзимов больше $t_{0,95}sb_i$). Значимость коэффициентов регрессии по взаимодействиям указывает на зависимость этих изменений от принадлежности полевки к определенному подвиду, температуры и продолжительности охлаждения (b_{12}, b_{13}, b_{123}). Внутривидовая дифференциация по общей активности ЛДГ в скелетных мышцах экономок 7—10-го поколений при охлаждении исчезает (ЛДГ одинаково увеличена в мышцах всех охлажденных животных). При этом ярко выражена внутривидовая дифференциация по свойствам данного фермента, его способности функционировать в аэробных и анаэробных условиях (см. рис. 15, где представлены расчетные данные по активности отдельных изоэнзимов и коэффициенту H/M, полученные с помощью адекватных уравнений).

Активность аэробных изоэнзимов ЛДГ-1, ЛДГ-2 и ЛДГ-3 в скелетных мышцах экономок 7—10-го поколений при экстремальном охлаждении достоверно снижается. Активность анаэробного изоэнзима ЛДГ-5 в тех же условиях увеличивается. Эти сдвиги в изоэнзимном спектре ЛДГ в сторону усиления анаэробных свойств хорошо заметны при анализе данных по коэффициенту H/M (в условиях экстремального охлаждения H/M резко снижается, что указывает на увеличение количества анаэробных M-субъединиц в составе ЛДГ). У северных экономок изменения в сторону усиления анаэробности ЛДГ выражены ярче ($b_{13} > t_{0,95}sb_i$).

При 9-дневной акклимации к температуре $0 + 3$ °С также имеются различия в реакции изоэнзимов ЛДГ южных и северных экономок. Активность аэробных изоэнзимов ЛДГ-1, ЛДГ-2, ЛДГ-3 у южных экономок снижается, в то время как

Таблица 28

Активность лактатдегидрогеназы и ее изоэнзимов в гиалоплазме скелетных мышц южных и северных узкочерепных полевок в условиях нормы и экстремального охлаждения (7—10-е поколения, декабрь 1972 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Пол $\widehat{x_1}$	Подвид $\widehat{x_2}$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widehat{x_3}$
Верхний (+)	Самка	*M. gregalis gregalis*	18
Нижний (—)	Самец	*M. gregalis major*	—15

Кодированные независимые переменные				Активность изоферментов ЛДГ, % к общей активности				Общая активность ЛДГ
				ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-5	$ЛДГ_{общ}$
№ варианта	x_1	x_2	x_3	$\bar{y}_{ul}$				$\hat{y}$
1	—	—	—	12,0	25,7	31,9	30,9	4,69
2	+	—	—	25,6	24,4	26,1	23,4	4,88
3	—	+	—	26,7	30,7	23,5	18,6	4,54
4	+	+	—	26,9	26,3	27,5	19,2	3,91
5	—	—	+	25,0	19,9	27,7	26,0	5,17
6	+	—	+	36,6	26,1	22,6	15,8	5,23
7	—	+	+	40,8	26,3	18,9	13,5	4,5
8	+	+	+	28,9	26,6	22,7	22,6	4,5

Примечание. Статистические показатели: $b_0=27,8$; $b_1=1,7$; $b_2=3,0$; $b_3=5,0$; $b_{12}=4,6$; $b_{13}=-1,80$; $b_{23}=-0.99$; $b_{123}=-1,26$; $s^2\{y\}=80,1$; $t_{0,95}s\{b_i\}=3,31$ (ЛДГ-1).

$b_0=25,7$; $b_1=0,1$; $b_2=16,7$; $b_3=1,0$; $b_{12}=-1,1$; $b_{13}=1,52$; $b_{23}=0,00$; $b_{123}=-0,35$; $s^2\{y\}=31,35$; $t_{0,95}s\{b_i\}=2.08$ (ЛДГ-2).

$b_0=25,1$; $b_1=-0,39$; $b_2=1,96$; $b_3=-2,14$; $b_{12}=2,34$; $b_{13}=0,06$; $b_{23}=-0,21$; $b_{123}=-0,11$; $s^2\{y\}=28,19$; $t_{0,95}s\{b_i\}=2,00$ (ЛДГ-3).

$b_0=21,2$; $b_1=-0,87$; $b_2=-2,67$; $b_3=-1,67$; $b_{12}=3,34$; $b_{13}=-0,80$; $b_{23}=1,26$; $b_{123}=1,49$; $s^2\{y\}=30,97$; $t_{0,95}s\{b_i\}=2,08$ (ЛДГ-5).

$b_0=4,68$; $b_1=-0,05$; $b_2=-0,34$; $b_3=0,17$; $b_{12}=0,11$; $b_{13}=0,06$; $b_{23}=0,03$; $b_{123}=0,09$; $s^2\{y\}=0,18$; $t_{0,95}s\{b_i\}=0,24$ ($ЛДГ_{общ}$).

у северных повышается или не изменяется. Активация анаэробного изоэнзима ЛДГ-5 при акклимации экономок 7—10-го поколений не достигает больших величин. Резкие различия при акклимации выявляются в распределении *H*- и *M*-субъединиц фермента (у южных экономок после 9-дневного выдерживания при температуре 0 + 3 °С происходит сдвиг в сторону увеличения числа *M*-субъединиц, у северных отношение *H*/*M* остается на уровне нормы).

В третьей серии опытов исследовали узкочерепных полевок 7—10-го поколений (табл. 28, рис. 16). Группа животных была неоднородной по полу и подвидам. Использовали план ПФЭ

типа 2^3. Определяли общую активность ЛДГ, активность ее изоэнзимов и коэффициент H/M (y) в гиалоплазме скелетных мышц самок и самцов (x_1) южных и северных (x_2) узкочерепных полевок 7—10-го поколений в зависимости от температуры 20-минутного воздействия (x_3).

Получены следующие уравнения регрессии:

$$y\ \text{ЛДГ}_{\text{общ}} = 4{,}67 - 0{,}31\,x_2;\ t_{0,95}sb_i = 0{,}25;$$
$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}07 < Fs^2y = 0{,}33;$$
$$y\ \text{ЛДГ-1} = 27{,}8 - 4{,}59\,x_1x_2 + 5{,}01\,x_3,\ t_{0,95}sb_i = 3{,}35;$$
$$s^2_{\text{ад}} = 28{,}2 < Fs^2\bar{y} = 52{,}0;$$
$$y\ \text{ЛДГ-2} = 25{,}7;\ t_{0,95}sb_i = 2{,}04;$$
$$y\ \text{ЛДГ-3} = 25{,}0 - 1{,}97\,x_2 + 2{,}37\,x_1x_2 - 2{,}14\,x_3;$$
$$t_{0,95}sb_i = 1{,}91;\ s^2_{\text{ад}} = 0{,}4 < Fs^2\bar{y} = 19{,}9;$$
$$y\ \text{ЛДГ-5} = 21{,}3 - 2{,}7\,x_2 + 3{,}48\,x_1x_2;\ t_{0,95}sb_i = 2{,}13;$$
$$s^2_{\text{ад}} = 13{,}8 < Fs^2\bar{y} = 22{,}14;$$
$$y\ H/M = 1{,}61\ t_{0,95}sb_i = 0{,}25.$$

Анализ первого уравнения показывает, что общая активность ЛДГ в скелетных мышцах охлажденных узкочерепных полевок не изменяется ($b_3 < t_{0,95}sb_i$). Обнаружены различия в активности данного фермента у южных и северных узкочерепных полевок ($b_2 > t_{0,95}sb_i$). У северных подвидов в скелетной мускулатуре содержится более активная лактатдегидрогеназа, чем у южных (4,99 и 4,36 соответственно).

Анализ отдельных изоэнзимов ЛДГ показывает, что в гиалоплазме скелетных мышц узкочерепных полевок 7—10-го поколений аэробные изоэнзимы либо преобладают (см. рис. 16), либо представлены в равной мере с анаэробными ($H/M = 2{,}3$; 1,4; 0,9). Внутривидовая дифференциация по изоэнзимам ЛДГ-1, ЛДГ-3 и ЛДГ-5 в скелетных мышцах узкочерепных полевок выявляется в условиях контроля (у неохлажденных животных) и зависит от пола ($b_{13} > t_{0,95}sb_i$). Активность указанных изоэнзимов в гиалоплазме мышц самок южного и северного подвидов одинакова, у самцов северного подвида активность ЛДГ-1 ниже, чем у южного, а ЛДГ-3 и ЛДГ-5 — выше. Эти различия крайне незначительны и не проявляются в характере распределения M- и H-субъединиц фермента (b для $H/M < t_{0,95}sb_i$). Вероятно, можно предполагать наличие тенденции в зависимости индекса H/M от температуры. В условиях нормы различия между южными и северными подвидами по данному тесту, возможно, зависят от пола (b_2, $b_{12} \approx tsb_i$), ярче выражены у самцов и менее отчетливо проявляются у самок. У самок обоих подвидов и самцов южного подвида в ЛГД преобладают H-субъединицы, а у охлажденных самцов северного подвида количество H и M-субъединиц примерно одинаково ($H/M = 0{,}9$).

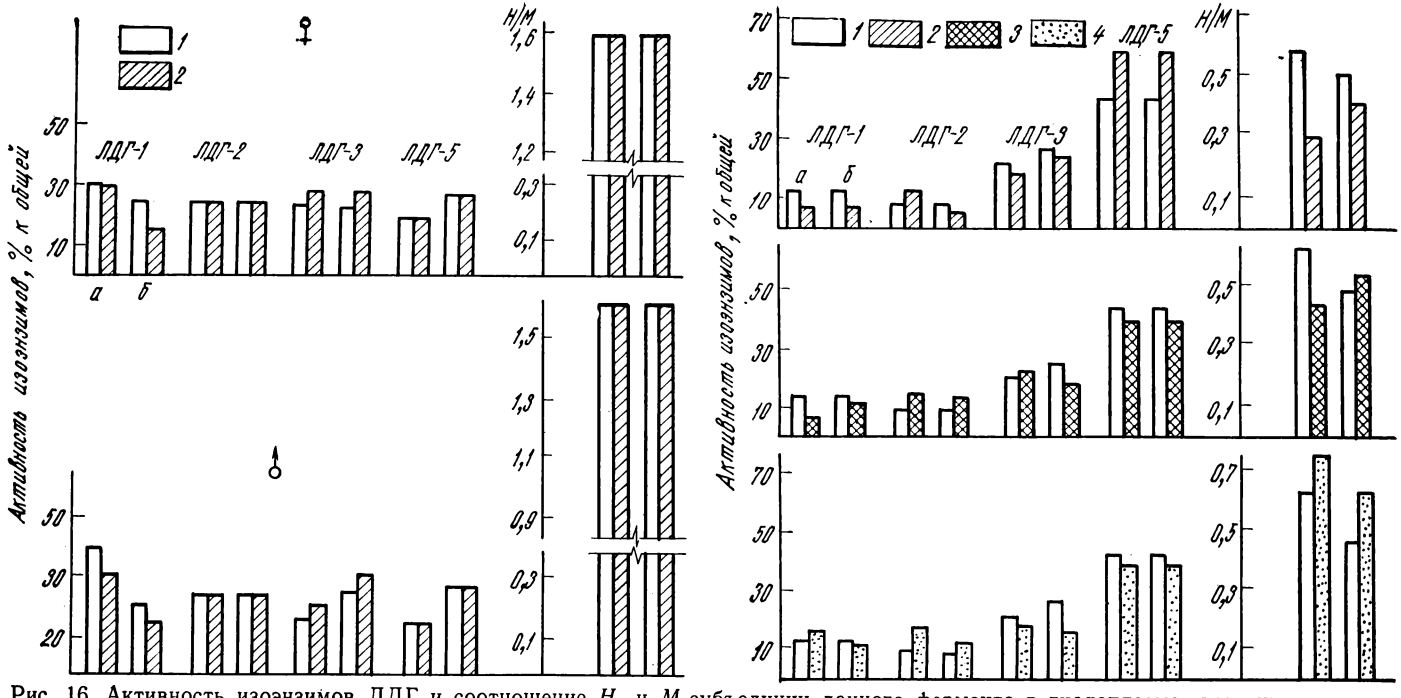


Рис. 16. Активность изоэнзимов ЛДГ и соотношение *H*- и *M*-субъединиц данного фермента в гиалоплазме скелетных мышц двух подвидов узкочерепной полевки в условиях нормы и экстремального охлаждения (7—10-е поколения, декабрь 1972 г.).

Усл. обозн. те же, что на рис. 15.

Рис. 17. Активность изоэнзимов ЛДГ и соотношение *H*- и *M*-субъединиц данного фермента в гиалоплазме скелетных мышц двух подвидов экономки в условиях нормы и охлаждения (20-е поколение, ноябрь 1973 г.).

Усл. обозн. те же, что на рис. 15.

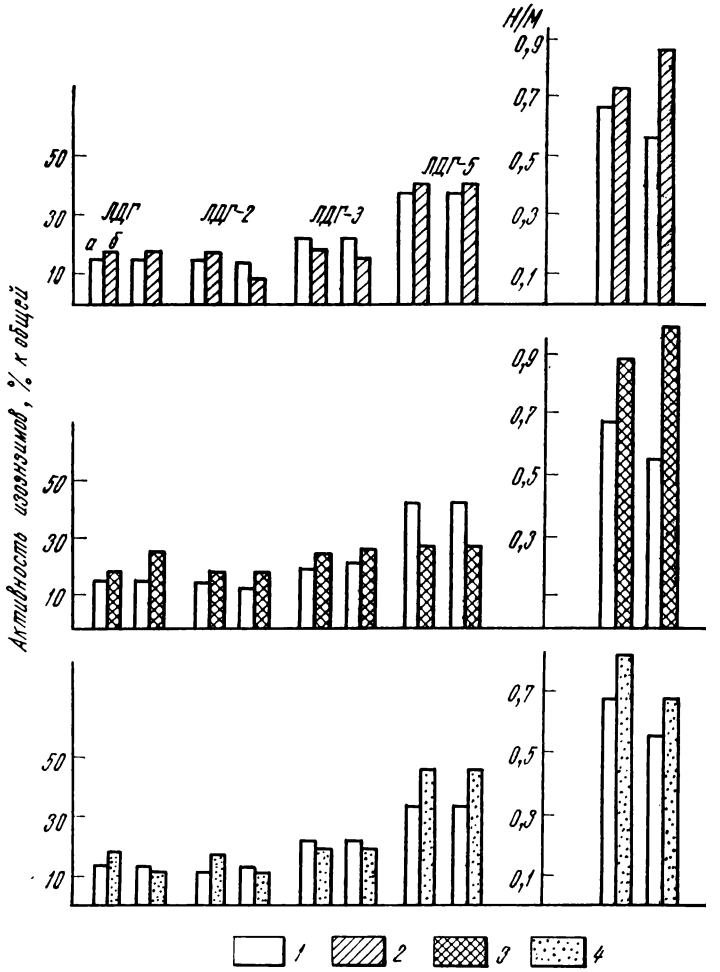


Рис. 18. Активность изоэнзимов ЛДГ и соотношение *H*- и *M*-субъединиц данного фермента в гиалоплазме скелетных мышц двух подвидов узкочерепной полевки в условиях нормы и охлаждения (20-е поколение, ноябрь 1973 г.).

Усл. обозн. те же, что на рис. 15.

Таблица 29

Активность лактатдегидрогеназы и ее изоэнзимов в гиалоплазме скелетных полевки в условиях нормы и экстремального охлаждения без предваритель

Уровень	Натуральные	
	Подвид $\widehat{x_1}$	Вид $\widehat{x_2}$
Верхний (+)	Южный	*M. oeconomus*
Нижний (—)	Северный	*M. gregalis*

Кодированные независимые переменные					Биохимический		
№ варианта					ЛДГ$_{общ}$ (59)*	ЛДГ-1 (95)	ЛДГ-2 (95)
1	—	—	—	—	6,0	11,3	14,5
2	+	—	—	—	6,0	17,7	20,5
3	—	—	—	—	6,0	10,1	11,1
4	+	+	—	—	6,0	16,5	17,1
5	—	—	+	—	5,6	19,5	9,7
6	+	—	+	—	5,6	19,5	15,7
7	—	+	+	—	5,6	8,3	6,3
8	+	+	+	—	5,6	8,3	12,3
9	—	—	—	+	5,6	22,7	17,3
10	+	—	—	+	5,6	16,3	17,7
11	—	+	—	+	5,6	11,5	13,9
12	+	+	—	+	5,6	5,1	14,3
13	—	—	+	+	6,0	14,5	12,5
14	+	—	+	+	6,0	14,5	12,9
15	—	+	+	+	6,0	13,3	9,1
16	+	+	+	+	6,0	13,3	9,5

Примечание. Статистические показатели: b_0=5,76; b_1=0,16; b_2=0,14; b_{124}=—0,04; b_{34}=0,17; b_{134}=0,04; b_{234}=—0,03; b_{1234}=0,02; $s^2\{y\}$=0,423; b_0=13,9; b_1=1,04; b_2=—3,09; b_{12}=—0,36; b_3=—0,68; b_{13}=0,71; b_{23}=—0,28; b_{234}=2,46; b_{1234}=—0,51 $s^2\{y\}$=39,25; $s^2\{\bar{y}\}$=6,54; $t_{0,95}s\{b_i\}$=1,27 (ЛДГ-1).

b_0=13,4; b_1=1,61; b_2=—1,72; b_3=—2,38; b_{12}=—0,09; b_{23}=—0,07; b_{123}=—0,53; b_{1234}=—1,106; $s^2\{y\}$=51,3; $s^2\{\bar{y}\}$=8,56; $t_{0,95}s\{b_i\}$=1,45 (ЛДГ-2).

b_0=20,89; b_1=—0,13; b_2=0,46; b_{12}=—0,63; b_3=—1,09; b_{13}=—1,19; b_{123}=—1,29; b_{234}=0,54; b_{1234}=0,24; $s^2\{y\}$=31,03; $s^2\{\bar{y}\}$=5,17; $t_{0,95}s\{b_i\}$=1,13 (ЛДГ-3).

b_0=11,12; b_1=—0,03; b_2=0,09; b_{12}=—0,83; b_3=0,82; b_{13}=—0,86; b_{23}=—1,58; b_{234}=0,26; b_{1234}=1,31; $s^2\{y\}$=43,0; $s^2\{\bar{y}\}$=12,17; $t_{0,95}s\{b_i\}$=1,73 (ЛДГ-4).

b_0=40,79; b_1=—2,28; b_2=5,41; b_{12}=1,26; b_3=3,39; b_{13}=1,47; b_{23}=3,11; b_{1234}=0,031; $s^2\{y\}$=235,69; $s^2\{\bar{y}\}$=39,28; $t_{0,95}s\{b_i\}$=3,12 (ЛДГ-5).

b_0=0,65; b_1=0,049; b_2=—0,12; b_{12}=—0,009; b_3=—0,072; b_{13}=0,025; b_{23}=—0,017; b_{234}=—0,066; b_{234}=0,091; b_{1234}=0,041; $s^2\{y\}$=0,1602; $s^2\{\bar{y}\}$=0,0276; мости среднего значения; $s\{b_i\}$—ошибка определения; $t_{0,95}s\{b\}$—критерий достоверности.

* В скобках—число опытов.

мышц южных и северных подвидов полевки-экономки и узкочерепной ной акклимации к холоду и после нее (20-е поколение, декабрь 1973 г.)

независимые переменные

Температура при 9-дневном содержании в виварии, °С $\widetilde{x_3}$	Температура при 20-дневном содержании в опыте, °С $\widetilde{x_4}$
+18	+18
0— +3	—15

показатель ($\hat{y}$)

ЛДГ-3 (95)	ЛДГ-4 (95)	ЛДГ-5 (95)	*H/M* (91)
18,4	11,1	43,4	0,68
18,2	11,1	43,4	0,81
18,2	11,1	39,8	0,63
23,2	11,1	39,8	0,76
20,6	11,1	35,8	0,86
20,8	11,1	35,8	0,72
20,8	11,1	61,0	0,42
15,9	11,1	61,0	0,29
21,2	11,1	26,8	1,01
21,0	11,1	26,8	0,87
20,9	11,1	39,6	0,57
25,9	11,1	35,6	0,44
23,3	11,1	35,6	0,54
23,5	11,1	35,6	0,67
23,5	11,1	43,6	0,48
18,6	11,1	43,6	0,64

$s_1^2=0{,}16$; $b_3=-0{,}12$; $b_{13}=-0{,}06$; $b_{23}=0{,}04$; $b_{123}=0{,}07$; $b_4=-0{,}16$; $b_{24}=0{,}06$; $s^2\{\bar{y}\}=0{,}114$; $t_{0{,}95}s\{b_i\}=0{,}17$ (ЛД $\Gamma_{общ}$).

$b_{123}=-0{,}89$; $b_4=0{,}39$; $b_{14}=-1{,}57$; $b_{24}=0{,}49$; $b_{124}=0{,}43$; $b_{34}=0{,}61$; $b_{134}=1{,}64$;

$b_4=0{,}82$; $b_{14}=-1{,}44$; $b_{24}=-0{,}07$; $b_{124}=0{,}22$; $b_{24}=-0{,}56$; $b_{134}=0{,}93$; $b_{234}=0{,}86$;

$b_{23}=-1{,}19$; $b_4=1{,}36$; $b_{14}=1{,}03$; $b_{24}=0{,}96$; $b_{124}=0{,}48$; $b_{34}=-0.31$; $b_{134}=0{,}79$;

$b_{123}=1{,}02$; $b_4=1{,}41$; $b_{14}=0{,}61$; $b_{24}=0{,}56$; $b_{124}=-0{,}37$; $b_{34}=-0{,}62$; $b_{134}=-0{,}99$;

$b_{123}=1{,}71$; $b_4=-4{,}23$; $b_{14}=1{,}17$; $b_{24}=-2{,}17$; $b_{124}=-0{,}94$; $b_{34}=0{,}84$; $b_{234}=-4{,}14$;

$b_{123}=-0{,}057$; $b_4=0{,}042$; $b_{14}=-0{,}052$; $b_{24}=0{,}012$; $b_{124}=0{,}025$; $b_{34}=-0{,}014$; $t_{0{,}95}s\{b_i\}=0{,}083$ (*H/M*), где b—коэффициент регрессии; $s^2\{y\}$—дисперсия воспроизводи-

Обнаруженные у животных 7—10-го поколений межвидовые и внутривидовые различия по общей активности ЛДГ и ее свойствам мы проверяли в четвертой серии на полевках 20-го поколения. Исследовали те же показатели ($ЛДГ_{общ}$, активность изоэнзимов и H/M) в гиалоплазме скелетных мышц южных и северных подвидов (x_1) экономки и узкочерепной полевки (x_2) в зависимости от температуры 9-дневной акклимации (x_3) и 20-минутного воздействия (x_4) (табл. 29 и рис. 17, 18).

В результате регрессионного анализа в серии на полевках 20-го поколения получены следующие уравнения:

$$y\ ЛДГ_{общ} = 5{,}83 - 0{,}17\,x_3x_4;\quad t_{0,95}sb_i = 0{,}17;$$

$$s^2_{ад}/s^2\bar{y} = 1{,}56;\quad F_{0,95(14,43)} = 2{,}7;$$

$$y\ ЛДГ\text{-}1 = 13{,}9 - 3{,}1\,x_2 - 1{,}6\,x_1x_4 - 2{,}5\,x_2x_3x_4 + 1{,}6\,x_1x_3x_4;$$

$$t_{0,95}sb_i = 1{,}27;\quad s^2_{ад}/s^2y = 0{,}95;\quad F_{0,95(11,79)} = 2{,}4;$$

$$y\ ЛДГ\text{-}2 = 13{,}4 + 1{,}6\,x_1 - 1{,}7\,x_2 - 2{,}4\,x_3 - 1{,}14\,x_1x_4;$$

$$t_{0,95}sb_i = 1{,}45;\quad s^2_{ад}/s^2y = 1{,}67;\quad F_{0,95(11,79)} = 2{,}4;$$

$$y\ ЛДГ\text{-}3 = 2{,}09 + 1{,}4\,x_4 - 2{,}2\,x_1x_3 - 1{,}2\,x_2x_3 - 1{,}3\,x_1x_2x_3;$$

$$t_{0,95}sb_i = 1{,}13;\quad s^2_{ад}/s^2y = 1{,}81;\quad F_{0,95(11,79)} = 2{,}4;$$

$$y\ ЛДГ\text{-}5 = 4{,}08 + 5{,}4\,x_2 + 3{,}4\,x_3 - 4{,}2\,x_4 + 3{,}1\,x_2x_3 - 4{,}1\,x_2x_3x_4;$$

$$t_{0,95}sb_i = 3{,}12;\quad s^2_{ад}/s^2\bar{y} = 1{,}04;\quad F_{0,95(10,79)} = 2{,}1;$$

$$y\ H/M = 0{,}65 - 0{,}12\,x_2 - 0{,}073\,x_3 + 0{,}093\,x_2x_3x_4 + 0{,}068\,x_1x_2x_3;$$

$$t_{0,95}sb_i = 0{,}059;\quad s^2_{ад} = 0{,}02 < Fs^2\bar{y} = 1{,}39.$$

Анализ уравнения для $ЛДГ_{общ}$ показывает, что южные и северные подвиды экономок и узкочерепных полевок 20-го поколения достоверно, хотя и незначительно, снижают общую активность ЛДГ в мышцах при экстремальном охлаждении и 9-дневной акклимации ($b_{34} > t_{0,95}sb_i$).

Из уравнения для ЛДГ-1 и рис. 17, 18 видно, что активность данного изоэнзима ЛДГ достоверно изменяется во всех испытанных нами вариантах охлаждения и характер изменений зависит от принадлежности животного к виду ($b_{234} > t_{0,95}sb_i$) и подвиду ($b_{134} > t_{0,95}sb_i$). Для экономок типично снижение активности ЛДГ-1, для узкочерепных полевок — повышение. Различия между южными и северными подвидами определяются вариантом охлаждения. У южных полевок во всех вариантах, кроме третьего (экстремальное, после акклимации), уровень ЛДГ-1 ниже в сравнении с северными подвидами.

Активность изоэнзима ЛДГ-2 достоверно выше, хотя и незначительно, в гиалоплазме скелетных мышц южных подвидов полевок 20-го поколения ($b_1 > t_{0,95}sb_i$). Обнаружены различия в уровне активности ЛДГ-2 у экономок и узкочерепных

Таблица 30

Активность лактатдегидрогеназы и ее изоэнзимов в гиалоплазме скелетных мышц полевок Миддендорфа в условиях нормы и экстремального охлаждения (2-е поколение, декабрь 1972 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные: Возраст, мес $\widehat{x}_1$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widehat{x}_2$
Верхний (+)	8	+18
Нижний (—)	4	—15

Кодированные независимые переменные			Активность изоэнзимов, % к общей активности $\hat{y}$				$ЛДГ_{общ}$	H/M
№ варианта	x_1	x_2	ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-5		
1	—	—	4,42	3,30	15,7	76,3	9,8	0,18
2	+	—	12,51	12,84	25,4	40,2	9,8	0,66
3	—	+	4,42	3,30	15,7	76,3	9,8	0,18
4	+	+	12,51	12,84	25,4	40,3	9,8	0,66

Примечание. Статистические показатели: $b_0=8,45$; $b_1=4,05$; $b_2=2,25$; $b_{12}=-2,12$; $s^2\{y\}=62,83$; $t_{0,95}sb_i=4,32$ (ЛДГ-1).

$b_0=8,07$; $b_1=4,72$; $b_2=2,97$; $b_{12}=-0,32$; $s^2\{y\}=50,21$; $t_{0,95}s\{b_i\}=2,86$ (ЛДГ-2).

$b_0=20,60$; $b_1=4,85$; $b_2=0,60$; $b_{12}=2,20$; $s^2\{y\}=37,58$; $t_{0,95}s\{b_i\}=3,34$ (ЛДГ-3).

$b_0=58,30$; $b_1=-18,0$; $b_2=-6,75$; $b_{12}=-0,60$; $s^2\{y\}=23,5$; $t_{0,95}sb_i=8,36$ (ЛДГ-5).

$b_0=9,80$; $b_1=-0,40$; $b_2=0,23$; $b_{12}=-0,04$; $s^2\{y\}=0,41$; $t_{0,95}s\{b_i\}=0,89$ ($ЛДГ_{общ}$).

$b_0=0,42$; $b_1=0,24$; $b_2=0,08$; $b_{12}=0,00$; $s^2\{y\}=0,11$; $t_{0,95}s\{b_i\}=0,15$ (H/M).

полевок ($b_2 > t_{0,95}sb_i$). Вторые, независимо от исследованных вариантов охлаждения, имеют более высокий уровень активности изоэнзима ЛДГ-2, чем первые. Наблюдается явная активация изоэнзима ЛДГ-2 у обоих видов и подвидов полевок после 9-дневной акклимации к температуре 0 + 3 °С ($b_3 > t_{0,95}sb_i$). При экстремальном охлаждении активность ЛДГ-2 изменяется в зависимости от принадлежности полевки к северному или южному подвиду ($b_{14} > t_{0,95}sb_i$).

Из уравнения для ЛДГ-3 видно, что все исследованные нами в данной серии грызуны, независимо от таксономического ранга, при экстремальном охлаждении снижают активность ЛДГ-3 ($b_4 > t_{0,95}sb_i$). Реакция на 9-дневное охлаждение (0 + 3 °С) зависит от принадлежности животного к подвиду и виду ($b_{123} > t_{0,95}sb_i$). Северные экономки снижают активность ЛДГ-3 в вариантах с акклимацией. Активность данного изоэнзима у южных экономок и узкочерепных полевок, напротив, в этих

Таблица 31

Активность лактатдегидрогеназы и ее изоэнзимов в гиалоплазме скелетных мышц полевок Миддендорфа в условиях нормы и экстремального охлаждения (2-е поколение, февраль 1973 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные: Пол $\widetilde{x}_1$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widetilde{x}_2$
Верхний (+)	Самка	+18
Нижний (—)	Самец	—15

Кодированные независимые переменные			Активность изоэнзимов ЛДГ, % к общей активности				*H/M*
			ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-5	
№ варианта	x_1	x_2	$\hat{y}$				
1	—	—	14,50	21,4	29,7	34,3	0,91
2	+	—	2,05	17,4	31,7	47,0	0,44
3	—	+	6,67	25,9	32,9	34,6	0,77
4	+	+	5,75	24,0	35,1	35,6	0,69

Примечание. Статистические показатели: $b_0=7{,}24$; $b_1=-3{,}34$; $b_2=-1{,}03$; $b_{1,2}=2{,}88$; $s^2\{y\}=29{,}63$; $t_{0,95}s\{b_i\}=3{,}39$ (ЛДГ-1).

$b_0=22{,}40$; $b_1=-14{,}70$; $b_2=2{,}77$; $b_{12}=0{,}52$; $s^2\{y\}=20{,}67$; $t_{0,95}s\{b_i\}=2{,}83$ (ЛДГ-2).

$b_0=32{,}3$; $b_1=1{,}10$; $b_2=1{,}60$; $b_{12}=0{,}10$; $s^2\{y\}=24{,}58$; $t_{0,95}s\{b_i\}=3{,}09$ (ЛДГ-3).

$b_0=37{,}70$; $b_1=3{,}27$; $b_2=-2{,}92$; $b_{12}=-3{,}07$; $s^2\{y\}=77{,}1$; $t_{0,95}s\{b_i\}=5{,}46$ (ЛДГ-5).

$b_0=0{,}72$; $b_1=-0{,}12$; $b_2=0{,}01$; $b_{12}=0{,}08$; $s^2\{y\}=0{,}13$; $t_{0,95}s\{b_i\}=0{,}21$; (*H/M*).

вариантах не изменяется. Анализ результатов определения активности ЛДГ-5 (см. уравнение и рис. 17, 18) показывает, что реакция на экстремальное охлаждение по данному тесту зависит от видовой принадлежности животного и предварительной акклимации ($b_{234} > t_{0,95}sb_i$). В условиях 9-дневного выдерживания животных при температуре 0 + 3 °С активность изоэнзима ЛДГ-5 в гиалоплазме скелетных мышц экономок и узкочерепных полевок уменьшается (см. рис. 17, 18). В условиях экстремального охлаждения экономки резко увеличивают ЛДГ-5, узкочерепные полевки ее не изменяют.

Характер изменений коэффициента *H/M* (см. уравнение и рис. 17, 18) у охлажденных полевок 20-го поколения обусловлен подвидом и видом животного (b_{134} и $b_{234} > t_{0,95}sb_i$). У южных подвидов экономки и узкочерепной полевки коэффициент *H/M* при охлаждении ниже, чем у северных, эти различия определяются условиями экстремального охлаждения и аккли-

Таблица 32

Изменение ректальной температуры у двух подвидов полевки-экономки в разных условиях охлаждения (5—6-е поколения)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Подвид $\widetilde{x}_1$	Температура 9-дневного выдерживания, °С $\widetilde{x}_2$	Температура 20-минутного воздействия, °С $\widetilde{x}_3$
Верхний (+)	*M. oeconomus oeconomus*	+16	+18
Нижний (—)	*M. oeconomus chachlovi*	0	—15

Кодированные независимые переменные				Ректальная температура, °С				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	29,0	26,0	—	27,5	28,1
2	+	—	—	34,0	31,0	27,6	30,9	28,1
3	—	+	—	23,4	25,4	23,0	23,9	25,4
4	+	+	—	22,4	29,6	23,0	25,0	25,4
5	—	—	+	34,3	32,2	—	33,8	31,7
6	+	—	+	30,8	30,4	33,8	31,7	31,7
7	—	+	+	35,3	22,0	35,0	34,4	34,4
8	+	+	+	32,0	31,6	33,7	32,4	34,4

Примечание. Статистические показатели: $b_0=29,9$; $b_1=0,05$; $b_2=-1,02$; $b_3=3,12$; $b_{12}=-0,27$; $b_{13}=-1,07$; $b_{23}=1,35$; $b_{123}=0,3$; $s^2\{y\}=5,35$; $t_{0,95}s\{b_i\}=1,24$.

мации (в варианте с экстремальным охлаждением адаптированных к холоду полевок наблюдаются обратные отношения). Изменения коэффициента *H/M* в охлажденной группе 20-го поколения разные у экономок и узкочерепных полевок, но в последнем варианте при охлаждении адаптированных животных различия не выражены. Для экономок исследованной группы характерно снижение коэффициента *H/M* при экстремальном охлаждении и акклимации, которое ярче проявляется у южных внутривидовых форм (см. рис. 17). Для узкочерепных полевок так же, как в сериях на животных 7—10-го поколений, типично увеличение коэффициента *H/M* при олаждении (или отсутствие изменений).

В пятой и шестой сериях сотрудница нашей группы Н. Ф. Завада при участии лаборанта Г. П. Павлова [99] изучала общую активность ЛДГ и ее свойства в гиалоплазме скелетных мышц полевок Миддендорфа. В пятой серии группа животных была неоднородной по полу, в шестой — по возрасту. Анализ

Таблица 33

Изменения ректальной температуры у двух подвидов узкочерепной полевки в разных условиях охлаждения (7—10-е поколения)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Пол $\widetilde{x_1}$	Подвид $\widetilde{x_2}$	Температура 20-минутного воздействия, °С $\widetilde{x_3}$
Верхний (+)	Самка	*M. gregalis gregalis*	+18
Нижний (—)	«	*M. gregalis major*	—14

Кодированные независимые переменные				Ректальная температура, °С				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\widetilde{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	30,6	31,0	26,6	29,4	28,2
2	+	—	—	29,0	30,6	22,0	27,2	28,2
3	—	+	—	28,0	28,0	—	28,4	28,2
4	+	+	—	25,0	28,7	30,4	28,0	28,2
5	—	—	+	35,4	33,4	31,6	33,4	33,0
6	+	—	+	33,2	35,0	30,4	32,8	33,0
7	—	+	+	32,4	—	—	32,4	33,0
8	+	+	+	32,2	35,0	—	33,6	33,0

Примечание. Статистические показатели: $b_0=30{,}6$; $b_1=-0{,}25$; $b_2=-0{,}05$; $b_3=2{,}37$; $b_{12}=0{,}45$; $b_{13}=0{,}40$; $b_{23}=0$; $b_{123}=0$; $s^2\{y\}=7{,}64$; $t_{0,95}s\{b_i\}$.

полученных величин общей активности ЛДГ (табл. 30, 31) показывает, что скелетные мышцы исследованных представителей субарктического вида серых полевок имеют высокий уровень общей активности конечного фермента гликолиза (5,7 мкмолей НАД·H_2/мл·10^4 в феврале, 9,8 — в декабре).

В условиях 20-минутного выдерживания полевок Миддендорфа при температуре —15 °С общая активность ЛДГ и ее изоэнзимов в скелетной мускулатуре животных не изменяется ($b < t_{0,95}sb_i$). Обнаружены различия между 8- и 4-месячными полевками ($b_1 > t_{0,95}sb_i$). В целом изоэнзимный спектр ЛДГ в скелетных мышцах исследованной группы полевок субарктического вида характеризуется преобладанием *M*-субъединиц. Коэффициент *H/M* в гиалоплазме скелетных мышц 18 из 20 исследованных полевок Миддендорфа составляет величину порядка 0,65—0,72 ед. (Обнаруженный нами очень низкий коэффициент *H/M* у двух самцов 4-месячного возраста, вероятно, связан с патологическими сдвигами, так как эти животные имели не типичную для данного возраста массу и очень резко снижали ректальную температуру при охлаждении.)

Таблица 34

Изменения ректальной температуры у близких форм полевок в разных условиях охлаждения (20-е поколение)

Уровень	Натуральные независимые переменные			
	Подвид $\widetilde{x}_1$	Вид $\widetilde{x}_2$	Температура 9-дневного выдерживания, °С $\widetilde{x}_3$	Температура 20-минутного воздействия, °С $\widetilde{x}_4$
Верхний (+)	Номинальный	*M. oeconomus*	+16	+18
Нижний (—)	Северный	*M. gregalis*	0	—15

Кодированные независимые переменные					Ректальная температура, °С				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	x_4	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	—	26,0	36,8	34,0	32,6	32,9
2	+	—	—	—	31,4	36,8	33,6	33,9	32,9
3	—	+	—	—	36,2	36,0	34,0	35,0	32,9
4	+	+	—	—	37,0	36,6	27,0	33,5	32,9
5	—	—	+	—	25,6	30,0	38,0	31,2	32,9
6	+	—	+	—	29,4	29,0	36,6	31,7	32,9
7	—	+	+	—	30,0	32,8	34,6	32,5	32,9
8	+	+	+	—	31,0	31,0	37,6	33,2	32,9
9	—	—	—	+	35,0	38,4	37,0	36,8	36,7
10	+	—	—	+	37,2	37,0	38,4	37,5	36,7
11	—	+	—	+	37,2	36,0	37,0	36,7	36,7
12	+	+	—	+	36,4	37,6	38,8	37,6	36,7
13	—	—	+	+	35,0	35,4	39,4	36,6	36,7
14	+	—	+	+	35,0	35,4	37,8	36,1	36,7
15	—	+	+	+	35,0	35,2	37,4	35,9	36,7
16	+	+	+	+	37,0	35,0	38,2	36,7	36,7

Примечание. Статистические показатели: $b_0=34,8$; $b_1=0,17$; $b_2=0,30$; $b_3=-0,612$; $b_4=1,89$; $b_{12}=-0,075$; $b_{13}=0,012$; $b_{14}=0,062$; $b_{23}=0,037$; $b_{24}=-0,31$; $b_{123}=0,26$; $b_{124}=0,26$; $b_{234}=-0,05$; $b_{134}=-0,175$; $b_{1234}=-0,125$; $t_{0,95}s\{b_i\}=0.94$.

В табл. 32, 33, 34 представлены результаты определения ректальной температуры полевок-экономок и узкочерепных полевок в тех сериях, где изучали особенности изменений в энергетическом обмене этих животных в разных вариантах охлаждения. При изучении ректальной температуры получены уравнения регрессии.

Для полевок-экономок

$$y = 29,9 + 3,1\,x_3 + 1,35\,x_2x_3;$$

$$t_{0,95}sb_i = 1,24;\ s^2_{\text{ад}} = 3,16 < Fs^2y = 6,42.$$

Таблица 35

Активность изоэнзимов лактатдегидрогеназы в гиалоплазме скелетных мышц памирской и арчевой полевок в условиях физиологической нормы и охлаждения (4—5-е поколения, ноябрь 1975 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Пол $\widetilde{x_1}$	Объект исследования $\widetilde{x_2}$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widetilde{x_3}$
Верхний (+)	Самка	*M. juldaschi*	+18
Нижний (—)	Самец	*M. carruthersi*	—15

Кодированные независимые переменные				Активность изоэнзимов, % к общей				*H/M*
				ЛДГ-1	ЛДГ-2	ЛДГ-3	ЛДГ-5	
№ варианта	x_1	x_2	x_3	$\hat{y}$				
1	—	—	—	19,2	20,2	19,8	29,8	0,86
2	+	—	—	22,0	20,2	19,8	29,8	0,86
3	—	+	—	22,0	20,2	19,8	25,9	1,02
4	+	+	—	19,2	20,2	19,8	25,9	1,02
5	—	—	+	17,2	20,2	24,5	23,7	0,94
6	+	—	+	14,3	20,2	24,5	23,7	0,94
7	+	+	+	17,2	20,2	24,5	19,8	0,94
8	+	+	+	19,2	20,2	24,5	19,8	0,94

Примечание. Статистические показатели: b_0=18,10; b_1=—0,38; b_2=0,63; b_3=2,41; b_{12}=0,57; b_{13}=0,31; b_{23}=0,18; b_{123}=—1,42; $s^2\{y\}$=12,80; $t_{0,95}s\{b_i\}$=1,14 (ЛДГ-1).

b_0=20,20; b_1=0,47; b_2=0,64; b_3=0,21; b_{12}=0,34; b_{13}=0,12; b_{23}=0,28; b_{123}=0,41; $s^2\{y\}$=7,5; $t_{0,95}s\{b_i\}$=0,87 (ЛДГ-2).

b_0=22,20; b_1=0,23; b_2=0,31; b_3=—2,38; b_{12}=0,26; b_{13}=0,10; b_{23}=0,40; b_{123}=0,38; $s^2\{y\}$=1,59; $t_{0,95}s\{b_i\}$=0,89; (ЛДГ-3).

b_0=24,80; b_1=—0,98; b_2=—1,91; b_3=3,06; b_{12}=—0,80; b_{13}=0,19; b_{23}=—1,05; b_{123}=—0,17; $s^2\{y\}$=4,35; $t_{0,95}s\{b_i\}$=1,49 (ЛДГ-5).

b_0=0,94; b_1=0,02; b_2=0,04; b_3=0,01; b_{12}=0,02; b_{13}=0,04; b_{23}=0,04; b_{123}=0,04; $s^2\{y\}$=0,04; $t_{0,95}s\{b_i\}$=0,04 (*H/M*).

Для узкочерепных полевок

$$y = 30{,}6 + 2{,}4\,x_3;\quad t_{0,95}sb_i = 1{,}52;$$
$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}57 < Fs^2\bar{y} = 9{,}15.$$

В сериях, где определяли ректальную температуру полевок-экономок и узкочерепных полевок 20-го поколения, получено уравнение регрессии

$$y = 34{,}8 + 1{,}89\,x_4;\quad t_{0,95}sb_i = 0{,}94;$$
$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}96 < Fs^2y = 7{,}07.$$

Анализ уравнений показывает, что все исследованные нами полевки снижали ректальную температуру при определенной

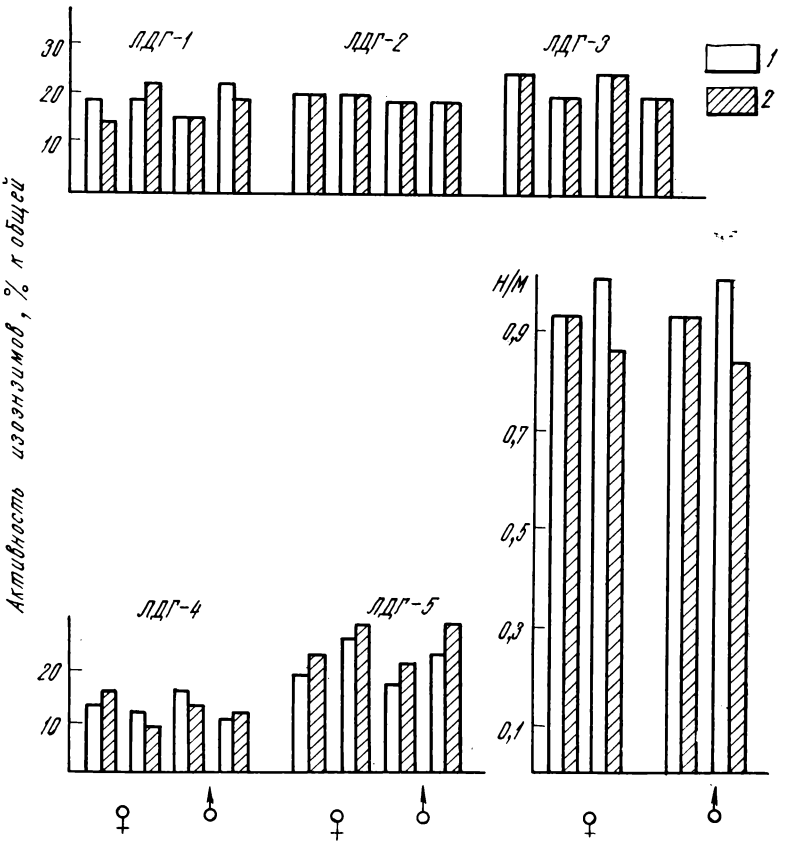


Рис. 19. Активность изоэнзимов и соотношение *H*- и *M*-субъединиц ЛДГ в гиалоплазме скелетных мышц памирской (*а*) и арчевой (*б*) полевок в условиях нормы (*1*) и экстремального охлаждения (*2*).

температуре внешней среды (коэффициенты регрессии, характеризующие влияние 15-минутного экстремального охлаждения или акклимации в течение 9 дней, больше соответствующих величин — $t_{0,95}sb_i$).

В 7—10-м поколениях полевки-экономки адаптируются в условиях кратковременного экстремального охлаждения менее активно, чем узкочерепные полевки (первые снижают ректальную температуру на 9,3 °С, в то время как вторые — на 4,8 °С). Предварительное выдерживание полевок-экономок при температуре среды 0 + 3 °С (в течение 9 дней) увеличивает их способность в экстремальных условиях поддерживать температуру тела на уровне, близком к физиологическому (в варианте с экстремальным охлаждением после 9-дневной акклимации ректальная температура снижается на 6,3 °С).

Разведение в виварии, как показывают наши данные, повы-

шает приспособляемость полевок-экономок к холоду, ректальная температура снижается не на 9,3°, как в 7—10-м поколениях, а на 3,8° (20-е поколение).

Незначительные сдвиги в приспособляемости к холоду наблюдаются и у узкочерепных полевок 20-го поколения (снижение ректальной температуры при экстремальном охлаждении на 4,8° в 7—10-м поколениях и на 3,8° — в 20-м).

Характерно, что коэффициенты регрессии, характеризующие зависимость снижения ректальной температуры от принадлежности животного к подвиду, номинальному или северному, недостоверны ($b_1 < t_{0,95} sb_i$ во всех описанных сериях).

Таким образом, различия в биохимических показателях у охлажденных животных разных подвидов и видов (в 20-м поколении) при одинаковой их приспособляемости к одним и тем же температурным условиям, вероятно, указывают на качественное своеобразие этой приспособляемости, различие путей биохимической адаптации, с помощью которых достигается один и тот же результат у животных, принадлежащих к экологическим группам разного ранга и разной степени дифференциации.

Проведено сравнительное изучение изоэнзимного спектра лактатдегидрогеназы в гиалоплазме скелетных мышц памирской и арчевой полевок (табл. 35 и рис. 19) [245]. Исследование самок и самцов (x_1) двух подвидов (x_2) осуществлено в условиях температур +18 и —15 °С (x_3). Получены следующие уравнения регрессии:

$$y \text{ ЛДГ-1} = 18{,}1 + 2{,}41\,x_3 - 1{,}42\,x_1x_2x_3;\ t_{0,95}sb_i = 1{,}14;$$
$$s^2_{\text{ад}} = 1{,}46 < Fs^2\bar{y} = 6{,}42;$$
$$y \text{ ЛДГ-2} = 22{,}2 - 2{,}38\,x_3;\ t_{0,95}sb_i = 0{,}89;$$
$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}72 < Fs^2\bar{y} = 2{,}76;$$
$$y \text{ ЛДГ-3} = 13{,}9 - 2{,}32\,x_3 + 1{,}28\,x_1x_2x_3;\ t_{0,95}sb_i = 1{,}00;$$
$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}76 < Fs^2\bar{y} = 0{,}96;$$
$$y \text{ ЛДГ-5} = 24{,}8 - 1{,}9\,x_2 + 3{,}06\,x_3;\ t_{0,95}sb_i = 1{,}49;$$
$$s^2_{\text{ад}} = 4{,}48 < Fs^2\bar{y} = 10{,}8;$$
$$y\ H/M = 0{,}94 + 0{,}04\,x_2 + 0{,}04\,x_2x_3;\ t_{0,95}sb_i = 0{,}04;$$
$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}006 < Fs^2\bar{y} = 0{,}009.$$

Анализ уравнений и соответствующих расчетных данных (см. рис. 19) показывает, что различия абсолютной активности исследованных изоэнзимов памирской и арчевой полевок зависят от пола и температурных условий ($b_{123} > t_{0,95}sb_i$) и, несмотря на достоверность, очень незначительны. Более выражены особенности распределения *H*- и *M*-субъединиц лактатдегидрогеназы (см. рис. 19).

При температуре +18 °С памирские полевки имеют в скелетных мышцах ЛДГ, способную одновременно функционировать в аэробных и анаэробных условиях ($H/M \approx 1{,}0$). У арчевых полевок эта способность ЛДГ выражена еще сильнее ($H/M = 1{,}0$). При охлаждении памирская полевка сохраняет ЛДГ с широким спектром приспособляемости ($H/M \approx 1{,}0$), арчевая — отчетливо усиливает активность анаэробных изоэнзимов ЛДГ (H/M снижается). Изменения в анаэробных и аэробных свойствах ЛДГ, как свидетельствует коэффициент H/M, зависят только от принадлежности животных к подвиду и от температуры среды (b_1, b_2 и $b_{123} > tsb_i$) и не связаны с полом грызунов.

2.6. ДЫХАНИЕ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ ОХЛАЖДЕННЫХ ПОЛЕВОК В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ВИДА И РАНГА ГРУППЫ

Дыхание — это сложный многоступенчатый процесс, в ходе которого происходят отщепление водорода и перенос соответствующих протонов и электронов от органических субстратов в животной клетке на молекулярный кислород. Окислительное, или дыхательное, фосфорилирование — это аккумуляция энергии окисления в дыхательной цепи в виде макроэргического аденозинтрифосфата. Сложные органические вещества, которые используются организмом как питательные, прежде чем стать донорами электронов в реакциях окислительного фосфорилирования, унифицируются, превращаясь в низкомолекулярные карбоновые кислоты с числом углеродных атомов от двух до шести.

Согласно общепринятой схеме (рис. 20), эти превращения происходят в первых двух фазах катаболизма, когда биологические полимеры (липиды, полисахариды и белки), подвергаясь действию гидролитических ферментов (липаза, амилаза, протеиназа), сначала преобразуются в мономеры (жирные кислоты, глицерин, гексозы и аминокислоты), а потом в результате β-окисления, гликолиза и дезаминирования — в ацетил-$К_0$А, пировиноградную, молочную, щавелево-уксусную и α-кетоглутаровую кислоты [138, 156]. Тканевое дыхание, субстратами для которого являются перечисленные ди-, три- и монокарбоновые кислоты, и сопряженное с ним окислительное фосфорилирование — это третья, заключительная фаза катаболизма, общая для жиров, углеводов и белков и имеющая в качестве конечных продуктов углекислоту, воду и макроэргический аденозинтрифосфат. Процесс тканевого дыхания начинается с включения ацетил-$К_0$А в цикл трикарбоновых кислот (или

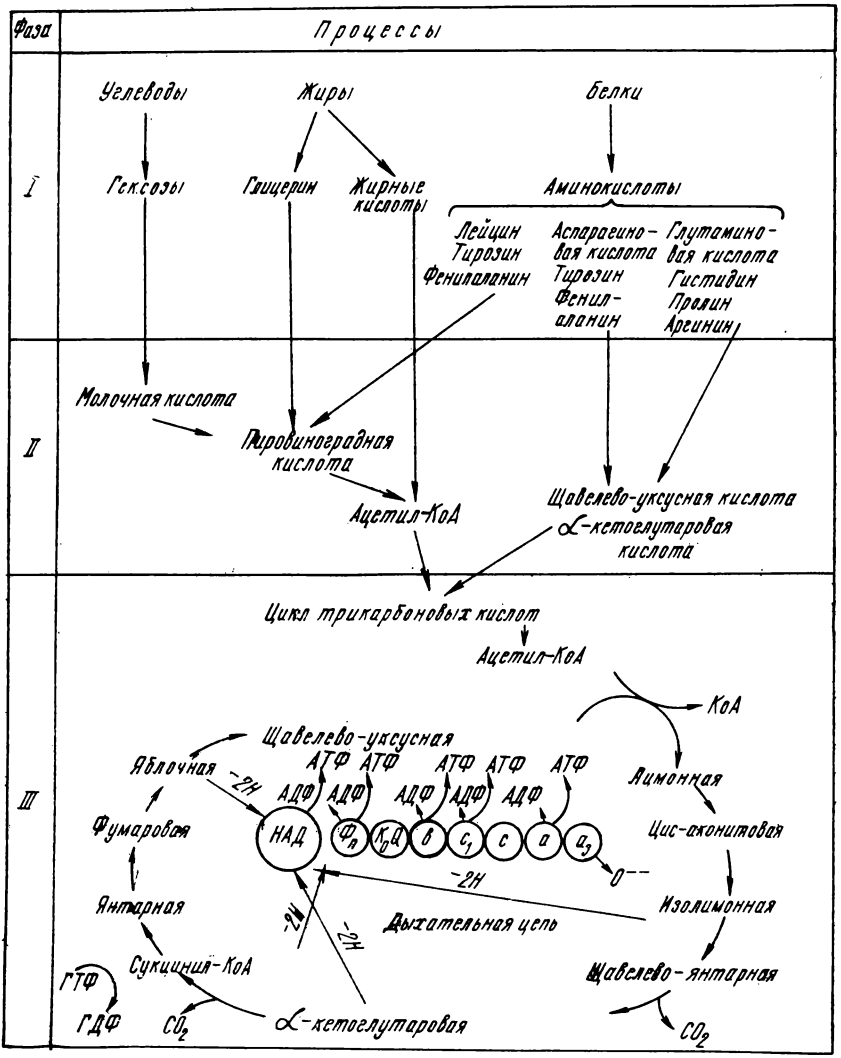


Рис. 20. Фазы распада питательных веществ (по данным [138, 348] с дополнениями и изменениями).

цикл Кребса), который описан еще в 1938 г. и исключительно важен в энергетическом обмене организма.

Суммарная реакция цикла трикарбоновых кислот описывается уравнением: $CH_3COOH + 2H_2O \rightarrow 2CO_2 + 8H$. В цикл не вовлекается молекулярный кислород, в нем не участвует неорганический фосфат и не образуется макроэргический аденозинтрифосфат. Главная функция трикарбонового цикла — дегидрирование уксусной кислоты, которое приводит к образованию двух молекул углекислоты и четырех пар атомов водорода. Дегидрирование (см. рис. 20) осуществляется с помощью ряда ферментов за счет взаимодействия в начале цикла каждой молекулы ацетата с щавелево-уксусной кислотой, в результате чего образуется трикарбоновая лимонная кислота, превращающаяся последовательно в кетоглутаровую, янтарную, фумаровую, яблочную и снова щавелево-уксусную.

Последняя дикарбоновая кислота в трикарбоновом цикле практически не расходуется, так как постоянно регенерирует: одной ее молекулы достаточно для окисления неограниченного числа молекул уксусной кислоты.

При окислении пировиноградной кислоты, которая превращается в ацетил-K_0A с помощью пируватдегидрогеназной ферментной системы, происходит пять дегидрирований и три декарбоксилирования. Отщепившийся при дегидрировании карбоновых кислот водород поступает к трем переносчикам водорода: $НАД^+$, флавину и липоевой кислоте, после чего три потока, питающие водородом дыхательную цепь, сливаются в один, направляясь к следующему акцептору — убихинону, или коэнзиму Q [189, 107, 227, 45].

При окислении убихинона электрон освобождается от ядра атома водорода, и дальнейший процесс окисления в дыхательной цепи представляет перенос электрона в системе цитохромов: b, c_1, c, a и a_3. Электрон и H^+ встречаются на последнем этапе дыхательной цепи, в реакции с молекулярным кислородом.

В процессе дыхания принимают участие пиридиннуклеотидные [529, 531, 48] и флавопротеиновые ферменты. Первые катализируют НАД-зависимые реакции и, отщепляя водород от субстрата (цитрата, малата, глутаминовой кислоты и т. д.), передают его на первый акцептор водорода — $НАД^+$ (никотинамидадениндинуклеотид), НАМ (никотинамидмононуклеотид) или НАДФ (никотинамидадениндинуклеотидфосфат).

Простетической группой флавиновых ферментов дыхательной цепи служит флавинадениндинуклеотид (ФАД), который прочно связан с белковой частью фермента. К флавопротеиновым ферментам дыхательной цепи относят описанную нами сукцинатдегидрогеназу и $НАД \cdot H_2$ дегидрогеназу. Цитохромы, включая цитохромоксидазу (или цитохром $a + a_3$), представляют собой металлсодержащие белки типа гемоглобина и миоглобина. Простетическая группа цитохромов включает металло-

порфирин, в котором железо (или медь), меняя валентность, может быстро принимать и отдавать электроны [612, 452].

Транспорт электронов в дыхательной цепи от НАД·H_2 на O_2 через систему указанных цитохромов осуществляется в клетке благодаря разнице окислительно-восстановительных потенциалов между ними [273, 209]. Мысль о том, что с этим транспортом электронов связаны процесс захвата неорганическим фосфатом освобождающейся энергии, перенос ее на АДФ и образование макроэргических молекул АТФ, была впервые высказана П. А. Белицером и Е. Т. Цыбаковой [25].

В настоящее время в работах ряда исследователей создана схема сопряженного с дыханием фосфорилирования и установлены пункты фосфорилирования, где происходят захват, связывание, транспортировка и трансформация энергии переноса электронов в химическую макроэргическую фосфатную связь АТФ.

Для количественной характеристики сопряженности окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи в [25] предложен и в настоящее время широко используется коэффициент фосфорилирования Р/О (отношение числа грамм-атомов эстерофицированного фосфата к числу грамм-атомов поглощенного кислорода). Величина Р/О зависит от окисляемых субстратов, так как каждый из них имеет определенное место вхождения в дыхательную цепь [270]. Существует мнение, что в дыхательной цепи функционируют три (или четыре) пункта фосфорилирования [383, 610, 501]. Поэтому теоретическое значение Р/О для α-кетоглутарата и пирувата составляет 4,0 (или 5,0) ед., для глутамата, малата, β-оксибутирата — 3,0 (или 4,0), для сукцината — 2,0 (или 3,0), при окислении аскорбата, адреналина Р/О = 1,0 (или 2,0). В эксперименте уровень Р/О, как правило, ниже [474, 531, 534]. Величина коэффициента сопряжения неодинакова для разных тканей [391, 578] и зависит от таксономического положения объекта [49—51, 634].

Дыхательный контроль — отношение скорости потребления кислорода при окислении субстрата в отсутствие АДФ к скорости потребления кислорода того же субстрата при добавлении АДФ (v_0/v_{III}) — широко используется в биохимических экспериментах наряду с коэффициентом Р/О как показатель сопряженности дыхания и фосфорилирования в клетке [402, 565, 324]. Величина дыхательного контроля варьирует в зависимости от ткани и природы окисляемого субстрата [484].

Энергия, которая освобождается при переносе электронов в дыхательной цепи, может быть использована не только для синтеза макроэргического аденозинтрифосфата. Известно, что имеет место сопряжение между дыханием и активным транспортом ионов через мембраны, конформацией отдельных биологических структур.

Энергия дыхательной цепи расходуется также на обратный

перенос электронов с молекулярного кислорода на НАД·H_2, на реакцию восстановления НАДФ с помощью НАД·H_2. С точки зрения современной химиоосмотической теории сопряжения [549, 278, 281], окисление и фосфорилирование сопряжены через мембранный потенциал, который образуется дыхательной цепью и потребляется АТФ-азой, функционирующей в этом случае как АТФ-синтетаза.

Окисление дыхательных переносчиков может происходить без образования макроэргических фосфорных соединений [530, 400]. Так как такое свободное окисление не зависит от фосфорилирования, при ослаблении сопряженности между окислением и фосфорилированием количество неорганического фосфата, потребленного одним грамм-атомом поглощенного кислорода, резко уменьшается (снижается уровень Р/О) и коэффициент, характеризующий дыхательный контроль (v_0/v_{III}), также снижается.

Установлено, что свободное окисление (за исключением гидролитического типа) устойчиво к таким ядам, как амитал и антимицин *А*, в то время как окисление, сопровождающееся образованием макроэргического фосфата, напротив, обладает высокой чувствительностью к указанным ядам [450, 504, 529—531, 503, 364, 363]. «Пункт перекреста» (точка приложения действия ингибитора на дыхательную цепь) при торможении амиталом в фосфорилирующих органеллах локализуется между флавопротеидом и цитохромом [405, 530], в нефосфорилирующих — между НАД·H_2 и флавопротеидом [452]. Свободное и фосфорилирующее окисления сосуществуют в организме, который регулирует соотношение между ними в зависимости от условий внешней среды.

Известно, что аденозинтрифосфат, который образуется при переносе электронов и протонов в дыхательной цепи, рассматривается как универсальный для всех клеток аккумулятор энергии, обеспечивающий осуществление элементарных и специфических функций организма и участвующий в многочисленных синтетических реакциях. Аденозинтрифосфат — источник энергии, непосредственный предшественник в биосинтезах (так как входит в качестве интегральной части в молекулу отдельных коэнзимов), функционирует как фосфорилирующий агент [168, 353, 186, 621, 151, 566, 575, 54, 287].

Фосфорилирующее окисление в дыхательной цепи служит, таким образом, основным поставщиком АТФ и как биологический способ приобретения энергии является высокоэффективным процессом (при реализации четырех фосфорилирований в цепи дыхания 3/4 всей энергии окисления оказывается аккумулированной в виде АТФ). Высокий КПД связан с определенным, жестко закрепленным расположением энзимов, катализирующих перенос электронов и протонов. Нарушение структуры приводит к «повреждению» фосфорилирующего окисления.

В то же время сложный механизм сопряжения окисления и фосфорилирования удлиняет во времени процесс получения энергии. Фосфорилирование тормозит скорость окислительных реакций [524, 534, 545, 530, 531, 497].

Следовательно, фосфорилирующее окисление ограничено во времени и пространстве, и в определенных условиях, когда имеет значение быстрота получения энергии, а целостность биологических структур нарушена (или слабо выражена, как в цитоплазме), адаптация организма требует активации менее энергетически экономного, но более «оперативного», свободного окисления.

Так, понижение коэффициента Р/О, ослабление сопряженности наблюдаются при кратковременном экстремальном охлаждении животных [571, 613, 615, 270, 277, 279, 280, 177—179, 155]. При этом степень снижения Р/О в митохондриях коррелирует с выживаемостью животных. В условиях длительного неэкстремального охлаждения, когда элемент быстроты в получении энергии не играет существенной роли, сопряженность усиливается, коэффициент Р/О повышается, фосфорилирующее окисление для организма приобретает первостепенное значение, свободное окисление становится менее ярко выраженным [631, 482].

Доказано, что свободное окисление служит источником водорода и низкомолекулярных субстратов для восстановительных синтезов [447—449, 560, 530, 233, 136, 483 и др.]. В скелетных мышцах растущих петушков обнаружена обратная корреляция между коэффициентом Р/О и темпом роста животных [280]. Снижение Р/О выявлено у растущих крыс [545] и мух [612] при ускорении роста введением тироксина, который разобщает окисление и фосфорилирование [526].

Дыхание и окислительное фосфорилирование локализованы в митохондриях — «энергетических станциях» клетки, которые широко используются как модели для изучения энергетического обмена организмов. Фосфорилирующее окисление локализовано внутри митохондрий, свободное — на их поверхности и в цитоплазме. Митохондрии обладают всеми основными функциями клетки: сокращаются, осуществляют транспорт ионов, обладают наследственностью [530, 531, 449, 396, 184, 469, 601].

Дифференциальное центрифугирование [318] позволило выделить митохондрии в сравнительно чистом виде и исследовать их химический состав. Оказалось, что 65 % вещества митохондрий представлено белками, из которых приблизительно половину составляет нерастворимый, т. е. структурный, белок [470], в частности цитохромы *a*, *b*, *c* и липопротеины. Из растворимых белков в митохондриях содержится цитохром *c* — протеин. На 26—28 % митохондрии состоят из липидов, главным образом фосфолипидов, благодаря которым и осуществля-

ются перенос электронов по дыхательной цепи и транспорт ионов через мембраны.

Фосфолипиды, реагируя со структурными белками митохондрий, образуют в них сложные комплексы, которые осуществляют связь между гидрофобными структурными белками дыхательной цепи и водной фазой матрикса, где находятся кофакторы и компоненты трикарбонового цикла, являющиеся донорами электронов [553]. Фосфолипидные комплексы рассматриваются как идеальная изолирующая среда, в которой могут протекать процессы фосфорилирования [471]. Они являются также идеальной средой для выделения CO_2 и диффузии O_2, который необходим для окислительных процессов в тканях [469].

Известно, что в митохондриях содержатся витамины *A*, *C*, B_6 и B_{12}, фолиевая, пантотеновая кислоты, коэнзим *A* и рибофлавин. В митохондрии входят негеминовое железо, медь, постоянное количество таких ионов, как K^+, Na^+, Ca^{++}, Mg^{++}, F^{++}, F^{+++}, HPO , Cl^-, SO^- [108, 429, 509].

С помощью электронной микроскопии исследована тонкая структура митохондрий и установлено, что они имеют трехслойную внешнюю и внутреннюю мембраны толщиной 50 Å, с расстоянием между ними 80 Å [568, 569, 78, 469].

Внешняя мембрана выполняет функции по транспорту субстратов, ионов, воды, нуклеотидов, а также участвует в регуляции отношений между митохондриями и остальной частью цитоплазмы. Внутренняя мембрана расположена в виде складок, которые образуют в митохондрии многочисленные перегородки (кристы). По внешним сторонам крист на расстоянии около 80—100 Å друг от друга располагаются многочисленные грибовидные образования размером 75—80 Å, с молекулярной массой порядка 1 400 тыс. [78, 469]. В этих выростах различаются головки и ножки.

Предполагается, что полный набор ферментов для окисления НАД·H_2 и сукцината вместе с переносчиками электронов и протонов дыхательной цепи состоит из четырех комплексов. Они обеспечивают транспорт и консервирование энергии окисления в пунктах фосфорилирования, располагаясь в грибовидных отростках. Первый и второй комплексы, через которые входят электроны, расположены в основании выростов и связаны с первым пунктом фосфорилирования; третий комплекс фиксирован в ножках «митохондриальных грибов» (второй пункт фосфорилирования); четвертый комплекс, или терминальная часть дыхательной цепи, связанная с последним, третьим (возможно, и четвертым) пунктом фосфорилирования, находится в головках, где происходит передача электронов на кислород.

С помощью различных физических и химических агентов

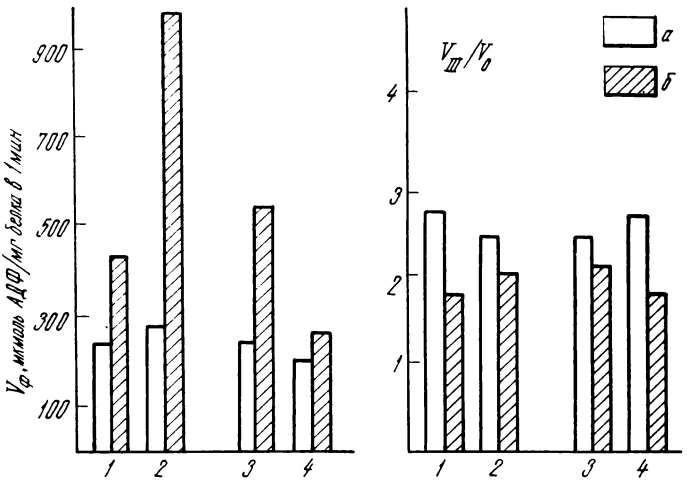


Рис. 21. Окислительный обмен в митохондриях печени серых полевок в условиях нормы и экстремального охлаждения.

а — 20 мин при температуре 18 °С; *б* — —15 °С. Экономки: *1* — южные, *2* — северные. Узкочерепные полевки: *3* — южные, *4* — северные. Субстратсукцинат, ноябрь 1973 г., 20-е поколение.

(ультразвука, дезоксихолата, дигитонина, спиртов и т. д.) связь между частицами может нарушаться, и при этом образуются митохондриальные фрагменты, различные по размерам, форме, структуре и функции. В зависимости от вида обработки получаются различные фракции (рис. 21).

В качестве моделей чаще всего используется тяжелая митохондриальная фракция — частицы, содержащие перегородки (кристы) в концентрированном виде и способные к транспорту электронов и окислительному, или дыхательному, фосфорилированию. Нативные митохондрии, выделенные современными мягкими способами и изучаемые быстрорегистрирующими методами (в первую очередь, полярографическим), способны поддерживать и активно удерживать метаболические стационарные состояния. Сложный процесс тканевого дыхания, который в интактном организме характеризуется определенным запасом эндогенных субстратов, способностью их к свободному и фосфорилирующему окислению, благодаря возможности наблюдения за выделенными нативными митохондриями в условиях инкубации на средах разного состава может быть расчленен. Разработаны методы [41], позволяющие фиксировать пять метаболических состояний митохондрий в интактном организме в зависимости от доступности АДФ, субстрата окисления и кислорода, которые можно последовательно наблюдать в эксперименте при определении скорости потребления кислорода без

введения субстрата (V эндогенное), в присутствии субстрата (V_0) и при ведении субстрата и АДФ (V_{III}).

В настоящее время существует мнение, что митохондрии — самая чувствительная часть клетки. Их реакции и метаболическое состояние в эксперименте, в условиях опыта, определяют реакции и состояние всей клетки, а следовательно, и ткани интактного организма [4, 28, 126]. Интересны в этом отношении результаты параллельного исследования концентрации ингибиторов, подавляющих дыхание изолированных митохондрий на 50 %, и параметров их токсичности для интактных лабораторных животных [228]. Для количественной оценки степени связи между величиной ингибирующей концентрации ($C_{i\,50}$) и параметрами токсичности (DL_{50}) был использован метод регрессионного анализа. Данные о величинах $C_{i\,50}$ получены автором путем титрования АДФ-стимулированного дыхания митохондрий печени белых крыс в среде инкубации, содержащей, мкм: сахарозы — 200, KH_2PO_4 и $MgCl_2$ — 10, KCl — 15, глутамата и малата — 5.

Исследовали 28 веществ, результаты показали, что между концентрацией, ингибирующей на 50 % дыхание митохондрии в условиях in vitro, и дозой того же соединения, вызывающей гибель животных при однократном энтеральном введении, имеется жесткая корреляционная зависимость, выражающаяся уравнением

$$\frac{1}{DL_{50}} = 1{,}89 + 0{,}54\frac{1}{C_{i50}}$$

с коэффициентом корреляции $r = 0{,}92$ при $P < 0{,}001$.

Можно утверждать, что, несмотря на значительную искусственность экспериментов на изолированных митохондриях (помещение выделенных органелл в среду, значительно отличающуюся от клетки, отсутствие нейрогуморальных регуляторных механизмов, слишком высокие по сравнению с условиями in vivo концентрации субстратов окисления и акцепторов), получаемые в опытах in vitro результаты могут быть перенесены на целостный организм.

В то же время в методической литературе неоднократно указывалось, что характер метаболического состояния изолированных митохондрий существенно зависит от условий их выделения и нативности состояния [384, 132, 192, 263]. В связи с этим в руководствах по изучению биологического окисления, как правило, подчеркивается, что в сравнительных исследованиях особое значение приобретают стандартность условий выделения митохондрий, выбор среды выделения и инкубации, тщательная хронометрия опыта на каждом животном, использование совокупности параметров, полученных на одной митохондриальной суспензии, и т. д. Так, для выявления влияния воздействий, которые вызывают дефицит энергии в организме, рекомендует-

ся [132] применять сахарозную среду выделения с содержанием 1—2 или 10 мкм магния. При этом у изолированных митохондрий наблюдается, как указано в [132], максимальный прирост скорости активного состояния (высокая чувствительность препарата на введение субстрата, АДФ и других кофакторов) при незначительном уровне эндогенного дыхания.

Одним из главных условий работы на изолированных митохондриях в настоящее время принято считать быстроту регистрации показателей, характеризующих метаболическое состояние этих органелл. Именно быстрота определения дает возможность исследовать митохондрии, максимально приближенные к нативному состоянию. С ней связана и возможность получения объемной информации, включающей характеристики не только интенсивности окислительного фосфорилирования, но и его эффективности. По-видимому, возросшие требования к биохимическому эксперименту обусловили предпочтительность высокочувствительных быстрорегистрирующих методов: полярографического, спектрофотометрического, флуорометрического и потенциометрического. Время инкубации митохондрии при их использовании — от десятков секунд до нескольких минут, а в аппарате Варбурга (манометрический метод) наблюдение за митохондриями требует нескольких часов, редко 15—50 мин.

Зависимость дыхания и окислительного фосфорилирования охлажденных полевок от степени морфологической дифференциации вида и ранга групп мы изучали на изолированных митохондриях полярографическим методом [257, 250, 238, 264]. Методика выделения митохондрий и исследования их метаболического состояния была выбрана с учетом известных требований (среда выделения и инкубационная среда содержали сахарозу и ионы магния, измерялось несколько параметров, время выделения митохондрий и определения биохимических показателей строго хронометрировали) (см. гл. 1).

Поставлено шесть серий опытов. В первых двух сериях группа животных была неоднородной по подвидам и видам. Определяли эндогенное дыхание ($V_{энд}$), дыхание в присутствии субстрата (V_0), дыхание в присутствии субстрата и АДФ (V_{III}), скорость потребления АДФ ($V_ф$), коэффициент сопряженности (АДФ/О) и дыхательный контроль по Ларди (V_{III}/V_0) в митохондриях печени южных и северных (x_1) экономок и узкочерепных полевок (x_2) в условиях нормы и экстремального охлаждения (x_3). В первой серии экстремальному охлаждению подвергали животных, не акклиматизированных к холоду, во второй — полевок, которые в течение 9 дней до опыта выдерживались при температуре 0+3 °С (табл. 36, 37, рис. 21, 22).

В качестве субстрата использовали сукцинат. Результаты первой серии (см. табл. 36 и рис. 21) показывают, что экономки и узкочерепные полевки исследованного нами 20-го поколения при экстремальном охлаждении не изменяют интенсивность

Таблица 36

Интенсивность и эффективность окисления сукцината в митохондриях печени серых полевок в условиях нормы и экстремального охлаждения (20-е поколение, модельная популяция, ноябрь 1973 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Подвид $\widetilde{x_1}$	Вид $\widetilde{x_2}$	Температура 20-минутного воздействия, °С $\widehat{x_3}$
Верхний (+)	Южные	*M. oeconomus*	+18
Нижний (—)	Северные	*M. gregalis*	—15

Кодированные независимые переменные				$V_{энд}$		V_0		V_{III}		V_{III}/V_0		АДФ/О		$V_ф$
№ варианта	x_1	x_2	x_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	$\bar{y}$	$\hat{y}$	$\bar{y}$	$\hat{y}$	$\bar{y}$	$\hat{y}$	$\bar{y}$	$\hat{y}$	$\bar{y}$
1	—	—	—	8,1	28,3	169,6	115,9	275	227,7	1,6	1,6	1,5	1,5	269,9
2	+	—	—	39,0	28,3	95,0	115,9	184	227,7	1,8	1,8	1,8	1,5	549,6
3	—	+	—	15,8	28,3	106,4	115,9	197	227,7	1,9	1,8	1,2	1,5	990,3
4	+	+	—	21,5	28,3	137,0	115,9	230	227,7	1,8	1,6	1,1	1,5	437,9
5	—	—	+	60,7	28,3	112,9	115,9	261	227,7	2,3	2,6	1,3	1,5	201,6
6	+	—	+	23,2	28,3	79,8	115,9	211	227,7	2,6	2,3	1,4	1,5	223,5
7	—	+	+	33,6	28,3	97,4	115,9	306	222,7	3,1	2,2	2,0	1,5	278,9
8	+	+	+	24,7	28,3	129,1	115,9	258	222,7	2,0	2,6	2,0	1,5	232,0

Примечание. Статистические показатели: $b_0=28,3$; $b_1=-1.2$; $b_2=-4,4$; $b_{12}=0,4$; $b_3=7,2$; $b_{13}=-10,4$; $b_{23}=-1,98$; $b_{123}=6,7$; $s^2y=270$; $s^2b_i=33,8$; $t_{0,95}sb_i=13,8$ ($V_{энд}$).

$b_0=115,9$; $b_1=-5,7$; $b_2=1,6$; $b_{12}=21,3$; $b_3=-11.1$; $b_{13}=53,1$; $b_{23}=6,9$; $b_{123}=-5,1$; $s^2y=681,89$; $s^2b_i=85,2$; $t_{0,95}sb_i=9,23$ (V_0).

$b_0=227,7$; $b_1=-1,94$; $b_2=7,5$; $b_{12}=15,7$; $b_3=18,7$; $b_{13}=-5,0$; $b_{23}=15,5$; $b_{123}=-15,2$; $s^2y=2103,3$; $s^2b_i=262,9$; $t_{0,95}sb_i=38,3$ (V_{III}).

$b_1=0,08$; $b_2=0,06$; $b_{12}=-0,21$; $b_3=0,36$; $b_{13}=0,14$; $b_{23}=-0,01$; $b_{123}=-0,137$; $s^2y=0,032$; $s^2b_i=0,004$; $t_{0,95}sb_i=0,149$ (ДК).

$b_0=1,5$; $b_1=0,04$; $b_2=0,04$; $b_{12}=-0,06$; $b_3=0,14$; $b_{13}=-0,013$; $b_{23}=0,30$; $b_{123}=0,04$; $s^2y=0,33$; $s^2b_i=0,04$; $t_{0,95}sb_i=0,5$ ($V_ф$).

эндогенного дыхания, свободного и фосфорилирующего окисления сукцината (V_0 и V_{III}), коэффициент сопряженности для данного субстрата (АДФ/О). Достоверны сдвиги в величине дыхательного контроля и скорости фосфорилирования.

Получены уравнения регрессии

$$y_{V_{III}/V_0} = 2,1 + 0,36x_3 - 0,14x_1x_2x_3,\ t_{0,95}sb_i = 0,15;$$

$$y_{V_ф} = 398 + 86,8x_2 + 164x_3 - 112,6x_1x_2 + 65,4x_2x_3 + 95,4x_1x_2x_3,$$

$$t_{0,95}sb_i = 65,4;\ s^2_{ад} = 507548,8 < Fs^2\bar{y} = 122056.$$

Из уравнений и рис. 21 видно, что изменения величин дыхательного контроля и скорости фосфорилирования, установленные при исследовании дыхания на сукцинате, зависят от температуры воздействия и принадлежности полевок к виду или под-

Таблица 37

Интенсивность и эффективность окисления сукцината в митохондриях печени адаптированных к холоду полевок в условиях кратковременного экстремального охлаждения и без него (30-е поколение, ноябрь 1973 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Подвид $\widehat{x_1}$	Вид $\widehat{x_2}$	Температура 20-минутного воздействия адаптированных к холоду животных, °С $\widehat{x_3}$
Верхний (+)	Южный	*M. oeconomus*	+18
Нижний (—)	Северный	*M. gregalis*	—15

Кодированные независимые переменные				Биохимический показатель				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
Эндогенное дыхание ($V_{энд}$), мкатом O_2/мг белка в 1 мин								
1	—	—	—	—	24,9	—	24,9	29,3
2	+	—	—	36,7	28,8	—	32,8	29,3
3	—	+	—	45,5	32,9	20,4	42,9	29,3
4	+	+	—	64,5	26,7	—	45,6	29,3
5	—	—	+	—	23,4	—	23,4	29,3
6	+	—	—	27,0	42,6	28,8	32,8	29,3
7	—	+	+	22,2	—	10,7	16,4	29,3
8	+	+	+	25,1	32,2	20,3	25,9	29,3
Дыхание на сукцинате (V_0), мкатом O_2/мг белка в 1 мин								
1	—	—	—	158,4	105,6	200,0	154,7	120,4
2	+	—	—	112,9	68,0	151,4	110,8	120,4
3	—	+	—	189,4	95,3	125,2	136,7	120,4
4	+	+	—	197,1	90,2	—	143,7	120,4
5	—	—	+	128,0	78,6	—	128,3	120,4
6	+	—	+	103,0	88,0	139,2	110,1	120,4
7	—	+	+	79,3	101,7	—	90,5	120,4
8	+	+	+	70,4	119,6	94,3	88,1	120,4
Дыхание на сукцинате в присутствии АДФ (V_{III}), мкатом, O_2/мг белка в 1 мин								
1	—	—	—	316,8	168,7	250,0	245,2	270,4
2	+	—	—	366,7	177,3	264,5	269,5	270,4
3	—	+	—	363,7	260,6	194,2	272,8	270,4
4	+	+	—	397,8	190,4	—	294,1	270,4
5	—	—	+	230,4	118,6	—	174,5	178,6
6	+	—	+	230,0	149,0	139,2	189,2	178,6
7	—	+	+	196,2	232,4	—	214,3	178,6
8	+	+	+	134,0	187,1	86,3	135,8	178,6

Окончание табл. 37

Кодированные независимые переменные				Биохимический показатель				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
				Скорость фосфорилирования ($V_Ф$)				
1	—	—	—	792,0	—	—	792,0	826,1
2	+	—	—	916,8	990,3	—	953,6	826,7
3	—	+	—	836,5	549,6	—	693,1	651,9
4	+	+	—	596,7	437,9	—	511,3	651,9
5	—	—	+	506,9	201,6	—	354,3	368,3
6	+	—	+	368,0	223,0	275,6	289,0	368,3
7	—	+	+	288,9	278,9	—	283,9	194,1
8	+	+	+	214,4	232,0	146,7	197,7	194,1
				АДФ/О				
1	—	—	—	2,5	1,7	1,5	1,9	1,7
2	+	—	—	2,5	3,1	1,5	2,4	3,0
3	—	+	—	3,2	3,8	—	3,5	3,0
4	+	+	—	1,5	2,3	1,1	1,6	1,7
5	—	—	+	2,2	1,7	1,4	1,8	1,6
6	+	—	+	1,6	1,5	1,9	1,7	1,5
7	—	+	+	1,5	1,2	—	1,4	1,5
8	+	+	+	1,6	1,2	1,7	1,5	1,6
				Дыхательный контроль (V_{III}/V_0)				
1	—	—	—	2,0	1,6	1,3	1,6	1,7
2	+	—	—	3,2	2,6	—	2,9	2,6
3	—	+	—	1,9	2,7	1,6	2,0	1,9
4	+	+	—	2,0	2,1	2,0	2,0	1,8
5	—	—	+	1,3	1,5	1,6	1,4	1,4
6	+	—	+	2,2	1,7	2,0	1,9	2,3
7	—	+	+	2,4	2,3	2,0	2,2	2,2
8	+	+	+	1,9	2,0	—	1,9	2,1

Примечание. Статистические показатели: $b_0=29,3$; $b_1=4,93$; $b_2=0,9$; $b_3=-4,71$; $b_{12}=0,61$; $b_{23}=-4,3$; $b_{13}=-0,22$; $b_{123}=-0,6$; $s^2y=74,7$; $t_{0,95}sb_i=6,8$ ($V_{энд}$).

$b_0=120,4$; $b_1=-7,2$; $b_2=-5,6$; $b_3=-16,1$; $b_{12}=8,4$; $b_{13}=2,03$; $b_{23}=-9,3$; $b_{123}=-4,4$; $s^2y=6762$; $t_{0,95}sb_i=19,9$ (V_0).

$b_0=224,5$; $b_1=-2,20$; $b_2=4,8$; $b_3=-45,9$; $b_{12}=-12,06$; $b_{13}=-13,6$; $b_{23}=-8,3$; $b_{123}=-11,3$; $s^2y=2103,3$; $t_{0,95}sb_i=34,9$ (V_{III}).

$b_0=510,1$; $b_1=-20,7$; $b_2=-87,1$; $b_3=-228,9$; $b_{12}=-44,8$; $b_{13}=-17,2$; $b_{23}=-46,7$; $b_{123}=39,6$; $s^2y=6549,27$; $t_{0,95}sb_i=64,6$ ($V_Ф$).

$b_0=1,98$; $b_1=-0,18$; $b_2=0,03$; $b_3=-0,4$; $b_{12}=-0,3$; $b_{13}=0,18$; $b_{23}=0,33$; $b_{123}=0,08$; $s^2y=0,24$; $t_{0,95}sb_i=0,22$ (АДФ/О).

$b_0=2,03$; $b_1=0,2$; $b_2=0,04$; $b_3=0,13$; $b_{12}=-0,26$; $b_{13}=-0,13$; $b_{23}=0,15$; $b_{123}=0,07$; $s^2y=0,032$; $t_{0,95}sb_i=0,14$ (V_{III}/V_0).

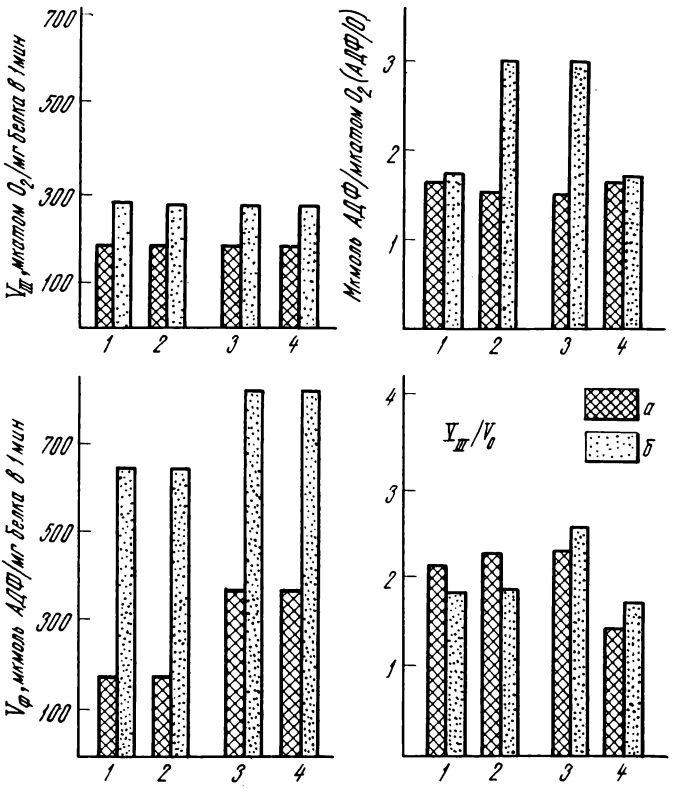


Рис. 22. Окислительный обмен в митохондриях печени акклиматизированных к холоду полевок в условиях 9-дневного воздействия при температуре 0—+3 °С (*а*) и 20-минутного воздействия при —15 °С, после указанной акклимации (*б*).
1—4 — то же, что на рис. 21.

виду ($b_{123} > t_{0,95}sb_i$). Дыхательный контроль снижается при охлаждении, степень снижения разная. У южных экономок и северных узкочерепных полевок реакция на АДФ в митохондриях печени при экстремальном охлаждении животных более слабо выражена. Скорость фосфорилирования в митохондриях охлажденных экономок и узкочерепных полевок увеличивается, особенно в митохондриях северных экономок и южных узкочерепных полевок. Тот же показатель менее резко увеличивается в митохондриях южных экономок и совсем незначительно изменяется в митохондриях печени северных узкочерепных полевок (см. рис. 21).

В опытах с экстремальным охлаждением предварительно адаптированных к холоду животных (2-я серия) получены уравнения

$$y_{V_{III}} = 224{,}5 - 45{,}9x_3, \quad t_{0,95}sb_i = 34{,}9,$$

$$s^2_{\text{ад}} = 774 < Fs^2y = 6098;$$

$$y_{V_{\text{III}}/V_0} = 20{,}03 + 0{,}2x_1 - 0{,}26x_1x_2 + 0{,}15x_2x_3,$$

$$t_{0{,}95}sb_i = 0{,}14,\ s^2_{\text{ад}} = 0{,}07 < Fs^2y = 0{,}09;$$

$$y_{\text{АДФ/О}} = 1{,}98 - 0{,}4x_3 - 0{,}3x_1x_2 + 0{,}33x_1x_2x_3,$$

$$t_{0{,}95}sb_i = 0{,}22,\ s^2_{\text{ад}} = 0{,}19 < Fs^2y = 0{,}25;$$

$$y_{V_\Phi} = 501{,}1 - 87{,}1x_2 - 228{,}9x_3,\ t_{0{,}95}sb_i = 64{,}6,$$

$$s^2_{\text{ад}} = 10359 < Fs^2\bar{y} = 25787.$$

Анализ уравнений и расчетных данных (см. табл. 37 и рис. 22) показывает, что предварительная акклимация к низким температурам в наших опытах вызывает дополнительные сдвиги в окислительном обмене печени животных. Наблюдаются не только изменения в скорости фосфорилирования и в уровне дыхательного контроля. При повторном охлаждении изменяются интенсивность окисления сукцината в присутствии АДФ (V_{III}) и коэффициент сопряженности (АДФ/О). При этом обнаруживаются различия на видовом и подвидовом уровнях. Скорость фосфорилирования значительно больше в митохондриях печени узкочерепных полевок, и в условиях нормы ($b_2 > t_{0{,}95}sb_i$), и при экстремальном охлаждении ($b_3 > t_{0{,}95}sb_i$). Сопряженность окисления для сукцината в митохондриях печени охлажденных северных экономок и южных узкочерепных полевок значительно выше в сравнении с другими исследованными в данной серии подвидами ($b_{123} > t_{0{,}95}sb_i$).

Определяли содержание митохондриального белка в печени серых полевок 20-го поколения в условиях нормы и трех вариантах охлаждения (табл. 38, рис. 23). При статистической обработке данных применили план ПФЭ типа 2^4. Полученное уравнение регрессии для митохондриального белка имеет вид:

$$y = 1{,}79 + 0{,}14\,x_1 + 0{,}20\,x_2 - 0{,}12\,x_1x_2 - 0{,}15\,x_2x_3 + 0{,}17\,x_4.$$

$$t_{0{,}95}sb_i = 0{,}12.$$

Из уравнения и расчетных данных (см. рис. 23) видно, что в условиях экстремального охлаждения содержание митохондриального белка в печени всех исследованных в серии полевок достоверно уменьшается ($b_4 > t_{0{,}95}sb_i$).

В условиях 9-дневной акклимации, так же, как при экстремальном охлаждении акклиматизированных полевок, содержание митохондриального белка зависит от видовой принадлежности животных ($b_{23} > t_{0{,}95}sb_i$). В печени экономок мы обнаружили больше митохондриального белка, чем в печени узкочерепных полевок ($b_1 > t_{0{,}95}sb_i$). При охлаждении экономок наблюдается, как правило, либо незначительное уменьшение количества митохондриального белка печени, либо увеличение. В печени охлажденных узкочерепных полевок — только умень-

Таблица 38

Содержание митохондриального белка в печени узкочерепных полевок и экономок в условиях нормы и при охлаждении (20-е поколение, декабрь 1973 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные			
	Подвид $\widetilde{x_3}$	Вид $\widetilde{x_2}$	Температура 9-дневного содержания животных до опыта, °С $\widetilde{x_3}$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widetilde{x_4}$
Верхний (+)	Южный	*M. oeconomus*	+18	+18
Нижний (—)	Северный	*M. gregalis*	0—+3	—15

Кодированные независимые переменные					Белок, мг/100 г сырой массы							
№ варианта	x_1	x_2	x_3	x_4	y_1	y_2	y_3	y_4	y_5	y_6	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	—	1,0	1,5	1,0	—	—	—	1,66	1,01
2	—	—	—	—	1,5	2,4	1,2	—	—	—	1,70	1,53
3	—	—	—	—	1,3	2,1	1,8	—	—	—	1,73	1,95
4	+	+	+	+	1,2	2,1	3,0	—	—	—	2,10	1,99
5	—	—	+	—	1,3	1,0	1,0	—	—	—	1,10	1,31
6	—	—	+	—	2,0	2,2	2,0	—	—	—	2,06	1,83
7	—	+	+	—	1,6	1,5	1,6	—	—	—	1,56	1,65
8	+	+	+	—	1,6	1,4	1,6	—	—	—	1,53	1,69
9	—	—	—	+	0,8	1,5	1,7	1,2	1,0	1,0	1,20	1,35
10	+	—	—	+	2,1	1,6	1,0	1,2	1,2	2,3	1,56	1,87
11	—	+	—	+	2,7	1,9	2,8	2,3	2,1	2,0	2,30	2,29
12	+	+	—	+	3,4	1,5	3,2	2,3	2,2	1,2	2,30	2,33
13	—	—	+	+	1,7	1,8	1,7	2,6	1,4	2,0	1,86	1,65
14	+	—	+	+	2,3	2,6	2,4	1,1	1,8	2,4	2,10	2,17
15	—	+	+	+	2,5	2,5	2,4	2,2	2,0	2,0	2,26	1,99
16	+	+	+	+	2,0	2,1	2,0	2,0	2,3	2,2	2,10	2,03

Примечание. Статистические показатели: $b_0=1,79$; $b_1=0,14$; $b_2=0,20$; $b_{12}=-0,12$; $b_3=0,03$; $b_{13}=-0,02$; $b_{23}=-0,15$; $b_{123}=-0,05$; $b_4=0,17$; $b_{14}=-0,09$; $b_{24}=-0,08$; $b_{124}=0,03$; $b_{34}=0,09$; $b_{134}=-0,02$; $b_{234}=-0,03$; $b_{1234}=0,05$; $s^2y=0,22$; $s^2y=0,05$; $s^2b_i=0,003$; $t_{0,95}sb_i=0,12$.

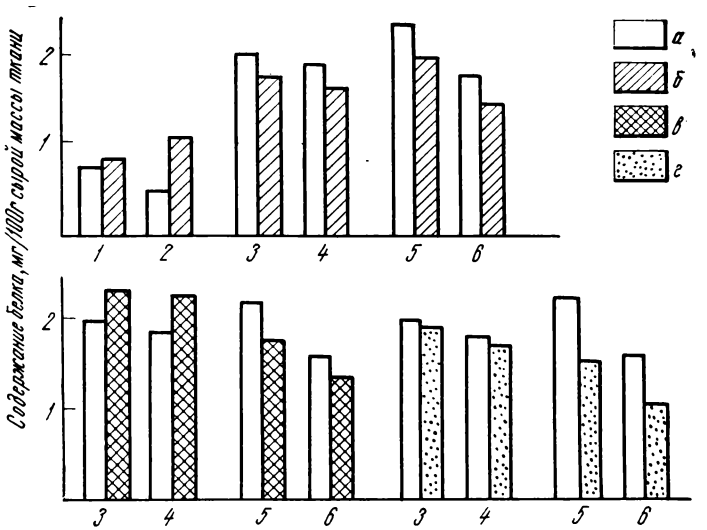


Рис. 23. Содержание митохондриального белка в печени серых полевок в условиях нормы и разных вариантов охлаждения:

а — 20 мин при 18 °С; *б* — 20 мин при —15 °С; *в* — 9 дней при 0—3 °С; *г* — 20 мин при —15 °С после 9-дневной акклимации. *1, 2* — полевки Миддендорфа, 8- и 4-месячные соответственно; *3, 4* — экономки южные и северные; *5, 6* — узкочерепные полевки южные и северные.

шение, более сильное, чем в том же органе охлажденных экономок.

Окислительный обмен в митохондриях печени изучали на полевках Миддендорфа (табл. 39, рис. 24). Группа животных была неоднородной по возрасту. Определяли те же показатели окислительного обмена ($V_{энд}$, V_0, V_{III}, $V_Ф$, АДФ/О, ДК, содержание белка) в митохондриях печени 8- и 4-месячных животных (x_1) после 20-минутного выдерживания их при температуре +18 и —15 °С (x_2).

Получены уравнения

$$y_{V_Ф} = 553{,}8 + 133{,}5x_2 + 90{,}5x_1x_2, \quad t_{0,95}sb_i = 84{,}6,$$

$$s^2_{ад} = 6154 < Fs^2y = 28561;$$

$$y_{м.т.белок} = 0{,}74 - 0{,}15\,x_2 + 0{,}175\,x_1x_2,$$

$$t_{0,95}sb_i = 0{,}136.$$

Анализ непосредственных данных (см. рис. 24) и уравнений показывает, что полевки Миддендорфа реагируют на экстремальное охлаждение, достоверно изменяя скорость фосфорилирования сукцината в митохондриях печени. При этом направленность изменений зависит от возраста животных ($b_{12} > t_{0,95}sb_i$). Для 4-месячных самцов характерно увеличение, для 8-месячных самцов, имеющих достаточно высокий уровень ско-

Таблица 39

Интенсивность и эффективность окисления сукцината в митохондриях печени полевок Миддендорфа в условиях физиологической нормы и экстремального охлаждения (2-е поколение, декабрь 1973 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные	
	Возраст, мес $\widehat{x_1}$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widehat{x_2}$
Верхний (+)	8	+18
Нижний (—)	4	—15

Кодированные независимые переменные			$V_{энд}$	V_0	V_{III}	V_{III}/V_0	АДФ/О	$V_ф$	Митохондр. белок (МХБ)
№ варианта	x_1	x_2	$\widehat{y}$						
1	—	—	58,9	191,9	315,6	1,6	1,9	510,8	1,07
2	+	—	58,9	191,9	315,6	1,6	1,9	329,8	0,77
3	—	+	58,9	191,9	315,6	1,6	1,9	596,8	0,40
4	+	+	58,9	191,9	315,6	1,6	1,9	777,8	0,75

Примечание. Статистические показатели: b_0=58,9; b_1=—4,9; b_2=—0,13; b_{12}=—12,00; s^2y=297,6; $t_{0,95}s\{b_i\}$=15,6 ($V_{энд}$).

b_0=191,9; b_1=—3,2; b_{12}=—7,3; s^2y=358,2; $t_{0,95}s\{b_i\}$=54,4 (V_0).

b_0=315,6; b_1=10,7; b_2=—14,7; b_{12}=15,4; s^2y=8785,9; $t_{0,95}s\{b_i\}$=98,1 (V_{III}).

b_0=1,60; b_1=0,05; b_2=0,07; b_{12}=—0,08; s^2y=0,01; $t_{0,95}s\{b_i\}$=0,11 (V_{III}/V_0)

b_0=1,90; b_1=—0,08; b_2=—0,20; b_{12}=0,23; s^2y=0,10; $t_{0,95}s\{b_i\}$=0,26 (АДФ/О).

b_0=553,8; b_1=—39,2; b_2=133,5; b_{12}=90,5; s^2y=5655,8; $t_{0,95}s\{b_i\}$=84,6 ($V_ф$).

b_0=0,74; b_1=0,008; b_2=—0,15; b_{12}=0,17; s^2y=0,03; $t_{0,95}s\{b_i\}$=0,13 (МХБ).

рости фосфорилирования сукцината,— понижение. Коэффициент сопряженности, величина ДК для сукцината, интенсивность его свободного окисления и окисления в присутствии АДФ в серии на полевках Миддендорфа, как видно из табл. 39 и рис. 24, при экстремальном охлаждении животных достоверно не изменяются.

В печени полевок Миддендорфа, как видно из табл. 39 и рис. 23, 24, содержится незначительное количество митохондриального белка. В условиях экстремального охлаждения у 4-месячных животных он уменьшается, у 8-месячных остается на прежнем уровне.

Характер окислительного обмена в митохондриях печени изучали и на двух подвидах высокогорной полевки (табл. 40, рис. 25). В ноябре 1975 г. исследовали группу высокогорных полевок, неоднородную по полу и подвидам. Определяли интенсивность дыхания на сукцинате, без АДФ и в присутствии

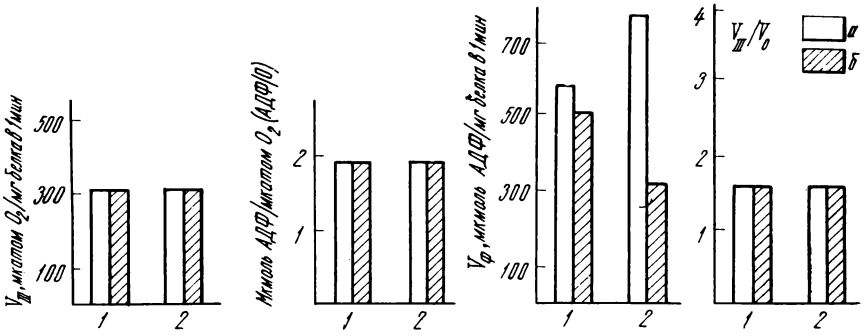


Рис. 24. Окислительный обмен в митохондриях печени полевок Миддендорфа в условиях нормы и экстремального охлаждения.

а — 20 мин при температуре 18 °С, *б* — 20 мин при —15 °С.
1 — 4-месячные, *2* — 8-месячные полевки. Субстрат — сукцинат, декабрь 1973 г.

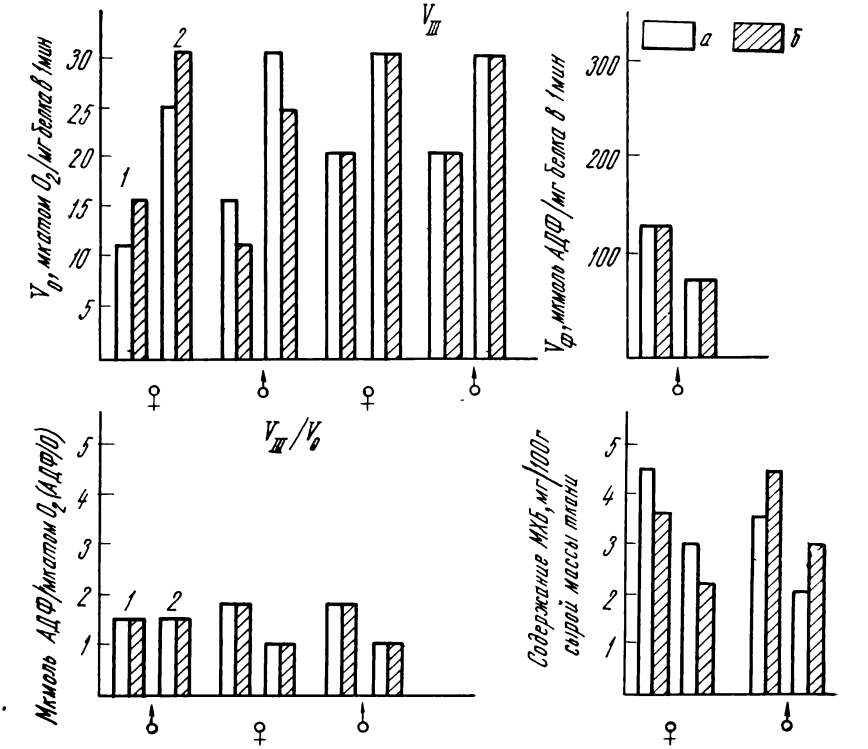


Рис. 25. Окислительный обмен в митохондриях печени высокогорной памирской (*а*) и арчевой (*б*) полевок в условиях нормы и экстремального охлаждения.

1 — контроль; *2* — 20 мин при —15 °С.

Таблица 40

Интенсивность и эффективность окисления сукцината в митохондриях печени высокогорных полевок в условиях нормы и экстремального охлаждения (модельные популяции, 4-е поколение, ноябрь 1975 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Пол $\widetilde{x_1}$	Вид $\widetilde{x_2}$	Температура 20-минутного воздействия в опыте, °С $\widetilde{x_3}$
Верхний (+)	Самки	*M. juldaschi*	+18
Нижний (—)	Самцы	*M. carruthersi*	—15

Кодированные независимые переменные				Биохимический показатель										
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	y_4	y_5	y_6	y_7	y_8	y_9	$\bar{y}$	$\hat{y}$
Дыхание на сукцинате (V_0), мкатом/мг белка в 1 мин														
1	—	—	—	21,1	23,6	23,7	22,0	31,3	23,7	—	—	—	**24,2**	25,2
2	+	—	+	24,3	29,6	49,9	19,0	—	—	—	—	—	**30,9**	30,1
3	—	+	—	29,3	36,4	31,2	21,9	40,4	32,0	—	—	—	**31,9**	30,1
4	+	+	—	27,9	19,7	23,6	22,5	23,4	23,7	—	—	—	**23,5**	25,2
5	—	—	+	8,4	18,8	17,9	15,7	—	—	—	—	—	**15,2**	10,9
6	+	—	+	7,9	16,7	13,7	16,5	15,3	17,2	15,8	—	—	**14,7**	15,9
7	—	+	+	17,5	6,7	20,6	14,2	13,0	—	—	—	—	**14,4**	15,9
8	+	+	+	10,6	6,0	11,2	—	—	—	—	—	—	**9,3**	10,9
Дыхание на сукцинате в присутствии АДФ (V_{III}), мкатом/мг белка в 1 мин														
1	—	—	—	24,3	29,7	24,5	23,9	31,6	—	—	—	—	**26,8**	30,9
2	+	—	—	24,8	26,0	49,0	21,9	56,7	—	—	—	—	**35,6**	30,9

Продолжение табл. 40

Кодированные независимые переменные				Биохимический показатель										
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	y_4	y_5	y_6	y_7	x_8	y_9	$\bar{y}$	$\hat{y}$
3	—	+	—	31,9	50,4	28,6	22,4	44,1	—	—	—	—	35,4	30,9
4	+	+	—	29,9	23,4	25,9	24,6	—	—	—	—	—	25,9	30,9
5	—	—	+	19,0	37,1	21,8	34,8	—	—	—	—	—	28,1	23,6
6	+	—	+	23,6	31,4	20,8	20,4	28,6	24,0	—	—	—	24,8	23,6
7	—	+	+	31,5	15,8	26,5	31,7	21,2	15,8	—	—	—	23,7	23,6
8	+	+	+	16,5	14,2	23,0	—	—	—	—	—	—	17,9	23,6
Коэффициент сопряженности (АДФ/О)														
1	—	—		1,93	1,61	1,42	1,13	—	—	—	—	—	1,52	1,58
2	+	—		1,84	1,27	1,17	1,26	1,47	1,24	1,74	1,24	1,75	1,44	1,58
3	—	+		1,97	1,44	1,72	—	—	—	—	—	—	1,71	1,58
4	+	+		1,67	1,64	1,94	1,38	1,57	—	—	—	—	1,64	1,58
Скорость фосфорилирования ($V_Ф$), мкмоль АДФ/мг белка в 1 мин														
1	—	—		64,4	47,9	80,9	79,4	81,2	—	—	—	—	70,8	73,1
2	+	—		127,9	53,5	49,8	106,7	51,7	52,8	112,4	56,6	65,3	75,2	73,1
3	—	+		222,2	128,2	92,8	98,4	—	—	—	—	—	137,8	128,8
4	+	+		127,1	128,2	100,6	113,3	131,4	—	—	—	—	120,1	128,8
Дыхательный контроль (V_{III}/V_0)														
1	—	—	—	1,1	1,3	1,0	1,1	1,1	—	—	—	—	1,1	1,1
2	+	—	—	1,0	1,1	1,0	1,1	1,1	—	—	—	—	1,0	1,1
3	—	+	—	1,1	1,4	1,1	1,0	1,1	—	—	—	—	1,1	1,1
4	+	+	—	1,0	1,2	1,0	1,1	1,1	—	—	—	—	1,1	1,1
5	—	—	+	2,2	1,9	1,3	1,9	—	—	—	—	—	1,8	1,9
6	+	—	+	3,0	1,8	1,2	1,1	—	—	—	—	—	1,8	1,9

Окончание табл. 40

Кодированные независимые переменные				Биохимический показатель										
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	y_4	y_5	y_6	y_7	y_8	y_9	$\bar{y}$	$\hat{y}$
7	—	+	+	1,8	2,3	1,2	1,6	—	—	—	—	—	1,7	1,9
8	+	+	+	2,4	—	—	—	—	—	—	—	—	2,4	1,9
Содержание митохондриального белка, мг/100 г сырой массы ткани														
1	—	—		2,8	3,3	3,1	—	—	—	—	—	—	3,0	3,0
2	+	—		3,1	2,6	1,4	—	—	—	—	—	—	2,4	2,1
3	—	+		2,2	2,0	2,6	—	—	—	—	—	—	2,3	2,1
4	+	+		2,3	3,2	—	—	—	—	—	—	—	2,7	3,0
5	—	—		6,0	3,6	2,8	—	—	—	—	—	—	4,1	4,5
6	+	—		3,0	3,3	2,4	—	—	—	—	—	—	2,9	3,6
7	—	+		5,2	3,7	2,9	—	—	—	—	—	—	3,9	3,6
8	+	+		5,8	4,6	—	—	—	—	—	—	—	5,2	4,5

Примечания. 1. Статистические показатели: $b_0=20{,}5$; $b_1=-0{,}92$; $b_2=-0{,}74$; $b_{12}=-2{,}47$; $b_3=7{,}12$; $b_{13}=0{,}49$; $b_{23}=0{,}82$; $b_{123}=-1{,}31$; $s^2y=52{,}78$; $s^2y=6{,}4$; $s^2b_i=0{,}8$; $t_{0,95}sb_i=1{,}83$ (V_0).

$b_0=27{,}3$; $b_1=-1{,}24$; $b_2=-1{,}53$; $b_{12}=-2{,}60$; $b_3=3{,}64$; $b_{13}=1{,}05$; $b_{23}=1{,}23$; $b_{123}=-1{,}08$; $s^2y=75{,}3$; $s^2y=15{,}0$; $t_{0,95}sb_i=2{,}80$ (V_{III}).

$b_0=1{,}52$; $b_1=0{,}05$; $b_2=0{,}06$; $b_{12}=0{,}09$; $b_3=-0{,}42$; $b_{13}=-0{,}08$; $b_{23}=-0{,}04$; $b_{123}=-0{,}008$; $s^2y=0{,}13$; $s^2y=0{,}034$; $t_{0,95}sb_i=0{,}135$ (V_{III}/V_0).

$b_0=1{,}58$; $b_1=-0{,}04$; $b_2=0{,}09$; $b_{12}=0{,}002$; $s^2y=0{,}07$; $s^2y=0{,}01$; $s^2b_i=0{,}003$; $t_{0,95}sb_i=1{,}12$ (АДФ/О).

$b_0=100{,}9$; $b_1=3{,}33$; $b_2=27{,}9$; $b_{12}=-5{,}53$; $s^2y=1675{,}0$; $s^2y=304{,}5$; $s^2b_i=76{,}13$; $t_{0,95}sb_i=18{,}3$ ($V_ф$).

$b_0=3{,}3$; $b_1=-0{,}02$; $b_2=0{,}21$; $b_{12}=0{,}45$; $b_3=-0{,}71$; $b_{13}=-0{,}03$; $b_{23}=-0{,}31$; $b_{123}=-0{,}16$; $s^2y=0{,}82$; $s^2\bar{y}=0.27$; $t_{0,95}sb_i=0{,}39$ (МХБ).

2. Результаты по АДФ/О и ($V_ф$) получены на животных 8-го поколения в октябре, декабре 1976 г. (план ПФЭ 2^3, где $x_1=+18$ и -15°С. x_2 *M. juldaschi* и *M. carruthersi*. Среда выделения в серии 1976 г.—0,3 *M* сахароза; 0,01 *M* трис-HCl. Среда инкубации — 0,15 *M* сахароза; 0,005 *M* трис-HCl и 0,003 KH_2PO_4 ·0,05 *M* KCl.

АДФ, скорость фосфорилирования, коэффициент сопряженности и содержание белка в митохондриях печени самцов и самок (x_1) памирской и арчевой (x_3) полевок после 20-минутного выдерживания их при температуре +18 и —15 °С (x_2).

В результате регрессионного анализа данных получены уравнения

$$y_{V_0} = 20{,}5 - 2{,}5x_1x_2 + 7{,}12x_3,\ t_{0,95}sb_i = 1{,}83,$$
$$s^2_{\text{ад}} = 63{,}9 < Fs^2\bar{y} = 16{,}0.$$
$$y_{V_{\text{III}}} = 27{,}3 - 3{,}64x_3, t_{0,95}sb_i = 2{,}8,$$
$$s^2_{\text{ад}} = 23{,}1 < Fs^2\bar{y} = 36{,}1.$$
$$y_{V_{\text{III}}/V_0} = 1{,}5 + 0{,}42x_3,\ t_{0,95}sb_i = 0{,}135,$$
$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}04 < Fs^2\bar{y} = 0{,}08.$$
$$y_{\text{м.т. белок}} = 3{,}3 + 0{,}45x_1x_2 + 0{,}71x_3,\ t_{0,95}sb_i = 0{,}39,$$
$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}27 < Fs^2\bar{y} = 0{,}82.$$

Анализ уравнений и результатов, представленных на рис. 25, показывает, что высокогорные полевки реагируют на экстремальное охлаждение изменениями интенсивности свободного окисления сукцината, зависящими от пола животных ($b_{12} > t_{0,95}sb_i$). У самок обоих подвидов интенсивность свободного окисления сукцината в печени охлажденной полевки возрастает, у самцов, напротив, снижается. Обнаруживаются достоверные различия в условиях нормы (18 °С). Интенсивность свободного окисления сукцината (V_0) и в присутствии АДФ (V_{III}) у памирской полевки значительно ниже, чем у арчевой ($b_3 > t_{0,95}sb_i$). Содержание митохондриального белка, напротив, в печени памирской полевки достоверно выше, чем в печени арчевой ($b_3 > t_{0,95}sb_i$). Реакция по данному тесту на охлаждение у исследованной группы зависит от пола животных ($b_{12} > t_{0,95}sb_i$). У самок в условиях экстремального охлаждения наблюдается уменьшение содержания митохондриального белка, у самцов — повышение.

Реакция на АДФ со стороны дыхания на сукцинате у памирской полевки достоверно выше в сравнении с арчевой ($b_3 > t_{0,95}sb_i$). Полного исчерпания АДФ при введении его в суспензию митохондрий печени высокогорных полевок в условиях среды, которая использовалась нами в сериях на экономках и других серых полевках (см. табл. 37, 38), достигнуть не удалось. У исследованной нами группы высокогорных полевок в сравнении с экономками, узкочерепными полевками и полевкой Миддендорфа скорость фосфорилирования сукцината оказалась необычно низкой.

В 1976 г. на новом поколении виварных высокогорных полевок была проведена повторная серия, в которой применена среда инкубации нового состава (см. табл. 40, примеч.).

Исключение из среды инкубации и среды выделения ЭДТА и ионов магния позволило определить скорость фосфорилирования сукцината и коэффициент сопряженности.

Скорость фосфорилирования, как видно из табл. 40 и рис. 25, оказалась действительно низкой, порядка 100 мкмолей АДФ/мг белка в 1 мин (у экономок — 194 мкмолей, у полевки Миддендорфа — 600—700 мкмолей). Регрессионный анализ результатов по коэффициенту сопряженности и скорости фосфорилирования показывает, что соотношение свободного и фосфорилирующего окисления в печени исследованных высокогорных полевок двух подвидов, независимо от температур, одинаково ($b < t_{0,95}sb_i$). При этом скорость фосфорилирования АДФ при окислении сукцината ($V_Ф$), несмотря на низкий уровень, в печени памирской полевки достоверно выше, чем в печени арчевой ($b_2 > t_{0,95}sb_i$).

Уравнение регрессии имеет вид:

$$y v_Ф = 100{,}9 + 27{,}8x_2, t_{0,95}sb_i = 18{,}3,$$
$$s^2_{ад} = 83{,}06 < Fs^2\bar{y} = 1062{,}8.$$

2.7. О РОЛИ АДАПТИВНЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ С РАЗНОЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ СТОИМОСТЬЮ В АДАПТАЦИИ ВИДА И ВИДООБРАЗОВАНИИ

Выявление специфики адаптации в зависимости от степени морфологической дифференциации вида и ранга экологических групп требует рассмотрения особенностей окислительного обмена у полевок в условиях нормы и выбранных вариантов охлаждения. По всем исследованным биохимическим тестам между контрольными неохлажденными полевками-экономками и полевками Миддендорфа как типичными представителями близких видов с широким и узким ареалом, отчетливо и слабо выраженной степенью внутривидовой дифференциации обнаружены различия (табл. 41).

В сердечной мышце полевок Миддендорфа функционирует цитохромоксидаза, менее активная в сравнении с тем же ферментом полевок-экономок. Оксидазы скелетных мышц полевок Миддендорфа менее чувствительны к действию тироксина. В то время, как у полевок-экономок в условиях нормы введение тироксина вызывает резкую активацию оксидаз в скелетной мускулатуре, в тех же тканях исследованного аборигена Субарктики активации аэробных ферментных систем в ответ на тироксин не происходит. Исследованные нами группы полевок-экономок и полевок Миддендорфа резко отличаются по уровню активности ЛДГ и абсолютной скорости обоих типов гликолиза. В скелетных мышцах полевки Миддендорфа функционирует значительно более мощная лактатдегидрогеназа. Способность

Таблица 41

Окислительный обмен некоторых видов серых полевок в условиях физиологической нормы

Биохимический показатель	Вид полевок					
	Экономка		Узкочерепная		Миддендорфа	
	n	$\hat{y} \pm s\{\hat{y}\}$	n	$\hat{y} \pm s\{\hat{y}\}$	n	$\hat{y} \pm s\{\hat{y}\}$
Эндогенная активность оксидаз ($ТТХ_а/ТТХ_в$) . .	21	$\frac{2,3}{3,2} \pm 6$*	20	$\frac{5,08}{7,42} \pm 1,0$	18	$1,31 \pm 0,1$
Активность цитохромоксидазы, мкмоль НАД/г в 1 мин·10^3	24	$\frac{3,62}{2,98} \pm 0,1$	24	$\frac{3,37}{2,93} \pm 0,1$	9	$1,50 \pm 0,05$
Активность ЛДГ, мкмоль $НАДН_2 \cdot 10^4$/мг в 1 мин	22	$\frac{5,52}{5,08} \pm 0,1$	22	$\frac{4,36}{4,99} \pm 0,1$	8	$9,8 \pm 0,3$
Анаэробный гликолиз, мг лактата/100 г сырой массы ткани при 28°С за 1 ч	20	$\frac{1,45}{0,81} \pm 0,1$	4	$\frac{2,49}{2,98} \pm 0,2$	16	$4,06 \pm 0,1$
Аэробный гликолиз, мг лактата/100 г сырой массы ткани при 28°С за 1 ч	18	$\frac{0,85}{0,85} \pm 0,1$	8	$\frac{2,51}{2,80} \pm 0,2$	16	$1,75 \pm 0,2$
Соотношение *Н*- и *М*- субъединиц в ЛДГ (Н/М)	25	$\frac{0,42}{0,57} \pm 0,07$	34	$\frac{2,28}{1,42} \pm 0,2$	12	$0,69 \pm 0,1$
Чувствительность оксидаз к тироксину, % к исходной активности . .	20	$\frac{312,6}{54,3}$	18	$\frac{116,9}{116,9}$	18	66,4
Эндогенное дыхание, мкатом O_2/мг белка в 1 мин	18	$29,3 \pm 3,0$	17	$29,3 \pm 2,0$	9	$58,9 \pm 6,0$
Свободное окисление сукцината, мкатом O_2/мг белка в 1 мин	20	$120,4 \pm 9,2$	21	$120,4 \pm 9,2$	9	$191,9 \pm 21,1$
Фосфорилирующее окисление сукцината, мкатом O_2/мг белка в 1 мин	21	$178,6 \pm 22,9$	21	$178,6 \pm 22,9$	9	$316,6 \pm 33,1$
Скорость фосфорилирования, мкмоль АДФ/мг белка в 1 мин	19	$194,1 \pm 49,5$	19	$368,3 \pm 49,5$	9	$596,0 \pm 46,1$

Окончание табл. 41

Биохимический показатель	Вид полевок					
	Экономка		Узкочерепная		Миддендорфа	
	n	$\hat{y}\pm s\{\hat{y}\}$	n	$\hat{y}\pm s\{\hat{y}\}$	n	$\hat{y}\pm s\{\hat{y}\}$
Коэффициент сопряженности (АДФ/О)	15	1,5±0,2	15	1,5±0,2	9	1,9±0,1
Содержание митохондриального белка, мг/100 г сырой массы ткани	72	2,0±0,1	72	1,9±0,1	11	0,4±0,1

Примечание. Исследовали животных из лабораторных колоний: полевка Миддендорфа—2-е поколение, полевки-экономки и узкочерепные— 7—10-е поколения (за исключением серий, где определяли показатели с 8 по 13 и изучали животных 20-го поколения). Показатели 1,3—7 определяли в скелетных мышцах полевок, 2— в сердечной мышце, 8—13 — в печени; n—число исследованных животных. $s\{\hat{y}\}$ рассчитывали по формуле: $s\{\hat{y}\}=\sqrt{n_к s^2\{b_i\}}$, где $s^2\{b_i\}$—дисперсия коэффициентов регрессии, $n_к$—число членов в уравнении регрессии.
*В числителе — южный подвид, в знаменателе — северный.

к анаэробному окислению фруктозо-1-6-дифосфата у исследованного субаркта в условиях нормального и заторможенного дыхания (аэробный и анаэробный гликолиз) существенно повышена. Отличается ЛДГ данных видов полевок и по своему изоэнзимному спектру. Хотя у обоих представителей указанных видов с разным ареалом в изоэнзимном спектре ЛДГ преобладают анаэробные изоэнзимы ($H/M < 1$), степень анаэробности ЛДГ экономки, хотя и незначительно, но выше (H/M для полевок Миддендорфа — 0,69, для экономок номинального подвида в 7—10-м поколениях — 0,42).

Уровень эндогенного дыхания в митохондриях печени исследованных полевок Миддендорфа, а также скорость свободного и фосфорилирующего окисления на сукцинате (V_0 и V_{III}) и потребления АДФ в присутствии сукцината значительно выше в сравнении с теми же показателями, характерными для полевки-экономки. Достоверные различия в коэффициенте сопряженности между исследованными представителями вида с узким и широким ареалами в условиях нормы не обнаружены, но выявлена существенная разница в содержании митохондриального белка, а следовательно, и концентрации ферментов дыхательной цепи, где осуществляется свободное и фосфорилирующее окисление янтарной кислоты. В печени исследованного субарктa содержится меньше митохондриального белка.

Выявляются ли в наших опытах достоверные различия выбранных биохимических показателей у полевок-экономок в за-

висимости от принадлежности их к северному или южному (номинальному) подвиду? Обобщенный анализ показывает, что по некоторым тестам южные и северные подвиды исследованного широко распространенного вида не тождественны. Так, сердечная цитохромоксидаза, мало активная у полевки Миддендорфа, у представителей северного подвида экономки имеет более низкую активность, чем у южного (см. рис. 10, табл. 41).

Эндогенная активность оксидаз (см. рис. 2) в гомогенатах скелетных мышц контрольных полевок-экономок у северного подвида выше, чем у южного. Если в тех же мышцах неохлажденных экономок южного подвида анаэробный гликолиз явно преобладает над аэробным (см. рис. 13, 7—10-е поколения) и степень анаэробности изоэнзимного спектра ЛДГ высокая (см. табл. 41), то у северного их подвида в условиях нормы степень анаэробности ЛДГ более низкая, а скорости аэробного и анаэробного гликолиза одинаковы (см. табл. 41, рис. 13). Гомогенаты скелетных мышц неохлажденных полевок-экономок южного подвида реагируют на введение тироксина резкой активацией эндогенных оксидаз (см. табл. 41). В гомогенатах экономок северного подвида в условиях нормы этой реакции.

Достоверные различия между указанными видами и подвидами грызунов обнаружены в наших опытах и при действии низких температур. Полевка-экономка как представитель вида с высокой степенью внутривидовой дифференциации и полевка Миддендорфа, принадлежащая к слабо дифференцированному виду, по-разному изменяют метаболизм тканей при адаптации к холоду.

Активность эндогенных оксидаз в скелетных мышцах охлажденной полевки Миддендорфа так же, как активность цитохромоксидазы в сердечной мышце и исследованные показатели окислительного обмена в митохондриях печени, при экстремальном 20-минутном охлаждении не изменяются (см. табл. 40, рис. 10). Наблюдаются незначительные сдвиги в содержании митохондриального белка печени и интенсивности гликолиза в скелетных мышцах. Количество митохондриального белка и скорости обоих типов гликолиза снижаются, при этом отмечается тенденция к выравниванию интенсивности аэробного и анаэробного гликолиза (см. табл. 24, 39, рис. 13).

Общий анализ результатов в сериях на полевках-экономках показывает, что метаболическая реакция на те же температурные воздействия в тех же органах, в сравнении с исследованным субарктом, у них иная. Для охлажденной полевки-экономки характерна явная, хотя и незначительная, активация эндогенных оксидаз в скелетных мышцах и цитохромоксидазы в сердце (см. рис. 2, 10). Типичная реакция гликолиза в скелетных мышцах охлажденной полевки-экономки — усиление анаэробных свойств ЛДГ, изменение ее изоэнзимного спектра в сторону увеличения количества анаэробных изоэнзимов и умень-

шения аэробных (см. рис. 15). В соответствии с этим при охлаждении в скелетных мышцах полевки-экономки отчетливо подавляется аэробный гликолиз, эффект Пастера становится ярко выраженным (см. рис. 13), общая активность ЛДГ уменьшается или остается на постоянном уровне (см. рис. 14, табл. 26). В митохондриях печени охлажденной полевки-экономки возрастает скорость потребления АДФ ($V_ф$), увеличивается интенсивность потребления кислорода в присутствии сукцината, дыхательный контроль понижается (см. рис. 21, 22). Содержание в печени митохондриального белка в большинстве вариантов повышается или остается стабильным (см. табл. 23).

Существенно, что особенности сдвигов в метаболизме тканей исследованных нами охлажденных полевок-экономок характерны в большинстве для номинального подвида. Результаты показывают, что северные подвиды экономки в некоторых условиях охлаждения, поддерживая ректальную температуру на одинаковом уровне с южными, теряют специфику метаболической реакции на холод. Выявляется биохимическая дифференциация внутри этого вида не только по исходному уровню обмена (контрольные животные), но и по направленности его изменений при охлаждении. В то время, как в скелетных мышцах полевки-экономки южного подвида в условиях 20-минутного выдерживания при температуре —15 °С после предварительной акклимации активность оксидаз увеличивается, в том же органе северного подвида она уменьшается (см. рис. 2).

Общая активность ЛДГ в скелетных мышцах южного подвида при 9-дневной акклимации падает, но в том же органе северного подвида возрастает (см. рис. 14). Эффект Пастера в скелетных мышцах южного подвида экономок в варианте с экстремальным охлаждением после акклимации (см. рис. 13, 5—6-е поколения) выражен отчетливо, а в том же органе северного подвида — слабо. Подавление эффекта Пастера наблюдается у экономок северного подвида 7—10-го поколений после 9-дневной акклимации к температуре 0 — +3 °С (см. рис. 13).

Аналогичные различия в реакции на холодовые воздействия обнаружены в изоэнзимном спектре ЛДГ. Представители южного подвида полевки-экономки в основном реагируют на холод резким понижением коэффициента *H/M* (усилением активности анаэробных изоэнзимов ЛДГ). В большинстве вариантов серии у северного подвида анаэробность ЛДГ не увеличивается или отмечается повышение активности аэробных *H*-субъединиц ЛДГ, изменяется уровень коэффициента *H/M*, который приближается к единице (см. рис. 15). При охлаждении северных и южных подвидов экономки по-разному изменяются показатели окислительного обмена печени, а также чувствительность оксидаз к гормональным сигналам.

Так, в митохондриях печени северного подвида при кратко-

временном охлаждении активация скорости потребления АДФ выражена сильнее, чем в печени южного подвида (см. рис. 21 и 22). В варианте с экстремальным охлаждением после предварительной акклимации в митохондриях печени у южного подвида сопряженность окисления сукцината и фосфорилирования АДФ не изменяется, а у северного — резко возрастает (см. рис. 22). В мышцах южного подвида охлажденной полевки-экономки активность оксидаз увеличивается, но падает чувствительность к тироксину (см. табл. 8). В мышцах северного подвида, напротив, при охлаждении интенсивность эндогенного аэробного метаболизма не повышается, но при введении тироксина происходит активация оксидаз.

Анализ результатов, полученных при изучении узкочерепных и памирских полевок как представителей подвидов, дивергирующих в сторону видового обособления, позволяет сделать определенные заключения.

У узкочерепной полевки и экономки скорости свободного и фосфорилирующего окисления сукцината в митохондриях печени, активность цитохромоксидазы в сердце и лактатдегидрогеназы в скелетной мускулатуре, содержание митохондриального белка одинаковы (см. табл. 41). Достоверные различия между этими видами обнаружены в реакции гликолиза и изоэнзимов лактатдегидрогеназы на охлаждение. В скелетных мышцах узкочерепной полевки в условиях действия низких температур не происходит сдвигов в сторону преобладания анаэробного гликолиза (см. рис. 13) и анаэробных изоэнзимов лактатдегидрогеназы (см. рис. 16), что отмечено для скелетных мышц полевки-экономки. У охлажденной узкочерепной полевки равномерно распределены аэробные и анаэробные изоэнзимы мышечной лактадегидрогеназы или выявлены сдвиги в сторону активации аэробного гликолиза и аэробных изоэнзимов. В печени узкочерепной полевки при охлаждении наблюдается снижение коэффициента Вант-Гоффа для сукцинатдегидрогеназы (см. табл. 20). При этом повышение скорости фосфорилирования при окислении сукцината в том же органе не сопровождается, как у экономки, накоплением митохондриального белка, а обнаруживается уменьшение его концентрации (см. рис. 23). По реакции митохондриального белка в печени на охлаждение узкочерепная полевка более близка к исследованному нами аборигену Субарктики.

По скорости фосфорилирования при окислении сукцината в печени и содержанию митохондриального белка исследованные арчевая и памирская полевки резко отличаются от полевки Миддендорфа. Они имеют очень низкий уровень фосфорилирования АДФ при окислении сукцината и увеличенное содержание митохондриального белка (см. рис. 25). По характеру изоэнзимного спектра лактатдегидрогеназы в условиях нормы оба подвида памирской полевки (*M. juldaschi juldaschi* и *M. jul-*

daschi) более близки к полевке Миддендорфа (см. рис. 19). Сдвиги в изоэнзимном спектре лактатдегидрогеназы скелетных мышц охлажденной арчевой полевки аналогичны подобным сдвигам у охлажденной экономки (отмечаются увеличение числа *M*-субъединиц фермента, активация анаэробного гликолиза и подавление аэробного, что находит выражение в явном снижении коэффициента *H*/*M*). В скелетных мышцах охлажденной памирской полевки изменения в активности аэробных и анаэробных изоэнзимов отсутствуют и соотношения между аэробными и анаэробными изоэнзимами аналогичны таковым в лактатдегидрогеназе мышц исследованного аборигена Субарктики (коэффициент $H/M \approx 1$).

Интересно, что биохимическая дифференциация по общей эндогенной активности оксидаз и их чувствительности к тироксину, обнаруженная внутри вида полевки-экономки, имеет место и внутри широко распространенного вида улиток *B. fruticum*, проявляясь на уровне полосатых и бесполосых генетических вариантов (см. рис. 5). Полосатые морфы улиток *B. fruticum*, имеющие в пределах 8—10 °С высокий уровень эндогенных оксидаз и низкую чувствительность к тироксину в сравнении с бесполосыми, при более глубоком охлаждении (0 °С) активность оксидаз подавляют, увеличивая чувствительность к гормону. При этом бесполосые морфы в тех же условиях охлаждения, имея пониженный уровень эндогенных оксидаз и повышенную чувствительность к тироксину, при температуре 0 °С повышают эндогенную активность оксидаз и снижают чувствительность к тироксину. Внутри менее широко распространенного вида улиток *B. lantzi* дифференциация на уровне изученных лево- и правовращающих генетических вариантов по исходным данным эндогенной активности оксидаз не обнаружена (см. рис. 7).

Сравнительный анализ изученных адаптивных биохимических реакций у охлажденных серых полевок с разной степенью внутривидовой морфологической дифференциации позволяет обнаружить следующую специфику (рис. 26). При адаптации к 20-минутному экстремальному охлаждению полевки-экономки и полевки Миддендорфа существенную роль играет одновременная активация гликолиза в скелетной мышце и фосфорилирующего окисления сукцината в печени, но в скелетной мышце полевки-экономки при этом повышаются анаэробные свойства ЛДГ и чувствительность мышечных оксидаз к тироксину. В результате резервом анаэробного дополнительного синтеза АТФ при охлаждении является анаэробный гликолиз, а доля фосфорилирующего дыхательного окисления в мышцах как другой источник дополнительного синтеза АТФ уменьшена, поскольку чувствительность оксидаз к тироксину повышена (усиливается при охлаждении разобщение).

В мышце полевки Миддендорфа, где ЛДГ одинаково хоро-

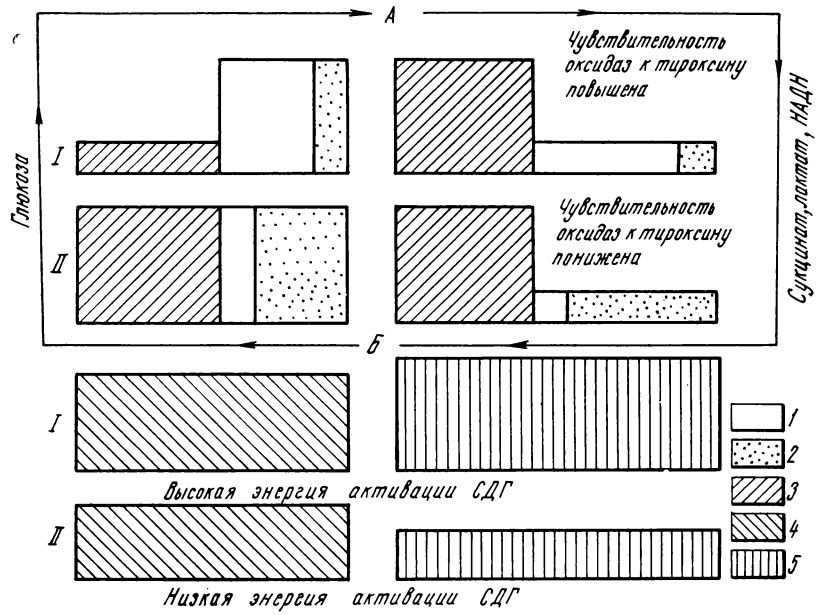


Рис. 26. Особенности некоторых адаптивных изменений в окислительном обмене скелетных мышц (*А*) и печени (*Б*) полевки-экономки (I) и полевки Миддендорфа (II) в условиях 20-минутного охлаждения при температуре —15 °С.
Окисление: *1* — свободное, *2* — фосфорилирующее; *3* — интенсивность гликолиза; *4* — скорость фосфорилирования АДФ при окислении сукцината; *5* — содержание митохондриального белка.

шо функционирует в анаэробных и аэробных условиях, в тех же опытах с охлаждением гликолиз как дополнительный источник АТФ действует наравне с дыханием. Сохраняется высоким и уровень анаэробного гликолиза. В результате понижения чувствительности мышечных оксидаз к тироксину на высоком уровне поддерживается фосфорилирующее окисление в дыхательной цепи. За единицу времени в скелетной мышце полевки Миддендорфа окислительный обмен поставляет больше АТФ, чем у полевки-экономки.

В печени экономки при охлаждении окислительный синтез АТФ увеличивается благодаря повышению скорости фосфорилирования АДФ при окислении сукцината (в расчете на 1 мг митохондриального белка) и за счет возрастания концентрации митохондриального белка.

В печени полевки Миддендорфа в тех же условиях охлаждения синтез АТФ увеличивается при небольшом содержании митохондриального белка благодаря очень резкому повышению скорости фосфорилирования АДФ при окислении сукцината (в расчете на 1 мг митохондриального белка) и снижению энергии активации СДГ. В результате за единицу времени в пече-

ни полевки Миддендорфа, несмотря на низкое содержание митохондриального белка, синтезируется в процессе окисления больше АТФ, чем у экономки.

Дополнительный окислительный синтез АТФ в мышце и печени охлажденных исследованных нами полевок, по-видимому, поддерживается на повышенном уровне за счет эндогенных субстратов. Из печени в мышцу через кровь поступает глюкоза, источник которой — гликоген печени. На его ресинтез расходуется и АТФ, образующийся при окислении в данном органе сукцината. Из мышцы в печень тоже через кровь поступают такие промежуточные продукты обмена, в том числе и мощного гликолиза в мышцах, как лактат, восстановленный НАД, сукцинат.

В наших опытах на полевках не обнаружено достоверных сдвигов в содержании лактата непосредственно в скелетных мышцах охлажденных животных, что соответствует литературным данным [82, 190]. Известно, [157—159, 160, 161], что при действии низких температур общее потребление кислорода интактными полевками Миддендорфа не изменяется. В печени многих аборигенов Субарктики обнаруживают повышенное количество гликогена [344]. Можно предполагать, что одновременная активация гликолиза в скелетной мускулатуре и фосфорилирующего окисления сукцината в печени, взаимосвязь между метаболизмом в этих органах и обеспечивают возможность адаптации полевок Миддендорфа в условиях нормального (а не повышенного) снабжения кислородом. Существенно, что адаптация, связанная с увеличением числа митохондрий, рассматривается как менее совершенная.

При изучении компенсаторной гиперфункции сердца выделяют три стадии [181]. Принято считать, что на первой стадии, когда появляется дополнительная нагрузка на сердечную мышцу, наблюдается существенная активация метаболизма, обеспечивающая энергией и функцию, и синтез белков. Увеличивается окислительная активность на единицу массы миокарда. Одновременно под влиянием генетического аппарата повышаются содержание не только ДНК, РНК и мышечных белков, но и белков, непосредственно ответственных за окислительный синтез АТФ, число митохондрий, содержание митохондриального белка.

На второй стадии гиперфункция миокарда осуществляется главным образом за счет увеличения его массы и не сопровождается гиперфункцией образующей его мышечной ткани. Окислительная активность ферментов нормализуется. Повышенное количество энергии, необходимое для адаптации к физической нагрузке, образуется не путем интенсивного окисления субстрата, а за счет увеличения числа митохондрий, где происходит это окисление. Данную стадию Меерсон характеризует как «стадию внешнего благополучия» [181], на которой ис-

подволь могут развиваться регрессивные сдвиги, вызывающие необратимые патологические изменения. Увеличение массы миокарда, в частности, накопление митохондриального белка, может привести к снижению сократительных возможностей сердца.

На третьей стадии — постепенного изнашивания и прогрессивного кардиосклероза — наблюдаются угнетение активности генетического аппарата миокардинальных клеток, подавление синтеза ДНК, РНК и мышечных белков, снижение активности окислительных ферментных систем и синтеза макроэргов.

Следовательно, по данным Меерсона и его сотрудников [182], стадия адаптации, на которой образование дополнительной энергии происходит за счет усиленного синтеза белков, в том числе и митохондриальных,— это стадия лишь «внешнего», кажущегося благополучия, она может привести к нарушению синтеза не только ДНК, РНК, но и митохондриального белка, деструкции мышечных белков, расстройству их функции. По-видимому, последнее указывает, что данная стадия адаптации энергетически менее совершенна. Вероятно, количественные сдвиги в отлаженном синтезе белка требуют бóльших затрат энергии, чем индуцирование изменений в качестве синтезируемого белка.

Таким образом, при адаптации к испытанным низким температурам полевки-экономки и полевки Миддендорфа используют все три известные типа биохимической стратегии: изменяют активность ферментов, их свойства и количество.

Специфика биохимической адаптации в зависимости от степени морфологической дифференцировки вида и ранга экологической группы — в таком сочетании количественных и качественных изменений обмена, которые обеспечивают в условиях равного поступления субстратов и кислорода окислительный синтез разного количества АТФ при разных энергетических затратах.

У полевки-экономки при адаптации наблюдается корреляция повышенного гликолиза в скелетной мускулатуре с повышенным же, но менее эффективным окислением сукцината в печени (так как оно происходит в условиях увеличения концентрации митохондриального белка). У полевки Миддендорфа установлена корреляция мощного гликолиза в скелетной мышце с повышенным и более эффективным окислением сукцината в печени (так как оно происходит в условиях низкой концентрации митохондриального белка при понижении энергии активации для СДГ). Следовательно, в одном случае — лишний расход энергии при окислительном синтезе АТФ в результате повышенного синтеза ферментов, в другом — экономия энергии, так как повышение скорости синтеза АТФ осуществляется благодаря конформационным изменениям в молекулах ферментов. У полевки-экономки в процессе окислительного синтеза в мышце и

печени образуется меньше АТФ (в сравнении с полевкой Миддендорфа), и этот процесс протекает с большими тратами энергии, менее экономно. У полевки Миддендорфа изменения на тканевом уровне индуцируют получение в тех же органах и в тех же условиях охлаждения большего количества АТФ, и энергии на синтез данного макроэрга тратится меньше.

Выявленные нами признаки биохимической адаптации, энергетически более эффективной, отчетливо выраженные у исследованного типичного представителя специализированного, слабо морфологически дифференцированного вида (*Microtus Middendorfi*), обнаруживаются в определенных условиях охлаждения и внутри исследованных широко распространенных видов (у северного подвида экономки, памирской полевки, двух подвидов узкочерепной полевки). Существует мнение [342, 36, 218, 80], что памирская и арчевая полевки так же, как *M. g. gregalis* и *M. g. major*, дивергируют в сторону нового видового обособления, хотя и в разной степени. Появление признаков биохимической адаптации, связанных с понижением ее энергетической стоимости, внутри типичного, широко распространенного вида (*M. oeconomus*), исследованного нами, и внутри видов, дивергирующих в сторону нового видового обособления (*M. g. gregalis* и *M. juldaschi*), указывает на существенную роль в механизме видообразования не просто тканевых, или биохимических, приспособлений [329], но наиболее совершенных в энергетическом отношении тканевых приспособлений.

Сопоставление результатов, полученных на полевках разных поколений, показывает, что генетически закреплены не исходные биохимические особенности, а направленность изменений в биохимических показателях при одном и том же температурном воздействии.

В связи с этим специфика биохимической адаптации на уровне вида и подвида, как показывают наши данные, заключается не в использовании организмом каких-то новых биохимических механизмов, а в регуляции окислительного обмена, характер которой определяется энергетической стоимостью окислительного синтеза АТФ. Очевидно, что такая регуляция, наряду с другими неизученными биохимическими механизмами, может быть связана в процессе микроэволюции с расширением диапазона функционирования мышечной ЛДГ, с понижением чувствительности мышечных оксидаз к тироксину, с активацией гликолиза в скелетной мышце и фосфорилирующего окисления сукцината в печени в условиях пониженного синтеза митохондриального белка и меньшей энергии активации СДГ.

Следует отметить, что мнения о полезности (в эволюционном плане) сдвигов в количестве ферментов противоречивы. Вильсон [134], отмечая в эволюции бактерий роль адаптации с помощью регуляции синтеза ферментов, подчеркивает, что не только у бактерий, но и у высших организмов регуляция син-

теза молекул, увеличение количества ферментов могут иметь значение как материал для действия естественного отбора. В работах уже упомянутых кардиологов [125] стадия адаптации миокарда, связанная с изменением регуляции синтеза окислительных ферментов, с накоплением митохондриального белка, рассматривается как не всегда благоприятная. По-видимому, в процессе видообразования в результате естественного отбора сохраняются такие признаки, как снижение и повышение концентрации ферментов.

Как показывают наши данные, при обособлении таких видов, как *M. Middendorfi*, *M. gregalis*, *M. juldaschi*, вероятно, эволюционную значимость имела дифференциация в сторону выравнивания скоростей синтеза *H*- и *M*-субъединиц мышечной ЛДГ. В то же время полезным приспособлением, по-видимому, оказалось сочетание повышенной скорости окисления сукцината в митохондриях печени и пониженного синтеза митохондриального белка, который ответствен за это окисление.

Полевка Миддендорфа, способная к получению энергии более экономичным путем, более выносliва и в период весенних паводков, когда вынуждена проходить большие расстояния, пересекая ручьи и реки с ледяной водой. Полевка-экономка северного подвида, обитающая в той же климатической зоне (п-ов Ямал), обладает данным энергетически более эффективным биохимическим механизмом адаптации в слабо выраженной форме и к миграциям в экстремальных условиях не способна.

Предположение, что в процессе микроэволюции существенную роль играет целенаправленная биохимическая регуляция, соответствует положениям, которые сформулированы биохимиками — эволюционистами, морфологами, современными генетиками, ведущими специалистами в области молекулярной биологии. Флоркен, обобщая данные в области сравнительной биохимии, обсуждая проблему единства биохимического плана животных и биохимических различий, пришел к выводу, что биохимическая адаптация осуществляется путем приобретения нового компонента, выполняющего новую роль за счет приобретения старым компонентом новых функций (цит. по [356]). Кребс и Корнберг [137], подчеркивая, что химические процессы, совершающиеся в различных организмах и в одном и том же организме, обнаруживают известные общие черты, отмечали, что эти процессы, протекающие в живой материи, представляют собой модификации ограниченного числа одних и тех же основных процессов. Дж. Бернал предлагал ограничить проблему физико-химического биопоэза стадией клетки, а дальнейшее исследование процесса эволюции проводить в рамках старых морфологических дисциплин, ибо эволюция простейших и высших, как он считал, не была связана с появлением принципиально новых биохимических механизмов.

В то же время многие исследователи [79, 336, 337], предугадывая существование биохимической специфики на высших, надорганизменных, уровнях организации, неоднократно писали о необходимости изучения эволюции биохимических структур на уровне не только клетки, но и организма, включая подвиды и виды.

Энгельгардт [351], обсуждая наиболее важные и перспективные направления исследований в современной молекулярной биологии, пишет, что задача последующих поисков — отправляясь от редукционистских исследований, полностью ассимилируя и используя их достижения, двигаться к более высоким уровням биологической усложненности. Отмечая работы Георгиева, развившего идеи Моно и Жакоба и создавшего схему строения наследственной системы высших организмов, Энгельгардт одним из первых обнаружил, что, согласно этой схеме, существует огромная диспропорция в размерах основной части ДНК, содержащей наследственную информацию, и остального отрезка ДНК, составляющего 90 % объема, который выполняет вспомогательные (в первую очередь, регуляторные) функции и, несомненно, еще какие-то иные, пока неясные, но выяснение природы которых стоит в числе ближайших задач исследования.

Нестабильность изученных нами биохимических показателей при исследовании близких видов и подвидов в ряду поколений и сохранение направленности их изменений при действии холода в ряду поколений позволяют предполагать, что именно целенаправленные изменения в окислительном обмене, индуцируемые, по-видимому, с помощью регуляторного отрезка ДНК, определяют эволюционные преобразования на таких надорганизменных уровнях, как подвидовой и видовой.

Глава 3
ЭКЗОМЕТАБОЛИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ КАК ПОПУЛЯЦИОННЫЙ МЕХАНИЗМ АДАПТАЦИИ

3.1. СТАДИО- И ВИДОСПЕЦИФИЧНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ ИЗ ЗАГУЩЕННОЙ ПОПУЛЯЦИИ ГОЛОВАСТИКОВ НА ЭНДОГЕННУЮ АКТИВНОСТЬ ОКСИДАЗ

Изучение зависимости биохимической адаптации от плотности популяции и ее структуры было начато нами с постановки опытов по влиянию водной среды головастиков на их эндогенный метаболизм [235].

В первой серии опытов (32 головастика) экзометаболиты в виде водной среды из загущенной популяции *R. macrocnemis* в объеме 0,6 мл вводили в гомогенаты головастиков из той же популяции. Водную среду брали в отдельные последовательные периоды развития личинок. Опыты ставили по плану пассивного эксперимента. В качестве показателя эндогенного метаболизма определяли эндогенную активность оксидаз, используя апробированный ранее, при изучении механизмов адаптации видов и внутривидовых групп, «тетразоловый» метод.

Одновременно по нашей просьбе зоологи при введении той же водной среды определяли скорость регенерации у интактных головастиков (табл. 42). Анализ полученных данных показывает, что водная среда головастиков и содержащиеся в ней продукты обмена личинок, составляющих популяцию, увеличивают эндогенную активность оксидаз отдельных особей популяции. При этом активирующий эффект водной среды по отношению к активности ферментов личинки коррелирует с активирующим эффектом той же «воды» по отношению к скорости регенерации.

Обнаруженный нами эффект стимуляции окислительного обмена (см. табл. 42), по мере старения проб уменьшается. Популяция была сформирована 21 апреля. Водная среда через 47 дней с момента формирования популяций обладает значительным активирующим эффектом ($ТТХ_а/ТТХ_в$ от 3,9 в контроле увеличивается в опыте до 16,5). Через 52 дня коэффициент повышается до 8,7, через 54 дня — до 5,9. Через 2 мес этот же объем водной среды в 0,6 мл не оказывает активирующего влияния ни на активность оксидаз головастика, ни на его спо-

Таблица 42

Влияние метаболитов головастиков (*R. macrocnemis*) на их эндогенный метаболизм и скорость регенерации

Дата	Метаболиты	Тетразолвосстанавливающая активность гомогената (г/мл) в атмосфере		$\frac{ТТХ_а}{ТТХ_в}$	Активация скорости регенерации
		аргона	воздуха		
6.VI	Контроль (без введения метаболитов)	0,275	0,070	3,92	—
	Водная среда	0,680	0,041	16,50	+
	»	0,236	0,030	7,86	+
13.VI	Контроль	0,272	0,070	3,80	—
	Водная среда	0,593	0,068	8,70	+
15.VI	»	1,090	0,185	5,90	+
20.VI	»	0,332	0,227	1,04	+

Примечание. Взято среднее значение тетразолвосстанавливающей активности гомогената из трех параллельных опытов.

Таблица 43

Влияние метаболитов земноводных разной степени генетической близости на эндогенный метаболизм головастиков *R. macrocnemis* в зависимости от стадии их развития и концентрации метаболитов (2-я серия)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Объем водной среды (концентрация метаболитов, мл) C	Вид донора T	Стадия развития реципиента
1	0,0	*R. camerani*	*A* до 26
2	0,6	*R. macrocnemis*	$B \gg 26$
3	1,2	*R. arvalis*	$C \gg 28$
4	1,8	*R. temqoraria*	$Д \gg 29$

Матрица планирования по типу латинского квадрата и результаты эксперимента

C	T			
	1	2	3	4
0,0	$\overline{A}$ $\overline{y_1}=3,00$	$\overline{B}$ $\overline{y_2}=1,6$	$\overline{C}$ $\overline{y_3}=2,3$	$\overline{D}$ $\overline{y_4}=1,6$
0,6	$\overline{D}$ $\overline{y_5}=2,2$	$\overline{A}$ $\overline{y_6}=4,5$	$\overline{B}$ $\overline{y_7}=2,9$	$\overline{C}$ $\overline{y_8}=3,5$
1,2	$\overline{C}$ $\overline{y_9}=2,6$	$\overline{D}$ $\overline{y_{10}}=1,7$	$\overline{A}$ $\overline{y_{11}}=2,7$	$\overline{B}$ $\overline{y_{12}}=4,2$
1,8	$\overline{B}$ $\overline{y_{13}}=4,0$	$\overline{C}$ $\overline{y_{14}}=10,1$	$\overline{D}$ $\overline{y_{15}}=6,0$	$\overline{A}$ $\overline{y_{16}}=3,9$

Примечание. Эксперимент по данному плану ставился трижды. $\overline{y}$—среднее значение эндогенной активности оксидаз гомогената в каждом из вариантов.

Таблица 44

Дисперсионный анализ результатов

Рассеяние	s_u	f	s^2	F_1	F_2	$F_{0,05}$
По фактору C	34,68	3,0	11,56	1,52	14,3	4,76
По фактору T	51,30	3,0	17,10	2,25	16,9	4,76
По стадиям	70,10	3,0	23,36	3,89	23,1	4,76
Остаточное	45,56	6,0	7,59	—	—	—

Примечание. $s^2\bar{y}$—дисперсия воспроизводимости среднего значения 1,01; s_u, s^2—дисперсии по каждому фактору и остаточная соответственно; F_1—отношение дисперсий по каждому фактору к остаточной дисперсии; F_2—отношение дисперсий по каждому фактору к $s^2\bar{y}$.

собность к регенерации. Уменьшение эффекта активации, вероятно, может быть обусловлено двумя причинами: либо образующиеся в процессе развития экзометаболиты постепенно разрушаются и их концентрация на последних стадиях уменьшается, в силу чего эффект влияния ослабевает и исчезает полностью, либо направленность влияния метаболитов в процессе метаморфоза зависит от возраста особей в популяции и эффект активации ослабевает, поскольку объект изучения «стареет».

Предположение о зависимости влияния экзометаболитов от стадии развития животного, его генетических особенностей и концентрации метаболитов нашло подтверждение в результатах следующей серии опытов, где все перечисленные факторы, благодаря использованию математического метода планирования, оказались количественно учтены (табл. 43). В данной серии (384 головастика) эндогенный метаболизм изучали в гомогенатах головастиков *R. macrocnemis* четырех разных стадий развития. Испытывали влияние разных объемов водной среды четырех видов земноводных (*R. camerani*, *R. macrocnemis*, *R. arvalis*, *R. temporaria*). Опыт ставился по плану латинского квадрата.

Сравнение абсолютных величин отношений дисперсий по каждому фактору (табл. 44) с использованием остаточной дисперсии (F_1) и дисперсии воспроизводимости результатов (F_2) показало, что исследуемый в опыте уровень эндогенных оксидаз отдельных особей зависит от стадии их развития ($F_1 = 3{,}89$; $F_2 = 23{,}1$), видовой принадлежности доноров водной среды ($F_1 = 2{,}25$; $F_2 = 16{,}9$) и концентрации метаболитов ($F_1 = 1{,}52$; $F_2 = 14{,}3$).

Бóльшая величина остаточной дисперсии (см. табл. 44) в сравнении с ошибкой единичного значения показателя эндогенной активности оксидаз указывает на наличие в системе взаимодействий. Эффект влияния водной среды на эндогенную

активность оксидаз особей популяции, как видно из результатов данной серии, определяется концентрацией метаболитов, видовой принадлежностью донора и стадией развития реципиента, т. е. видо- и стадиоспецифичен.

3.2. СТАДИО- И ВИДОСПЕЦИФИЧНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ЭКЗОБЕЛКОВ ГОЛОВАСТИКОВ ИЗ ЗАГУЩЕННОЙ ПОПУЛЯЦИИ НА ЭНДОГЕННУЮ АКТИВНОСТЬ ОКСИДАЗ

При изучении химической природы экзометаболитов, способных изменить обмен отдельного головастика в зависимости от стадии развития и степени генетического родства личинок, мы использовали два приема: трипсинизацию водной среды для разрушения активных белков и разделение ее с помощью гельфильтрации на сефадексе [258, 235]. Водная среда, вызывающая активацию эндогенного метаболизма в гомогенатах головастиков, была обработана трипсином, в условиях, обеспечивающих полное разрушение белка (1 мг кристаллического фермента на 500 мл воды; инкубация в течение 24 ч при температуре 25 °С).

Были поставлены опыты в целях сравнения эффекта влияния водной среды в условиях in vitro до и после обработки ферментом (табл. 45). Результаты показали, что активация оксидаз в гомогенате своего вида полностью исчезает после обработки водной среды трипсином. Изучали видоспецифичность действия фракций, выделенных из водной среды головастиков *R. arvalis* и содержащих экзометаболиты с разной молекулярной массой (табл. 46—48, рис. 27, 28). Опыты ставили по плану ПФЭ типа 2^2 [172]. В пяти последовательных сериях определяли эндогенную активность оксидаз (y) в гомогенатах головастиков двух видов (x_2) при введении определенного количества фракций водной среды или водопроводной, предварительно выдержанной, воды (x_1). Уравнения регрессии для фракции с молекулярной массой более 5 тыс. имеют вид

$$y = 4{,}7 - 0{,}7\,x_1 - 0{,}66\,x_1x_2;\ t_{0{,}95}sb_i = 0{,}59$$

(в эксперименте с головастиками *R. arvalis, R. camerani*);

$$y = 4{,}95 + 1{,}85\,x_1 - 1{,}0\,x_2 - 2{,}2\,x_1x_2;\ t_{0{,}95}sb_i = 0{,}99$$

(в эксперименте с головастиками *R. arvalis, R. macrocnemis*).

Уравнения регрессии для фракции с молекулярной массой менее 5 тыс. имеют вид

$$y = 4{,}5 + 0{,}57\,x_2 - 1{,}37\,x_1x_2,\ t_{0{,}95}sb_i = 0{,}52$$

(в эксперименте с головастиками *R. arvalis, R. camerani*);

$$y = 4{,}5 + 0{,}56\,x_2 + 1{,}08\,x_1 - 2{,}23\,x_1x_2,\ t_{0{,}95}sb_i = 0{,}54$$

(в эксперименте с головастиками *R. arvalis, R. macrocnemis*).

Таблица 45

Эндогенный метаболизм головастиков *R. arvalis* (26-я стадия развития) в нативной водной среде из загущенной популяции головастиков того же вида и безбелковой (5-я серия)

Гомогенат	Тетразол восстанавливающая активность гомогената в атмосфере						$\frac{TTX_a}{TTX_в}$	Достоверность
	аргона $M \pm m$			воздуха $M \pm m$				
В дистиллированной воде	1*	0,267±0,024	4	0,052±0,007	7	5,17±0,68	$t_{1,2}=1,17$ $t_{1,3}=1,29$	
В водной среде	2	0,247±0,002	5	0,025±0,003	8	10,17±2,8	$t_{4,5}=9,0$ $t_{4,6}=2,33$	
В водной среде, обработанной трипсином . .	3	0,250±0,016	6	0,045±0,003	9	5,6±0,46	$t_{7,9}=3,87$ $t_{7,9}=1,16$	

* 1—9 — номера опытов. В каждом из вариантов представлены средние результаты пяти опытов.

Таблица 46

Влияние метаболитов с молекулярной массой более 5 тыс. из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* на их эндогенный метаболизм в зависимости от степени генетического родства донора и реципиента

Уровень	Независимые переменные			
	5-я серия		7-я серия	
	Фракция 1, мг $\widetilde{x_1}$	Вид реципиента $\widetilde{x_2}$	Фракция 1, мг $\widetilde{x_1}$	Вид реципиента $\widetilde{x_2}$
Верхний (+)	1,2	*R. arvalis*	1,2	*R. arvalis*
Нижний (—)	0,0	*R. camerani*	0,0	*R. macrocnemis*

Кодированные независимые переменные			$TTX_a/TTX_в$									
№ варианта	x_1	x_2	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	4,1	4,5	4,0	4,2	4,65	2,1	1,7	1,9	1,9	1,9
2	+	—	7,2	6,1	—	6,6	6,19	11,6	7,0	11,3	10,0	10,0
3	—	+	5,8	3,6	3,6	4,3	4,75	5,8	3,6	3,6	4,3	4,3
4	+	+	2,7	4,0	4,0	3,6	3,21	2,7	4,0	4,0	3,6	3,6

Примечание. Статистические показатели; $b_0=4,7$; $b_1=+0,42$; $b_2=-0,72$; $b_{12}=-0,77$; $s^2\bar{y}=0,24$; $t_{0,95}sb_i=0,59$; $y=4,7-0,77x_1x_2$; $s^2_{ад}=0,73<Fs_2\bar{y}=1,34$ (6-я серия).

$b_0=4,95$; $b_1=1,85$; $b_2=-1,0$; $b_{12}=-2,20$; $s^2\bar{y}=0,74$; $t_{0,95}sb_i=0,99$; $y=4,95-1,0x_2-2,20x_1x_2$ (7-я серия).

Таблица 47

Влияние метаболитов водной среды с молекулярной массой 5 тыс. из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* на их эндогенный метаболизм в зависимости от степени генетического родства донора и реципиента

Уровень	Независимые переменные			
	8-я серия		9-я серия	
	Фракция 2, мл $\widetilde{x_1}$	Вид реципиента $\widetilde{x_2}$	Фракция 2, мл $\widetilde{x_1}$	Вид реципиента $\widetilde{x_2}$
Верхний (+)	1,2	*R. arvalis*	1,2	*R. arvalis*
Нижний (—)	0,0	*R. camerani*	0,0	*R. macrocnemis*

Кодированные независимые переменные			TTX_a/TTX_B									
№ варианта	x_1	x_2	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	3,0	4,0	3,5	3,5	3,70	1,7	1,9	1,7	1,76	1,76
2	+	—	6,7	6,7	—	6,7	6,44	8,7	9,3	7,4	8,4	8,4
3	—	+	4,0	6,5	4,8	5,1	5,30	4,0	6,5	5,1	5,1	5,1
4	+	+	2,6	3,1	2,7	2,8	2,56	3,1	2,7	2,6	2,8	2,8

Примечание. Статистические показатели: $b_0=4,5$; $b_1=0,22$; $b_2=-0,57$; $b_{12}=-1,37$; $s^2y=0,189$; $t_{0,95}sb_i=0,52$; $y=4,5-0.57\ x_2-1,37\ x_1x_2$; $s^2_{ад}=0,20<Fs^2y=1,06$; (8-я серия);

$b_0=4,51$; $b_1=1,08$; $b_2=-0,56$; $b_{12}=-2,23$; $s^2y=0,67$; $t_{0,95}sb_i=0,54$; $y=4,5-0,56\ x_2+1,08\ x_1-2,23x_1x_2$ (9-я серия).

При введении в гомогенаты фракции с молекулярной массой менее 1 тыс. получено уравнение

$$y = 2,97 + 1,17\,x_2,\ t_{0,95}sb_i = 0,50$$

(в эксперименте с головастиками *R. arvalis, R. macrocnemis*).

Анализ представленных уравнений и расчетных данных (см. рис. 28) показывает, что во всех сериях, где использованы фракции, содержащие компоненты с молекулярной массой более 5 тыс., менее 5 тыс. и менее 1 тыс., действие на эндогенную активность оксидаз в зависимости от вида реципиента было неодинаковым (b_{12} во всех уравнениях, за исключением последнего, больше tsb_i).

По отношению к особям своего вида (*R. arvalis*) выделенные из загущенной популяции головастиков первые две фракции являются ингибиторами, по отношению к особям чужого вида (*R. camerani* и *R. macrocnemis*) — активаторами. Третья фракция, содержащая низкомолекулярные компоненты водной среды, на эндогенную активность оксидаз головастиков не действует (b_1 и $b_{12} < t_{0,95}sb_i$).

Таблица 48

Влияние метаболитов водной среды с молекулярной массой менее 1 тыс. из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* на их эндогенный метаболизм в зависимости от степени генетического родства доноров и реципиента

Уровень			Натуральные независимые переменные (10-я серия)				
			Фракция 2 $\widetilde{x_1}$		Вид реципиента $\widetilde{x_2}$		
Верхний (+)			1,2		*R. arvalis*		
Нижний (—)			0,0		*R. macrocnemis*		
Кодированные независимые переменные			$ТТХ_а/ТТХ_в$				
№ варианта	x_1	x_2	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	1,7	2,1	1,9	1,9	1,80
2	+	—	1,7	1,7	—	1,7	1,80
3	—	+	5,8	3,6	3,6	4,3	4,14
4	+	+	3,8	3,8	4,5	4,0	4,14

Примечание. Статистические показатели: $b_0=2,97$; $b_1=-0,12$; $b_2=+1,17$; $b_{12}=-0,02$; $s^2y=0,17$; $t_{0,95}sb_i=0,50$.

Исследовали действие двух высокомолекулярных фракций, полученных тем же методом (гельфильтрации на сефадексе Г-25) из данных популяций, но в более поздний период развития (табл. 49, рис. 29). Эндогенную активность оксидаз (y) определяли в гомогенатах головастиков двух видов (x_3) на двух стадиях развития (x_2) при введении высокомолекулярной фракции или водопроводной воды (x_1).

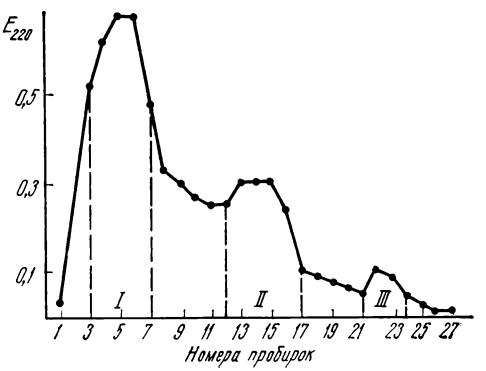


Рис. 27. Гельфильтрация водной среды из популяции головастиков *R. arvalis* через сефадекс Г-25. Колонка 1,5×20 см. Элюирование водой, скорость 2 мл/мин, объем проб 2 мл.

I — III — полученные и исследованные в сериях фракции.

Таблица 49

Влияние двух высокомолекулярных фракций водной среды из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* на их эндогенный метаболизм в зависимости от стадии развития и таксономического положения реципиента

Уровень	Натуральные независимые переменные					
	11-я серия			12-я серия		
	Фракция 1, мл $\widetilde{x}_1$	№ стадии развития реципиента $\widetilde{x}_2$	Вид реципиента $\widetilde{x}_3$	Фракция 2, мл $\widetilde{x}_1$	№ стадии развития реципиента $\widetilde{x}_2$	Вид реципиента $\widetilde{x}_3$
Верхний (+)	1,2	26	*R. arvalis*	1,2	26	*R. arvalis*
Нижний (—)	0,0	28	*R. macrocnemis*	0,0	28	*R. macrocnemis*

Кодированные независимые переменные				$ТТХ_а/ТТХ_в$									
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}_3$	$\hat{y}$
1	—	—	—	0,65	0,67	0,72	0,68	0,64	1,25	1,06	0,96	1,09	1,04
2	+	—	—	0,89	0,96	1,00	0,95	1,24	0,96	0,97	0,96	0,96	1,02
3	—	+	—	0,64	0,68	0,78	0,70	0,62	0,85	1,07	0,92	0,98	0,98
4	+	+	—	0,65	0,68	0,80	0,71	0,66	0,85	0,73	0,75	0,77	0,72
5	—	—	+	1,00	1,38	2,3	1,56	1,24	0,55	0,35	0,84	0,58	0,56
6	+	—	+	0,48	0,60	0,75	0,61	0,64	0,43	0,67	0,43	0,51	0,58
7	—	+	+	0,43	0,70	0,79	0,64	0,66	0,84	0,47	0,49	0,60	0,62
8	+	+	+	0,41	0,52	0,69	0,54	0,62	1,00	0,85	0,93	0,92	0,99

Примечание. Статистические показатели: b_0=0,79; b_1=—0,09; b_2=—0,15; b_3=—0,04; b_{12}=+0,07; b_{13}=—0,16; b_{23}=—0,09; b_{123}=+0,14; $s^2\bar{y}$=0,0226; $t_{0,95}sb_i$=0,106 (11-я серия).

b_0=0,80; b_1=—0,01; b_2=+0,01; b_3=—0,14; b_{12}=+0,04; b_{13}=+0,07; b_{23}=+0,09; b_{123}=+0,06; $s_2\bar{y}$=0,007; $t_{0,95}sb_i$=0,06 (12-я серия).

Получены уравнения регрессии:

$$y = 0{,}79 - 0{,}15\,x_2 - 0{,}16\,x_1x_3 + 0{,}14\,x_1x_2x_3; \quad t_{0,95}sb_i = 0{,}106,$$

$$s^2_{ад} = 0{,}05 < Fs^2y\ 0{,}67 \quad (1\text{-я фракция});$$

$$y = 0{,}80 - 0{,}14\,x_3 + 0{,}07\,x_1x_3 + 0{,}09\,x_2x_3 + 0{,}06\,x_1x_2;$$

$$t_{0,95}s\{b_i\} = 0{,}06,\ s^2_{ад} = 0{,}005 < Fs^2\{y\} = 0{,}02 \quad (2\text{-я фракция}).$$

Из уравнений и рис. 28 видно, что обнаруженные нами в водной среде из загущенных популяций головастиков экзобелковые вещества действуют на эндогенную активность личинок в зависимости от их принадлежности к виду и стадии развития (b_{13} и $b_{123} > t_{0,95}s\{b_i\}$).

Общность в характере действия водной среды и ее высокомолекулярных фракций, а также исчезновение активирующего

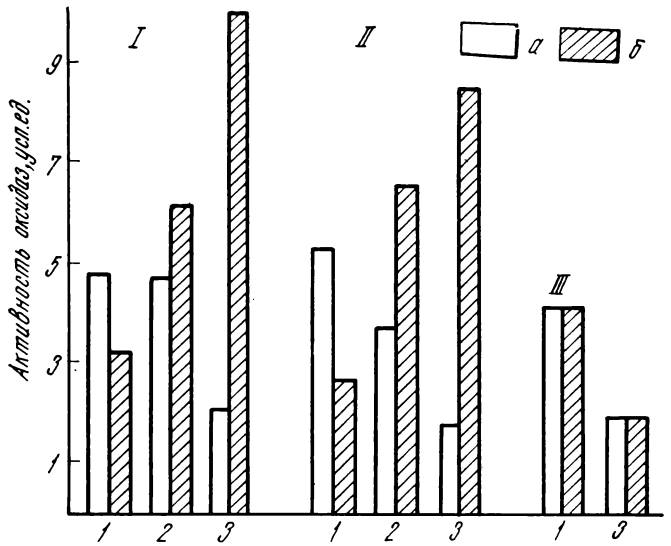


Рис. 28. Эндогенная активность оксидаз в гомогенатах головастиков разных видов одного возраста при введении отдельных фракций водной среды из загущенной популяции личинок.

I — III — фракции с молекулярной массой >5000, <5000 и >1000 соответственно. *1 — R. arvalis, 2 — R. camerani, 3 — R. macrocnemis. а* — активность гомогената без введения фракции, *б* — то же при введении ее.

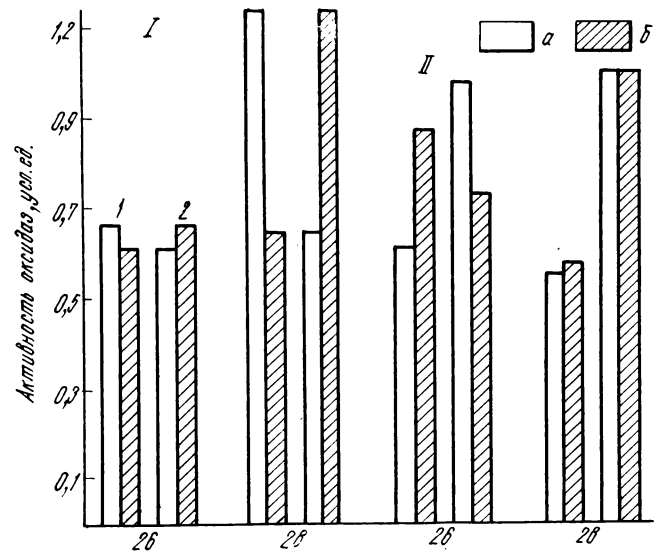


Рис. 29. Эндогенная активность оксидаз в гомогенатах головастиков разных видов и разного возраста при введении белково-пептидных фракций водной среды из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* (*1*) и *R. camerani* (*2*).

I, II — фракции с молекулярной массой <5000 и >1000 соответственно; *а* — активность гомогената без введения экзометаболитов, *б* — то же при введении фракции.

обмен эффекта после трипсинизации водной среды указывает, что в ее стадио- и видоспецифичном влиянии у исследованных видов принимают участие вещества белково-пептидной природы. Представляло интерес изучить аминокислотный состав этих экзобелков у разных видов в целях выявления возможной корреляции между специфичностью действия экзометаболитов и своеобразием их аминокислотного состава.

3.3. ВИДО- И СТАДИОСПЕЦИФИЧНОСТЬ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ЭКЗОБЕЛКОВ ВОДНОЙ СРЕДЫ ГОЛОВАСТИКОВ

Серии опытов по изучению видо- и стадиоспецифичности аминокислотного состава экзобелков водной среды головастиков в ИЭРиЖ УрО АН СССР были проведены старшим инженером-химиком З. А. Степановой [289]. Исследовано содержание свободных и связанных аминокислот в водной среде головастиков нескольких видов амфибий (табл. 50). Водная среда этих видов практически не содержит свободных аминокислот, в связи с чем в сериях за величину белково-пептидных веществ в водной среде принимали сумму всех аминокислот, которые определяются в кислотном гидролизате, считая, что долей свободных аминокислот можно пренебречь.

Произведены количественные определения аминокислот в белковых гидролизатах водной среды из загущенных популяций головастиков *R. macrocnemis* и *R. camerani* в условиях одноразового исследования, через 3 мес с момента формирования популяции [289] и в динамике, в течение 56 дней, с промежутками в 9—10 дней (табл. 51, 52, рис. 30). Анализ данных показывает, что в процессе личиночного развития головастиков *R. macrocnemis* и *R. camerani* происходит увеличение содержания общего экзобелка в водной среде (с 3 до 25 мг/л). В белках водной среды из загущенных популяций головастиков *R. camerani*, *R. macrocnemis* найдены все белковые аминокислоты за исключением цистина. Содержание аспарагиновой и глютаминовой кислот, глицина, аланина и лейцина намного выше, чем остальных аминокислот. Анализ результатов, полученных при исследовании водной среды через 3 мес с момента формирования популяций, показывает, что экзобелки каждого из исследованных видов специфичны по химическому составу: различия между ними по содержанию лизина и аспарагиновой кислоты достоверны, по содержанию треонина, глицина и аланина находятся на грани достоверности. Изучение аминокислотного состава белков водной среды в динамике дает аналогичную картину (см. табл. 52).

Различия экзобелков водной среды из популяций головастиков *R. camerani*, *R. macrocnemis* по содержанию в них лизина,

Таблица 50

Содержание свободных и связанных аминокислот в водной среде головастиков некоторых видов амфибий

Биохимический показатель	Вид амфибий				
	Малоазиатская	Закавказская	Остромордая	Сибирская	Жерлянка дальневосточная
Сумма свободных и связанных аминокислот, мкг в пробе . .	1201	848	1352	1702	4329
Сумма свободных аминокислот, мкг в пробе	10	8	30	33	8
Свободные аминокислоты, % от суммы свободных и связанных аминокислот . .	0,8	0,9	2,1	1,9	0,2

Таблица 51

Аминокислотный состав белков водной среды из загущенных модельных популяций головастиков *R. macrocnemis* (I) и *R. camerani* (II)

Аминокислота	I		II		Достоверность
	мг/1000 мл	% к сумме аминокислот	мг/1000 мл	% к сумме аминокислот	
Лизин	0,996±0,155	3,9	0,546±0,211	2,7	3,6
Гистидин	0,267±0,036	1,0	0,185±0,109	0,9	0,8
Аммиак	8,998±1,943	36,8	7,817±1,547	42,0	1,3
Аргинин	0,727±0,162	2,8	0,571±0,309	2,6	0,4
Аспарагиновая	1,948±0,213	7,2	1,189±0,590	5,7	2,5
Треонин	1,194±0,196	4,5	0,783±0,473	3,4	1,9
Серин	0,945±0,166	3,7	0,692±0,336	3,2	1,4
Глутаминовая	2,052±0,307	8,0	1,608±0,769	7,6	0,6
Пролин	0,718±0,166	2,9	0,563±0,191	2,8	0,3
Глицин	1,303±0,245	4,9	1,107±0,391	5,5	2,0
Аланин	1,499±0,245	5,6	1,269±0,521	6,2	1,9
Валин	1,037±0,137	3,9	0,822±0,343	4,0	0,4
Метионин	Следы	—	Следы	—	—
Изолейцин	0,803±0,166	3,0	0,537±0,202	2,7	1,3
Лейцин	1,309±0,171	5,1	1,009±0,361	4,9	0,6
Тирозин	0,503±0,063	1,9	0,341±0,196	1,5	1,4
Фенилаланин	1,148±0,468	4,1	0,816±9,342	4,0	0,08
Сумма аминокислот . .	25,55	—	19,66	—	—

Примечание. Водная среда отфильтровывалась от нерастворимых частиц и гидролизовалась в 6 %-й соляной кислоте при температуре 105 °С в течение 22 ч. Затем гидролизат фильтровали для удаления гуминовых веществ и выпаривали на водяной бане при температуре 80 °С. Сухой остаток растворяли в 10 мл натрий-цитратного буфера, pH 2,2. Содержание аминокислот находили по методу Спекмана на анализаторе фирмы Hitachi. Число определений для каждой аминокислоты 8.

Таблица 52

Результаты дисперсионного анализа (критерий достоверности) процентного содержания аминокислот в белковых веществах водной среды головастиков *R. macrocnemis* (I ряд) и *R. camerani* (II ряд) в процессе личиночного развития

Аминокислота	Изменения в содержании аминокислоты в процессе развития		Общие различия рядов	Превышение одного ряда над другим	Непараллельности рядов	Различия рядов	
	I	II				в первой половине развития	во второй половине развития
Лизин	6,8	3,4	3,3	0,4	3,2	3,5	3,1
Гистидин	15,2	7,1	10,5	5,8	9,6	11,8	5,3
Аргинин	1,2	32,1	1,4	2,5	1,0	—	—
Аспарагиновая	3,4	7,6	6,6	0,9	4,9	8,5	5,2
Треонин	22,1	5,2	4,0	15,0	1,5	4,2	3,7
Серин	1,7	35,6	19,8	8,1	18,5	1,0	24,9
Глутаминовая	2,8	23,2	19,4	14,3	17,0	1,5	35,6
Пролин	5,9	7,3	2,2	1,6	1,9	—	—
Глицин	18,1	8,2	3,3	6,5	2,3	3,8	3,0
Аланин	1,3	6,6	2,2	0,5	2,1	—	—
Валин	0,9	0,8	2,1	5,7	1,1	—	—
Метионин	0,7	4,5	2,4	2,2	2,2	—	—
Изолейцин	1,0	57,6	4,3	1,8	4,0	0,001	8,5
Лейцин	2,1	31,6	5,3	0,8	5,2	0,7	11,2
Тирозин	11,2	27,6	1,5	0,0	1,5	—	—
Фенилаланин	3,3	5,6	2,9	0,0	2,9	0,2	4,9
Сумма аминокислот	79,9	323,4	49,7	28,2	45,0	15,3	65,0
Стандартные значения критерия Фишера для $P=0,95$	3,1	3,1	2,5	4,3	2,6	3,5	3,5

аспарагиновой кислоты, изолейцина, лейцина, треонина и глицина имеют хорошую достоверность. Обнаружены также достоверные различия по содержанию в белках гистидина.

Статистический анализ данных, полученных при изучении стадиоспецифичности аминокислотного состава белково-пептидных компонентов водной среды головастиков *R. macrocnemis*, *R. camerani* из популяций, сформированных по стадиям (табл. 53), показывает, что экзобелки водной среды из популяций малоазиатской лягушки, составленных из головастиков 26-й стадии, отличаются от экзобелков популяций того же вида на 27-й стадии содержанием лизина, аспарагиновой кислоты, пролина, глицина, аланина, метионина и треонина. Различия между экзобелками, типичными для 27-й и 28-й стадий развития, связаны с содержанием в них аспарагиновой кислоты,

Таблица 53

Специфичность аминокислотного состава экзобелков водной среды головастиков рода *Rana* на разных стадиях развития

Аминокислота	Содержание аминокислоты в гидролизате белковых веществ водной среды, % к сумме аминокислот						Критерий достоверности различий								
	R. macrocnemis, № стадии			*R. camerani*, № стадии											
	26 $M\pm m$(1), n=8	27 $M\pm m$ (2), n=5	28 $M\pm m$ (3) n=5	26 $M\pm m$ (4) n=6	27 $M\pm m$ (5) n=5	28 $M\pm m$ (6) n=4	$t_{1,2}$	$t_{2,3}$	$t_{1,3}$	$t_{4,5}$	$t_{5,6}$	$t_{4,6}$	$t_{1,4}$	$t_{2,5}$	$t_{3,6}$
Лизин	8,9±0,3	7,2±0,3	8,0±0,5	8,9±0,1	8,7±0,4	10,4±0,5	3,7	1,4	1,7	0,4	2,4	3,7	0,0	3,1	3,6
Гистидин	2,6±0,2	2,3±0,1	2,5±0,2	2,6±0,1	2,6±0,2	2,5±0,3	1,1	0,9	0,3	0,0	0,3	0,4	0,0	1,4	0,0
Аргинин	5,4±0,2	5,0±0,2	5,2±0,4	5,6±0,3	5,8±0,1	6,6±0,3	1,5	0,4	0,5	0,6	2,6	2,1	0,7	4,0	2,6
Аспарагиновая	11,0±0,3	12,6±0,2	10,8±0,3	11,1±0,4	11,7±0,4	9,0±0,5	4,5	5,0	0,4	1,1	4,8	3,5	0,2	2,2	3,5
Треонин	8,0±0,1	8,7±0,3	7,4±0,3	7,5±0,4	7,5±0,1	7,3±0,5	2,9	3,3	2,3	0,0	0,4	0,3	1,5	3,9	0,2
Серин	5,5±0,2	6,0±0,2	5,8±0,1	5,5±0,4	5,4±0,2	5,2±0,2	1,7	0,8	1,1	0,2	0,7	0,7	0,0	2,1	2,9
Глутаминовая	11,0±0,2	12,3±0,2	10,9±0,3	10,7±0,3	12,4±0,4	11,4±,04	4,6	3,5	0,3	4,9	2,6	1,4	1,0	0,4	1,0
Пролин	5,2±0,3	4,2±0,2	6,2±0,4	5,1±0,4	3,9±0,1	5,7±0,3	2,4	5,3	2,2	2,6	7,5	1,1	0,2	1,3	1,2
Глицин	7,2±0,2	6,6±0,1	6,5±0,1	7,0±0,1	6,9±0,3	6,3±0,2	2,4	0,6	3,2	0,4	1,6	3,2	1,2	1,0	1,3
Аланин	8,2±0,2	7,3±0,1	7,7±0,2	8,0±0,1	8,1±0,2	7,9±0,4	3,7	1,6	1,8	0,5	0,5	0,3	1,1	3,3	0,5
Валин	6,1±0,1	5,8±0,3	6,0±0,4	5,8±0,2	5,8±0,1	5,5±0,3	1,0	0,4	0,3	0,0	1,0	0,9	1,4	0,0	1,0
Метионин	0,6±0,1	1,2±0,1	1,0±0,1	0,6±0,1	0,8±0,1	1,9±0,1	3,5	1,1	2,7	1,4	5,8	7,7	0,0	2,1	3,9
Изолейцин	4,4±0,1	4,8±0,2	5,0±0,3	4,2±0,1	4,3±0,2	5,0±0,3	2,0	0,8	3,2	0,6	2,0	2,7	1,5	2,1	0,0
Лейцин	7,5±0,2	7,3±0,3	7,1±0,5	7,3±0,1	7,5±0,2	8,3±0,1	0,5	0,4	0,9	0,8	3,1	6,3	0,8	0,6	2,4
Тирозин	3,1±0,1	3,3±0,1	4,0±0,2	3,0±0,1	3,6±0,3	4,1±0,2	1,3	2,8	4,7	2,2	4,1	5,2	0,9	1,0	0,3
Фенилаланин	5,4±0,2	5,3±0,2	5,1±0,2	4,9±0,3	4,5±0,2	4,4±0,3	0,4	0,7	1,2	1,1	0,3	1,2	1,8	3,1	2,1

Примечание. Из загущенной гетерогенной популяции отбирали головастиков одной стадии (26, 27 и 28-й) и формировали новые гомостадийные популяции. Водную среду исследовали через 7 дней после формирования популяции из личинок 26-й стадии и через 4 дня после формирования популяций из личинок 27 и 28-й стадий; n — число аквариумов.

Таблица 54

Содержание белков и их аминокислотный состав в водной среде головастиков и разных стадий развития, мг/л

Аминокислота	26-я стадия			
	I	II	III	IV
	$M \pm m$ (1), $n=4$	$M \pm m$ (2), $n=3$	$M \pm m$ (3), $n=3$	$M \pm m$ (4), $n=3$
Лизин	5,4±0,40	5,7±0,52	5,5±0,35	6,1±0,10
Гистидин	2,1±0,15	1,8±0,25	2,0±0,27	2,2±0,20
Аргинин	6,0±0,49	6,1±0,12	6,2±0,56	5,3±0,02
Аспарагиновая	10,7±0,49	10,8±0,47	10,8±0,55	10,4±2,20
Треонин	6,8±0,67	7,3±0,66	7,4±0,49	7,2±2,35
Серин	5,8±0,31	5,9±0,50	6,0±0,29	5,4±1,15
Глутаминовая	13,3±0,26	13,3±0,72	13,0±0,61	12,2±0,20
Пролин	4,8±0,15	5,0±0,55	4,9±0,46	4,8±0,35
Глицин	7,1±0,14	7,2±0,44	7,0±0,12	7,4±0,35
Аланин	8,0±0,61	8,2±0,85	7,6±0,38	8,0±1,3
Валин	6,1±0,22	6,2±0,09	6,4±0,23	6,1±0,30
Изолейцин	4,5±0,44	4,8±0,52	4,7±0,39	4,9±0,20
Лейцин	7,8±0,43	7,9±0,06	7,4±0,29	7,9±1,50
Тирозин	3,0±0,26	3,3±0,84	3,2±0,09	3,2±0,40
Фенилаланин	5,7±0,61	5,2±0,27	5,2±0,80	6,5±1,55
Сумма аминокислот	1,0±0,04	1,2±0,09	6,9±1,02	8,0±0,35

Аминокислота	28-я стадия				
	I	II	III	IV	V
	$M \pm m$ (10), $n=3$	$M \pm m$ (11), $n=3$	$M \pm m$ (12) $n=3$	$M \pm m$ (13) $n=2$	$M \pm m$ (14) $n=2$
Лизин	4,8±0,90	5,1±0,34	5,2±0,75	5,4±0,55	6,7
Гистидин	1,7±0,03	1,7±0,12	1,7±0,18	1,5±0,25	1,8
Аргинин	4,5±0,20	5,7±0,44	5,1±0,59	5,3±0,65	4,6
Аспарагиновая	1,17±0,35	11,5±0,44	11,6±0,35	11,5±0,02	16,3
Треонин	10,0±0,18	8,0±0,08	9,3±1,15	8,5±0,80	9,8
Серин	6,5±0,43	5,7±0,15	6,3±0,35	5,8±0,35	6,4
Глутаминовая	13,2±0,35	14,7±0,19	14,1±0,73	13,9±0,70	13,2
Пролин	5,1±0,21	5,4±0,60	5,2±0,77	5,1±0,60	5,7
Глицин	6,7±0,33	7,0±0,17	6,8±0,26	6,7±0,20	7,2
Аланин	7,0±0,12	6,9±0,47	6,7±0,29	7,2±0,0	7,4
Валин	5,8±0,27	5,9±0,07	5,7±0,27	5,8±0,07	5,6
Изолейцин	4,4±0,19	4,1±0,36	4,4±0,21	4,6±0,15	4,4
Лейцин	7,0±0,47	7,1±0,29	6,8±0,37	6,7±0,20	7,2
Тирозин	3,0±0,30	3,8±0,93	3,0±0,41	3,3±0,35	3,1
Фенилаланин	6,7±1,62	6,2±0,44	6,0±0,61	6,6±1,85	4,6
Сумма аминокислот	2,0±0,05	2,0±0,06	3,7±0,32	4,3±0,45	5,1

Примечание. Гомостадийные популяции формировали из мелких личинок личинок, отловленных в естественных водоемах (III—V). Водную среду исследовали

* Стандартные значения критерия Фишера для $P=0,95$.

остромордой лягушки разных размеров

27-я стадия				
I	II	III	IV	V
$M \pm m$ (5), $n=5$	$M \pm m$ (6), $n=4$	$M \pm m$ (7), $n=3$	$M \pm m$ (8), $n=2$	$M \pm m$ (9), $n=2$
8,0±0,46	7,9±0,32	7,7±0,36	7,7±0,40	7,9±1,10
2,4±0,28	2,7±0,18	2,4±0,58	2,3±0,20	2,1±0,26
6,1±0,21	7,3±0,33	5,7±0,99	6,1±0,85	6,3±0,20
10,7±0,63	10,2±0,55	10,7±0,47	10,7±0,95	11,1±1,20
7,7±0,50	6,8∓0,10	7,1±0,25	7,7±0,95	7,7±1,0
5,9±0,40	5,5±0,20	5,9±0,36	6,0±0,75	6,2±1,0
12,0±0,63	12,1±0,84	11,6±1,17	11,7±1,0	11,8±0,25
5,8±0,76	6,0±0,39	5,0±0,23	5,4±0,55	5,1±0,25
7,3±0,21	6,5±0,23	7,0±0,36	7,8±1,60	7,6±0,55
7,6±0,22	7,7±0,45	7,8±0,55	7,7±0,50	8,0±1,05
5,5±0,31	6,0±0,25	6,0±0,10	6,0±0,10	5,6±0,45
4,5±0,25	4,4±0,26	4,4±0,15	5,4±0,90	4,4±0,35
7,2±0,34	7,7±0,41	7,1±0,29	7,3±0,95	7,4±0,50
3,3±0,28	3,3±0,18	3,3±0,56	3,1±0,70	3,1±0,30
6,4±0,50	5,0±0,50	6,0±0,79	5,5±0,75	4,9±1,50
3,1±0,24	3,7±0,14	9,8±1,42	11,2±0,20	10,7±0,95

Критерий достоверности различий								
$t_{1,3}$	$t_{5,7}$	$t_{10,12}$	$t_{1,5}$	$t_{5,10}$	$t_{1,10}$	$t_{3,7}$	$t_{7,12}$	$t_{3,12}$
0,36	0,45	0,34	4,13	3,56	0,67	4,40	2,98	0,36
0,34	0	0	0,86	1,84	2,0	0,62	1,15	0,91
0,27	0,52	0,97	0,20	5,16	2,50	0,44	0,52	1,36
0,13	0	0,2	0	1,15	1,54	0,14	1,53	1,21
0,67	0,88	0,60	1,11	3,43	3,95	0,55	1,88	1,52
0,45	0	0,30	0,19	0,97	1,35	0,22	0,65	0,52
0,51	0,34	1,10	1,73	1,35	0,23	1,06	1,81	1,15
0,24	0·78	0,13	1,15	0,69	1,20	0,20	0,25	0,33
0,53	0,79	0,23	0,74	1,62	1,21	0	0,44	0,69
0,51	0,40	0,97	0,68	1,94	1,37	0,30	1,77	1,91
0,94	1,09	0,26	1,50	0,65	0,86	1,08	0,75	2,00
0,32	0,29	0	0	0,28	1,18	0,71	0,0	0,67
0,71	0,20	0,33	1,11	0,35	1,25	0,73	0,64	1,28
0,63	0	0	0,77	0,70	0	0,18	0,43	0,47
0,51	0,45	0,40	0,89	0,22	0,65	0,71	0,0	0,80
6,86	6,38	5,31	14,0	6,11	5,00	1,66	4,18	2,99
2,57*	2,45*	2,78*	2,37*	2,45*	2,57*	2,78*	2,78*	2,78*

остромордой лягушки, полученных из модельных популяций (I, II), и из крупных через 3 дня с момента формирования популяций.

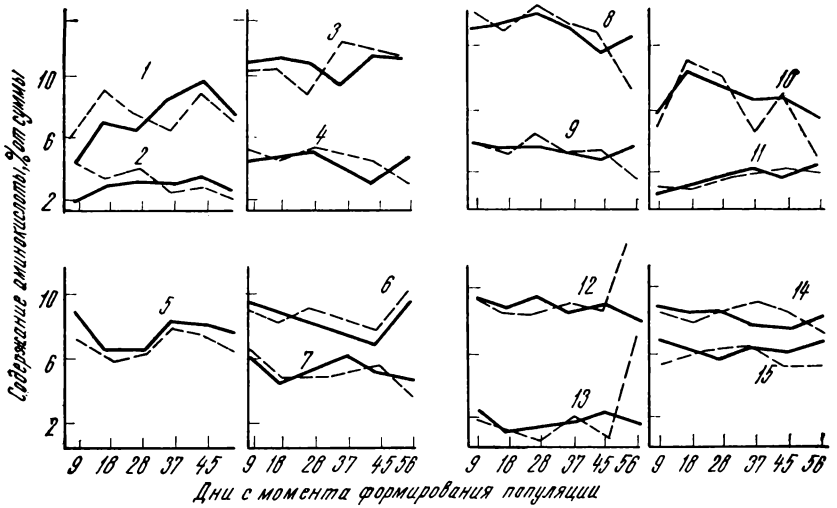


Рис. 30. Динамика аминокислотного состава белковых веществ водной среды головастиков *R. macrocnemis (сплошная линия)* и *R. camerani (штриховая)*.
1 — лизин; *2* — гистидин; *3* — аспарагиновая кислота; *4* — фенилаланин; *5* — треонин; *6* — глицин; *7* — пролин; *8* — лейцин; *9* — изолейцин; *10* — аргинин; *11* — тирозин; *12* —глутаминовая кислота; *13* — серин; *14* — аланин; *15* — валин.

пролина, тирозина, треолина, глутаминовой кислоты. Экзобелки 26-й и 28-й стадий различаются содержанием треонина, глицерина, метионина, изолейцина, тирозина.

Аналогичные признаки явной стадиоспецифичности аминокислотного состава экзобелков водной среды обнаружены, как видно из табл. 53, и в популяциях закавказской лягушки: на 26-й и 27-й стадиях достоверны различия для глутаминовой кислоты и пролина; на 27-й и 28-й — для аспарагиновой кислоты, лизина, арганина, глутаминовой кислоты, пролина, метионина, лейцина; на 26-й и 28-й — для аспарагиновой кислоты, лизина, метионина, изолейцина, лейцина и тирозина. Интересно, что это коррелирует с результатами количественного анализа отдельных аминокислот (см. табл. 53 и рис. 30). В содержании каждой аминокислоты в последовательные периоды развития популяции, по данным З. Л. Степановой, обнаруживаются один, иногда два максимума, которые для разных аминокислот приходятся на разные стадии развития. Такие вариации, вероятно,— проявление обнаруженной в описанных выше сериях стадиоспецифичности аминокислотного состава экзобелков. Аналогичная картина (зависимости аминокислотного состава гидролизата водной среды от вида головастика и его стадии развития) наблюдается в сериях на *R. arvalis* (табл. 54, 55).

Определяли (табл. 54, 56) общее количество белковых аминокислот в водной среде головастиков нескольких видов в раз-

Таблица 55

Специфичность аминокислотного состава экзобелков водной среды головастиков рода *Rana* на разных стадиях развития

Аминокислота	Содержание аминокислоты в гидролизате экзобелков водной среды, % в сумме аминокислот						Критерий достоверности различий								
	R. macrocnemis, № стадии			*R. arvalis*, № стадии											
	26 $M\pm m$ (1), n=8	27 $M\pm m$ (2), n=5	28 $M\pm m$ (3), n=5	26 $M\pm m$ (4), n=12	27 $M\pm m$ (5), n=16	28 $M\pm m$ (6), n=12	$t_{1,2}$	$t_{2,3}$	$t_{1,3}$	$t_{4,5}$	$t_{5,6}$	$t_{4,6}$	$t_{1,4}$	$t_{2,5}$	$t_{3,6}$
Лизин	8,9±0,3	7,2±0,3	8,0±0,5	5,6±0,2	7,9±0,2	5,2±0,3	3,7	1,4	1,7	9,2	7,7	1,1	9,7	2,3	4,9
Гистидин . . .	2,6±0,2	2,3±0,1	2,5±0,2	2,0±0,1	2,4±0,2	1,6±0,1	1,1	0,9	0,3	2,1	4,7	3,1	3,0	0,4	5,6
Аргинин . . .	5,4±0,2	5,0±0,2	5,2±0,4	5,9±0,2	6,4±0,3	5,1±0,2	1,5	0,4	0,5	1,4	3,9	2,5	1,6	3,3	0,8
Аспарагиновая	11,0±0,3	12,6±0,2	10,8±0,3	10,7±0,3	10,6±0,3	11,6±0,1	4,5	5,0	0,4	0,2	2,9	2,4	0,6	3,9	2,8
Треонин . . .	8,0±0,1	8,7±0,3	7,4±0,3	7,2±0,4	7,4±0,2	9,2±0,4	2,9	3,3	2,3	0,5	4,2	3,6	1,6	3,0	2,8
Глутаминовая .	11,0±0,2	12,3±0,2	10,4±0,3	13,2±0,2	11,9±0,4	13,9±0,4	4,6	3,5	0,3	2,9	4,3	2,1	7,1	0,6	14,3
Пролин	5,2±0,3	4,2±0,2	6,2±0,2	5,5±0,3	5,5±0,3	5,2±0,2	2,4	5,3	2,2	1,8	0,8	1,0	0,3	2,6	2,4
Глицин	7,2±0,2	6,6±0,1	6,5±0,1	7,1±0,1	7,1±0,2	6,8±0,1	2,4	0,6	3,2	0	1,1	1,9	0,5	1,3	1,6
Аланин	8,2±0,2	7,3±0,1	7,7±0,2	7,9±0,4	7,8±0,2	7,0±0,1	3,7	1,6	1,8	0,3	3,2	2,3	0,7	1,4	2,7
Валин	6,1±0,1	5,8±0,3	6,0±0,4	6,2±0,1	5,7±0,1	5,8±0,1	1,0	0,4	0,3	2,6	0,6	3,3	0,6	0,3	0,7
Изолейцин . .	4,4±0,1	4,8±0,2	5,0±0,3	4,7±0,2	4,4±0,1	4,4±0,1	2,0	0,8	3,2	1,5	0	1,5	1,3	1,8	4,3
Лейцин . . .	7,5±0,2	7,3±0,3	7,1±0,5	7,7±0,2	7,3±0,2	6,9±0,2	0,5	0,4	0,9	1,3	1,6	2,8	0,6	0	0,5
Тирозин . . .	3,1±0,1	3,3±0,1	4,0±0,2	3,1±0,2	3,2±0,2	3,2±0,3	1,3	2,8	4,7	0,4	0	0,3	0	0,3	1,9
Фенилаланин .	5,4±0,2	5,3±0,2	5,1±0,2	5,6±0,4	5,7±0,3	6,2±0,5	0,4	0,7	1,2	0,2	0,9	1,0	0,4	0,7	1,5

Примечание. Исследовали водную среду из модельных популяций головастиков, сформированных из личинок одной стадии. Плотность 10 г/л.

Таблица 56

Динамика общего содержания белково-пептидных веществ в водной среде из популяций головастиков некоторых видов лягушек

Вид личинок и условия их содержания	День опыта										Число определений
	9-й	15-й	18-й	21-й	26-й	28-й	37-й	45-й	56-й	90-й	
Малоазиатская											
500 в 50 л	4,2	—	4,3	—	—	4,0	4,5	5,1	7,3	—	3
40 в 4 л	—	—	—	—	—	—	—	—	—	16,6	9
Закавказская											
500 в 50 л	3,2	—	3,6	—	—	3,8	4,6	6,4	10,2	—	3
40 в 4 л	—	—	—	—	—	—	—	—	—	120	8
Сибирская											
50 в 2,5 л	—	38,0	—	69,3	42,5	—	—	—	—	—	2
3 в 2,5 л	—	9,0	—	16,5	11,4	—	—	—	—	—	7

Таблица 57

Аминокислотный состав белков водной среды из гомостадийных (26-я стадия) популяций головастиков *R. arvalis* с разной плотностью

Аминокислота	10 головастиков на 1 л		1 головастик на 1 л		Достоверность
	мг/л	% к сумме аминокислот	мг/л	% к сумме аминокислот	
Аспарагиновая	1,78	19,5±0,5	0,25	20,2±0,4	1,09
Треонин	0,54	5,9±0,5	0,09	7,3±0,3	2,41
Серин	0,59	6,5±0,4	0,10	8,6±0,3	3,20
Глутаминовая	0,92	10,1±0,1	0,16	12,9±0,5	3,59
Пролин	0,41	4,5±0,2	0,05	4,0±0,5	1,11
Глицин	0,83	9,1±0,2	0,14	11,3±0,4	7,86
Аланин	1,02	11,2±0,3	0,10	8,1±0,4	6,20
Валин	0,27	3,0±0,2	0,04	3,2±0,2	0,71
Метионин	0,13	1,4±0,2	0,02	1,6±0,1	0,91
Изолейцин	0,23	2,5±0,2	0,03	2,4±0,1	0,45
Лейцин	0,78	8,6±0,3	0,07	5,7±0,2	8,05
Тирозин	0,27	3,0±0,3	0,04	3,2±0,2	0,55
Фенилаланин	0,37	4,1±0,1	0,03	2,4±0,2	5,31
Лизин	0,31	3,4±0,3	0,05	4,0±0,2	1,75
Гистидин	0,14	1,5±0,1	0,02	1,6±0,1	0,71
Аргинин	0,46	5,0±0,3	0,05	4,0±0,4	2,00
Сумма аминокислот	9,1		1,24		

ные периоды развития в условиях загущенности (10 головастиков на 1 л) и нормальной плотности (1 головастик на 1 л).

Содержание белковых компонентов в водной среде варьирует от 1,0 до 69,3 мг/л, что, вероятно, связано с влиянием таких параметров, как размеры личинок, их стадия развития и плотность. Характерно, что не обнаруживается корреляция между содержанием белков и их аминокислотным составом. По нашим данным, в двух популяциях накапливается равное количество белков, но их аминокислотный состав достоверно различается (см. табл. 54, варианты 3 и 7). В других двух, несмотря на разное содержание белков, наблюдается полная тождественность их аминокислотного состава (см. табл. 54, варианты 1 и 3, 5 и 7, 10 и 12), или сдвиги в содержании белка сопровождаются достоверными изменениями в их первичной структуре (см. табл. 54, варианты 1 и 5, 5 и 10, 1 и 10, 7 и 12).

Для выявления зависимости аминокислотного состава белков водной среды головастиков от плотности популяций были сформированы две гомостадийные популяции (табл. 57) из личинок 26-й стадии развития, взятых из двух модельных — загущенных и нормальных — популяций в одно и то же время (через 51 день с момента формирования). На пятый день, когда количество белка в загущенной популяции достигло 10,6 мг/л, а в нормальной — 0,93 мг/л (по Лоури), водную среду из обоих аквариумов подвергли гидролизу и определили содержание в ней аминокислот (в мг/л и в % к сумме всех аминокислот). Несмотря на то, что в обеих популяциях развивались морфологически идентичные головастики одного возраста, принадлежащие к одному виду, одной кладке, процент содержания ряда аминокислот (треонина, серина, глутаминовой кислоты, глицина, аланина, лейцина и фенилаланина) в гидролизатах водной среды оказался явно неодинаковым.

Таким образом, анализ показывает, что содержание белков в водной среде головастиков в большой степени зависит от размеров личинок и плотности популяции. Химические свойства, и в частности аминокислотный состав белков, в водной среде головастиков не определяются размерами личинок и зависят от принадлежности головастика к виду, от стадии развития, а также плотности популяции, в которой он обитает.

3.4. СПЕЦИФИЧНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ НА ЭНДОГЕННЫЙ МЕТАБОЛИЗМ ГОЛОВАСТИКОВ И ИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ГИПОКСИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПЛОТНОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ

В предыдущих сериях опытов водную среду головастиков и ее экзобелки изучали в загущенных популяциях, в условиях опыта in vitro, при непосредственном введении в гомогенаты тканей личинки.

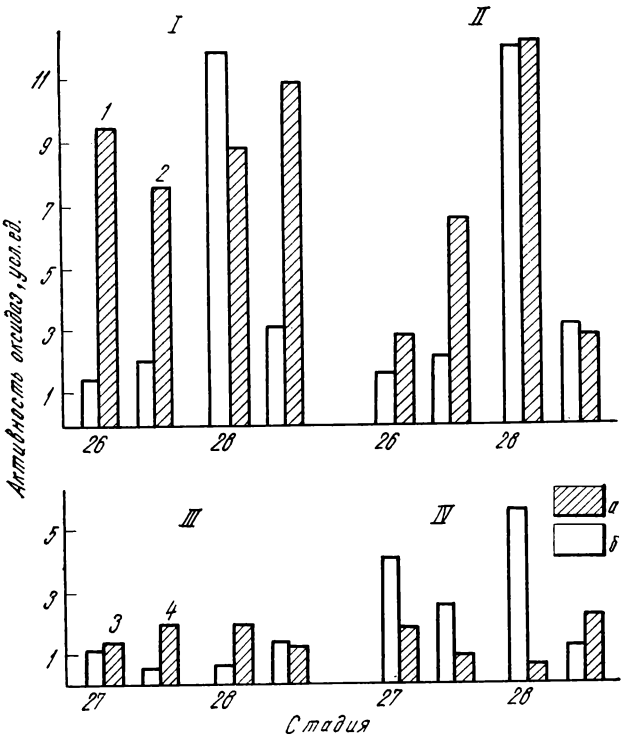


Рис. 31. Эндогенная активность оксидаз в гомогенатах головастиков в присутствии экзометаболитов (*а*) и без них (*б*) в зависимости от возраста, степени генетического родства и условий развития донора и реципиента.

1 — активность гомогенатов головастиков *R. syriacus* из одиночных аквариумов, *2* — то же из загущенной популяции; *3* — активность гомогенатов головастиков *R. arvalis* из загущенной популяции своей кладки; *4* — то же из чужой кладки. Вводили: водную среду из одиночных аквариумов (*I*) и загущенных популяций (*II*) головастиков *R. syriacus*, белки водной среды из «троек» (*III*) и загущенных популяций (*IV*) головастиков *R. arvalis*.

Исследовали эндогенную активность оксидаз [245] в гомогенатах головастиков и их чувствительность к гипоксии из популяций с повышенной, нормальной плотностью и из одиночных аквариумов в нативной водной среде (или при введении ее экзобелков) из тех же популяций — загущенных, «троек» и одиночных аквариумов (рис. 31). Опыты ставили по плану однофакторного (табл. 58) и многофакторного эксперимента (табл. 59, 60). Результаты показывают, что водная среда не только из загущенных, но и из нормальных популяций, включая одиночные аквариумы, способна специфично действовать на обмен у отдельного головастика. Из табл. 58 видно, что водная среда из «троек» не изменяет или явно ингибирует эндогенную активность оксидаз у головастиков из нормальных популяций. Та же водная среда резко активирует оксидазы у

Таблица 58

Влияние метаболитов из популяций с различной плотностью на активность эндогенных оксидаз и чувствительность к гипоксии у головастиков одного вида в зависимости от условий их развития

Дата опыта	Водная среда	I				II			
		Вид и № стадии развития	$\frac{ТТХ_а}{ТТХ_в}$	Выживаемость в условиях гипоксии, %	Время наблюдения, мин	Вид и № стадии развития	$\frac{ТТХ_а}{ТТХ_в}$	Выживаемость в условиях гипоксии, %	Время наблюдения, мин
21.V	Из загущенных популяций	*R. macrocnemis*, 26	2,2	0	70	*Rana macrocnemis*, 29	—	0	30
	Из «троек»		7,1	60	80		—	20	40
	Не добавлялась		1,9	20	80		—	20	40
12.VI	Из загущенных популяций	*Rana arvalis* (южная), 27	2,0	0	30	*Rana arvalis* (южная), 29	3,0	0	10
	Из «троек»		13,6	50	60		4,5	0	20
	Не добавлялась		4,0	0	60		6,5	0	40
27.VI	Из загущенных популяций	*Rana arvalis*	1,5	0	30	*Rana arvalis*	3,0	0	30
	Из «троек»	(северная), 26	3,1	40	50	(северная), 26	2,0	0	30
	Не добавлялась		2,2	20	50		1,9	0	30

Примечание. Данные по активности эндогенных оксидаз—среднее из трех повторностей. При определении выживаемости в условиях гипоксии исходное количество головастиков—пять штук: I—головастики взяты из популяций с плотностью 110 особей в 1 л, II—три особи в 1 л.

Таблица 59

Влияние метаболитов из загущенных популяций и одиночного аквариума (*R. syriacus*) на эндогенный метаболизм личинок амфибий в зависимости от их стадии и условий развития

Уровень	Натуральные независимые переменные					
	Водная среда из одиночного аквариума, мл $\widehat{x_1}$	Плотность популяции реципиента $\widehat{x_2}$	Стадия развития реципиента $\widehat{x_3}$	Водная среда из загущенных популяций $\widehat{x_1}$	Плотность популяции реципиента $\widehat{x_2}$	Стадия развития реципиента $\widehat{x_3}$
Верхний (+)	1,2	1/1 л	26	1,2	1/1 л	26
Нижний (—)	0,0	110/4 л	28	0,0	110/4 л	28

Кодированные независимые переменные				$ТТХ_а/ТТХ_в$							
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$
1	—	—	—	3,1	3,0	3,1	3,06	3,1	3,9	3,1	3,06
2	+	—	—	10,0	12,9	10,0	10,9	3,3	2,4	2,6	2,76
3	—	+	—	10,8	11,3	13,3	11,8	10,8	11,3	13,3	11,8
4	+	+	—	8,7	8,7	—	8,7	12,7	11,7	11,8	12,8
5	—	—	+	2,1	1,9	—	2,0	2,1	1,9	—	2,0
6	+	—	+	7,2	7,6	7,6	7,5	5,8	8,0	5,8	6,5
7	—	+	+	1,6	1,5	1,3	1,5	1,6	1,5	1,3	1,5
8	+	+	+	10,5	8,5	—	9,5	2,5	2,7	—	2,6

Примечание. Статистические показатели: $b_0=6,9$; $b_1=2,3$; $b_2=1,0$; $b_3=-1,8$; $b_{12}=-1,1$; $b_{13}=1,1$; $b_{23}=-0,6$; $b_{123}=1,7$; $s^2y=0,41$; $t_{0,95}sb_i=0,187$ (одиночные аквариумы).

$b_0=5,28$; $b_1=0,7$; $b_2=1,7$; $b_3=-2,14$; $b_{12}=-0,35$; $b_{13}=0,71$; $b_{23}=-2,81$; $b_{123}=0,49$; $s^2y=0,19$; $t_{0,95}sb_i=0,3$ (загущенные популяции).

При определении выживаемости в условиях гипоксии исходное количество головастиков 10.

личинок из загущенных популяций. Эти регуляторные свойства водной среды из популяций с нормальной плотностью проявляются в опытах in vivo на интактных личинках. Экзометаболиты из «троек», ингибируя оксидазы у личинок из «троек», не увеличивают их приспособляемости к гипоксии. Те же метаболиты, активируя оксидазы у головастиков из загущенных популяций, резко увеличивают приспособляемость их к гипоксии. В данной серии опытов использовали нестандартный по стадиям развития материал.

В следующих сериях (см. табл. 59 и 60) для уточнения вывода о зависимости экзометаболического эффекта от плотности популяций учитывали условия развития личинок (численность их в 1 л воды) и стадию развития реципиента. Опыты ставили по плану ПФЭ 2^3. В одной из серий (см. табл. 59) в гомогенаты головастиков из «одиночек» и загущенной популяции (x_2)

Таблица 60

Стадиоспецифичность и специфичность на уровне семьи в действии некоторых белковых фракций водной среды из северных популяций *R. arvalis* с нормальной и повышенной плотностью

Уровень	Натуральные независимые переменные					
	Белковая фракция водной среды из «троек» (№ 1) $\widetilde{x}_1$	№ стадии развития реципиента $\widetilde{x}_2$	Кладка $\widetilde{x}_3$	Белковая фракция среды из загущенных популяций $\widetilde{x}_1$	№ стадии развития реципиента $\widetilde{x}_2$	Кладка $\widetilde{x}_3$
Верхний (+)	0,6	27	Своя	0,6	25	Своя
Нижний (—)	0,0	28	Чужая	0.0	26	Чужая

Независимые кодированные переменные				$ТТХ_а/ТТХ_в$									
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	1,00	0,70	0,57	0,76	1,13	1,30	1,10	1,07	1,16	1,13
2	+	—	—	0,50	1,85	1,13	1,16	1,23	2,38	0,97	2,05	1,80	2,15
3	—	+	—	1,09	0,96	0,37	0,81	0,41	5,40	11,0	3,21	6,54	5,51
4	+	+	—	2,14	0,70	1,54	1,46	1,95	0,75	1,49	0,78	1,00	0,37
5	—	—	+	0,53	0,82	0,43	0,59	0,41	1,92	3,06	2,44	2,47	2,49
6	+	—	+	1,65	5,24	2,28	3,06	1,95	0,81	0,72	1,86	1,13	0,79
7	—	+	+	1,55	0,69	0,46	0,90	1,13	3,00	4,33	2,0	3,11	4,15
8	+	+	+	0,52	0,92	0,59	0,68	1,23	1,10	1,20	0,91	1,07	1,73

Примечание. Статистические показатели: $b_0=1,18$; $b_1=+0,41$; $b_2=-0,21$; $b_3=0,13$; $b_{12}=-0,30$; $b_{13}=+0,15$; $b_{23}=-0,30$; $b_{123}=-0,36$; $s^2y=0,65$ "тройки)." $b_0=2,29$; $b_1=1,03$; $b_2=0,65$; $b_3=0,34$; $b_{12}=0,86$; $b_{13}=0,19$; $b_{23}=0,50$; $b_{123}=0,68$; $s^2y=0,752$ (загущенные популяции). Реципиенты взяты из загущенных популяций. Белковая фракция получена гельфильтрацией на сефадексе Г-25.

на 26 и 28-й стадиях развития (x_3) вводили водную среду из «одиночек» или водопроводную, предварительно выдержанную воду (x_1).

В другой серии в гомогенаты головастиков из «одиночек» и загущенной популяции (x_2) на тех же стадиях (x_3) вводили водную среду из загущенных популяций. В обеих сериях определяли эндогенную активность оксидаз, исследовали зависимость влияния экзометаболитов, выделенных в процессе развития одиночного эмбриона или группы (с большой плотностью), от стадии развития личинки и условий ее развития, одиночного или группового.

Получены уравнения регрессии:
для водной среды одиночного эмбриона

$$y = 6,9 + 2,3\,x_1 + 1,0\,x_2 - 1,8\,x_3 - 1,1\,x_1x_3 + 1,1\,x_1x_3 - \\ - 0,6\,x_2x_3 + 1,7\,x_1x_2x_3,\ t_{0,95}sb_i = 1,187;$$

для водной среды из загущенной популяции

$$y = 5{,}28 + 0{,}7\,x_1 - 2{,}14\,x_3 - 0{,}35\,x_1x_2 + 0{,}7\,x_1x_3 - 2{,}8\,x_2x_3 + \\ + 0{,}49\,x_1x_2x_3,\ t_{0{,}95}sb_i = 0{,}30.$$

Анализ уравнений и средних данных по вариантам (см. рис. 29, 30) показывает, что способность по-разному действовать на обмен отдельной личинки в зависимости от стадии и условий развития (плотности) характерна для водной среды не только из загущенных популяций, но и одиночного эмбриона (b_{23} в обеих сериях, где исследовали экзометаболиты личинок из популяций с большой плотностью и из одиночных аквариумов, больше $t_{0{,}95}sb_i$).

Высокомолекулярную фракцию, полученную гельфильтрацией водной среды из «троек» и из загущенной популяции на сефадексе Г-25, вводили в гомогенаты головастиков разных стадий из своей и чужой кладки.

Получены уравнения регрессии:
для белков водной среды из «троек»

$$y = 1{,}18 + 0{,}41\,x_1 - 0{,}36\,x_1x_2x_3,\ t_{0{,}95}sb_i = 0{,}34, \\ s^2_{\text{ад}} = 0{,}43 < Fs^2y = 0{,}6;$$

для белков водной среды из загущенной популяции

$$y = 2{,}29 + 1{,}03\,x_1 + 0{,}65\,x_2 + 0{,}85\,x_1x_2 + 0{,}68\,x_1x_2x_3, \\ t_{0{,}95}sb_i = 0{,}63,\ s^2_{\text{ад}} = 1{,}7 < Fs^2y = 2{,}40.$$

Из уравнений и расчетных данных (см. рис. 30) видно, что исследованная нами высокомолекулярная фракция водной среды из популяций с нормальной плотностью (1 головастик на 1 л), аналогично фракции из загущенной популяции, обладает высокой специфичностью действия на обмен отдельного головастика (b_{123} в обеих сериях больше $t_{0{,}95}sb_i$). Сила и направленность влияния зависят от стадии развития головастика и от степени генетического родства между донором и реципиентом. Экзобелки водной среды из «троек» (см. рис. 30) резко активируют оксидазы личинок своей кладки на 28-й стадии развития и не действуют на личинки из той же популяции на 27-й стадии. На последней экзобелки из «троек» активируют оксидазы личинок из чужой семьи и не действуют на своих головастиков. На 28-й стадии, напротив, те же экзобелки из «троек» резко активируют обмен своих головастиков и не влияют на обмен чужих. Аналогичная зависимость эффекта от степени генетического родства и стадии наблюдается при введении экзобелков, выделенных из водной среды загущенной популяции (см. рис. 30).

Участие экзобелка в регуляции обмена путем поочередного исследования высоко- и низкомолекулярной фракции водной среды из одной загущенной популяции [343] проверяли в от-

Таблица 61

Влияние низкомолекулярных экзометаболитов (I) и белков (II) водной среды из загущенных популяций головастиков остромордой лягушки на их эндогенный метаболизм при развитии в условиях разной плотности

Уровень	Независимые натуральные переменные			
	Низкомолекулярная фракция, мл $\widetilde{x_1}$	Плотность популяции реципиента $\widetilde{x_2}$	Высокомолекулярная фракция, мл $\widetilde{x_1}$	Плотность популяции реципиента $\widetilde{x_2}$
Верхний (+)	1,2	Нормальная	1,2	Нормальная
Нижний (—)	0,0	Повышенная	0,0	Повышенная

Кодированные независимые переменные			$ТТХ_а/ТТХ_в$									
			I					II				
№ варианта	x_1	x_2	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	0,87	0,90	1,08	0,95	1,00	0,87	0,90	1,08	0,95	0,88
2	+	—	0,25	0,82	1,17	1,08	1,12	4,63	4,09	3,39	4,04	3,84
3	—	+	0,67	0,78	0,94	0,80	0,76	0,67	0,78	0,94	0,80	0,88
4	+	+	1,45	1,34	1,47	1,42	1,36	2,57	5,13	3,22	3,64	3,84

Примечание. Статистические показатели: $b_0=1,06$; $b_1=0,18$; $b_2=0,04$; $s^2y=0,09$; $t_{0,95}sb_i=0,007$; $y=1,06+0,18\,x_1+0,12\,x_1x_2$; $s^2_{ад}=0,009<Fs^2\bar{y}=0,037$ (I).
$b_0=2,36$; $b_1=1,48$; $b_2=-0,14$; $b_{12}=-0,06$; $s^2y=0,50$; $t_{0,95}sb_i=0,18$; $y=2,36+1,48\,x_1$; $s^2_{ад}=0,046<Fs^2\bar{y}=0,97$ (II).

дельной серии опытов (табл. 61). Активирующее влияние экзобелков из загущенной популяции в опытах на личинках из той же загущенной популяции исчезает, если высокомолекулярную фракцию заменить низкомолекулярной. В то же время активирующий эффект по отношению к личинкам из «троек» при замене экзобелков низкомолекулярными компонентами водной среды исчезает не полностью. Результаты, полученные во всех сериях, где варьировались не только морфологическая стадия и степень генетического родства, но и условия развития личинок, позволяют предположить, что влияние экзометаболитов на обмен особей популяции обусловлено рядом экологических факторов. В их числе стадия развития личинок, составляющих популяцию, степень генетического родства (головастики из одной или разных семей, одного или разных видов), присутствие других особей (численность или плотность популяции). Обращает на себя внимание тот факт, что способность неодинаково воздействовать на обмен отдельной личинки в зависимости от перечисленных групповых параметров характерна для экзометаболитов головастиков, развивающихся в условиях повышенной и нормальной плотности, включая случаи одиночного развития. При этом в исследованных загущенных популяциях экзомета-

болический эффект связан с белково-пептидными компонентами водной среды в большей степени, чем в нормальных по плотности популяциях.

3.5. СПЕЦИФИЧНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ ГОЛОВАСТИКОВ НА ДЫХАНИЕ И ФОСФОРИЛИРУЮЩЕЕ ОКИСЛЕНИЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПЛОТНОСТИ ПОПУЛЯЦИИ

В данной главе представлены результаты экспериментов, в которых исследование специфичности влияния экзометаболитов на обмен головастиков in vivo по выживаемости животных в искусственно созданных условиях нарастающей гипоксии дополнено определением интенсивности дыхания и окислительного фосфорилирования [119].

В двух сериях опытов (табл. 62, 63, рис. 32) исследовали головастиков остромордой и закавказской лягушек на двух стадиях развития из популяций повышенной и нормальной плотности.

Таблица 62

Видо- и стадиоспецифичность влияния лиофилизата водной среды из загущенных популяций головастиков на обмен личинок амфибий из популяций с нормальной плотностью после выдерживания их в условиях гипоксии

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Метаболиты $\widehat{x_1}$	Вид реципиента $\widehat{x_2}$	№ стадии развития реципиента $\widehat{x_3}$
Верхний (+)	Лиофилизат	*R. arvalis*	27
Нижний (—)	Не вводились	*R. camerani*	29

Кодированные независимые переменные				Потребление кислорода									
				общее, мкатом/100 г сырой массы (I)					амиталчувствительное, % к общему (II)				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	6,0	8,0	7,0	7,0	7,0	31,0	30,0	32,0	31,0	31,0
2	+	—	—	18,0	21,0	19,5	19,8	19,8	17,0	20,0	18,0	18,3	18,3
3	—	+	—	9,3	10,0	9,6	9,6	9,6	6,5	7,0	6,9	6,8	6,8
4	+	+	—	8,1	8,0	9,1	8,4	8,4	1,0	1,5	2,0	1,5	1,5
5	—	—	+	4,0	5,2	4,8	5,0	5,0	1,5	1,2	1,0	1,2	1,2
6	+	—	+	6,5	6,6	6,7	6,6	6,6	2,3	2,4	2,2	2,3	2,3
7	—	+	+	10,4	11,0	11,2	10,9	10,9	55,8	58,0	54,0	55,9	55,9
8	+	+	+	11,3	12,0	12,3	11,9	11,9	1,0	1,5	1,2	1,2	1,2

Примечание. Статистические показатели: b_0=9,9; b_{12}=—1,8; b_1=1,8; b_2=0,3; b_3=—1,3; b_{13}=—1,1; b_{23}=2,5; b_{123}=1,7; s^2y=0,13 (I). b_0=14,8; b_1=—9,0; b_2=1,6; b_3=0,4; b_{12}=6,1; b_{13}=—4,5; b_{23}=—11,8; b_{123}=—7,8; s^2y=0,3=; $t_{0,95}sb_i$=0,4 (II).

Таблица 63

Видо- и стадиоспецифичность влияния лиофилизата водной среды из загущенных популяций головастиков на обмен личинок амфибий из популяций с повышенной плотностью после выдерживания их в условиях гипоксии (3-я серия)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Метаболиты $\widehat{x_1}$	Вид реципиента $\widehat{x_2}$	№ стадии развития реципиента $\widehat{x_3}$
Верхний (+)	Лиофилизат	*R. arvalis*	27
Нижний (—)	Не вводились	*R. camerani*	29

Кодированные независимые переменные				Потребление кислорода									
				общее, мкатом/100 г сырой массы (I)					амиталчувствительное, % к общему (II)				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	8,4	8,0	8,5	8,3	6,5	7,0	8,0	6,0	7,0	7,0
2	+	—	—	11,1	10,8	12,0	11,3	11,1	35,0	42,0	30,0	35,7	35,5
3	—	+	—	16,5	17,0	16,8	16,8	18,1	5,0	7,0	5,8	5,9	5,3
4	+	+	—	17,6	18,0	17,5	17,7	18,3	18,9	19,9	17,1	18,0	18,3
5	—	—	+	8,0	8,0	9,0	8,0	9,7	14,0	13,5	14,8	14,1	13,3
6	+	—	+	13,0	15,0	14,0	14,0	14,3	50,0	50,0	50,0	50,0	50,3
7	—	+	+	22,5	25,0	21,0	22,8	21,3	10,2	11,0	10,0	10,4	10,9
8	+	+	+	22,5	22,0	22,2	22,2	21,5	33,0	35,0	32,0	33,3	33,1

Примечание. Статистические показатели; $b_0=15,1$; $b_1=1,2$; $b_2=4,7$; $b_3=1,6$; $b_{12}=-1,1$; $b_{13}=1,2$; $b_{23}=1,0$; $b_{123}=-0,6$; $s^2y=0,84$; $s^2b_i=0,3$; $sb_i=0,54$; $t_{0,95}sb_i=1,14$ (I).

$b_0=21,8$; $b_1=12,5$; $b_2=-4,9$; $b_3=5,1$; $b_{12}=2,3$; $b_{13}=-3,7$; $b_{23}=-0.2$; $s^2y=5,3$; $s^2\bar{y}=1,8$; $s^2\bar{y}=1,8$; $s^2b_i=0,22$; $sb_i=0,46$ (II).

Личинки выдерживали в течение 30 мин в пробирках с определенным объемом водопроводной, предварительно отстоянной воды, куда вводили по необходимости растворенный лиофилизат водной среды из загущенной популяции головастиков одного из видов (*R. arvalis*). В пробирках создавали условия нарастающей гипоксии. Через 30 мин определяли выживаемость личинок, общее потребление кислорода и амиталчувствительное дыхание, по которому судили об интенсивности фосфорилирующего окисления.

На основе регрессионного анализа данных, полученных при изучении влияния лиофилизата из загущенной популяции на обмен головастиков двух видов и стадий из нормальных по плотности популяций, составлены уравнения:

для общего потребления кислорода

$$y = 9,9 + 1,8x_1 + 0,3x_2 - 1,3x_3 - 1,8x_1x_2 - 1,1x_1x_3 + 2,5x_2x_3 + 1,7x_1x_2x_3;\ t_{0,95}sb_i = 0,3;$$

для амиталчувствительного дыхания

$$y = 14{,}8 - 1{,}9x_1 + 1{,}6x_2 + 0{,}4x_3 - 6{,}1x_1x_2 - 4{,}5x_1x_3 + \\ + 11{,}8x_2x_3 - 7{,}9x_1x_2x_3;\ t_{0{,}95}sb_i = 0{,}4.$$

На основе регрессионного анализа данных, полученных при изучении влияния того же лиофилизата на обмен головастиков двух видов и двух стадий из загущенных популяций, составлены уравнения:
для общего потребления кислорода

$$y = 15{,}1 - 1{,}2x_1 + 4{,}7x_2 + 1{,}6x_3 - 1{,}1x_1x_2;$$
$$t_{0{,}95}sb_i = 1{,}14;\ s^2_{ад} = 3{,}7 > Fs^2\overline{y} = 0{,}9;$$

для амиталчувствительного дыхания

$$y = 21{,}8 + 1{,}25x_1 - 4{,}9x_2 + 5{,}1x_2 - 3{,}7x_1x_2 + 2{,}3x_1x_3;$$
$$t_{0{,}95}sb_i = 0{,}98;\ s^2_{ад} = 1{,}0 < Fs^2\overline{y} = 0{,}5.$$

Из табл. 62, уравнений и рис. 32 отчетливо видно, что водная среда из загущенной популяции головастиков остромордой

Таблица 64

Стадиоспецифичность в действии водной среды из незагущенных популяций головастиков *R. arvalis* на интенсивность их анаэробного и аэробного гликолиза

Уровень			Натуральные независимые переменные		
			Объем водной среды, мл $\widetilde{x_1}$		№ стадии развития реципиента $\widetilde{x_2}$
Верхний (+)			0,6		26
Нижний (—)			0,0		28
Код ированные независимые переменные			Накопление лактата в гиалоплазме головастика за 1 ч инкубации при 37°С, мг/100 мг сырой массы ткани в атмосфере		$Q_{\frac{\text{лактат}}{\text{аргон}}} / Q_{\frac{\text{лактат}}{\text{воздух}}}$
			аргона	воздуха	
№ варианта	x_1	x_2	y	y	y
1	—	—	0,788	0,429	1,836
2	+	—	0,797	0,409	1,948
3	—	+	0,570	1,120	0,508
4	+	+	0,972	0,214	4,540

Примечание. Статистические показатели: b_0=0,781; b_1=0,102; b_2=—0,01; b_{12}=0,098; s^2y=0,015; $t_{0{,}95}sb_i$=0,138 (аргон).

b_0=0,543; b_1=—0,134; b_2=—0,027; b_{12}=—0,318; s^4y=—0,0075; $t_{0{,}95}sb_i$=0,097 (воздух).

b_0=1,70; b_1=1,03; b_2=0,313; b_{12}=0,980; s^3y=0,658; s^3y—рассчитано по данным отдельно поставленного контрольного варианта.

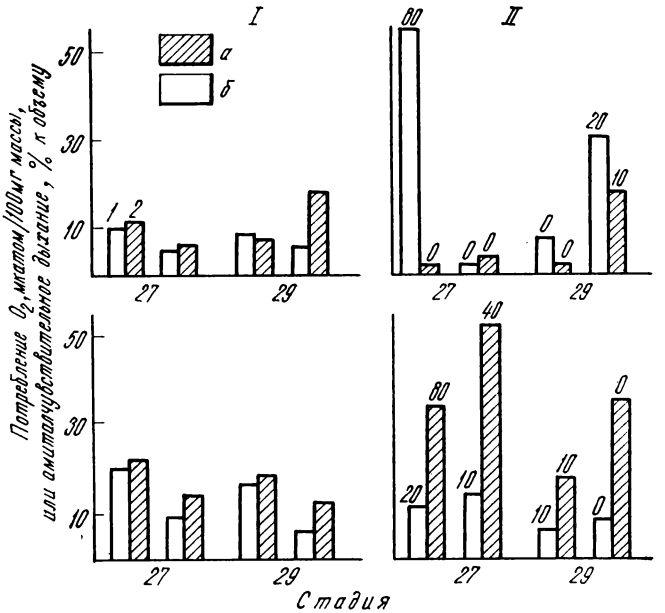


Рис. 32. Потребление кислорода (*I*) и фосфорилирующее окисление (*II*) у головастиков *R. arvalis* (*1*) и *R. camerani* (*2*) из популяций с разной плотностью при введении лиофилизата водной среды из загущенных популяций *R. arvalis* (*а*) и без него (*б*) после выдерживания в условиях кислородного голодания.

Цифры над столбиками — выживаемость головастиков в условиях 60-минутной гипоксии, %. При определении биохимических показателей длительность гипоксии 30 мин.

лягушки, ревосстановленная из соответствующего лиофилизата, действует на интенсивность дыхания и окислительное фосфорилирование головастиков из нормальной популяции видо- и стадиоспецифично ($b_{123} > tsb_i$). Лиофилизат активирует дыхание личинок чужого вида (*R. arvalis*) и не влияет на дыхание личинок своего вида (*R. camerani*). При этом видоспецифичность действия отмечена только у головастиков 29-й стадии. Лиофилизат очень резко ингибирует амиталчувствительное дыхание головастиков своего вида на данной стадии и не изменяет его у личинок чужого вида на 27-й стадии (см. рис. 32). В то же время на 29-й стадии наблюдается исчезновение видоспецифичности в действии водной среды (оба вида реагируют на лиофилизат ингибированием фосфорилирующего окисления).

Данные табл. 63 и соответствующие уравнения для серии на головастиках из загущенных популяций показывают, что лиофилизат водной среды действует видоспецифично на дыхание личинок из загущенных популяций и видо- и стадиоспецифично — на их фосфорилирующее окисление ($b_{12} > t_{0,95}sb_i$ и b_{12}, $b_{13} > t_{0,95}sb_i$).

Одновременно с изучением дыхания и окислительного фосфорилирования на одной из модельных популяций (с нормальной плотностью) рассматривали специфичность действия экзометаболитов головастиков на их анаэробный обмен, интенсивность аэробного и анаэробного гликолиза [248] (табл. 64).

Накопление лактата (y) определяли в присутствии водной среды и без нее (x_1) в гиалоплазме головастиков двух стадий (x_2). Получены уравнения регрессии:

$$y = 1{,}7 + 1{,}03\,x_1 + 0{,}98\,x_1x_2,\ t_{0,95}sb_i = 0{,}95;$$
$$s^2_{ад} = 1{,}39 < Fs^2\overline{y} = 3{,}48.$$

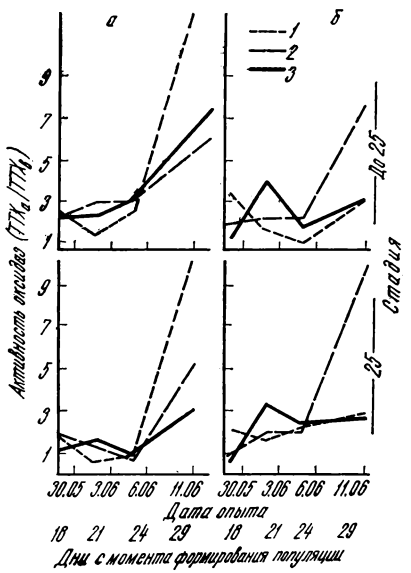
Анализ уравнения и расчетных данных (см. табл. 64) показывает, что исследованные экзометаболиты, добавленные в виде водной среды из нормальных популяций к головастикам из тех же популяций, нормализуют взаимоотношения между аэробным и анаэробным гликолизом. Эта нормализация зависит от стадии развития реципиента ($b_{12} > t_{0,95}sb_i$). На 27-й стадии, когда полностью отсутствует Пастеровский эффект в гиалоплазме головастиков, уровень анаэробного гликолиза при введении экзометаболитов в инкубационную среду резко повышается. При этом интенсивность аэробного гликолиза снижается. У личинок 28-й стадии такого эффекта не наблюдается.

3.6. СПЕЦИФИЧНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ НА ОБМЕН ГОЛОВАСТИКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ

Условия и результаты опытов, в которых специфичность влияния водной среды головастиков и некоторых ее экзобелков на эндогенную активность оксидаз исследовали в зависимости от возрастной структуры популяции, представлены в табл. 65, 66. Использовали головастиков *R. arvalis* из двух модельных популяций (кладки 1 и 2) с повышенной плотностью (10 головастиков на 1 л). Опыты ставили по плану ПФЭ типа $2^3 \cdot 4$ на 96 личинках [249].

Исследовали кладо- и стадиоспецифичность действия водной среды и ее белков из загущенной популяции головастиков (кладка 1) на эндогенную активность их оксидаз через 18, 21, 24 и 29 дней с момента формирования популяции, когда личинки находятся на 24 и 25-й стадиях развития и образуется околожаберная полость, и через 38, 42, 45 и 49 дней, когда популяция состоит из головастиков 26 и 27-й стадий и происходит образование задних конечностей.

Определяли эндогенную активность оксидаз (y) в гомогенатах головастиков двух разных стадий (x_3) из популяций своей и чужой кладки (x_2) при введении водопроводной, предварительно выдержанной воды и экзометаболитов в виде водной



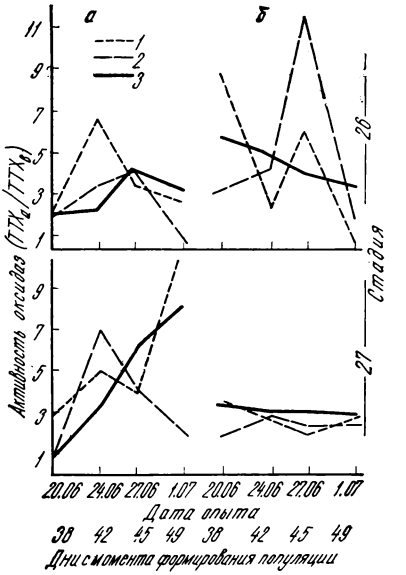


Рис. 33. Стадиоспецифичность и специфичность на уровне семьи в действии водной среды из загущенных популяций головастиков *R. arvalis* в отдельные периоды формирования околожаберной полости.

а — своя кладка реципиента, *б* — чужая; *1* — без экзаметаболитов, *2* — после введения водной среды, *3* — после введения белков водной среды. Концентрация белка водной среды и белкового раствора равна соответственно, мг/мл: 0,015; 0,028; 0,034; 0,041.

Рис. 34. Стадиоспецифичность и специфичность на уровне семьи в действии водной среды из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* в отдельные периоды формирования задних конечностей.

Усл. обозн. те же, что на рис. 33. Концентрация белка водной среды и белкового раствора равна соответственно, мг/мл: 0,040; 0,042; 0,045; 0,048.

среды или ее белков (x_1), которые брали из популяции одной кладки (1) в указанные восемь периодов (x_4). Регрессионный анализ проводили стандартным методом в соответствии с планом [537]. Значимость коэффициентов регрессии определяли сравнивая их абсолютную величину с ошибкой в определении, контролируя выполнение неравенства $b_i \geqslant t_{0,95} s\{b_i\}$.

Для выделения белков водной среды использовали метод высаливания, вводя в нее сернокислый аммоний до 60 %-го насыщения. Обессоливание проводили пропусканием раствора через колонку с сефадексом Г-25. Полученный после высаливания и обессоливания белковый раствор разбавляли дистиллированной водой до исходного содержания белка, определяя его в водной среде головастиков и элюате по Лоури.

В результате получены уравнения для водной среды:
в периоды формирования околожаберной полости

$$y = 3{,}25 - 0{,}66\, x_1x_2 - 0{,}35\, x_2x_3 + 0{,}76\, x_4 - 0{,}51\, x_1x_2x_4 +$$

Таблица 65

Специфичность действия водной среды и экзобелков из загущенной популяции на их эндогенный метаболизм в период формирования околожаберной полости натуральные переменные и их уровни)

Уровень	Метаболиты $\widehat{x}_1$		Характеристика и номер кладки реципиента $\widehat{x}_2$	№ стадии развития реципиента $\widehat{x}_3$	
	1, 2-я серии	3, 4-я серии		1, 3-я серии	2, 4-я серии
Первый	Водная среда из популяции (кладка 1)	Белки водной среды из популяции	Своя, 1	25	27
Второй	Не вводились	Не вводились	Чужая, 2	До 25	26
Третий	—	—	—	—	—
Четвертый	—	—	—	—	—

Примечание. Для x_1x_2 и x_3 взяты два уровня: верхний (+) и нижний (—).

$$+ 1{,}39\,x_4 + 0{,}42\,x_4^2 - 0{,}65\,x_1x_2x_4,\quad t_{0{,}95}sb_i = 0{,}31,$$
$$s^2_{ад}/s^2\overline{y} = 1{,}8,\quad F_{0{,}95(24,64)} = 1{,}7;$$

в периоды формирования задних конечностей

$$y = 4{,}13 - 0{,}57\,x_1 + 0{,}39\,x_2 - 0{,}71\,x_1x_2 - 0{,}48\,x_1x_3 +$$
$$+ 1{,}18\,x_2x_3 + 0{,}34\,x_2x_4 - 0{,}47\,x_1x_2x_4 + 0{,}42\,x_3x_4 -$$
$$- 0{,}45\,x_1x_3x_4 + 0{,}22\,x_2x_3x_4 - 0{,}40\,x_4 - 1{,}03\,x_1x_4^2 +$$
$$+ 0{,}76\,x_3x_4^2 + 0{,}46\,x_2x_4^2 + 0{,}41\,x_3x_4^3 - 0{,}90\,x_2x_3x_4^2,\quad t_{0{,}95}sb_i = 0{,}22.$$
$$s^2_{ад}/s^2\overline{y} = 4{,}5,\quad F_{0{,}95(14,64)} = 1{,}9;$$

для белков водной среды:
в периоды формирования околожаберной полости

$$y = 2{,}91 + 0{,}60x_2 - 0{,}37x_1x_2 - 0{,}40x_3 - 0{,}40x_2x_3 + 0{,}55x_4 +$$
$$+ 0{,}46x_2x_4 + 0{,}88x_4^2 - 0{,}76x_1x_4^2 + 0{,}83x_2x_4^2;$$
$$s^2_{ад}/s^2y = 2{,}9,\quad F_{0{,}95\,(14,64)} = 1{,}9,\quad t_{0{,}95}sb_i = 0{,}39;$$

в периоды формирования задних конечностей

$$y = 4{,}29 - 0{,}42x_1 + 0{,}58x_2 - 0{,}58x_2 - 0{,}53x_1x_2 + 0{,}34x_3 +$$
$$+ 1{,}09x_2x_3 + 0{,}64x_2x_4 + 0{,}58x_3x_4 - 0{,}28x_1x_2x_4 + 0{,}27x_2x_3x_4 +$$
$$+ 0{,}31x_4^2 - 031x_3x_4^2 - 0{,}19x_1x_2x_4^3 + 0{,}61x_3x_4^2 - 0{,}48x_1x_3x_4^2 +$$
$$+ 0{,}56x_2x_3x_4^2 - 0{,}47x_1x_2x_3x_4^2 + 0{,}25x_2x_4^3 - 0{,}34x_1x_2x_4^2 - 0{,}19x_3x_4^3;$$
$$t_{0{,}95}sb_i = 0{,}19;\quad s^2_{ад}/s^2\overline{y} = 7{,}08;\quad F_{0{,}95\,(20,64)} = 1{,}9.$$

Уравнения регрессии неадекватны ($s^2_{ад}/s^2\overline{y} > F_{0,95}$), поэтому графики (рис. 33, 34) построены по экспериментальным данным

головастиков остромордой лягушки и задних конечностей (независимые

Период в развитии популяции; дата опыта; возраст личинок, дни $\hat{x}_4$	
1, 3-я серии	2, 4-я серии
I; 30.V; 18	V; 20.VI; 38
II; 3.VI; 21	VI; 24.VI; 42
III; 6.VI; 24	VII; 27.VI; 45
IV; 11.VI; 29	VIII; 1.VII; 49

$(\overline{y})$. Анализ значимых коэффициентов регрессии в первую очередь показывает, что эндогенная активность оксидаз в гомогенатах контрольных головастиков (без введения экзометаболитов в виде водной среды или отдельных ее белков) определяется не только морфологической характеристикой их стадии, но и возрастной структурой популяции, периодом, в который личинки исследовались. (Среди значимых эффектов обнаружены $x_2x_4x_3x_4$, $x_2x_3x_4$, $x_3x_4^2$, $x_2x_4^2$, $x_2x_3x_4^2$ — во 2-й серии; x_2x_4, $x_2x_4^2$ — в 3-й; x_2x_4, $x_2x_3x_4$, $x_3x_4^2$, $x_2x_4^2$, $x_2x_3x_4^2$, $x_3x_4^3$ — в 4-й.) Биохимический показатель в наших экспериментах зависит от принадлежности личинок к кладке. Подчеркнем, что эта зависимость от кладки, от стадии развития обусловлена влиянием четвертого фактора — времени исследования пробы. Этот вывод иллюстрируется графическим изображением указанных взаимодействий. На рис. 33 и 34 экспериментальные кривые, которые построены по соответствующим средним данным, полученным при введении водопроводной, предварительно выдержанной, воды для активности оксидаз в гомогенатах головастиков до 25—27-й стадии из популяций обеих кладок, не параллельны оси абсцисс. Эндогенный метаболизм личинок до 25 и 26-й стадий развития, взятых через 18 дней с момента формирования популяции (30 мая), резко отличается от такового у личинок той же кладки и тех же морфологических стадий при исследовании через 29 дней от начала опыта (11 июня). Аналогичная разница в уровне активности оксидаз наблюдается, как видно из рис. 34, и в периоды формирования задних конечностей. Морфологическая характеристика головастика (стадия развития, по Терентьеву) не соответствует биохимической.

Анализ значимых коэффициентов регрессии показывает также, что действие экзометаболитов в виде водной среды головастиков и исследованных в сериях экзобелков на эндогенный метаболизм отдельной личинки зависит от кладки реципиента, его морфологической стадии и периода развития популяции. (Среди значимых эффектов обнаружены $x_1x_2x_4$, $x_1x_2x_4^2$, $x_1x_2x_4^3$ $x_1x_3x_4$, $x_1x_3x_4^2$, , $x_1x_2x_3x_4^2$.)

Регуляторные свойства водной среды так же, как и ее белков, нестабильны. Кладо- и стадиоспецифичность влияния экзо-

Таблица 66

Специфичность действия водной среды и экзобелков из загущенной популяции головастиков остромордой лягушки на их эндогенный метаболизм в периоды формирования околожаберной полости и задних конечностей (матрица ПФЭ $2^3 \cdot 4$, результаты опытов и данные регрессионного анализа)

Кодированные переменные и их уровни				$ТТХ_а/ТТХ_в$				Эффект	Коэффициент регрессии
x_1	x_2	x_3	x_4	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3		
				1-я серия					
—	—	—	—3	3,55	3,89	2,89	3,86	«1»	3,250
+	—	—	—3	1,99	2,45	2,45	1,52	x_1	0,006
—	+	—	—3	2,42	2,71	2,12	2,12	x_2	0,22
+	+	—	—3	2,17	2,23	2,17	2,12	x_1x_2	—0,66
—	—	+	3	2,29	2,50	2,08	2,30	x_3	—0,24
+	—	+	—3	1,08	1,06	1,00	1,17	x_1x_3	0,07
—	+	+	—3	1,62	1,26	1,64	1,97	x_2x_3	—0,35
+	+	+	—3	1,98	2,10	1,63	2,20	$x_1x_2x_3$	0,006
—	—	—	—1	1,70	1,48	1,52	1,71	x_4	0,76
+	—	—	—1	2,28	1,84	2,61	2,40	x_1x_4	0,02
—	+	—	—1	1,57	1,81	1,31	1,78	x_2x_4	0,22
+	+	—	—1	2,76	2,77	2,42	3,08	$x_1x_2x_4$	—0,51
—	—	+	—1	1,88	2,00	1,80	1,83	x_3x_4	0,05
+	—	+	—1	2,23	2,53	2,42	1,75	$x_1x_3x_4$	0,05
—	+	+	—1	0,73	0,68	0,77	0,73	$x_2x_3x_4$	—0,13
+	+	+	—1	1,35	1,23	1,55	1,26	$x_1x_2x_3x_4$	—0,007
—	—	—	+1	1,10	0,92	1,14	1,24	x_4^2	1,39
+	—	—	+1	2,36	2,25	2,29	2,55	$x_1x_4^2$	—0,25
—	+	—	+1	2,50	2,31	2,88	2,31	$x_2x_4^2$	0,42
+	+	—	+1	2,83	2,38	3,11	3,00	$x_1x_2x_4^2$	—0,65
—	—	+	+1	2,48	2,50	2,46	2,46	$x_3x_4^2$	0,03
+	—	+	+1	2,43	2,23	2,23	2,82	$x_1x_3x_4^2$	0,24
—	+	+	+1	0,87	0,68	1,09	0,84	$x_2x_3x_4^2$	0,12
+	+	+	+1	0,71	0,78	0,71	0,65	$x_1x_2x_3x_4^2$	—0,02
—	—	—	+3	2,96	2,88	3,50	2,50	x_4^3	0,24
+	—	—	+3	7,46	9,75	9,50	3,14	$x_1x_4^3$	0,03
—	+	—	+3	12,67	17,00	9,50	11,50	$x_2x_4^3$	0,07
+	+	—	+3	5,57	4,00	8,50	4,20	$x_1x_2x_4^3$	—0,14
—	—	+	+3	2,98	3,13	3,00	2,82	$x_3x_4^3$	0,02
+	—	+	+3	9,72	4,00	12,67	12,5	$x_1x_2x_4^3$	0,04
—	+	+	+3	10,56	2,67	13,0	11,0	$x_2x_3x_4^3$	0,02
+	+	+	+3	5,17	6,83	4,00	4,67	$x_1x_2x_3x_4^3$	—0,03

Продолжение табл. 66

Кодированные переменные и их уровни				$ТТХ_а/ТТХ_в$				Эффект	Коэффициент регрессии
x_1	x_2	x_3	x_4	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3		
				2-я серия					
—	—	—	—3	8,72	7,40	8,75	10,0	«1»	4,13
+	—	—	—3	3,22	3,00	3,50	3,16	x_1	—0,57
—	+	—	—3	3,09	3,13	3,29	2,86	x_2	0,39
+	+	—	—3	2,02	2,05	1,94	2,06	x_1x_2	—0,71
—	—	+	—3	3,53	4,00	3,06	3,06	x_3	0,02
+	—	+	—3	1,86	1,91	1,81	1,85	x_1x_3	—0,48
—	+	+	—3	2,90	3,05	2,33	3,33	x_2x_3	1,18
+	+	+	—3	1,75	1,48	1,69	2,09	$x_1x_2x_3$	—0,18
—	—	—	—1	2,44	2,50	2,33	2,50	x_4	0,12
+	—	—	—1	4,23	4,44	3,69	4,56	x_1x_4	—0,09
—	+	—	—1	6,82	6,00	8,20	6,25	x_2x_4	0,34
+	+	—	—1	3,47	3,42	3,83	3,17	$x_1x_2x_4$	—0,47
—	—	+	—1	2,68	2,40	2,76	2,87	x_3x_4	0,42
+	—	+	—1	2,81	2,47	3,00	2,97	$x_1x_3x_4$	—0,45
—	+	+	—1	5,18	5,00	5,62	4,88	$x_2x_3x_4$	0,22
+	+	+	—1	6,99	7,00	6,07	7,91	$x_1x_2x_3x_4$	—0,19
—	—	—	+1	6,09	8,25	4,90	4,63	x_4^2	—0,40
+	—	—	+1	11,62	6,86	12,00	16,00	$x_1x_4^2$	—1,03
—	+	—	+1	3,1	3,07	3,58	3,27	$x_2x_4^2$	0,15
+	+	—	+1	4,16	3,68	4,00	4,81	$x_1x_2x_4^2$	—0,19
—	—	+	+1	2,11	1,88	2,21	2,25	$x_3x_4^2$	0,76
+	—	+	+1	2,59	2,17	2,75	2,25	$x_1x_3x_4^2$	—0,34
—	+	+	+1	4,04	4,00	4,00	4,11	$x_2x_3x_4^2$	0,11
+	+	+	+1	4,29	4,34	4,27	4,26	$x_1x_2x_3x_4^2$	—0,90
—	—	—	+3	0,58	0,53	0,65	0,55	x_4^3	—0,03
+	—	—	+3	2,23	2,18	2,29	2,24	$x_1x_4^3$	—0,16
—	+	—	+3	2,52	2,22	2,13	3,20	$x_2x_4^3$	0,46
+	+	—	+3	1,12	1,23	1,10	1,10	$x_1x_2x_4^3$	—0,12
—	—	+	+3	2,69	2,57	2,29	3,20	$x_3x_4^3$	0,41
+	—	+	+3	2,61	2,50	2,62	2,70	$x_1x_3x_4^3$	0,04
—	+	+	+3	18,67	20,0	16,0	20,0	$x_2x_3x_4^3$	—0,15
+	+	+	+3	2,13	1,80	2,60	2,00	$x_1x_2x_3x_4^3$	0,01
				3-я серия					
—	—	—	—3	3,55	3,89	3,89	3,86	«1»	2,91
+	—	—	—3	1,22	1,40	1,04	1,40	x_1	—0,33
—	+	—	—3	2,42	2,71	2,12	2,12	x_2	0,50

Продолжение табл. 66

Кодированные переменные и их уровни				ТТХ$_а$/ТТХ$_в$				Эффект	Коэффициент регрессии
x_1	x_2	x_3	x_4	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3		
+	+	—	—3	2,06	2,02	1,89	2,27	x_1x_2	—0,37
—	—	+	—3	2,29	2,50	2,08	2,30	x_3	—0,40
+	—	+	—3	0,92	1,13	0,71	1,13	x_1x_3	—0,08
—	+	+	—3	1,62	1,26	1,64	1,97	x_2x_3	—0,40
+	+	+	—3	1,13	1,55	1,05	0,78	$x_1x_2x_3$	—0,04
—	—	—	—1	1,70	1,48	1,52	1,71	x_4	0,55
+	—	—	—1	4,11	3,83	4,38	3,83	x_1x_4	—0,18
—	+	—	—1	1,57	1,81	1,13	1,78	x_2x_4	0,46
+	+	—	—1	2,22	1,76	2,67	1,76	$x_1x_2x_4$	—0,27
—	—	+	—1	1,88	2,00	1,80	1,83	x_3x_4	—0,05
+	—	+	—1	3,44	3,79	3,08	—	$x_1x_3x_4$	—0,06
—	+	+	—1	0,73	0,68	0,77	0,73	$x_2x_3x_4$	—0,14
+	+	+	—1	1,85	1,85	1,85	1,85	$x_1x_2x_3x_4$	—0,02
—	—	—	+1	1,10	0,92	1,14	1,24	x_4^2	0,88
+	—	—	+1	1,68	1,64	1,86	1,54	$x_1x_4^2$	—0,76
—	+	—	+1	2,50	2,31	2,88	2,31	$x_2x_4^2$	0,83
+	+	—	+1	1,93	2,92	3,10	2,77	$x_1x_2x_4^2$	—0,23
—	—	+	+1	2,48	2,50	2,46	2,46	$x_3x_4^2$	—0,21
+	—	+	+1	2,56	2,69	2,56	2,43	$x_1x_3x_4^2$	—0,005
—	+	+	+1	0,82	0,68	1,09	0,84	$x_2x_3x_4^2$	0,011
+	+	+	+1	0,97	1,07	0,92	0,91	$x_1x_2x_3x_4^2$	—0,13
—	—	—	+3	2,96	2,88	3,50	2,50	x_4^3	0,23
+	—	—	+3	2,97	2,92	3,08	2,92	$x_1x_4^3$	0,03
—	+	—	+3	12,67	17,00	9,50	11,50	$x_2x_4^3$	0,06
+	+	—	+3	7,33	6,50	7,50	8,00	$x_1x_2x_4^3$	—0,13
—	—	+	+3	2,98	3,13	3,00	2,82	$x_3x_4^3$	—0,03
+	—	+	+3	2,77	2,00	2,82	3,50	$x_1x_3x_4^3$	—0,01
—	+	+	+3	19,56	7,62	13,00	11,00	$x_2x_3x_4^3$	0,06
+	+	+	+3	3,23	3,58	2,87	3,24	$x_1x_2x_3x_4^3$	0,02
				4-я серия					
—	—	—	—3	8,72	7,40	8,75	10,0	«1»	4,29
+	—	—	—3	5,69	5,63	6,00	5,44	x_1	—0,42
—	+	—	—3	3,09	3,13	3,29	2,86	x_2	0,58
+	+	—	—3	2,05	2,20	1,94	2,00	x_1x_2	—0,53
—	—	+	—3	3,53	4,0	3,06	3,06	x_3	0,34
+	—	+	—3	3,41	2,80	3,53	3,90	x_1x_3	—0,17
—	+	+	—3	2,90	3,05	2,33	3,33	x_2x_3	1,09
+	+	+	—3	1,82	1,88	1,81	1,78	$x_1x_2x_3$	—0,28

Окончание табл. 66

Кодированные переменные и их уровни				$ТТХ_а/ТТХ_в$				Эффект	Коэффициент регрессии
x_1	x_2	x_3	x_4	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3		
—	—	—	—1	2,44	2,50	2,33	2,50	x_4	0,23
+	—	—	—1	4,97	4,75	5,60	4,57	x_1x_4	0,01
—	+	—	—1	6,82	6,00	8,20	6,25	x_2x_4	0,64
+	+	—	—1	2,20	2,57	1,65	2,38	$x_1x_2x_4$	—0,16
—	—	+	—1	2,68	2,40	2,76	2,87	x_3x_4	0,58
+	—	+	—1	3,10	2,88	3,03	3,38	$x_1x_3x_4$	—0,28
—	+	+	—1	5,18	5,00	5,67	4,88	$x_2x_3x_4$	0,27
+	+	+	—1	3,19	3,89	3,25	2,44	$x_1x_2x_3x_4$	—0,15
—	—	—	+1	6,09	8,75	4,90	4,63	x_4^2	0,31
+	—	—	+1	3,94	3,15	3,80	4,86	$x_1x_4^2$	—0,31
—	+	—	+1	3,31	3,07	3,58	3,27	$x_2x_4^2$	0,16
+	+	—	+1	4,22	4,15	4,00	4,50	$x_1x_2x_4^2$	—0,19
—	—	+	+1	2,11	1,88	2,21	2,25	$x_3x_4^2$	0,61
+	—	+	+1	3,14	3,11	3,12	3,20	$x_1x_3x_4^2$	—0,48
—	+	+	+1	4,04	4,00	4,00	4,11	$x_2x_3x_4^2$	0,56
+	+	+	+1	6,21	5,88	6,36	6,38	$x_1x_2x_3x_4^2$	—0,47
—	—	—	+3	0,58	0,53	0,65	0,55	x_4^3	0,02
+	—	—	+3	3,24	3,40	3,33	3,00	$x_1x_4^3$	—0,11
—	+	—	+3	2,25	2,22	2,13	3,90	$x_2x_4^3$	0,25
+	+	—	+3	3,33	3,00	4,00	3,00	$x_1x_2x_4^3$	—0,34
—	—	+	+3	2,69	2,57	2,29	3,90	$x_3x_4^3$	—0,19
+	—	+	+3	3,06	3,00	3,33	2,86	$x_1x_3x_4^3$	—0,17
—	+	+	+3	18,67	20,00	16,00	20,00	$x_2x_3x_4^3$	—0,04
+	+	+	+3	8,39	12,00	7,50	5,67	$x_1x_2x_3x_4^3$	0,08

Примечание. Статистические показатели: $s^2\{y\}=2,25$; $s^2\{\bar{y}\}=0,75$; $s^2\{b_i\}=0,023$; $ts\{b_i\}=0,31$ (1-я серия).

$s^2\{y\}=1,16$; $s^2\{\bar{y}\}=0,39$; $s^2\{b_i\}=0,012$; $ts\{b_i=0,22$ (2-я серия). $s^2\{y\}=3,80$; $s^2\{\bar{y}\}=1,26$; $s^2\{b_i\}=0,039$; $ts\{b_i\}=0,39$ (3-я серия).

$s^2\{y\}=0,90$; $s^2\{\bar{y}\}=0,30$; $s^2\{b_i\}=0,009$; $ts\{b_i\}=0,19$ (4-я серия).

метаболитов на эндогенный метаболизм личинок не постоянны, они то появляются, то исчезают по мере формирования околожаберной полости и задних конечностей.

Водная среда, взятая через 18 дней с момента формирования популяции (30 мая), как видно из рис. 33, не действует на эндогенный метаболизм головастиков своей кладки, но достоверно ингибирует его у личинок чужой кладки. Это ингибиро-

вание нестадиоспецифично (одинаково у личинок до 25 и на 25-й стадии развития). Через 21—24 дня от начала опыта (3 и 6 июня) водная среда теряет специфичность в действии на уровне семьи (головастики своей и чужой кладок ведут себя в присутствии экзометаболитов одинаково). Через 29 дней от начала опытов (11 июня) специфичность действия на уровне семьи становится ярко выраженной. Эндогенный метаболизм у головастиков своей кладки водная среда резко ингибирует, у головастиков чужой кладки, напротив, усиливает. При этом описанные экзометаболические эффекты не зависят от стадии развития личинок (x_1x_2, $x_1x_2x_4 > t_{0,95}sb_i$ и x_1x_3, $x_1x_3x_4 < tsb_i$). На 38-й день опыта (20 июня), когда начинается процесс формирования задних конечностей и появляются особи 26 и 27-й стадий, как показывают экспериментальные данные (см. рис. 34), обнаруживаются кладо- и стадиоспецифичность действия экзометаболитов (x_1x_2 и $x_1x_3 > tsb_i$). Ингибирование больше выражено у головастиков чужой кладки на 26-й стадии развития. Через 42 и 45 дней от начала опыта (24 и 27 июня) кладо- и стадиоспецифичность влияния водной среды головастиков также имеют место. На 26-й стадии наблюдаются ингибирование обмена у своих головастиков и сильная активация у чужих. Активация обмена у своих и отсутствие изменений у чужих обнаруживаются в присутствии водной среды на 27-й стадии развития.

Наконец, в последний исследованный нами период (на 49-й день от начала опыта) водная среда из загущенной популяции головастиков у своих личинок ингибирует эндогенный метаболизм, у других либо не изменяет его (на 27-й стадии), либо слабо активирует (на 26-й).

Анализ кладо- и стадиоспецифичности влияния выделенных нами экзобелков водной среды головастиков на их эндогенный метаболизм указывает в целом на те же закономерности. Из рис. 34 и 35 видно, что на ранних стадиях развития популяции (через 18 дней с момента ее формирования) белки, осажденные сульфатом аммония в условиях 60 %-го насыщения, также обладают кладоспецифичностью действия на оксидазы отдельной личинки. В первый период, не вызывая изменений в обмене своих головастиков, независимо от их стадии развития, они резко подавляют оксидазы у головастиков чужой кладки. Через 21 и 24 дня с момента формирования популяции (3 и 6 июня) экзобелки активируют обмен у своих и чужих головастиков, но у чужих — значительно сильнее. Через 29 дней от начала опыта (11 июня) выделенные нами экзобелки резко подавляют оксидазы своих головастиков и не действуют на обмен личинок чужой кладки ($x_1x_2 > t_{0,95}sb_i$).

Стадиоспецифичность влияния исследованных экзобелков в период формирования околожаберной полости, когда наблюдается переход головастиков к 25-й стадии развития, так же, как

и стадиоспецифичность действия водной среды, в наших опытах не обнаружена ($x_1x_3 < t_{0,95}sb_i$).

В периоды формирования задних конечностей, напротив, резко выражена кладо- и стадиоспецифичность действия выделенных экзобелков ($x_1x_3x_4$, $x_3x_2x_4 > tsb_i$), аналогично влиянию водной среды. Взятые через 42 и 45 дней от начала опыта (24, 27 июня) на 27-й стадии развития экзобелки достоверно и сильно ингибируют эндогенный метаболизм головастиков своей кладки и активируют обмен у личинок чужой кладки, что зависит от стадии развития реципиента.

Сравнительный анализ данных о влиянии водной среды и экзобелков (см. рис. 33, 34) показывает, что у личинок своей кладки ингибирование эндогенных оксидаз через 18 и 38 дней с момента формирования популяции, а чужой кладки — через 42 дня в нашем эксперименте связано с накоплением белков глобулиновой природы (наблюдается идентичность результатов для водной среды и экзобелков, осажденных в условиях 60 %-го насыщения). Активация обмена личинок чужой кладки через 49 дней от начала опыта не коррелирует с присутствием белков, которые осаждаются в описанных нами условиях. Химическая природа ингибирующих и активирующих обмен экзометаболитов, по-видимому, разная. Наиболее ярко выраженный экзометаболический эффект обнаруживается в описанной выше серии опытов через 27—29 дней с момента формирования популяции или через 49 дней, когда происходит оптимальное ингибирование оксидаз личинок своей кладки, а оксидазы чужой кладки не ингибируются.

Описанные серии опытов (см. табл. 62—66) поставлены нами в весенне-летний период 1974 г. В соответствующие сезоны 1976, 1977 и 1978 гг. эксперименты проводили с целью проверки полученной модели, прогнозирования периодов, в которые наиболее целесообразно выделять и изучать ингибирующие и активирующие экзометаболиты.

В повторных сериях в отдельные, выбранные на основе модели 1974 г. периоды развития популяции личинок *R. arvalis* с помощью разработанной нами тетразоловой методики определения эндогенной активности оксидаз выявляли регулирующие экзометаболиты амфибий по наличию или отсутствию специфичного на уровне семьи и стадии эффекта (табл. 67). Анализ данных показывает, что, несмотря на некоторые сдвиги во времени появления кладок, водная среда из загущенных популяций головастиков *R. arvalis*, взятая через 18, 20, 21 день с момента формирования популяции, по данным 1974, 1977, 1978 гг., активирует оксидазы у личинок своей кладки на 25, 26-й стадиях развития, в то время как на тех же стадиях у головастиков чужой кладки активация оксидаз не отмечена. В более поздние периоды развития — через 27, 30 и 32 дня с момента формирования загущенной популяции (так же, как в

Таблица 67

Специфичность действия водной среды из загущенных популяций головастиков на их эндогенный метаболизм в периоды формирования околожаберной полости (проверка модели 1974 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Метаболиты $\tilde{x}_1$	Кладка реципиента $\tilde{x}_2$	№ стадии развития реципиента $\tilde{x}_3$
Верхний (+)	1 мл водной среды	Своя	26
Нижний (—)	Не вводились	Чужая	25

Кодированные переменные				$ТТХ_а/ТТХ_в$									
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
				1976 г.									
				31.V (через 20 дней)					8.VI (через 28 дней)				
1	—	—	—	5,0	4,0	7,0	5,3	4,6	2,0	3,0	5,0	3,3	3,6
2	+	—	—	8,0	5,0	2,0	5,0	4,6	4,0	3,0	8,0	5,0	3,6
3	—	+	—	4,0	4,0	2,0	3,3	4,6	2,0	3,0	2,3	2,7	3,6
4	+	+	—	5,0	5,0	5,0	5,0	4,6	3,0	4,3	3,0	3,4	3,6
5	—	—	+	2,3	1,2	6,5	3,3	2,4	1,1	1,7	1,2	1,3	1,7
6	+	—	+	3,7	2,3	2,3	2,8	2,4	1,9	3,0	1,3	2,1	1,7
7	—	+	+	2,3	1,8	1,1	1,7	2,4	1,1	1,4	2,6	1,7	1,7
8	+	+	+	3,0	1,7	1,3	2,0	2,4	1,3	2,0	1,7	1,4	1,7

Примечание. Статистические показатели; $b_0 = 3,56$; $b_1 = 0,129$; $b_2 = -0,546$; $b_{12} = 0,354$; $b_3 = -1,104$; $b_{13} = -0,20417$; $b_{23} = 0,0458$; $b_{123} = -0,1458$; $s^2 y = 2,7868$; $s^2 \bar{y} = 0,82893$; $s^2 b_i = 0,116116$; $t_{0,95} s b_i = 0,72236$; $y = 3,56 - 1,10 x_3$; $s^2_{ад} = 2,67 < Fs^2 \bar{y} = 0,72$ (31.V).

$b_0 = 2,65$; $b_1 = 0,39$; $b_2 = -0,28$; $b_{12} = 0,21$; $b_3 = -0,96$; $b_{13} = -0,21$; $b_{23} = 0,27$; $b_{124} = 0,021$; $s^2 y = 1,55$; $s^2 \bar{y} = 0,5177$; $s^2 b_i = 0,0647$; $t_{0,95} s b_i = 0,539$; $y = 2,65 - 0,96 x_3$; $s^2_{ад} = 0,52 < Fs^2 \bar{y} = 1,01$ (8.VI).

№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$
				1977 г.							
				6.VI (через 23 дня)				9.VI (через 29 дней)			
1	—	—	—	1,67	1,50	1,0	1,39	1,33	2,0	1,83	1,71
2	+	—	—	3,08	2,0	—	2,54	3,50	2,25	2,75	2,83
3	—	+	—	1,5	2,2	1,31	1,66	1,60	0,71	3,8	2,04
4	+	+	—	1,39	3,09	2,09	2,12	—	3,6	5,1	4,03

Продолжение табл. 67

Кодированные переменные				$ТТХ_а/ТТХ_в$							
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$
5	—	—	+	3,0	2,5	0,5	2,0	3.0	5,0	4,0	4,0
6	+	—	+	14,0	8,0	3,6	8,53	6,0	7,0	3,0	5,3
7	—	+	+	1,28	1,50	2,13	1,64	2,82	2,56	2,89	4,11
8	+	+	+	0,62	0,60	2,07	1,10	—	1,78	2,6	2,19

Примечание. Статистические показатели: $b_0 = 2{,}63$; $b_1 = 0{,}95$; $b_2 = -0{,}98$; $b_{12} = -0{,}96$; $b_3 = 0{,}68$; $b_{13} = 0{,}54$; $b_{23} = -0{,}97$; $b_{123} = -0{,}80$; $s^2 y = 3{,}945$; $s^2 \bar{y} = 3{,}315$; $s^2 b_i = 0{,}164$; $t_{0,95} s b_i = 0{,}863$; $y = 2{,}63 - 0{,}95x_1 - 0{,}98x_2 - 0{,}96x_1 x_2$; $s^2_{ад} = 3{,}76$; $< Fs^2 y = 2{,}85$ (6-VI). $b_0 = 2{,}84$; $b_1 = -0{,}12$; $b_2 = -0{,}63$; $b_{12} = -0{,}74$; $b_3 = -0{,}74$; $b_{13} = -0{,}34$; $b_{23} = -0{,}456$; $b_{123} = -0{,}4$; $s^2 y = 2{,}627$; $t_{0,95} s b_i = 0{,}8757$; $s^2 b_i = 0{,}109$; $s^2 y = 0{,}711$; $y = 2{,}84 - 0{,}74x_1 x_2 + 0{,}74x_3$; $s^2_{ад} = 1{,}44 < Fs^2 \bar{y} = 1{,}64$ (9.VI).

№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{x}$	$\hat{y}$
						1978 г.							
				5.VI (через 18 дней)					(через 25 дней)				
1	—	—	—	1,60	1,59	1,62	1,60	1,60	1,00	0,86	1,00	0,95	1,03
2	+	—	—	1,20	1,61	1,00	1,30	1,10	1,00	0,82	0,63	0,82	0,86
3	—	+	—	0,80	1,81	1,79	1,47	1,72	0,71	0,39	1,03	0,89	0,80
4	+	+	—	2,20	1,67	2,24	2,04	2,22	0,46	0,69	0,73	0,63	0,55
5	—	—	+	2,56	1,00	0,83	1,45	1,60	0,55	0,50	0,48	0,51	0,47
6	+	—	+	1,00	0,89	1,24	1,04	1,10	1,22	1,11	1,02	1,12	1,04
7	—	+	+	1,53	2,00	2,00	1,84	1,72	0,66	0,51	0,23	0,47	0,55
8	+	+	+	3,59	1,57	2,44	2,53	2,22	0,23	0,31	0,55	0,36	0,41

Примечание. Статистические данные: $b_0 = 1{,}66$; $b_1 = 0{,}07$; $b_2 = 0{,}31$; $b_{12} = 0{,}25$; $b_3 = 0{,}06$; $b_{13} = 0{,}004$; $b_{23} = 0{,}16$; $b_{123} = 0{,}03$; $s^2 y = 0{,}32$; $s^2 \bar{y} = 0{,}11$; $s^2 b_i = 0{,}24$; $y = 1{,}66 + 0{,}31x_2 = 0{,}25x_1 x_2$; $s^2_{ад} = 0{,}05 < Fs^2 \bar{y} = 0{,}51$ (5.VI). $b_0 = 0{,}71$; $b_1 = 0{,}02$; $b_{12} = -0{,}10$; $b_2 = -0{,}14$; $b_3 = -0{,}10$; $b_{13} = -0{,}11$; $b_{23} = -0{,}06$; $b_{123} = -0{,}08$; $s^2 y = 0{,}02$; $s^2 \bar{y} = 0{,}007$; $s^2 b_i = 0{,}009$; $t_{0,95} s b_i = 0{,}05$; $y = 0{,}71 - 0{,}14x_2 = 0{,}10x_3 - 0{,}10x_1 x_2 + 0{,}11x_1 x_3 = 0{,}06x_2 x_3 = 0{,}08x_1 x_2 x_3$ (12.VI).

№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
						1978 г.							
				19.VI (через 32 дня)					21.VI (через 34 дня)				
1	—	—	—	1,62	1,14	1,18	1,31	0,31	0,34	0,65	0,56	0,52	0,71
2	+	—	—	2,13	1,87	2,10	2,03	2,03	0,50	0,96	1,25	0,90	0,71

Окончание табл. 67

№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
3	—	+	—	1,75	2,00	1,67	1,81	1,81	0,74	0,73	0,82	0,76	1,02
4	+	+	—	8,00	6,57	6,30	6,96	6,96	1,06	1,19	0,94	1,06	1,02
5	—	—	+	0,72	0,41	0,51	0,55	0,55	1,06	0,96	0,89	0,97	1,01
6	+	—	+	0,77	1,20	1,41	1,13	1,11	1,81	1,04	1,01	1,29	1,02
7	—	+	+	0,57	0,81	0,91	0,76	0,76	1,01	0,85	0,63	0,83	0,72
8	+	+	+	0,44	0,26	0,31	0,34	0,34	0,51	0,74	0,58	0,61	0,71

Примечание. Статистические показатели: $b_0 = 1{,}86$; $b_1 = 0{,}75$; $b_2 = 0{,}61$; $b_{12} = 0{,}43$; $b_3 = -1{,}17$; $b_{13} = -0{,}71$; $b_{23} = -0{,}75$; $b_{123} = -0{,}68$; $s^2 y = 0{,}14$; $s^2 \bar{y} = 0{,}05$; $s^2 b_i = 0{,}006$; $t_{0,95} s b_i = 0{,}16$ (19.VI).

$b_0 = 0{,}81$; $b_1 = 0{,}09$; $b_2 = -0{,}05$; $b_{12} = -0{,}08$; $b_3 = 0{,}06$; $b_{13} = -0{,}08$; $b_{23} = -0{,}15$; $b_{123} = -0{,}06$; $s^2 y = 0{,}06$, $s^2 \bar{y} = 0{,}02$; $s^2 b_i = 0{,}002$; $t_{0,95} s b_i = 0{,}10$; $y = 0{,}87 - 0{,}15 x_2 x_3$; $s^2_{ад} = 0{,}04 < F s^2 \bar{y} = 2{,}14$ (21.VI).

сериях 1974 г.) — водная среда головастиков *R. arvalis*, по данным 1977 и 1978 гг., ингибирует оксидазы в гомогенатах личинок своей кладки на 26-й стадии развития, активируя их на той же стадии у особей чужой кладки.

Таким образом, степень специфичного влияния водной среды головастиков *R. arvalis* из популяции с высокой плотностью из года в год варьирует, направленность этого действия определяется не только стадией развития реципиента, но и структурой популяции (соотношением личинок разных стадий развития, их физиологическим возрастом, периодом развития популяции в целом).

Используя три метода количественного определения белка (табл. 68, приводится по [169]), включая данные, полученные при изучении аминокислотного состава экзобелков водной среды в разные периоды развития популяции (см. табл. 54), мы убедились, что развитие личинок амфибий (в условиях нормальной и повышенной плотности) сопровождается накоплением белка в водной среде обитания. При этом в загущенных популяциях, по-видимому, присутствие белка в водной среде обязательно, так как иначе, как показали серии опытов 1976 г., развитие прекращается и личинки гибнут. В популяциях с нормальной плотностью экзометаболический эффект по отношению к обмену головастика связан не только с белками. Количество белка в нормальной по плотности популяции понижено (см. табл. 56, 57), но экзометаболический эффект при удалении белка водной среды исчезает не полностью (см. табл. 61). В некоторых случаях (см. табл. 67) развитие личинок в условиях нормальной плотности хотя и замедленно, но продолжается, не сопровождаясь гибелью животных при полном отсутствии белка в водной среде обитания.

Таблица 68

Содержание белка в гомогенатах тканей головастиков и некоторых биоценотических средах, мг/мл

Методика определения концентрации белка	Гомогенат тканей головастика	Водная среда из популяции головастиков	
		с нормальной плотностью	с повышенной плотностью
Взаимодействие с реактивом Фолина	3,34±0,2	0,0076±0,0032	0,0423±0,004
Реакция с амидовым черным 10 В	3,25±0,37	0,0097±0,003	0,0235±0,006
Прямое спектрофотометрирование при 210 нм	3,22±0,95	0,029±0,055	0,079±0,016

Таблица 69

Динамика дыхания и окислительного фосфорилирования головастиков остромордой лягушки, обитавших в условиях разной плотности, в зависимости от стадии их развития и возрастной структуры популяции

Уровень	Натуральные независимые переменные			
	Плотность популяции донора $\widehat{x}_1$	№ стадии развития реципиента $\widehat{x}_2$	Плотность популяции реципиента $\widehat{x}_3$	Период в развитии популяции; дата опыта; возраст личинок, дни $\widehat{x}_4$
Первый (—3)	Высокая (+)	26 (+)	Высокая (+)	I; 8.VII; 56
Второй (—1)	Нормальная (—)	27 (—)	Нормальная (—)	II; 31.VII; 79
Третий (+1)	—	—	—	III; 8.VIII; 86
Четвертый (+3)	—	—	—	IV; 15.VIII; 93

Специфичность действия водной среды на общее потребление кислорода головастиками и его фосфорилирующее окисление в зависимости от возрастной структуры популяции изучали в специальной серии опытов (табл. 69—71, рис. 35, 36). Количественно учитывали одновременное влияние таких факторов, как стадия развития личинки и плотность популяци [256]. Определяли общее потребление кислорода и амиталчувствительное дыхание у интактных головастиков 26 и 27-й стадий (x_2) при введении в пробу водной среды из загущенных и незагущенных популяций (x_3) в четыре разных периода (через 56, 79, 86 и 94 дня с момента формирования популяций). Независимые переменные и их уровни (т. е. условия опыта) представлены в табл. 69. Коэффициенты регрессии рассчитывали по схеме «Ятса» в соответствии с типом плана. Их значимость определяли на основе выполнения неравенства ($b \geqslant t_{0,95} sb_i$).

Таблица 70

Динамика дыхания головастиков в зависимости от стадии развития, плотности и возрастной структуры популяции (матрица ПФЭ $2^3 \cdot 4$, результаты и данные регрессионного анализа)

№ варианта	Кодированные независимые переменные				Интенсивность потребления кислорода, мкатом/100 мг сырой массы в 1 мин				Обозначение эффекта	Коэффициент регрессии
	x_1	x_2	x_3		$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3		
1	—	—	—	—3	12,1	11,8	12,2	12,3	«1»	31,79
2	+	—	—	—3	19,5	19,7	19,6	19,2	x_1	5,54
3	—	+	—	—3	11,4	11,5	11,6	11,2	x_2	5,59
4	+	+	—	—3	13,6	13,5	13,8	13,4	x_1x_2	3,70
5	—	—	+	—3	11,1	11,0	11,2	11,0	x_3	—2,97
6	+	—	+	—3	16,8	17,2	16,5	16,8	x_1x_3	—3,72
7	+	+	+	—3	25,0	25,0	25,0	25,1	x_2x_3	—3,63
8	+	+	+	—3	11,0	11,0	11,0	11,0	$x_1x_2x_3$	—3,07
9	—	—	—	—1	44,0	45,0	42,0	45,4	x_4	2,22
10	+	—	—	—1	29,0	29,0	28,0	29,6	x_1x_4	—0,99
11	—	+	—	—1	62,0	60,0	62,0	62,5	x_2x_4	—0,69
12	+	+	—	—1	189,0	19,0	18,0	19,7	$x_1x_2x_4$	—0,36
13	—	—	+	—1	17,0	18,0	17,0	16,8	x_3x_4	3,69
14	+	—	+	—1	36,0	36,0	36,0	36,1	$x_1x_3x_4$	0,20
15	—	+	+	—1	5,9	5,9	6,0	5,8	$x_2x_3x_4$	2,23
16	+	+	+	—1	25,0	25,0	26,0	24,4	$x_1x_2x_3x_4$	2,07
17	—	—	—	+1	13,7	13,0	15,0	13,0	x_4^2	—4,39
18	+	—	—	+1	22,0	22,0	20,0	24,0	$x_1x_4^2$	—6,46
19	—	+	—	+1	20,0	18,0	20,0	21,0	$x_2x_4^2$	—4,62
20	+	+	—	+1	20,0	18,0	20,0	21,0	$x_1x_2x_4^2$	—5,01
21	—	—	+	+1	16,0	15,0	17,0	16,0	$x_3x_4^2$	10,80
22	+	—	+	+1	30,0	29,0	30,0	31,0	$x_1x_3x_4^2$	—0,29
23	—	+	+	+1	14,8	14,3	15,0	15,0	$x_2x_3x_4^2$	8,92
24	+	+	+	+1	34,6	34,0	35,0	35,0	$x_1x_2x_3x_4^2$	4,91

Окончание табл. 70

№ варианта	Кодированные независимые переменные				Интенсивность потребления кислорода, мкатом/100 мг сырой массы в 1 мин				Обозначение эффекта	Коэффициент регрессии
	x_1	x_2	x_3	x_4	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3		
25	—	—	—	+3	24,0	24,0	25,0	24,0	x_4^3	5,67
26	+	—	—	+3	40,0	40,0	39,0	37,0	$x_1x_4^3$	1,91
27	—	—	—	+3	20,0	20,0	20,0	19,0	$x_2x_4^3$	2,85
28	+	+	+	+3	16,0	16,0	16,0	15,0	$x_1x_2x_4^3$	2,89
29	—	—	+	+3	57,0	57,0	58,0	60,8	$x_3x_4^3$	—4,17
30	+	—	+	+3	31,0	31,0	3,,0	30,0	$x_1x_3x_4^3$	—2,00
31	—	+	+	+3	66,0	66,0	70,0	70,0	$x_2x_3x_4^3$	—3,38
32	+	+	+	+3	64,0	64,0	65,0	64,0	$x_1x_2x_3x_4^3$	—2,55

Примечание. Статистические показатели; $s^2y = 0{,}96$; $s^2\bar{y} = 0{,}32$; $s^2b_i = 0{,}01$; $t_{0,95}{}^{sb_i} = 0{,}20$. Опыт по плану повторяли три раза.

Регрессионный анализ данных, полученных при изучении общего потребления кислорода (см. табл. 70, рис. 35), показывает, что действие водной среды головастиков на их дыхание зависит от всех исследованных факторов (все $b_i > t_{0,95}sb_i$). Направленность влияния экзометаболитов из нормальных и загущенных популяций определяется стадией развития реципиента, плотностью и возрастной структурой его популяции. Эта зависимость по своему характеру связана с влиянием взаимодействий $x_3x_4^2$, $x_2x_3x_4^2$, $x_1x_4^2$, $x_1x_2x_4^2$ и $x_1x_2x_3x_4$ (соответствующие данным эффектам коэффициенты регрессии имеют наибольшую значимость — 10,8; 8,9; 6,46; 5,01; 4,91). Интересно, что дыхание головастиков в разные периоды развития популяций, включая обе исследованные стадии личинок, очень сильно зависит от плотности той популяции, где они обитали ($x_3x_4 = 10{,}8 > > t_{0,95}sb_i = 0{,}23$). Головастики, взятые на исследование через 86 и 93 дня с момента формирования популяции, в условиях высокой плотности имеют повышенный уровень дыхания (в сравнении с личинками нормальных популяций), а взятые через 56 и 73 дня, напротив, в условиях загущенности имеют более низкий, чем личинки из нормальных популяций, уровень дыхания.

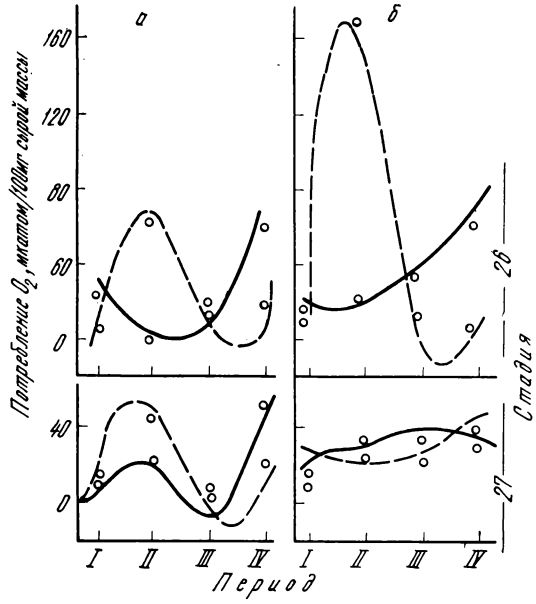
Аналогичные, но менее ярко выраженные отношения наблюдаются у головастиков 27-й стадии (коэффициент регрессии, соответствующий эффекту $x_2x_3x_4^2$, значим).

Таблица 71

Динамика окислительного фосфорилирования головастиков *R. arvalis* в зависимости от стадии развития, плотности и возрастной структуры популяции (матрица ПФЭ^3·4; результаты и данные регрессионного анализа)

№ варианта	Кодированные независимые переменные				Амиталчувствительное дыхание, % к исходному				Обозначение эффекта	Коэффициент регрессии
	x_1	x_2	x_3	x_4	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3		
1	—	—	—	—3	39,70	40,0	39,0	40,0	«1»	40,96
2	+	—	—	—3	22,2	23,3	22,0	22,4	x_1	1,18
3	—	+	—	—3	31,20	31,3	31,0	32,2	x_2	3,32
4	+	+	—	—3	16,50	16,6	16,8	16,2	x_1x_2	—0,49
5	—	—	+	—3	50,00	50,0	50,0	50,0	x_3	0,57
6	+	—	+	—3	46,70	48,0	46,0	46,0	x_1x_3	—2,97
7	—	+	+	—3	70,30	72,0	69,0	70,0	x_2x_3	—1,07
8	+	+	+	—3	60,0	60,0	60,0	60,0	$x_1x_2x_3$	—3,83
9	—	—	—	—1	11,0	12,0	10,0	12,0	x_4	—1,28
10	+	—	—	—1	56,00	56,0	55,0	55,8	x_1x_4	0,54
11	—	+	—	—1	23,0	21,0	24,0	23,0	x_2x_4	—0,63
12	+	+	—	—1	72,0	73,0	71,0	72,5	$x_1x_2x_4$	0,46
13	—	—	+	—1	38,0	38,0	38,0	37,5	x_3x_4	—4,70
14	+	—	+	—1	43,00	42,0	42,0	44,0	$x_1x_3x_4$	0,32
15	—	+	+	—1	76,00	77,0	75,0	75,0	$x_2x_3x_4$	—1,64
16	+	+	+	—1	42,00	42,0	45,0	40,0	$x_1x_2x_3x_4$	0,16
17	—	—	—	+1	45,00	45,0	47,0	44,0	x_4^2	—3,67
18	+	—	—	+1	19,00	18,0	20,0	19,0	$x_1x_4^2$	—4,17
19	—	+	—	+1	45,00	44,0	46,0	46,0	$x_2x_4^2$	—2,11
20	+	+	—	+1	70,0	72,0	70,0	70,0	$x_1x_2x_4^2$	0,35
21	—	—	+	+1	34,00	32,0	35,0	35,0	$x_3x_4^2$	—0,35
22	+	—	+	+1	59,60	57,0	60,0	62,0	$x_1x_3x_4^2$	3,38
23	—	+	+	+1	34,30	33,0	35,0	35,0	$x_2x_3x_4^2$	3,44
24	+	+	+	+1	29,70	29,0	30,0	30,0	$x_1x_2x_3x_4^2$	3,97
25	—	—	—	+3	45,00	45,0	46,0	45,0	x_4^3	0,06
26	+	—	—	+3	50,00	50,0	50,0	49,0	$x_1x_4^3$	1,19
27	—	+	—	+3	50,00	50,0	50,0	49,0	$x_2x_4^3$	0,68
28	+	+	—	+3	50,0	50,0	50,0	49,0	$x_1x_2x_4^3$	—1,02
29	—	—	+	+3	25,00	25,0	26,0	25,0	$x_3x_4^3$	—0,33
30	+	—	+	+3	18,00	17,0	18,00	20,0	$x_1x_3x_4^3$	—2,89
31	—	+	+	+3	19,00	18,0	20,00	20,0	$x_2x_3x_4^3$	1,33
32	+	+	+	+3	19,00	19,0	20,	19,0	$x_1x_2x_3x_4^3$	0,86

Примечание. Статистические показатели: $s^2y=1,29$; $s^2\bar{y}=0,43$; $s^2b_i=0,013$; $sb_i=0,23$. Опыт по плану повторяли три раза.



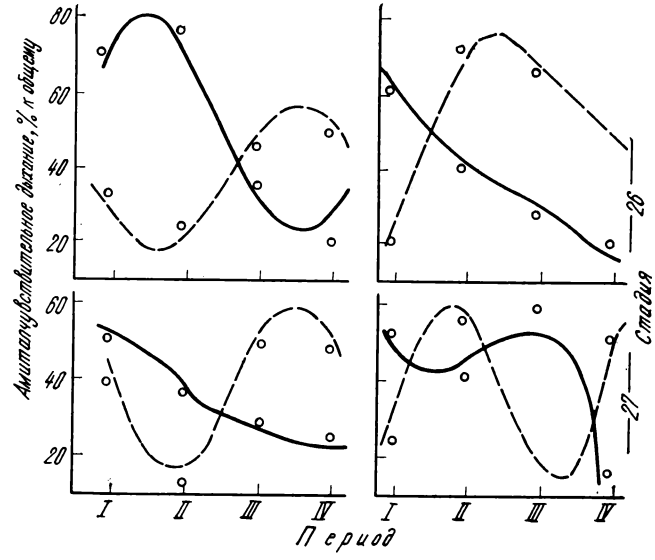


Рис. 35. Общее потребление кислорода у головастиков *R. arvalis* в условиях разной плотности, в зависимости от возрастной структуры популяций. Инкубационная среда в полярографической ячейке — водная среда из популяций с нормальной (*а*) и высокой (*б*) плотностью, где головастиков выдерживали в течение 4 ч до опыта.

Сплошная линия — загущенные популяции, *штриховая* — нормальные. Периодам в развитии популяции (I—IV) соответствуют дни: 8,07, 31.07, 8,08, 15.08, т. е. через 56, 79, 86, 93 дня с момента формирования популяции. Представлены экспериментальные данные (*у*).

Рис. 36. Амиталчувствительное дыхание головастиков *R. arvalis* в разных условиях плотности, в зависимости от возрастной структуры популяций.

Усл. обозн. те же, что на рис. 35.

Водная среда из популяций с повышенной плотностью резко активирует дыхание головастиков, обитавших в условиях нормальной плотности, через 56, 79 дней от начала опыта и не действует в более поздние периоды (коэффициент регрессии, соответствующий эффекту $x_1x_3x_4^2$, значим). При этом эффект влияния экзометаболитов зависит от стадии развития реципиента (на 27-й стадии в тот же период развития популяции водная среда из загущенных аквариумов не активирует, а ингибирует дыхание личинки; коэффициент регрессии, соответствующий эффекту $x_1x_2x_3x_4^2$, значим). Регрессионный анализ данных, полученных при изучении амиталчувствительного дыхания (см. табл. 71, рис. 36), показывает, что действие водной среды головастиков на их способность аккумулировать энергию окисления в виде АТФ также зависит от всех исследованных в серии факторов (все b_i, за исключением коэффициентов регрессии, соответствующих эффектам x и $x_1x_2x_3x_4$, значимы). Наибольший эффект обнаруживают взаимодействия факторов x_3x_4, $x_1x_4^2$, $x_1x_2x_3x_4^2$, $x_1x_2x_3$, $x_2x_3x_4^2$ и $x_1x_3x_4^2$ (соответствующие им коэффициенты регрессии равны 4,70; 4,17; 3,97; 3,83; 3,44; 3,38). Следовательно, в нашем эксперименте наиболее ярко выражены различия в фосфорилирующем окислении между головастиками из популяций с разной плотностью в разные периоды изучения.

Личинки, исследованные через 86 и 93 дня с момента формирования популяции, в условиях повышенной плотности имеют более низкий уровень амиталчувствительного дыхания в сравнении с нормальными популяциями на 26-й стадии развития (см. рис. 36), а исследованные через 56 и 79 дней с момента формирования популяции, напротив, в тех же условиях имеют повышенный уровень амиталчувствительного дыхания в сравнении с головастиками нормальных популяций на той же морфологической стадии. На 27-й стадии развития уровень указанного типа дыхания у головастиков из разных по плотности популяций иной. Водная среда из нормальных и загущенных популяций действует на уровень амиталчувствительного дыхания личинок амфибий также неодинаково, в зависимости от стадии развития, плотности популяций и их возрастной структуры (коэффициент регрессии, соответствующий эффекту $x_1x_2x_3x_4$, больше $t_{0,95}s\{b_i\}$.

Таким образом, не только активность оксидазных ферментных систем, но и дыхание интактных головастиков, включая характер распределения кислорода между двумя типами окисления — амиталчувствительным и амиталрезистентным, определяется у этих животных, наряду с индивидуальными особенностями, популяционными параметрами — плотностью и структурой популяции.

3.7. ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛИОФИЛИЗАЦИИ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИЗУЧЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИ ДЕЙСТВУЮЩИХ ЭКЗОБЕЛКОВ АМФИБИЙ

Таблица 72

Влияние лиофилизированной водной среды из загущенных популяций головастиков *R. arvalis* на эндогенную активность оксидаз в зависимости от возраста и степени генетического родства с донором

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Метаболиты $\widehat{x_1}$	№ стадии развития реципиента $\widehat{x_2}$	Кладка реципиента $\widehat{x_3}$
Верхний (+)	Лиофилизированная водная среда	27	Своя
Нижний (—)	Не вводились	26	Чужая

№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$
1	—	—	—	1,94	2,0	1,83	1,92
2	+	—	—	2,12	2,06	2,20	2,13
3	—	+	—	3,00	2,75	3,07	2,94
4	+	+	—	3,20	3,36	2,58	3,05
5	—	—	+	1,19	1,21	1,19	1,20
6	+	—	+	3,50	2,64	3,67	3,27
7	—	+	+	2,38	2,40	2,25	2,34
8	+	+	+	2,0	1,90	2,24	2,05

Примечание. Статистические показатели: $b_0=2{,}36$; $b_1=0{,}26$; $b_2=0{,}23$; $b_3=-0{,}15$; $b_{12}=-0{,}31$; $b_{13}=0{,}18$; $b_{23}=-0{,}25$; $b_{123}=-0{,}28$; $s^2y=0{,}023$; $t_{0,95}sb_i=0{,}11$.

Водную среду из загущенной популяции головастиков (через 49 дней с момента формирования популяции) подвергали лиофилизации и данный лиофилизат проверяли на наличие в нем способности к стадио-, видо- и кладоспецифичному действию в условиях in vitro и in vivo по отношению к обмену и скорости развития одновременно [225] (табл. 72—76). В первой серии (см. табл. 72) лиофилизат (x_1) вводили в гомогенаты головастиков своего вида *R. arvalis* на 26 и 27-й стадиях развития (x_2) из своей и чужой кладок (x_3). Определяли эндогенную активность оксидаз. Получено уравнение регрессии

$$y = 2{,}36 + 0{,}261\,x_2 - 0{,}15\,x_3 - 0{,}31\,x_1x_2 + 0{,}18\,x_1x_3 - \\ - 0{,}25\,x_2x_3 - 0{,}28\,x_1x_2x_3;\ t_{0,95}sb_i = 0{,}11.$$

Во второй серии (см. табл. 73) по тому же плану (ПФЭ 2^3) изучали влияние препарата (x_1) на интенсивность дыхания и

Таблица 73

Влияние лиофилизированной водной среды из загущенных популяций головастиков *R. arvalis* на их дыхание и на два типа окисления в зависимости от возраста и степени генетического родства с донором

Уровень	Независимые натуральные переменные		
	Метаболиты	№ стадии развития реципиента	Кладка реципиента
Верхний (+)	Белок в виде лиофилизированной водной среды	26	Своя
Нижний (—)	Не вводились	27	Чужая

Кодированные независимые переменные				Потребление кислорода до введения амитала, мкатом/100 мг сырой массы в 1 мин					Потребление кислорода после введения амитала, % к исходному					
									амиталчувствительное					амиталрезистентное
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	81	53	80	71	66	64	50	60	58	62,1	37,9
2	+	—	—	68	51	60	60	58,6	50	56	52	53	45,9	54,1
3	—	+	—	52	52,3	52	52	44	36	36	35	36	36,1	63,9
4	+	+	—	70	95	75	80	80,6	56	42	50	49	52,3	47,7
5	—	—	+	77	76	—	77	80,6	10	10	—	10	17,9	92,1
6	+	—	+	35	26	34	32	44	42	50	45	45	34,1	65,9
7	—	+	+	63	61	60	61	58,6	40	40	41	40	43,9	56,1
8	+	+	+	57	84	55	65	66	33	20	32	28	27,7	72,3

Примечание. Статистические показатели: $b_0=62,3$; $b_1=-3$; $b_2=2,3$; $b_3=-3,5$; $b_{12}=11$; $b_{13}=-7,3$; $b_{23}=2$; $b_{123}=1,3$; $s^2y=105$; $t_{0,95}sb_i=4,5$ (до введения амитала). $b_0=40$; $b_1=3,9$; $b_2=-1,6$; $b_3=-9,1$; $b_{12}=-3,6$; $b_{13}=1,9$; $b_{23}=4,9$ $b_{123}=-8,1$; $s^2y=98$ (после введения амитала).

на два типа окисления у интактных головастиков 26 и 27-й стадий развития (x_2) также из своей и чужой кладок (x_3). Получены уравнения регрессии:

$$y = 6,23 + 11,01\,x_1x_2 - 7,3\,x_1x_3;\ t_{0,95}sb_i = 4,5 \text{ (до введения амитала)};$$

$$y = 40,0 - 9,1\,x_3 + 4,9\,x_2x_3 - 8,1\,x_1x_2x_3;\ t_{0,95}sb_i = 4,3 \text{ (после введения амитала)}.$$

В третьей серии (см. табл. 74) исследовали влияние лиофилизированной водной среды из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* (x_1) на интенсивность дыхания и два типа окисления (y) у интактных личинок своего (*R. arvalis*) и чужого (*R. camerani*) видов (x_2). Изменений в потреблении кисло-

Таблица 74

Видоспецифичность действия лиофилизированной водной среды из загущенных популяций головастиков на их дыхание и на два типа окисления

Уровень	Натуральные независимые переменные	
	Метаболиты $\tilde{x}_1$	Вид реципиента $\tilde{x}_2$
Верхний (+)	Лиофилизированная водная среда	*R. arvalis*
Нижний (—)	Не вводились	*R. camerani*

Кодированные независимые переменные			Потребление кислорода до введения амитала, мкатом/100 мг сырой массы в 1 мин				Потребление кислорода после введения амитала, % к исходному				
							амиталчувствительное				амиталрезистентное
№ варианта	x_1	x_2	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	22,0	24,0	19,0	21,7	39,2	34,0	43,5	38,9	61,1
2	+	—	22,1	26,2	24,0	24,1	29,5	32,0	29,0	30,2	69,8
3	—	+	18,0	20,0	23,0	20,3	10,5	11,0	10,2	10,6	89,4
4	+	+	18,5	22,1	20,0	20,2	38,0	34,2	35,0	35,7	64,3

Примечание. Статистические показатели: $b_0=21,6$; $b_1=0,6$; $b_2=-1,3$; $b_{12}=-0,6$; $s^2\bar{y}=1,7$; $t_{0,95}sb_i=1,38$ (до введения амитала). $b_0=28,9$; $b_1=4,1$; $b_2=-5,7$; $b_{12}=8,5$; $s^2\bar{y}=2,4$; $t_{0,95}sb_i=1,6$ (после введения амитала).

Таблица 75

Специфичность действия лиофилизированной водной среды из загущенных популяций головастиков

Показатель	*R. arvalis* (из кладки 1)		*R. arvalis* (из кладки 2)		*R. camerani*	
	I	II	I	II	I	II
Сеголетки	28 / 46,7	17 / 28,3	30 / 50	32 / 53,5	6 / 20	7 / 23,2
Погибшие головастики .	18 / 30	23 / 38,3	21 / 35	20 / 33,3	11 / 36,7	13 / 43,3
Оставшиеся	14 / 23,3	20 / 33,3	9 / 15	8 / 13,3	13 / 43,3	10 / 33,3

Примечание. Популяции сформированы 4.VII.73 г. из головастиков 25 — 27-й стадий развития (по Терентьеву [294], плотность составляла 10 головастиков на 1 л, характеристика сделана 22.VII.73 г.). I— белки не вводили, II— в течение пяти дней вводили по 50 мг порошка, полученного при лиофильном высушивании 200 мл водной среды, из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* (кладка 1). В числителе — количество особей, экз., в знаменателе — %.

Таблица 76

Специфичность действия на уровне семьи лиофилизата водной среды из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* на их эндогенный метаболизм до и после термической обработки

Уровень	Натуральные независимые переменные	
	Экзометаболиты $\widetilde{x_1}$	№ стадии развития реципиента $\widehat{x_2}$
Верхний (+)	1 мл лиофилизата водной среды	26
Нижний (—)	Не вводились	25

Кодированные независимые переменные			$ТТХ_а/ТТХ_в$									
			до термической обработки (I)					после кипячения (II)				
№ варианта	x_1	x_2	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	2,90	2,43	2,75	2,69	2,65	1,88	1,46	1,93	1,76	2,10
2	+	—	1,76	2,05	2,13	1,98	2,02	3,55	1,58	2,21	2,45	2,10
3	—	+	1,46	1,23	0,91	1,20	1,16	0,71	1,22	0,71	0,88	0,96
4	+	+	1,74	1,31	2,17	1,74	1,78	1,09	1,05	0,97	1,04	0,96

Примечание. Статистические показатели: $b_0=1{,}90$; $b_1=-0.04$; $b_2=-0{,}43$; $b_{12}=0{,}31$; $s^2y=0{,}09$; $s^2\bar{y}=0{,}03$; $t_{0,95}\,sb_i=0.20$ (I). $b_0=1{,}53$; $b_1=0{,}21$; $b_2=-0{,}57$; $b_{12}=-0{,}13$; $s^2y=0{,}29$; $s^2\bar{y}=0{,}10$ (II).

рода в данной серии не обнаружено ($b < t_{0,95}sb_i$). Для амиталчувствительного окисления получено уравнение регрессии

$$y = 28{,}9 + 4{,}1\,x_1 - 5{,}1\,x_2 + 8{,}5\,x_1x_2;\quad t_{0,95}s\{\beta_i\} = 1{,}8.$$

В четвертой серии (см. табл. 75) изучали влияние той же среды при непосредственном введении в среду обитания личинок своего и чужого видов из своей и чужой кладок. Препарат в объеме 50 мг вводили ежедневно в течение первых пяти дней с момента формирования популяции из головастиков 25—27-й стадий развития. Через 13 дней с момента прекращения добавления лиофилизата определяли выживаемость и скорость метаморфоза головастиков.

Анализ полученных уравнений и непосредственных величин исследованных показателей (рис. 37, табл. 72—75) свидетельствует, что апробированный метод выделения — лиофилизация по режиму, принятому для сывороточных белков, позволяет получать препарат, сохраняющий специфичность действия в условиях опыта in vitro и in vivo. Лиофилизированная водная среда изменяет энергетический обмен отдельных личинок популяции в зависимости от стадии развития и степени генети-

Таблица 77

Специфичность действия на уровне семьи лиофилизата водной среды из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* на их эндогенный метаболизм до и после термической обработки

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Экзометаболиты $\widetilde{x}_1$	Степень генетического родства с реципиентом $\widetilde{x}_2$	№ стадии развития реципиента $\widetilde{x}_3$
Верхний (+)	1 мл лиофилизата водной среды	*R. arvalis*	26
Нижний (—)	Не вводились	*R. temporaria*	25

Кодированные независимые переменные				$ТТХ_а/ТТХ_в$									
				До термической обработки					После кипячения				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	1,50	1,18	0,93	1,20	1,13	3,33	5,50	2,44	3,76	3,81
2	+	—	—	1,28	1,00	0,73	1,00	0,96	4,50	4,08	2,93	3,84	3,81
3	—	+	—	2,00	2,40	2,00	2,13	2,07	4,80	2,39	7,40	4,84	3,81
4	+	+	—	3,14	4,67	3,00	3,60	3,54	2,71	2,50	3,17	2,79	3,81
5	—	—	+	1,69	0,57	0,96	1,07	1,13	0,89	1,09	2,17	1,38	2,09
6	+	—	+	2,13	2,15	3,33	2,54	2,60	1,37	1,50	1,06	1,31	2,09
7	—	+	+	1,73	2,68	1,56	1,99	2,07	1,80	3,71	2,73	2,75	2,09
8	+	+	+	1,39	1,79	2,37	1,85	1,90	1,59	4,17	3,00	2,92	2,09

Примечание. Статистические показатели: $b_0=1,92$; $b_1=0,32$; $b_2=0,47$; $b_{12}=0,008$; $b_3=-0,06$; $b_{13}=0,007$; $b_{23}=-0,41$; $b_{123}=-0,41$; $s^2y=0,31$; $s^2\bar{y}=0,10$ (I). $b_0=2,95$; $b_1=-0,23$; $b_2=0,38$; $b_{12}=-0,23$; $b_3=-0,86$; $b_{13}=0,26$; $b_{23}=0,37$; $b_{123}=0,30$; $s^2y=1,60$; $s^2\bar{y}=0,53$ (II). Дата серии 27.VI.78 г.

Лиофилизат получен из водной среды головастиков через 34 дня с момента формирования загущенной популяции (10 г/л) 21 июня 1978 г.

ческого родства с донором ($b_{123} > t_{0,95}sb_i$ в первой и второй сериях; $b_{12} > t_{0,95}sb_i$ в третьей серии). Лиофилизат, полученный через 49 дней с момента формирования популяции донора, у головастиков 27-й стадии своего вида и своей кладки подавляет эндогенную активность оксидаз, общее потребление кислорода и дыхание, резистентное к амиталу (см. рис. 37). Те же показатели у головастиков чужой кладки или чужого вида в присутствии препарата возрастают или остаются на уровне нормы. Способность к фосфорилирующему окислению у личинок, генетически более близких донору, при этом усиливается, у головастиков чужой кладки и чужого вида подавляется. Аналогичные результаты получены в четвертой серии опытов (см. табл. 75), из которой следует, что специфичность действия на уровне семьи и вида отчетливо проявляется и по отношению к биологической характеристике — скорости развития. Число погибших головастиков при введении лиофилизата и без него

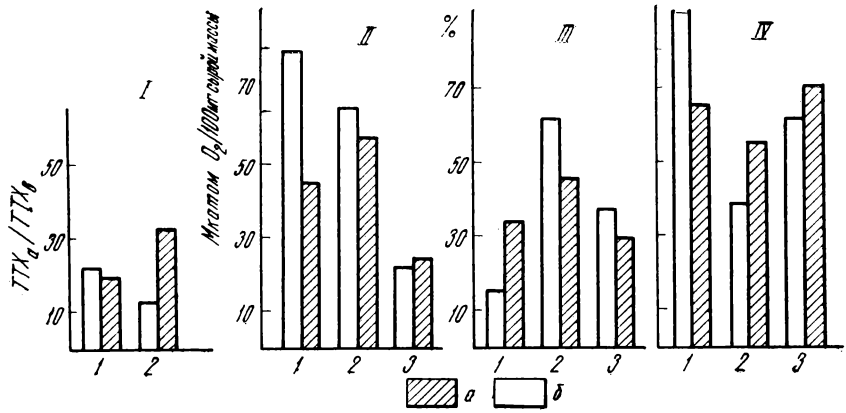


Рис. 37. Эндогенная активность оксидаз (*I*), общее потребление кислорода (*II*), фосфорилирующее (*III*) и свободное (*IV*) окисление у головастиков *R. arvalis* (*1, 2*) и *R. camerani* (*3*) после 4-часового выдерживания в водной среде из загущенных популяций с добавлением лиофилизата (*а*) и без него (*б*). Лиофилизат растворяли в дистиллированной воде (50 мг/200 мл). Концентрация белка 0,05 мг/мл. Использованы расчетные данные (*у*).

в контроле и опыте одинаково. Процент головастиков, достигших стадии сеголетки, в популяции из личинок своей кладки в условиях введения лиофилизата из популяции той же кладки значительно ниже.

Лиофилизат, ингибирующий эндогенную активность оксидаз в гомогенатах головастиков своей семьи и понижающий уровень окисления, не чувствительного к амиталу, одновременно затормаживает их развитие. Аналогичного явления у личинок чужой семьи и чужого вида не наблюдается.

Возможность получения нативных экзометаболитов головастиков лиофилизацией водной среды использована для проведения экспериментов, требующих увеличения концентрации этих экзометаболитов, в частности белковых компонентов среды (табл. 76, 77). Лиофилизировали водную среду из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* через 33 дня с момента формирования популяции по апробированному режиму. За два дня до лиофилизации водная среда популяции имела отчетливо выраженный, характерный для данного периода регулирующий эффект: наблюдались ингибирование окислительного обмена головастиков своей кладки и явная активация обмена у головастиков чужой кладки (на 26-й стадии).

Полученный в виде порошка лиофилизат (в ампулах, где лиофилизировали по 200 мл водной среды) был сконцентрирован в 2 раза растворением соответствующего сухого остатка в 100 мл дистиллированной воды и использован для параллельного определения специфичного действия (на уровне вида, се-

Таблица 78

Реакция преципитации белков водной среды из популяции головастиков с сывороткой против данных белков

Реагент	№ пробы	Число линий преципитации	
		Иммунодиффузия по Оухтерлони	Модификация Манцини
Лиофилизат водной среды через 33 дня с момента формирования популяции головастиков	1	1	3
	2	2	3
	3	—	—
Иммунная сыворотка кролика против данного лиофилизата	4	2	2
	5	2	3

Примечание. Лиофилизат растворяли в 0,85 %-й NaCl до концентрации белка 0,005 мг в 1 л. Иммунизацию проводили в смеси с адъювантом Фрейда. 1-й курс — пять внутривенных инъекций, 2-й — три подкожные инъекции. Интервал между курсами 1 мес. Плотность популяции 10 головастиков в 1 л.

Таблица 79

Характеристика экспериментальных популяций

№ популяции	Вид	№ кладки	№ стадии развития (по Терентьеву)	Содержание белка мг/мл	
				Водная среда	Гомогенаты тканей
1	*R. arvalis*	2	25	0,0185	0,600
2	*R. arvalis*	2	26	0,0215	0,550
3	*R. arvalis*	3	25	0,0235	1,100
4	*R. arvalis*	3	26	0,0175	0,800
5	*R. temporaria*	2	25	0,0205	0,750
6	*R. temporaria*	2	26	—	0,800
9	*R. arvalis*	1	Гетеростадийная	0,021	0,700
12	*R. arvalis*	1	»	0,011	0,740

Примечание. Плотность популяций 10 головастиков на 1 л, 12-й — 1 головастик на 1 л.

мьи и стадии) до термической обработки и после нее (см. табл. 76, 77).

Одновременно для выявления гетерогенности белков водной среды (табл. 78) изучали реакцию преципитации между белками водной среды, ревосстановленной из лиофилизата, и сывороткой против этих белков, используя стандартные иммунологические методы [34].

В серии, результаты которой представлены в табл. 76, изучали влияние лиофилизата (x_1) на активность эндогенных оксидаз головастиков (y) в зависимости от их стадии развития

Таблица 80

Реакция преципитации белков тканей головастиков *R. arvalis* из популяций нормальной плотности с белками водной среды *R. arvalis* и *R. temporaria* из загущенных гомостадийных групп

Преципитация в капиллярах				Иммунодиффузия по Оухтерлони		
Реагент		Результат		Реагент		Результат
Экстракт тканей головастика из популяции №	Белки водной среды из популяции №	I	II	Экстракт тканей головастика из популяции №	Белки водной среды из популяции №	I
12	1	+	Отр.	12	1	++
12	2	+++	++	12	2	++
12	3	±	++	12	3	++
12	4	+	++	12	4	++
12	5	++	Отр.	12	5	++
12	6	+++	++	12	6	++

Примечание. Отр. — отрицательная реакция; «+» — слабоположительная; «±» — сомнительная; «++» — положительная; «+++» — резко положительная. I — реакция проведена на свежем материале, II — после 5-дневного хранения реагентов при температуре 4°С.

(x_2), добавляя в гомогенат отстоянную водопроводную воду и лиофилизат до и после кипячения. Получены уравнения регрессии:
до термической обработки

$$y = 1{,}90 - 0{,}43\,x_2 + 0{,}31\,x_1x_2, \quad t_{0{,}95}sb_i = 0{,}20,$$
$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}07 < Fs^2\bar{y} = 0{,}25;$$

после термической обработки

$$y = 1{,}53 - 0{,}57\,x_2; \quad t_{0{,}95}sb_i = 0{,}36,$$
$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}12 < Fs^2\bar{y} = 1{,}25.$$

В другой серии (см. табл. 77) исследовали влияние лиофилизата до и после термической обработки (x_1) на головастиков того же вида своей кладки и чужого вида (x_2) разных стадий развития (x_2). Получены уравнения:
до термической обработки

$$y = 1{,}92 + 0{,}632\,x_1 + 0{,}47\,x_2 - 0{,}41\,x_2x_3 - 0{,}41\,x_1x_2x_3,$$
$$t_{0{,}95}sb_i = 0{,}24, \quad s^2_{\text{ад}} = 0{,}01 < Fs^2\bar{y} = 0{,}10;$$

после термической обработки

$$y = 2{,}95 - 0{,}86\,x_3, \quad t_{0{,}95}sb_i = 0{,}55,$$
$$s^2_{\text{ад}} = 0{,}72 < Fs^2\bar{y} = 1{,}36.$$

Регрессионный анализ данных показывает, что экзометаболический эффект (кладо-, видо- и стадиоспецифичность действия) по отношению к обмену головастика в лиофилизате сохраняется и явно исчезает после того, как лиофилизат оказы-

вается прокипяченным (b_{12}, b_{123} до термообработки $>t_{0,95}sb_i$, и b_{12}, $b_{123}<t_{0,95}sb_i$ после обработки). В иммунологической реакции между белками данного лиофилизата и сывороткой против этих белков выявляются две или три четкие линии преципитации (см. табл. 78). Поскольку обнаруженные видо-, стадио- и кладоспецифичность действия на обмен головастика при кипячении пробы исчезают, можно предполагать, что выявленные три фракции в белках лиофилизата связаны с тремя типами их специфичного влияния.

Рассматривая высокомолекулярные компоненты водной среды из популяции головастиков как гипотетические аутоантитела по отношению к белкам их тканей, мы поставили дополнительные серии опытов [252], проведя реакцию преципитации непосредственно между белками водной среды и соответствующих тканевых экстрактов (аналогично тому, как О. Е. Вязов и его сотрудники [66—68] для выявления нормальных антител в тканях в качестве сыворотки применяли тканевые жидкости, а в качестве антигенов — экстракты из тканей).

При получении водно-солевого экстракта из тканей головастика его гомогенизировали и гомогенат экстрагировали 0,85 %-м NaCl (при температуре 4 °С в течение 18—20 ч). Содержание белка в пробах при соответствующем разведении составляло в иммунологических опытах 0,005—0,007 мг/мл. Концентрацию белка находили по Шафнеру и Вайсману (цит. по [1]).

Для выявления свойств антител у выбранных белков использовали капиллярный метод преципитации в агаре [58] и иммунодиффузию по Оухтерлони [66, 67, 34]. Применяли 1 %-й гель на веронал-ацетатном буфере (pH 8,65). Для приготовления геля брали смесь промышленной агарозы и бактоагара «Дифко» в соотношении 5 : 1. Поставлено три серии опытов (табл. 79—83).

В первой серии в качестве предполагаемого антигена использовали экстракт тканей головастика, который развивался в условиях нормальной плотности (одна личинка на 1 л). Реакцию преципитации проводили последовательно с белками водной среды из загущенных популяций головастиков своего и чужого видов, сформированных по стадиям (см. табл. 80).

Во второй серии в качестве антигена использовали экстракт тканей головастика, который развивался в условиях повышенной плотности (10 г/л), в гетерогенных по стадиям популяциях. Реакцию преципитации проводили так же, как и в первой серии, с белками водной среды из всех экспериментальных одностадийных загущенных популяций головастиков, генетически родственных предполагаемому антигену и принадлежащих к чужому виду (табл. 84).

В третьей серии в качестве реагентов для иммунологической реакции последовательно использовали белки водной среды и

Таблица 81

Реакция преципитации (иммунодиффузия по Оухтерлони) тканевых белков головастика *R. arvalis* из популяций с повышенной плотностью с белками водной среды головастиков *R. arvalis* и *R. temporaria* из загущенных одностадийных популяций

Реагент		Результат	
Экстракт тканей головастика из популяций №	Белки водной среды из популяций №	I	II
9	1	Отр.	+
9	2	++	Отр.
9	3	++	+
9	4	++	+
9	5	++	+
9	6	++	+

Примечание. Обозначения те же, что в табл. 80.

Таблица 82

Реакция преципитации белков тканей головастиков и белков водной среды их обитания в гомостадийных загущенных популяциях

Преципитация в капиллярах				Иммунодиффузия по Оухтерлони		
Реагент		Результат		Реагент		Результат
Экстракт тканей головастика из популяции №	Белки водной среды из популяции №	I	II	Экстракт головастиков из популяции №	Белки водной среды из популяции №	I
1	1	++	Отр.	1	1	Отр.
2	2	++	++	2	2	++
3	3	±	++	3	3	±
4	4	Отр.	+++	4	4	+
5	5	++	±	5	5	++
6	6	++	Отр.	6	6	+

Примечание. Обозначения те же, что в табл. 80.

Таблица 83

Реакция преципитации (в капиллярах) белков тканей головастика с экстрактами из предполагаемых дополнительных источников экзобелка в лабораторных популяциях амфибий на стадии личиночного развития

Реагенты			Результат
Экстракт тканей головастика из популяции 5	+	Экстракт из листьев одуванчика	Отр.
То же	+	Бактериальная суспензия	Отр.
Экстракт тканей головастика из популяций 1—9, 12	+	0,85-й NaCl	Отр.
Водная среда из популяций 1—6, 9, 12	+	0,85-й NaCl	Отр.
То же	+	Бактериальная суспензия	Отр.

Примечание. Бактериальная культура (*E. coli*) получена высевом водной среды из экспериментальной популяции на агар «Эндо», среду Плоскирева и кровяной агар. Смыв клеток с поверхности агара проводили физиологическим раствором.

тканей из одних и тех же загущенных, сформированных по стадиям популяций (см. табл. 82).

Обобщенный анализ результатов показывает, что из тридцати иммунологических реакций, поставленных на свежем материале, во всех, за исключением двух, достигнут положительный результат.

Полученный отрицательный результат сомнителен, так как использование другой методики выявления иммунологической близости вызывает в одном из отрицательных вариантов положительную реакцию (см. табл. 82). В серии с экстрактом из тканей головастика из загущенной популяции (№ 9) вторую методику не использовали. Следовательно, возможность положительного результата и во втором отрицательном варианте не может быть исключена.

Помимо белков, экзогенных по отношению к головастикам, в наших экспериментальных популяциях не исключено присутствие белков, выделенных в водную среду листьями одуванчиков, которыми кормили личинок, и микроорганизмами. Поэтому были проведены контрольные опыты (см. табл. 83).

Анализ данных по трем описанным сериям, включая контрольные опыты, показывает, что среди белков водной среды головастиков во всех исследованных вариантах (в том числе в водной среде, взятой через 33 дня с момента формирования популяции, и в лиофилизате, обладающем специфичностью действия на уровне вида, семьи и стадии) присутствуют белки, экзогенные по отношению к личинкам амфибий.

Способность образовывать антитела в ответ на введение чужеродного белка у головастиков выражена очень слабо [66]. Поэтому обнаруженные нами четко выраженные реакции преципитации между белками водной среды и тканей головастиков, вероятно, являются результатом взаимодействия попавших в водную среду аутоантител личинок с соответствующими антигенами их тканей.

Возможность получения концентрированной водной среды головастиков с помощью растворения сухого остатка ее лиофилизата открывает перспективу для постановки прямых экспериментов по изучению влияния концентрации экзометаболитов на направленность и выраженность экзометаболического эффекта. Изучали специфичное действие экзометаболитов водной среды в зависимости от их концентрации в условиях неизменной химической природы (см. табл. 84). Последнее достигалось тем, что сухой остаток лиофилизата одной и той же водной среды (использовали три ампулы, каждая из которых содержала компоненты водной среды, взятой через 33 дня с момента формирования загущенной популяции) растворяли в разных объемах дистиллированной воды. В данной серии в качестве реципиента были взяты головастики не из популяции донора. В связи с этим направленность эффекта экзаметаболи-

Таблица 84

Специфичность действия водной среды из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* на их эндогенный метаболизм в зависимости от концентрации экзометаболитов

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Метаболиты $\widetilde{x_1}$	Кладка реципиента $\widetilde{x_2}$	№ стадии развития реципиента $\widetilde{x_3}$
Верхний (+)	1 мл водной среды, полученной растворением лиофилизата	Своя	27
Нижний (—)	Не вводились	Чужая	26

Кодированные независимые переменные				$ТТХ_а/ТТХ_в$				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\widetilde{y}$	$\hat{y}$
Лиофилизат растворен в 200 мл дистиллированной воды (исходная концентрация экзометаболитов) (*1*)								
1	—	—	—	1,0	1,14	1,12	1,09	0,99
2	+	—	—	1,28	1,33	0,70	1,10	1,27
3	—	+	—	0,59	0,94	0,84	0,79	0,71
4	+	+	—	0,90	1,18	0,84	0,97	0,99
5	—	—	+	1,28	1,05	1,27	1,20	1,29
6	+	—	+	1,90	2,21	1,06	1,72	1,57
7	—	+	+	1,07	0,52	1,15	0,91	1,01
8	+	+	+	1,64	1,06	1,23	1,31	1,29
Лиофилизат растворен в 63 мл дистиллированной воды (3 : 1) (*2*)								
1	—	—	—	1,0	1,14	1,12	1,09	1,14
2	+	—	—	1,11	1,37	1,41	1,30	1,43
3	—	+	—	0,59	0,94	0,84	0,79	0,85
4	+	+	—	2,12	1,58	2,17	1,96	1,72
5	—	—	+	1,28	1,05	1,27	1,20	1,14
6	+	—	+	1,68	1,50	1,49	1,56	1,43
7	—	+	+	1,07	0,52	1,15	0,91	0,85
8	+	+	+	1,20	1,74	1,48	1,47	1,72
Лиофилизат растворен в 20 мл дистиллированной воды (10 : 1) (*3*)								
1	—	—	—	1,00	1,14	1,12	1,09	1,09
2	+	—	—	1,70	1,82	1,77	1,76	1,76
3	—	+	—	0,59	0,94	0,84	0,79	0,79
4	+	+	—	2,00	2,12	2,05	2,06	2,06
5	—	—	+	1,28	1,05	1,27	1,20	1,20
6	+	—	+	1,41	1,96	1,34	1,57	1,57
7	—	+	+	1,07	0,52	1,15	0,91	0,91
8	+	+	+	5,60	4,69	3,14	4,48	4,48

Примечание. Статистические показатели: $b_0 = 1,14$; $b_1 = 0,14$; $b_2 = 0,14$; $b_{12} = 0,0\,05$; $b_3 = 0,15$; $b_{13} = 0.09$; $b_{123} = -0,04$; $b_{23} = -0,03$; $s^2y = 0,10$; $s^2\bar{y} = 0,03$;

$s^2 b_i = 0{,}004$; $t_{0,95} s b_i = 0{,}13$; $y = 1{,}14 + 0{,}14x_1 - 0{,}14x_2 + 0{,}15x_3$; $s^2_{ад} = 0{,}02 <$ $< Fs^2\overline{y} = 0{,}66$ (1).

$b_0 = 1{,}28$; $b_1 = 0{,}29$; $b_2 = -0{,}008$; $b_3 = 0{,}002$; $b_{12} = 0{,}15$; $b_{13} = -0{,}06$; $b_{123} = -0{,}09$; $s^2 y = 0{,}05$; $s^2\overline{y} = 0{,}02$; $s^2 b_i = 0{,}002$; $t_{0,95} s b_i = 0{,}10$; $y = 1{,}28 +$ $+ 0{,}29x_1 + 0{,}15x_1x_2$; $s^2_{ад} = 0 < Fs^2\overline{y} = 0{,}66$ (2).

$b_0 = 1{,}73$; $b_1 = 0{,}78$; $b_2 = 0{,}33$; $b_{12} = 0{,}47$; $b_3 = 0{,}31$; $b_{13} = 0{,}25$; $b_{23} = 0{,}33$; $b_{123} = 0{,}33$; $s^2 y = 0{,}23$; $s^2\overline{y} = 0.05$; $s^2 b_i = 0{,}009$; $t_{0,95} s b_i = 0{,}21$; $y = 1{,}73 +$ $+ 1{,}73x_1 + 0{,}33x_2 + 0{,}47x_1x_2 + 0{,}31x_3 + 0{,}25x_1x_3 + 0{,}33x_2x_3 + 0{,}33x_1x_2x_3$ (3). **Лиофилизат получен из водной среды головастиков через 33 дня с момента формирования загущенной популяции 21.VI.78. г. (10 г/л). В качестве реципиента своей кладки использованы головастики из популяции, сформированой позднее (хотя и из личинок той же кладки).**

тов лиофилизата была иная, чем при опытах на головастиках из популяции донора, но прямо пропорциональная зависимость между их концентрацией и величиной специфичного эффекта выявлялась отчетливо.

Полученные данные (рис. 38 и табл. 84) показывают, что от концентрации экзометаболитов водной среды зависит только степень эффекта. По мере увеличения концентрации компонентов водной среды возрастает действие, активирующее обмен головастиков своей кладки. При этом незначительная активация обмена личинок чужой кладки остается на одном уровне. Таким образом, направленность экзометаболического эффекта не зависит от концентрации регулирующих экзометаболитов водной среды. Она определяется периодом развития популяции донора и особенно индивидуальными и популяционными характеристиками реципиента. Выраженность экзометаболического эффекта (степень ингибирования или активации) зависит от концентрации экзометаболитов.

Эти выводы нашли подтверждение в новых сериях наших опытов (сезон 1979 г.), где исследовали водную среду, освобожденную от микрофлоры и низкомолекулярных компонентов с помощью кипячения и соответствующих фильтров. Для отделения микрофлоры применяли нитроцеллюлозные фильтры с диаметром пор 0,22 ммк, для отделения высокомолекулярных компонентов и их концентрирования — ультрафильтрующую

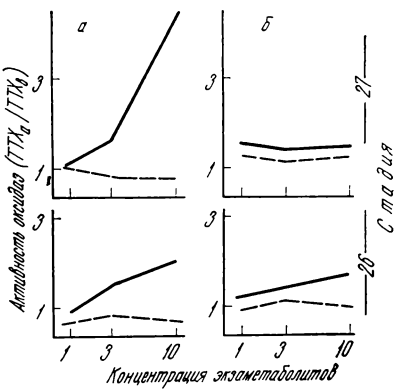


Рис. 38. Специфичность действия водной среды головастиков на эндогенную активность оксидаз в условиях возрастающих концентраций экзометаболитов.

а — своя кладка, *б* — чужая. Исходная концентрация экзометаболитов повышена в 3 и 10 раз. *Сплошная линия* — опыт, *штриховая* — контроль.

Таблица 85

Специфичность действия водной среды из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* через 17 дней с момента формирования популяции (сезон 1979 г.)

Уровень	Натуральные независимые переменные		
	Метаболиты (кладка № 3) $\widehat{x}_1$	№ стадии развития реципиента $\widehat{x}_2$	Кладка реципиента (25-я стадия) $\widetilde{x}_3$
Верхний (+)	1 мл водной среды	26	3 (своя)
Нижний (—)	Не вводились	25	5 (чужая)

Кодированные независимые переменные				$ТТХ_а/ТТХ_в$				
№ варианта	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	—	2,0	1,13	1,75	1,63	2,69
2	+	—	—	2,73	1,86	2,86	2,48	2,49
3	—	+	—	3,75	4,50	3,00	3,75	2,69
4	+	+	—	2,0	3,0	—	2,50	2,49
5	—	—	+	1,67	1,67	4,33	2,56	3,24
6	+	—	+	18,0	9,50	5,67	11,06	8,68
7	—	+	+	3,75	4,25	3,75	3,92	3,24
8	+	+	+	10,4	3,80	4,70	6,30	8,68

Примечание. Статистические показатели: $b_0 = 4{,}27$; $b_1 = 1{,}31$; $b_2 = -0{,}157$; $b_3 = 1{,}6835$; $b_{12} = -1{,}027$; $b_{13} = 1{,}409$; $b_{23} = -0{,}6921$; $b_{123} = 0{,}5011$; $s^2y = 7{,}0798$; $s^2\bar{y} = 0{,}295$; $t_{0{,}95}sb_i = 1{,}156$; $y = 4.27 + 1{,}31x_1 + 1{,}68x_3 + 1{,}4x_3x_1$; $s^2_{ад}/s^2\bar{y} = 1{,}53 < F = 3{,}1$.

мембрану (ФМ-2 < 1000). Анализ полученных данных показывает, что и в сезон 1979 г. при исследовании кладоспецифичного действия водной среды головастиков *R. arvalis* (загущенная популяция) отработанный нами тетразоловый метод выявления регулирующего обмен влияния экзометаболитов дал положительные результаты. Через 17, 23 и 29 дней с момента формирования популяции был получен эффект, по направленности совпадающий с данными 1974, 1977 и 1978 гг.

Водная среда головастиков *R. arvalis* через 17 дней с момента формирования популяции активирует эндогенный аэробный метаболизм личинок 25 и 26-й стадий развития своей кладки и не активирует тот же метаболизм у личинок чужой кладки (табл. 85). Взятая через 23 дня с момента формирования водная среда так же, как в сериях 1974 г. (см. рис. 33), активирует эндогенный метаболизм головастиков 25 и 26-й стадий, независимо от принадлежности к кладке (табл. 86). Этот эффект наблюдается в водной среде, освобожденной от микрофлоры и низкомолекулярных компонентов. С увеличением концентрации

Таблица 86

Специфичность действия стерильной водной среды и белков из загущенной популяции головастиков *R. arvalis*

Уровень	Натуральные независимые переменные	
	Метаболиты (кладка 3) $\hat{x}_1$	Кладка (25-я стадия) $\hat{x}_2$
Верхний (+)	1 мл	3 (своя)
Нижний (—)	Не вводились	5 (чужая)

Кодированные независимые переменные			$ТТХ_а/ТТХ_в$				
№ варианта	x_1	x_2	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
1	—	—	0,12	0,67	0,17	0,34	0,48
2	+	—	0,91	—	0,97	0,94	0,88
3	—	+	0,71	0,59	0,57	0,62	0,48
4	+	+	0,60	1,17	0,67	0,81	0,88
1 мл водной среды, освобожденной от микрофлоры (*1*)							
1	—	—	0,17	0,67	0,17	0,34	0,48
2	+	—	1,14	0,67	2,29	1,37	1,41
3	—	+	0,71	0,59	0,57	0,62	0,48
4	+	+	2,0	1,2	1,17	1,46	1,41
Белок водной среды, концентрация 0,78 γ (*2*)							
1	—	—	0,17	0,67	0,17	0,34	0,46
2	+	—	0,95	3,44	3,0	2,46	2,22
3	—	+	0,71	0,59	0,57	,,62	0,48
4	+	+	1,83	2,11	—	1,97	2,22
Белок водной среды, концентрация 1,56 γ (*3*)							

Примечание Статистические показатели: $b_0 = 0,67$; $b_1 = 0,198$; $b_2 = 0,040$ $b_{12} = -0,103$; $s^2y = 0,0469$; $s^2\bar{y} = 0,0156$; $s^2b_i = 0,0039$; $t_{0,95}sb_i = 0,148$; $y = 0,67 + 0,198x_1$; $s^2_{ад}/s^2y = 1,57$; $F = 4,7$ (1).

$b_0 = 0,946$; $b_1 = 0,466$; $b_2 = 0,094$; $b_{12} = -0,049$; $s^2y = 0,2514$; $s^2\bar{y} = 0,084$; $s^2b_i = 0,0209$; $t_{0,95}sb_i = 0.334$; $y = 0,94 + 0,466x_1$; $s^2_{ад}/s^2y = 0,260$; $F = 4,5$ (2).

$b_0 = 1,3148$; $b_1 = 0,868$: $b_2 = -0,052$; $b_{12} = -0,19$; $s^2y = 0,47$; $s^2\bar{y} = 0,158$; $s^2b_i = 0,039$; $t_{0,95}sb_i = 0,471$; $y = 1,32 + 0,868x_1$; $s^2_{ад}/s^2\bar{y} = 0,515$; $F = 4,7$ (3).

Водная среда взята через 23 дня с момента формирования популяции.

Таблица 87

Специфичность действия водной среды головастиков после удаления микрофлоры и денатурации белков

Уровень	Натуральные независимые переменные	
	Метаболиты (кладка 3) $\widetilde{x}_1$	Кладка реципиента (25-я стадия) $\widetilde{x}_2$
Верхний (+)	1 мл	3 (своя)
Нижний (—)	Не вводились	5 (чужая)

Кодированные независимые переменные			$ТТХ_а/ТТХ_в$				
№ варианта	x_1	x_2	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
Водная среда 1 мл (*1*)							
1	—	—	5,0	2,5	5,0	4,17	4,51
2	+	—	5,0	6,0	10,0	7,0	6,66
3	—	+	3,86	—	2,88	3,37	3,71
4	+	+	2,0	1,83	1,86	1,90	1,56
Водная среда, освобожденная от микрофлоры с помощью нитроцеллюлозного фильтра диаметром 0,22 ммк (*2*)							
1	—	—	1,4	1,0	0,57	0,99	—
2	+	—	2,5	2,4	5,0	3,30	—
3	—	+	0,78	1,08	1,07	0,98	—
4	+	+	1,0	1,67	1,0	1,22	—
Водная среда после нагревания до 100 °С (*3*)							
1	—	—	5,0	2,5	5,0	4,17	3,62
2	+	—	1,0	3,5	5,0	3,17	3,62
3	—	+	3,86	—	2,88	3,37	3,62
4	+	+	2,89	4,63	3,78	3,77	3,62

Примечание. Статистические показатели: $b_0 = 4,10$; $b_1 = 0,34$; $b_2 = -1,47$; $b_{12} = -1,976$; $s^2y = 2,39$; $s^2\bar{y} = 0,79$; $s^2b_i = 9,19$: $t_{0,95}sb_i = 1,05$; $y = 5,108 + 0,34x_1 - 1,475x_2 - 1,076x_1x_2$; $s^2_{ад}/s^2y = 0,57$; $F = 5,4$ (1). $b_0 = 1,62$; $b_1 = 0,639$; $b_2 = -0,5225$; $b_{12} = -0,5158$; $s^2y = 0,630,3$; $s^2\bar{y} = 0,2191$; $s^2b_i = 0,0525$; $t_{0,95}sb_i$ 9,5294; $y = 1,62 \pm 0,639x_1 - 0,52x_2 - 0,52x_1x_2$ (2).

$b_0 = 3,6172$; $b_1 = -0,1598$; $b_2 = -0,491$; $b_{12} = 03491$; $s^2y = 1,85$; $s^2\bar{y} = 6169$; $s^2b_i = 0,1542$; $t_{0,95}sbi$ 0,97 (3).

Водная среда взята через 29 дней с момента формирования популяции. Популяции донора и реципиента гетеростадийны.

белков водной среды, полученных с помощью мембраны, этот стимулирующий, но не кладоспецифичный эффект увеличивается. Изменение в концентрации белка не вызывает сдвигов в направленности его действия (см. табл. 86).

Взятая через 29 дней (табл. 87) водная среда головастиков *R. arvalis* так же, как в сериях 1974 г., достоверно ингибирует оксидазы у головастиков своей кладки и активирует те же ферменты у личинок чужой кладки. Отделение микробов не снимает кладоспецифичный эффект. Термическая обработка пробы сопровождается потерей способности к неодинаковому воздействию на обмен личинок, влияние на их эндогенный метаболизм исчезает полностью.

Таким образом, результаты, полученные в новых сериях, показывают, что проявившийся кладоспецифичный эффект по отношению к обмену отдельной личинки популяции не связан с присутствием в последней микрофлоры. Кроме того, можно считать, что в водной среде головастиков способны накапливаться белки, обладающие и не обладающие специфичностью действия на уровне семьи (см. табл. 87).

В следующих сериях (табл. 88, 89) из головастиков *R. arvalis*, обитавших в условиях загущенности (10 головастиков на 1 л) и нормальной плотности (1 головастик на 1 л), одного возраста и одной кладки были сформированы две новые гомостадийные (из личинок 26-й стадии развития) загущенные и нормальные популяции. Появилась возможность исследовать кладоспецифичный по отношению к обмену эффект водной среды и ее безмикробных белковых фракций без влияния структуры популяции и возраста личинок, при действии исключительно одной плотности. Анализ данных показывает, что водная среда из популяций разной плотности, несмотря на тождество стадий и возраста составляющих ее особей, обладает явно разным эффектом по отношению к обмену личинок. Водная среда из нормальной популяции резко подавляет активность оксидаз у личинок своей и чужой кладки (см. табл. 88), а из загущенной — явно активизирует этот же показатель метаболизма у личинок той же стадии и возраста (см. табл. 89). Термическая обработка не снимает эффекта в обоих случаях. Следовательно, он не связан с присутствием белка, так как последний при нагревании денатурируется.

Безмикробная водная среда из обеих популяций, имеющих разную плотность, обладает кладоспецифичным эффектом разной направленности. В нормальной популяции водная среда, освобожденная от микрофлоры и содержащая нативные белки, ингибирует метаболизм у головастиков своей кладки и не ингибирует в чужой. Безмикробная водная среда из загущенной популяции так же, как выделенные из нее белки, активирует метаболизм головастиков своей кладки и ингибирует обмен личинок чужой.

Таблица 88

Специфичность действия гомостадийной (26-я стадия) водной среды из нормальной популяции головастиков *R. arvalis* в зависимости от присутствия в ней микрофлоры, высоко- и низкомолекулярных компонентов

Уровень	Натуральные независимые переменные	
	Метаболиты (кладка 1) $\tilde{x}_1$	Кладка реципиента $\tilde{x}_2$
Верхний (+)	1 мл	1 (своя)
Нижний (—)	Не вводились	2 (чужая)

Кодированные независимые переменные			$ТТХ_а/ТТХ_в$				
№ варианта	x_1	x_2	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
			Исходная водная среда (*1*)				
1	—	—	3,0	2,66	1,27	2,31	—
2	+	—	0,72	1,17	0,91	0,93	—
3	—	+	18,0	26,3	19,1	24,46	—
4	+	+	4,95	3,88	3,87	4,23	—
			Исходная водная среда после нагревания до 100 °С (*2*)				
1	—	—	3,0	2,66	1,27	2,31	—
2	+	—	1,13	0,82	0,95	0,97	—
3	—	+	28,0	26,3	19,1	24,46	—
4	+	+	6,68	7,32	8,30	7,43	—
			Водная среда, освобожденная от микрофлоры с помощью нитроцеллюлозного фильтра диаметром 0,22 ммк (*3*)				
1	—	—	3,0	2,66	1,27	2,31	1,18
2	+	—	3,21	5,06	4,81	4,36	5,49
3	—	+	28,0	26,3	19,1	24,46	23,3
4	+	+	16,32	20,11	16,95	17,72	19,0

Примечание. Статистические показатели: $b_0 = 7{,}98$; $b_1 = -5401$; $b_2 = 6{,}36$; $b_{12} = -4{,}71$; $s^2y = 5{,}90$; $s^2\bar{y} = 1{,}96$ $s^2b_i = 0{,}49$; $t_{0,95}sb_i = 1{,}62$; $y = 7{,}98 - 5{,}41x_1 + 6{,}36x_2 - 4{,}71x_1x_2$ (1).

$b_0 = 8{,}793$; $b_1 = -4{,}593$; $b_2 = 7{,}155$; $b_{12} = -3{,}92$; $s^2y = 5{,}965$; $s^2\bar{y} = 1{,}988$; $s^2b_i = 0{,}497$; $t_{0,95}sb_i = 1629$; $y = 8{,}79 - 4{,}50x_1 + 7{,}15x_2 - 3{,}92x_1x_2$ (2).

$b_0 = 12{,}25$; $b_1 = -1{,}13$; $b_2 = 8{,}92$; $b_{12} = -2{,}16$; $s^2y = 7{,}25$; $s^2\bar{y} = 2{,}41$; $s^2b_i = 0{,}604$; $t_{6,95}tb_i = 1{,}8$; $y = 12{,}25 + 8{,}9x_2 - 2{,}16x_1x_2$; $s^2_{ад}/s^2y = 2{,}12$; $F = 4{,}1$ (3).

Содержание белка в водной среде 0,18 γ/мл.

Таблица 89

Специфичность действия водной среды из загущенной гомостадийной популяции головастиков *R. arvalis* в зависимости от присутствия в ней микрофлоры, высоко- и низкомолекулярных компонентов

Уровень	Натуральные независимые переменные	
	Метаболиты (кладка 1) $\widehat{x}_1$	Кладка реципиента $\widehat{x}_2$
Верхний (+)	1 мл	1 (своя)
Нижний (—)	Не вводились	2 (чужая)

Кодированные независимые переменные			TTX_a/TTX_B				
№ варианта	x_1	x_2	y_1	y_2	y_3	$\bar{y}$	$\hat{y}$
			Исходная водная среда (*1*)				
1	—	—	0,83	0,70	0,47	0,67	—
2	+	—	2,44	2,18	2,20	2,27	—
3	—	+	0,43	0,52	0,48	0,48	—
4	+	+	1,46	1,40	1,24	1,37	—
			Исходная водная среда после нагревания до 100 °С (*2*)				
1	—	—	0,83	0,70	0,47	0,67	0,57
2	+	—	1,0	2,44	2,33	1,92	1,78
3	—	+	0,43	0,52	0,48	0,48	0,57
4	+	+	1,72	1,84	1,33	1,63	1,78
			Водная среда, освобожденная от микрофлоры с помощью нитроцеллюлозного фильтра диаметром 0,22 ммк (*3*)				
1	—	—	4,33	4,50	2,75	3,86	3,69
2	+	—	2,53	2,0	2,00	2,17	2,35
3	+	+	1,10	1,20	1,22	1,17	1,00
4	+	+	1,76	2,58	2,19	2,17	2,35
			Белок водной среды, концентрация 0,58 γ/мл (*4*)				
1	—	—	4,33	4,50	2,75	3,86	—
2	+	—	0,57	0,88	0,52	0,66	—
3	—	+	1,10	1,20	1,22	1,17	—
4	+	+	1,69	2,41	1,37	1,82	—

Примечание. Статистические показатели; $b_0 = 1{=}1958$; $b_1 = 0{,}6242$; $b_2 = -0{,}2742$; $b_{12} = -0{,}1792$; $s^2y = 0{,}0173$; $s^2\bar{y} = 0{,}0058$; $s^2b_i = 0{,}0014$; $t_{0,95}sb_i = 0{,}0877$; $t = 1{,}19 + 0{,}62x_1 - 0{,}27x^2 = 0{,}179x_1x_2$ (*1*).

$b_0 = 1{,}1741$; $b_1 = 0{,}6025$; $b_2 = -0{,}1208$; $b_{12} = -0{,}0258$; $s^2y = 0{,}1872$; $s^2\bar{y} = 0{,}0624$; $s^2b_i = 0{,}0156$; $t_{0,95}sb_i = 0{,}288$; $y = 1{,}17 + 0{,}603x_1$; $s^2_{да}/\,s^2y = 0{,}48$; $E = 4{,}5$ (*2*).

$b_0 = 2{,}347$; $b_1 = -0{,}17$; $b_2 = -0{,}67$; $b_{12} = 0{,}67$; $s^2y = 0{,}2094$; $s^2\bar{y} = 0{,}0998$; $s^2b_i = 0{,}0249$; $t_{0,95}sb_i = 0{,}36$; $y = 2{,}34 - 0{,}67x_2 + 0{,}67x_1x_2$; $s^2_{ад}/\,s^2y = 1{,}16$; $E = 4{,}1$ (*3*).

$b_0 = 1{,}878$; $b_1 = -0{,}638$; $b_2 = -0{,}38$; $b_{12} = 0{,}963$; $y = 1{,}87 - 0{,}64x_1 - 0{,}38x_2 + 0{,}963x_1x_2$ (*4*).

Таблица 90

Характеристика монослоя диплоидных клеток ЛЭЧ и перевиваемых клеток Нер-2 в условиях роста с белками водной среды головастиков

Концентрация добавленного белка, γ/мл питательной среды	ЛЭЧ	Нер-2
Не вводился	Плотный монослой фибробластоподобных клеток с характерным травянистым рисунком	Плотный ровный монослой четко структурированных клеток
1,1	В поле зрения одни плывущие клетки	Рыхлый монослой
0,11	Рыхлый монослой фибробластоподбных клеток с четкой морфологией	Плотный слой полигональных клеток с четкой морфологией
0,05	Монослой на 80 % сформирован фибробластоподобными клетками	Нормальный рост полигональных клеток, цитоплазма светлая
0,02	Плотный монослой фибробластоподобных клеток	Монослой ровный, клетки с четкими границами
1,1*	Отдельно прикрепившиеся клетки	Рыхлый монослой, много плывущих клеток
0,11*	Рыхлый монослой с явлениями регенерации	Монослой на 80—90 % из полигональных клеток, цитоплазма вакуолизирована
0,05*	Монослой (75—80 %), много плывущих клеток	Монослой сформирован, границы клеток размыты
0,02*	Рыхлый монослой	Монослой сформирован, границы четкие

Примечание. Опыт проведен в июне 1979 г., водная среда освобождена от микробов (см. табл. 89). Питательные среды: двойная среда «Игла»+0,5 % гидролизат-лактальбумина÷10 % нативной бычьей сыворотки (для ЛЭЧ). Среда 199+10 % нативной бычьей сыворотки (для Нер-2). В обе питательные среды вводили пенициллин (100 ед/мл) и стрептомицин (50 мг/мл).

* Белки вводили в составе нативной среды. Плотность популяции 10 животных на 1 л, вид *R. arvalis*.

Таким образом, в водной среде головастиков наблюдается явное воздействие на обмен отдельной особи популяции (специфичное и неспецифичное, ингибирующее и стимулирующее).

Но влияние водной среды на метаболизм головастика в зависимости от степени его генетического родства с донором не имеет отношения к микрофлоре, зависит от плотности популяции и осуществляется при участии белков [237]. И в нормальной, и в загущенной популяциях отмечен кладоспецифичный эффект по отношению к обмену личинки, его направленность не зависит от концентрации белка, а индуцируется его химическим составом и плотностью (см. табл. 57). Ярко выраженное неспецифичное (на уровне кладки) действие водной среды в наших опытах, возможно, вызвано присутствием токсичных для головастиков низкомолекулярных примесей, которые могли быть занесены из мест обитания вместе с икрой.

Таблица 91

Характеристика митотической активности и интерфазных ядер диплоидных клеток ЛЭЧ и перевиваемых клеток Нер-2 в условиях роста с белками водной среды головастиков

№ серии	Концентрация добавленного белка, γ/мл питательной среды	Культура клеток	Клетки		Митозы				Митотическая активность, %
			с аномальными ядрами	многоядерные	п	м	а	т	
			Март						
26	Не вводился		1,6	2	7,2	7,6	1,6	3,4	33,8±0,9
	0,47		1,0	3	8	16	—	12	30,0±0,6
	1,17	Нер-2	6,0	4	13	28	2	15	61,0±0,6
	2,35		3,0	8	8	20	3	5	36,0±1,8
	Не вводился		2,9	2,4	3	4	—	1	8,1±0,9
	0,47		3,6	18	—	6,2	—	4	10,2±1,2
	1,17	ЛЭЧ	4,0	23	1	4	1	3	9,0±1,7
	2,35		7,0	45	3	2	—	1	6,0±1,7
			Июнь						
27	Не вводился		1	2	12	16	5	4	38,0±1,4
	0,02		2	12	4	20	—	8	32,0±0,9
	0,05	Нер-2	—	4	8	16	4	28	56,0±1,4
	0,11		4	2	12	8	—	32	52,0±1,8
	0,02*		7	12	2	12	4	4	22,0±0,6
	0,05*		12	8	—	16	4	4	24,0±0,9
	0,11*		8	12	2	12	2	4	20,0±0,8

Примечание. В марте белки получали диализом неосвобожденного от микроорганизмов лиофилизата водной среды, хранившегося год и выделенного через 33 дня с момента формирования загущенной гетеростадийной популяции головастиков остромордой лягушки, в июне — диализом свежей, предварительно освобожденной от микроорганизмов водной среды из аналогичной по плотности и структуре популяции головастиков того же вида, но через 29 дней с момента формирования.

Влияние водной среды головастиков из загущенной популяции *R. arvalis* на рост клеток в тканевых культурах [251] изучали отдельно (табл. 90, 91). Главное в результатах данной серии, по нашему мнению, состоит в том, что водная среда обнаруживает очень сильное неспецифическое цитотоксическое влияние. В клетках ЛЭЧ и Нер-2 при введении водной среды головастиков в питательную наблюдаются явно выраженные явления дегенерации (см. табл. 90). В то же время после обработки водной среды в целях очистки содержащихся в ней белков от низкомолекулярных примесей и микрофлоры (с помощью нитроцеллюлозного фильтра с диаметром пор 0,22 ммк и ультрафильтрующей мембраны) обнаруживается специфичность действия по отношению к характеристике митотической активности и монослоя.

Как видно из табл. 90 и 91, белки водной среды головасти-

ков (выделенные через 33 и 29 дней с момента формирования популяции) в концентрации 0,1—0,05 γ/мл не нарушают морфологию клеток Нер-2, повышая их митотическую активность. В то же время они индуцируют дегенерацию в клетках ЛЭЧ, не увеличивая их митотическую активность.

В ряде экспериментов сделана попытка выяснить причины обнаруженного цитотоксического и неспецифического действия водной среды головастиков на рост клеток и метаболизм тканей, в частности, эндогенную активность оксидаз. Анализ показывает, что в водопроводной воде, которую используют для формирования модельных популяций, может происходить резкое изменение концентрации таких микроэлементов, как Zn, Co, Mn, Mo. В зависимости от концентрации они являются ингибиторами или активаторами многих ферментных систем, включая свободное и фосфорилирующее окисление. Есть основание предполагать, что в состав низкомолекулярных компонентов водной среды головастиков, вызывающих токсический эффект или неспецифическое действие, маскирующее регуляторное влияние экзобелков, входят и эти обнаруженные в «исходной воде» микроэлементы. Изменения в их концентрации могут быть индуцированы промышленным загрязнением естественных водоемов, откуда брали личинок при формировании модельных популяций.

Роль амиталрезистентного дыхания в развитии головастиков остромордой лягушки в период, предшествующий активному метаморфозу (на 25—27-й стадиях), когда первое место в онтогенезе принадлежит процессам роста, установлена нами при изучении специфичности действия водной среды на активность оксидаз, данный тип окисления и непосредственно скорость развития (см. табл. 72—75).

Представляло интерес определить интенсивность амиталрезистентного дыхания у головастиков двух видов не только в период, предшествующий метаморфозу, но и на 28—31-й стадиях развития, в период метаморфического климакса. На данном этапе онтогенеза ярко выражена дифференциация тканей и амиталрезистентное дыхание, как следует из результатов указанных экспериментов, должно уступить место амиталчувствительному, связанному с окислительным синтезом аденозинтрифосфата.

Исследования в данном направлении в нашей группе были выполнены Л. А. Ковальчук [118]. Определены общее потребление кислорода и характер его распределения между амиталрезистентным и амиталчувствительным окислением у головастиков пяти видов на 25—31-й морфологических стадиях в популяциях с нормальной и повышенной плотностью.

Данные серии поставлены без учета возраста головастиков. Каждую из морфологических стадий изучали в первые два дня ее появления, и в загущенных популяциях, где часть животных

Таблица 92

Содержание некоторых микроэлементов в водопроводной воде г. Свердловска, γ/л

Микроэлемент	Апрель	Май	Декабрь
Железо	51,5 (3)	51,5 (4) [1,65]	120,6 (3)
Медь	16,0 (3)	10,1 (4)	11,8 (3)
Цинк	301,0 (3)	364,2 (4) [2,27]	162,7 (3)
Свинец	9,6 (3)	10,2 (4)	9,0 (3)
Хром	4,0 (3)	9,0 (4)	7,9 (3)
Кобальт	11,0 (2)	66,1 (4) [3,1]	13,2 (3)
Марганец	28,1 (3) [2,54]*	85,0 (4) [1,5]	49,7 (3)
Молибден	48,7 (3)	57,5 (4) [3,7]	117,5 (3)

Примечание. В круглых скобках — число параллельных проб, в квадратных — t-критерий в сравнении с декабрьскими пробами.
* В сравнении с майской пробой (достоверность 95 %).

развивается быстрее, исследовали головастиков более молодых, чем в нормальных популяциях. Установлено, что, несмотря на различия в возрасте, все исследованные личинки имеют общую особенность. В нормальных по плотности популяциях в период, предшествующий активному метаморфозу (25—27-я стадии), наблюдается преобладание в дыхании амиталрезистентного окисления. В период непосредственного метаморфоза (28—31-я стадии) дыхание, нечувствительное к амиталу, действительно уступает место дыханию, которое ингибируется амиталом.

Данная специфика окислительного обмена — снижение амиталчувствительного и активация амиталрезистентного дыхания до метаморфоза, наступление обратных отношений в период активного метаморфоза — в загущенных популяциях выражена более ярко.

3.8. БИОХИМИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ РОСТА И РАЗВИТИЯ ПОПУЛЯЦИИ

Обобщая результаты опытов на амфибиях, в первую очередь следует подчеркнуть, что окислительный обмен отдельной личинки (дыхание, амиталрезистентное и амиталчувствительное окисление, эндогенная суммарная активность оксидаз) определяется

индивидуальными особенностями головастика и групповыми параметрами. Активность оксидаз, общее потребление кислорода и его распределение между указанными типами окисления зависят от стадии развития головастика, его возраста, принадлежности к определенному виду, кладке и одновременно от численности личинок в популяции, степени генетического родства между ними, соотношения в популяции личинок различных стадий (см. табл. 48—49, 58—63, 66—71, 72—74).

Эти сложные эколого-биохимические отношения внутри популяций амфибий реализуются путем взаимовлияния головастиков через водную среду, где они развиваются и куда выделяют продукты жизнедеятельности.

Изучение характера действия водной среды из модельных популяций головастиков на их метаболизм показывает, что водная среда и содержащиеся в ней метаболиты обладают стадио-, видо- и кладоспецифичным эффектом по отношению к обмену отдельной личинки амфибий (см. табл. 48, 49, 58—63, 66—71, 72—74).

В водной среде из популяций головастиков обнаружены белки, содержание которых (в лабораторных условиях) колеблется в пределах от 3 до 69 γ/мл (см. табл. 51, 54, 56, 57, 68).

Стадио- и видоспецифичность действия водной среды и аминокислотного состава ее белков коррелируют (см. табл. 51, 53—55). Содержание отдельных белковых аминокислот в гидролизатах «воды», взятой на разных стадиях развития популяции, варьирует (см. табл. 52, рис. 30).

Специфичное действие водной среды из исследованных модельных популяций головастиков в отдельные периоды их развития совпадает по направленности и силе с влиянием выделенных экзобелков (см. табл. 66, рис. 33, 34). Разрушение белков водной среды с помощью трипсина и нагреванием (см. табл. 45, 76, 88), освобождение ее от высокомолекулярных компонентов с помощью сефадекса (см. табл. 48, 61), как показывают серии экспериментов на загущенных популяциях амфибий, снимают обнаруженный ранее стадио-, видо- и кладоспецифичный эффект. Удаление из водной среды головастиков микрофлоры сохраняет специфичность ее действия (см. табл. 87—89).

Водная среда из популяций головастиков обладает способностью дифференцированно влиять на два типа окисления — амиталрезистентное и амиталчувствительное (см. табл. 62, 63, 69—71, 73, 74). Обнаруженный стадио- и видоспецифичный эффект в отношении оксидаз и указанных типов окисления проявляется в опытах in vitro и in vivo — в гомогенатах тканей головастиков, на интактных личинках, в экспериментах по влиянию экзометаболитов на число появившихся сеголеток, выживаемость головастиков в условиях гипоксии (см. табл. 58, 59, 75, рис. 32).

Характерно, что ингибирование оксидаз и амиталрезистентного окисления водной средой не коррелирует с гибелью личинок. При испытании действия лиофилизата водной среды в условиях опыта in vivo наблюдаются явные различия в интенсивности развития, но число погибших личинок в опыте и контроле одинаково (см. табл. 75).

Водная среда, обладающая специфичным дифференцированным действием на обмен личинок в популяции, иммунологически активна по отношению к белкам тканей головастика и не активна по отношению к белкам микрофлоры, выделенной из нее, а также белкам использованного растительного корма (см. табл. 79—83).

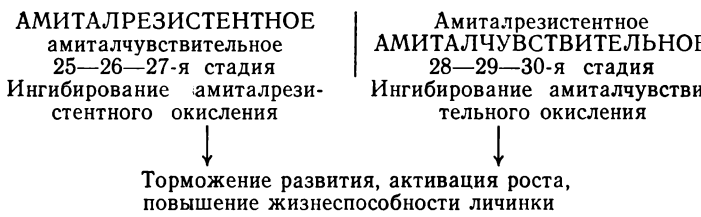
Применение прямых методов изучения степени гетерогенности белков (иммунодиффузия по Оухтерлони и в модификации Манцини) подтверждает наличие в водной среде головастиков нескольких белковых фракций (см. табл. 78). Важно, что специфичность действия водной среды и ее белков обнаружена нами не только в загущенных популяциях, но и в популяциях с нормальной плотностью, включая одиночные аквариумы (см. табл. 58—64, 68—71).

Направленность специфичного действия водной среды и ее белков не зависит от концентрации метаболитов, а определяется плотностью популяции и ее структурой — соотношением личинок разных стадий, периодом в развитии популяции (см. рис. 33, 34, табл. 58, 60—63, 65—66, 88, 89). Степень активации или ингибирования обмена личинок водной средой, напротив, зависит от концентрации компонентов в водной среде обитания, включая содержащиеся в ней белки (см. табл. 43, 44, 84, рис. 38).

На основе полученных данных можно предполагать, что в популяциях амфибий на стадии личиночного развития действует экзометаболический популяционный механизм адаптации, по своей природе противоположный конкуренции. Каждое из обнаруженных свойств специфичности в действии водной среды и выделенных из нее белков играет определенную роль.

Схематично общая картина регулирующего влияния в популяциях амфибий может быть представлена следующим образом. Стадиоспецифичное действие водной среды на метаболизм личинок обеспечивает переход от каждой предыдущей стадии к последующей, т. е. непосредственно развитие: 25—26—27——28—29-я и т. д. Дифференцированное действие водной среды на два типа окисления (амиталрезистентное и амиталчувствительное) обеспечивает разное влияние на рост и развитие, индуцируя появление крупных и мелких личинок, быстро растущих, но медленно развивающихся, и наоборот. Так как указанные типы окисления на разных стадиях развития амфибий играют неодинаковую роль, результат дифференцированного влияния на амиталрезистентное и амиталчувствительное дыхание в популя-

циях амфибий, по-видимому, зависит от преобладания в них личинок определенных стадий:



Кладо- и видоспецифичное действие водной среды на метаболизм личинок обеспечивает сохранение гетерогенности популяции или биоценоза в условиях, когда преобладают личинки отдельной кладки или вида.

Таким образом, накапливая в окружающей водной среде экзометаболиты, ингибирующие или стимулирующие окислительный обмен каждой особи в зависимости от индивидуальных и групповых параметров, популяция амфибий на стадии личиночного развития обеспечивает оптимальные численность (индуцируя поочередность роста и развития за счет дифференцированного влияния на два типа окисления) и генетическую разнородность (за счет специфичного влияния на обмен личинок разных видов, семей). В модельных популяциях из личинок одной кладки (семьи) генетическая разнородность поддерживается, вероятно, за счет специфичного влияния на обмен личинок разных генетических вариантов (полосатые и бесполосые морфы). В данном популяционном механизме поддержания численности, а следовательно, и адаптации, который связан с зависимостью окислительного обмена каждой особи от комплекса организменных и групповых параметров, принимают участие вещества белково-пептидной природы.

Создается впечатление, что в процессе развития головастиков во внешнюю водную среду выделяется множество разных белков. Их количество зависит от размеров личинок и плотности популяций (см. табл. 54, 56, 57, 69), а химические свойства и направленность специфичного действия определяются стадией развития личинок, их систематическим положением, структурой и плотностью популяций (см. табл. 46, 47, 49, 51, 53—55, 66).

Можно предполагать, что обнаруженный биохимический механизм адаптации популяции как поддержание общего числа особей в группе на оптимальном уровне с сохранением генетической разнородности группы проявляется наиболее отчетливо не только в условиях повышенной плотности. Яркая выраженность функционирования данного механизма (дифференциация роста и развития, накопление белка в водной среде, высокая специфичность действия на окислительный обмен личинок)

в загущенных популяциях не исключает его действия в условиях влияния других факторов внешней среды (недостаток кислорода, радиация, охлаждение и т. д.).

Личинка амфибии выделяет метаболиты во внешнюю среду обитания в любых условиях, но их химический состав (а значит, и направленность действия на окислительный обмен всех особей популяции) варьирует в зависимости от комплекса индивидуальных и групповых характеристик, включая, вероятно, и абиотические.

Не исключено, что способность развивающейся личинки выделять во внешнюю среду множество разных белков, влияющих специфично и дифференцированно на разные стороны энергетического обмена особей популяции (или биоценоза),— одна из особых популяционных (или биоценотических) форм естественного иммунитета, который, как известно, принимает участие в регуляции развития на уровне отдельного организма.

Еще А. Тейлором была предложена «теория аутоантител», согласно которой выходящие из клеток развивающегося организма аутоантитела специфически изменяют рост и дифференцировку соответствующих органов и тканей [626]. В [67] сообщается о трех типах антигенов, которые появляются в процессе развития организма в его тканях и индуцируют соответствующие антитела (видо-, органо- и стадиоспецифичные антигены). Известно наличие стадио-, органо- и видоспецифичных антигенов в тканях развивающейся лягушки [423—425, 620, 573, 417, 440]. В ряде исследований выявлены аутоантитела к почке, селезенке и миокарду после соответствующей иммунизации лабораторных животных экстрактами гомологичных органов [478, 490].

Многих исследователей интересует характер действия аутоантител на физиологию, морфологию и биохимию отдельных органов и организма в целом [62, 69, 8, 319]. Специалисты ставят вопрос о возможности ранней диагностики предынфарктных состояний с помощью аутоантител, выделенных из миокарда умерших от инфаркта [466, 17 и др.].

Можно предполагать, что в процессе эволюции антитела, образующиеся при появлении новых антигенов на уровне отдельного организма, приобрели способность к управлению формообразовательным процессом особи с учетом ее обитания в группе. Эта новая, дополнительная функция тканевых антител потребовала параллельного их выброса в ткани и в окружающую водную среду, явилась причиной приобретения аутоантителами такого свойства, как способность изменять окислительный обмен особей группы в зависимости от их индивидуальных свойств и особенностей экологической группы в целом.

Нами установлено присутствие антител головастиков в их водной среде обитания (см. таб. 79—83). Наличие в этой же водной среде глобулинов и способность их к специфичному (на

уровне семьи) действию на окислительный обмен отдельной личинки в зависимости от организменных и групповых параметров также доказаны (см. табл. 65, 66). Установлена способность специфично действующих экзобелков головастиков изменять свой химический состав и направленность влияния в соответствии со стадией, видом и в разные периоды развития популяции (см. табл. 51—54). Доказаны их химическая гетерогенность, соответствующая трем типам специфичности в действии аутоантител (см. табл. 78), способность экзоглобулинов головастиков действовать специфично в малых (аналогично антителам) концентрациях (см. табл. 65, 66, 89).

Полученные нами данные позволяют считать правомерной сформулированную выше новую гипотезу о регуляторных по отношению к особи и группе свойствах аутоантител. Поочередность роста и развития, которая в условиях повышенной плотности смягчает конкуренцию между отдельными особями популяции, снижая смертность, поддерживает генетическую разнородность, повышая жизнеспособность, а следовательно, и адаптацию популяции в целом, индуцируется антителами — теми же белками, что и развитие каждой особи в результате управляемого генотипом взаимодействия развивающихся зачатков.

Исследование характера действия водной среды и ее белков, выделенных разными способами, а значит, и разных по химической природе, показывает (см. табл. 46, 47, 65, 66, 86, 89), что водная среда обитания личинок амфибий (даже в лабораторных условиях) содержит множество физиологически активных компонентов. В наших сериях при изучении экзометаболической регуляции как популяционного механизма адаптации мы неоднократно сталкивались с фактами не только специфичного, но и одинакового влияния водной среды и ее белков на обмен личинок разных стадий и из разных семей. На некоторых стадиях развития популяции водная среда и выделенные из нее белки ингибируют или стимулируют метаболизм личинок независимо от их принадлежности к кладке, или эта специфичность очень слабо выражена (см. рис. 33, табл. 86, 88, 89). В отдельных случаях значительное по силе, но слабо специфичное ингибирование обмена (см. табл. 88) или стимулирование (см. табл. 89) не исчезают после кипячения пробы. Освобождение той же пробы от микрофлоры и низкомолекулярных компонентов, напротив, резко усиливает специфичность действия оставшихся в водной среде высокомолекулярных метаболитов.

По-видимому, в водной среде головастиков могут происходить ингибирование и стимулирование обмена особей популяции, в корне различающиеся по своему характеру, связанные с одновременным присутствием разных химических и биологических компонентов и играющие неодинаковую роль в жизни популяции. Сильное неспецифическое ингибирование может быть вызвано появлением особой микрофлоры, низкомолекулярных

компонентов промышленного происхождения. Возможно и стимулирующее неспецифическое влияние белков как продуктов метаболизма микробов. В популяции головастиков, в том числе и лабораторной, не исключено функционирование такого механизма регуляции численности, как конкуренция или токсикоз, вызванный промышленным загрязнением района, откуда доставлена икра. Именно в силу сложности явлений регуляции и их многообразия в модельных популяциях возможно проявление нескольких механизмов регуляции плотности. Наибольший интерес представляет регуляция с помощью белково-пептидных экзометаболитов, связанная не с экстремальным (токсическим) подавлением обмена, а с умеренным, специфичным на уровне индивидуальных и популяционных характеристик по отношению к тем звеньям метаболизма отдельной особи, которые обеспечивают ее рост и развитие. Дальнейшее исследование данного механизма должно состоять в одновременном осуществлении двух операций: выделении белков, стадио-, видо- и кладоспецифичных по характеру влияния на обмен, и детальном изучении их химической природы.

Что касается соответствия наших данных результатам многочисленных зоологических исследований, посвященных изучению влияния продуктов жизнедеятельности водных животных на их рост и развитие, то необходимо отметить следующее.

Факты стимулирующего и ингибирующего действия водной среды из популяций водных животных на их рост (и в некоторых случаях на развитие) так же, как и факты видо- и кладоспецифичного действия, хорошо известны [5, 231, 299, 339, 340, 366—368, 362, 382, 489, 566, 584, 589, 602, 624, 651, 653 и др.].

Видо- и кладоспецифичный эффект, стимулирующий и ингибирующий рост и развитие, проявляется не всегда отчетливо, а в некоторых сериях зоологических опытов не обнаруживается совсем. В [529] не выявлено влияния воды из-под особей своего и чужого видов на рост двух видов моллюсков и восьми видов тропических рыб, хотя в воду добавлялись экскременты этих животных. Об отсутствии стимулирующего эффекта в отношении роста указано в [602, 367].

В ряде серий, где изучали влияние водной среды головастиков рода *Rana* на их рост и развитие в зависимости от размеров личинок, степени их генетического родства и плотности [339, 340], изменения морфологических тестов не достигают уровня достоверных (t-критерий в эксперименте ниже t-критерия при 95 %-м уровне значимости в условиях поставленного числа опытов). Аналогичное явление наблюдали в ряде серий на личинках комаров [195].

Многие исследователи [382, 299] указывают, что ингибирующее или стимулирующее действие водной среды из популяций отдельных видов водных животных не всегда проявляется более отчетливо по отношению к особям своего вида.

Из результатов исследований одних авторов [602, 653, 299, 231] следует, что эффект влияния ингибиторов водных животных на их рост зависит от возраста реципиента. Другие [367] приходят к выводу, что стимуляция водной средой роста и развития рыб определяется не только наличием стимулирующих продуктов их жизнедеятельности, но и химическим первоначальным составом воды, которая используется для формирования лабораторной популяции. Например, олово, способное, ускорять рост рыб, может снять стимулирующий эффект продуктов их жизнедеятельности [367].

В наших сериях при изучении биохимического механизма адаптации на популяционном уровне все перечисленные выше экспериментально обоснованные выводы о влиянии водной среды на рост и развитие водных животных нашли подтверждение. Выявлены стимулирующий и ингибирующий эффекты водной среды по отношению к метаболизму головастиков, показана нестабильность этих эффектов, зависимость их от стадии развития головастика, его возраста, степени генетического родства с донором, получены данные о наличии в исследуемой водной среде значительного количества микроэлементов, в частности, обнаружено явное загрязнение исходной воды ионами цинка.

Интересно, что наши данные о стимулирующем и ингибирующем действии на обмен отдельного головастика популяции, не зависящем от степени генетического родства с донором и не исчезающем после термической обработки (см. табл. 88, 89), соответствуют выводам некоторых зоологов. В экспериментах на рыбах [367] показано, что вода из-под рыб некоторых видов и мидий содержит органическое вещество и после выдерживания при температуре 121 °С в течение 15 мин (и даже после автоклавирования!) не теряет свои стимулирующие по отношению к росту рыб свойства.

В то же время Элли [368] и Пабле [566] обнаружили, что стимулирующее влияние на рост и развитие может быть связано с присутствием в водной среде животных не только термоустойчивых, но и термолабильных компонентов (белковый экстракт кожи золотых рыбок способствует меньшей потере их массы в сравнении с контрольными опытами при выращивании в чистой воде; остаток после экстракции жиров из водной среды, где развивались личинки морских звезд *Asteria*, после растворения в морской воде стимулировал рост этих личинок). С. Роус и Ф. Роус [231] также пишут об ингибиторах, которые состоят из крупных частиц и являются белком.

В наших сериях в определенные периоды развития популяций с помощью прямых методов (см. табл. 46, 47, 65, 66, рис. 33; табл. 88, 89) в водной среде из нормальных и загущенных популяций головастиков обнаружены белки, явно ингибирующие или стимулирующие обмен отдельной личинки в зависимости от степени генетического родства с донором.

Данные о влиянии плотности популяции на рост и развитие водных животных противоречивы. Многие исследователи указывают на подавление роста при увеличении плотности популяции [91, 392—394, 413, 414, 485, 533, 584, 586, 624, 636, 652]. Подавление роста в загущенных популяциях связывается с повышением конкуренции и агрессивности [360, 592, 495, 148, 455, 639]. Ряд ученых предполагают, что роль ингибиторов роста и развития в популяциях водных животных могут играть одноклеточные водоросли, попадающие в воду с экскрементами [584, 366].

Некоторые исследователи объясняют стимуляцию роста при повышении плотности влиянием оптического восприятия, которое увеличивает интенсивность питания [550]. В работах других авторов [650, 623], изучавших влияние зрительного восприятия на рост в условиях одиночного и группового развития, указывается, что возможность животных видеть, обонять друг друга тормозит их рост. Взаимное влияние особей в популяции на их рост исследовано несколько более подробно для водных животных, чем наземных, однако, как писали Мина и Клевезаль [185], и тут и там пока что больше неясного и противоречивого, чем окончательного и доказанного.

Наиболее интересны данные о наличии дифференцированного роста и развития в условиях повышенной плотности.

В отдельных работах [148, 135] указывается, что подавление роста в загущенных популяциях рыб сопровождается увеличением изменчивости по массе тела. В начале опыта, по данным Добринской [344], изменчивость мальков карпа по длине тела составляет 5 %, через 10 дней — от 5 до 11 %, а через месяц — от 14 до 33 %.

Шварц писал, что «...увеличение изменчивости в рассматриваемых популяциях происходило за счет прогрессирующих различий роста рыб» [344, с. 53].

В объемных исследованиях по изучению роста и развития головастиков в популяциях разной плотности [345] коэффициент вариации для длины тела в нормальных популяциях составляет 4,9—12,4 %, в загущенных — 10—25,3 %. Наименьший коэффициент вариации для длины тела головастиков, по данным Шварца и Пястоловой [345], наблюдается у гомогенных троек (6,8; 16,0; 8,7 и 5,2 %).

В работах тех же авторов делается вывод о том, что указанная высокая изменчивость длины тела развивающихся личинок амфибий в условиях повышенной плотности, как правило, сопровождается появлением в популяции определенного числа рекордистов (головастиков, закончивших развитие в рекордно короткие сроки).

Стимуляция развития части особей ярче проявляется в гетерогенных популяциях в сравнении с гомогенными (имеется в виду смешение головастиков разных кладок).

«Большое количество изученных видов — писал академик С. С. Шварц,— позволяет утверждать, что у *Anura* повышение плотности популяций далеко не всегда тормозит развитие животных. В очень многих случаях повышение плотности ускоряет развитие. При этом животные завершают метаморфоз при исключительно мелких размерах тела» [343, с. 118].

«Можно было бы, следовательно, ожидать существования популяционных механизмов, направленных на максимальное использование жизненных ресурсов при повышении численности популяций. Особое значение подобные механизмы должны иметь у животных, проходящих развитие в разных средах, при практически неограниченном жизненном пространстве взрослых особей и ограниченном — личинок. Подобная ситуация характерна для громадного числа насекомых и амфибий... Важнейшим из таких механизмов является метаболическая регуляция скорости роста и развития животных, обеспечивающая максимальный выход взрослых особей при любой плотности популяций личинок и, что самое главное, гарантирующая поддержание оптимальной структуры популяции... Такая регуляция скорости роста и развития генетически и физиологически приводит к снижению конкуренции и снижению смертности при высокой плотности, к максимальному повышению общей гетерогенности популяций взрослых животных» [343, с. 118].

Полученные в наших опытах данные позволяют представить механизм возникновения дифференциального роста и развития внутри популяций, обеспечивающий это максимальное повышение ее общей генетической гетерогенности.

Результаты изучения стадио-, видо- и кладоспецифичного действия на амиталрезистентное и амиталчувствительное окисление в тканях личинки со стороны водной среды головастиков и ее химических компонентов (см. табл. 63, 69—71, 73—74) показывают, что именно специфическое и дифференцированное ингибирование (или стимулирование) этих двух типов окисления, поразному связанных с ростом и развитием личинок амфибий, обеспечивает поочередность развития и поддержание численности в популяции при сохранении высокой степени ее генетической разнородности.

Противоречивость результатов по выявлению причин торможения или стимуляции роста и развития водных животных в популяциях разной плотности, описанная нами на основе литературных данных, позволяет считать правильным наш вывод о существовании множества механизмов, с которыми связано действие водной среды на обмен головастиков в популяции. Эта же противоречивость результатов зоологических экспериментов убеждает нас в важности и своевременности вывода о наличии сложных эколого-биохимических отношений между особями в популяции, о способности отдельной личинки по-разному и с помощью разных метаболитов действовать на метаболизм окру-

жающих ее особей, в зависимости от индивидуальных ее особенностей и свойств популяции, частью которой она является.

Необходимо добавить, что, используя большой опыт работы по изучению влияния водной среды из популяций водных животных на их рост и развитие, при исследовании биохимической специфики адаптации популяций амфибий мы разработали новый эффективный экспресс-метод обнаружения стадио-, видо- и кладоспецифичного действия водной среды. Разработка этого метода (определение стадио-, видо- и кладоспецифичного действия на эндогенную активность оксидаз в сочетании с определением того же влияния на выживаемость интактных личинок в условиях гипоксии и два типа окисления), одновременное применение метода полного факторного эксперимента (математическое планирование) позволили перейти к качественно новому этапу исследования роли продуктов жизнедеятельности животных в адаптации популяций.

Получив возможность выявлять стадио-, видо- и кладоспецифичное действие водной среды на обмен отдельной личинки в сжатые сроки, в зависимости от суммы тех факторов, каждый из которых изучался зоологами в отдельности в условиях продолжительных опытов и только на морфологическом уровне, мы смогли начать изучение природы и биохимического механизма действия непосредственно тех компонентов водной среды, которые ответственны за ее стадио-, видо- и кладоспецифичный эффект. Именно этот эффект связан с поддержанием генетической разнородности популяций [343] и представляет наибольший интерес для зарождающейся биохимической экологии.

Применение такого комплексного подхода, как использование методов фракционирования водной среды (последовательное освобождение ее от микроскопических биологических объектов, низкомолекулярных компонентов, белков разного типа и молекулярной массы), экспресс-методов определения специфичности действия указанных фракций на обмен головастиков (в зависимости от индивидуальных характеристик и групповых при постановке опытов по планам многофакторного эксперимента) и современных иммунохимических методов (для выявления принадлежности активных фракций к экзометаболитам животных конкретного вида) открывает, как нам кажется, новые перспективы для успешного изучения популяционных закономерностей, для научно обоснованного поиска естественных регуляторов численности в популяциях промысловых животных и полезных для человека сельскохозяйственных растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комплексные эколого-биохимические исследования на уровне вида, подвида, генетического варианта и популяции с помощью современных биохимических и биофизических методов, включая иммунологические и методы математического планирования эксперимента, позволяют предположить, что, несмотря на общность, в механизмах биохимической адаптации всех изученных нами экологических групп, на каждом высшем биологическом уровне интеграции обнаруживается явная специфика.

Адаптация видов, слабо и значительно морфологически дифференцированных, с разной эволюционной судьбой (*M. oeconomus, M. middendorfi, M. gregalis, M. juldaschi*) так же, как адаптация популяций амфибий рода *Rana* на стадии их личиночного развития, связана, как показывают наши данные, с изменениями в активности и свойствах окислительных ферментных систем, интенсивности и эффективности аэробного и анаэробного окислительного метаболизма (дыхания и гликолиза).

Однако особенности экологических групп, к которым относятся исследованные нами животные, индуцируют своеобразие изменений в указанных звеньях метаболизма при адаптации вида, подвида и популяции (включая генетические варианты как внутрипопуляционные группировки).

Полевки, принадлежащие к виду с большим ареалом и отчетливо выраженной внутривидовой морфологической дифференциацией, при адаптации к холоду используют энергетический обмен менее эффективно и, следовательно, менее экономно (аэробный гликолиз скелетных мышц не принимает активного участия в синтезе дополнительных количеств АТФ; анаэробный гликолиз включается после исчерпания возможностей аэробного окисления; повышение окислительного фосфорилирования в печени не сопровождается подавлением синтеза митохондриального белка; мышечные оксидазы при охлаждении животного повышают активность при действии тироксина, снижая уровень фосфорилирующего окисления и, соответственно, синтез макроэргических соединений).

Полевки, принадлежащие к виду с узким ареалом и малой степенью дифференциации, адаптируются к холоду за счет повышения эффективности энергетического обмена (обладают повышенной способностью к окислительному синтезу АТФ,

имеют лактатдегидрогеназу с более широким диапазоном действия, осуществляют мощный гликолиз в скелетных мышцах при пониженном синтезе митохондриального белка печени и высоком уровне окисления сукцината в данном органе, имеют сукцинатдегидрогеназу, способную активировать субстрат в условиях пониженных энергетических затрат, и мышечные оксидазы, не повышающие активность под влиянием тироксина, что способствует поддержанию окислительного фосфорилирования на высоком стабильном уровне).

Таким образом, биохимическая дифференциация внутри вида как способ его адаптации в разнообразных условиях внешней среды, обеспечивающий поддержание оптимальной численности и структуры, в процессе эволюции может приобретать принципиально разную направленность. Появление внутри вида популяций, особи которых при адаптации изменяют свой окислительный обмен по типу исследованной нами полевки-экономки, получая дополнительную энергию, менее эффективно (при повышении скорости процессов окисления, активности ферментов, их концентрации) способствует адаптации вида в целом за счет разнообразия форм внутри него, возникновения новых подвидов.

Появление популяций, особи которых приобретают способность адаптироваться с меньшими тратами энергии, по типу исследованных нами полевок Миддендорфа, знаменуют собой качественно иное изменение в структуре вида. В результате возникновения адаптивных реакций нового типа, связанных с изменениями в свойствах ферментных систем (а отсюда и эффективности окислительного обмена — дыхания и гликолиза) появляется способность к репродуктивной изоляции, возникает тканевая несовместимость при скрещивании животных, из недр предковой формы вида вычленяется новый вид (группа популяций или отдельная популяция преобразуется в самостоятельный вид). Такими адаптивными биохимическими реакциями, участвующими в процессе видообразования, как показывают наши данные, могут быть: расширение диапазона функционирования мышечных лактатдегидрогеназ, синхронизация активации гликолиза в скелетной мускулатуре и фосфорилирующего окисления сукцината в печени на фоне подавленного синтеза митохондриального белка, понижение чувствительности мышечных оксидаз к тироксину и энергии активации сукцинатдегидрогеназы.

При адаптации изученных популяций амфибий функционирование оксидаз, гликолиза и двух типов аэробного окисления находится под влиянием экзометаболитов. Направленность и степень изменения окислительного метаболизма отдельной личинки зависят от комплекса индивидуальных и популяционных характеристик (стадии развития головастика, его возраста, систематического положения и плотности популяции, ее структуры, степени генетического родства между личинками).

Водная среда головастиков, специфично и дифференцированно влияя на указанные звенья обмена каждой личинки, индуцирует поочередность роста и развития, обеспечивая таким путем сохранение оптимальной численности популяции в условиях сохранения ее генетической разнородности. В данном экзометаболическом популяционном механизме адаптации принимают участие белки.

Таким образом, при адаптации популяции так же, как при адаптации вида, используется биохимическая дифференциация. Но в популяции она происходит на стадии личиночного развития и связана с адаптивными биохимическими реакциями, которые обеспечивают рост и развитие личинок. При этом дифференциация данных реакций (направленность их изменений) осуществляется под контролем регулирующих, специфически действующих экзобелков. Полученные выводы относятся к специфике биохимической адаптации конкретных изученных нами видов и внутривидовых групп. Необходимы эколого-биохимические исследования большего числа близких видов с разной степенью внутривидовой дифференциации, изучение экзометаболической регуляции в популяциях не только амфибий, но и других водных и наземных животных.

Основной результат настоящей работы — экспериментальное обоснование существования взаимовлияния групповых биотических параметров и метаболизма отдельного организма, выявление адаптивной значимости этого взаимовлияния по отношению к особи и группе.

Каждый организм в естественных условиях обитает как часть экологической группы (системы). Изучение взаимосвязей этой части и целого, организма и групповых экологических характеристик на биохимическом и молекулярном уровне, включая исследование природы и механизма действия экзометаболитов, участвующих в адаптации особи и групп, дает основание рассматривать данное направление как биохимическую экологию — одно из новых перспективных направлений на стыке современной экологии и биохимии[1].

В популяции имеет место и дифференциация в появлении у разных внутрипопуляционных групп (в частности, генетических вариантов, или морф), по аналогии с видом, адаптивных биохимических реакций, в энергетическом отношении неоднозначных, связанных с окислительным обменом разной эффективности (см. гл. 2). Обнаруженная в наших исследованиях дифференциация в усилении эффективности окислительного обмена внутри исследованных видов полевок и популяций мол-

[1] Правомерна, по-видимому, и более общая формулировка: биохимическая экология как изучение физико-химических основ функционирования надорганизменных систем.

люсков расширяет представления о биохимических механизмах видообразования.

Ряд биохимических показателей повышенной эффективности окисления, значение которых для естественного отбора показано в описанных сериях, может быть рекомендован для селекции сельскохозяйственных животных, при отборе высокопродуктивных и наименее прихотливых к условиям кормления особей. Те же биохимические показатели эффективности и интенсивности окислительного обмена (апробированные нами биохимические адаптивные реакции с разной энергетической стоимостью) могут быть использованы для решения вопроса о дивергенции близких форм животных неясного таксономического ранга.

Обнаруженное влияние водной среды из популяций головастиков и ее белков на скорость регенерации в поврежденных тканях, а также эффект Пастера (что связано с регуляцией «ракового» обмена) и непосредственно на рост опухолевых клеток в тканевых культурах могут найти применение в исследованиях медико-биологического плана, при разработке методов повышения эффективности лечения ожоговых травм, в борьбе с злокачественным ростом в тканях.

Выявление участия иммунологически активных экзобелков в адаптации популяций амфибий открывает возможности для параллельного взаимообогащающего исследования их химической природы и механизма действия в целях управления численностью в естественных популяциях и повышения эффективности методов диагностики и лечения сердечно-сосудистых и некоторых гельминтозных заболеваний.

Выделение и дальнейшее изучение химической природы обнаруженных нами регулирующих обмен экзобелков может стимулировать научно обоснованный поиск новых, физиологически активных и в биоценотическом отношении безвредных веществ для борьбы с вредителями сельского хозяйства.

Наконец, опыт применения комплекса методов при изучении ряда проблем в современной экологии открывает широкие перспективы для продолжения исследований физико-химических основ экологических процессов, не исключая и такие области биологии, как экологическая и эволюционная биохимия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев В. Т. Методы определения концентрации белка // Вопр. мед. химии. 1977. Вып. 4. С. 35.

2. Агол В И. Проблема специфичности углеводного и окислительного обмена в опухолевой ткани // Успехи соврем. биологии. 1960. Т. 1, вып. 1. С. 37—53.

3. Адлер Ю. П., Грановский Ю. В. Обзор прикладных работ по планированию эксперимента. М.: Изд-во МГУ, 1967. 96 с.

4. Аккерман Ю. М. Биофизика. М.: Мир, 1964. 683 с.

5. Алпатов В. В. Среда и рост животных // Рост животных. М., 1936. С. 326—366.

6. Антоненко В. В. Аутологичные поражения сердца, воспроизводимые гомологичным органоспецифическим антигеном // Здоровье. Киев, 1969. Т. 4. С. 101—106.

7. Антонов А. С. Геносистематика. Достижения, проблемы и перспективы // Успехи соврем. биологии. 1974. Т. 17, вып. 2. С. 31—47.

8. Антонов А. С., Белозерский А. Н. Сравнительно-систематическое исследование состава нуклеиновых кислот животных и его связи с составом синтезируемых белков // Функциональная биохимия клеточных структур. М., 1970. С. 72.

9. Асатиани В. С. Новые методы биохимической фотометрии. М.: Наука, 1965. 543 с.

10. Афанасьев А. М. Зоогеография Казахстана. Алма-Ата: Изд-во АН Каз. ССР, 1960. 259 с.

11. Ахметов И. З., Туракулов Я. Х., Хайрутдинов Х. Ш. Функции щитовидной железы грызунов в условиях жаркого климата // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1977. Т. 13, № 3, С. 350.

12. Ашмарин И. П., Камышевцова Ю. Е., Конарев В. Г. и др. Иммунохимический анализ белкового состава хроматинов крысы и лягушки // Там же. 1975. Т. 11, № 5. С. 515.

13. Баженов Ю. Н. О терморегуляции у лемминга *Lemmus obensis* в покое и при мышечной деятельности // Там же. 1971. Т. 7, № 5. С. 540—542.

14. Бак З. Химическая защита от ионизирующей радиации. М.: Атомиздат, 1968. 263 с.

15. Банников А. Т. Об особенностях в сроках размножения и развития бесхвостых земноводных различных биологических групп // Учен. зап. Моск. гос. пед. ин-та им. В. П. Потемкина, 1957. Т. 65, вып. 6. С. 85.

16. Банников А. Т., Деревский Н. Е., Ищенко В. Г. Определитель земноводных и пресмыкающихся. М.: Просвещение, 1977. 414 с.

17. Барац С. С., Голод И. С., Степанова З. Л. и др. Иммунологические реакции к миокарду у лиц с неблагоприятной по атеросклерозу наследственностью // Биохимическая экология и медицина Свердловск, 1978. С. 49—55.

18. Барбашева З. И., Васильев П. В., Перминова В. Р. и др. Резистентность белых мышей к перегрузкам и цианидам, гликолиз в тканях головного мозга при кратковременной адаптации к гипоксии // Физиол. журн. СССР. 1959. № 7. С. 837.

19. Барбашева З. И., Григорьев Т. М., Васильева В. В. О тканевом факторе в адаптации к гипоксии // 10-й съезд Всесоюзного физиологического общества им. Н. П. Павлова: Реф. докл. М.; Л., 1964. Т. 1. С. 156.

20. Барбашева З. И., Персианова В. Д. Изменения содержания фетального гемоглобина в крови белых крыс в процессе адаптации к гипоксии // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1969. Т. 5, № 6. С. 589.

21. Барбашева З. И., Симановский Л. Н., Хавкина И. В. Фазовые изменения энергетического обмена в тканях и клетках животных в период адаптации к гипоксии // Материалы 10-й научной конференции по физиологии, морфологии, биомеханической и биохимической мышечной деятельности. М., 1968. Т. 1. С. 41.

22. Барбье М. Введение в химическую экологию. М.: Мир, 1978. 229 с.

23. Башенина Н. В. Интерьерные показатели мелких грызунов и их связь с уровнем энергетического обмена // Учен. зап. Перм. гос. пед. ин-та. 1969. Т. 79. С. 75—116.

24. Бекметов Н. Х., Торочетников Н. С., Ким Лин Зу. Исследования водной промывки фосфоритов Каратау от глин и суглинков // Технология неорганических веществ, процессы и аппараты, кибернетика химических процессов. М., 1973. С. 27—29.

25. Белицер В. А., Цыбакова Е. Т. О механизме фосфорилирования, сопряженного с дыханием // Биохимия. 1939. Вып. 4. С. 516.

26. Белоусова А. А. Исследования способности зеленой серобактерии к фотогетеротрофному росту: Автореф дис. ... канд. биол. наук. М., 1970. 50 с.

27. Бельская И. П., Войтенко Н. Н. Влияние дегидратации и белковой нагрузки на активность желудочной уреазы у мышей // Физиологические механизмы адаптаций животных в условиях засушливых и аридных зон. Новосибирск, 1970. С. 146.

28. Березовский В. А. Теплообразование в тканях центральной нервной системы как показатель ее функционального состояния // Физиол. журн. СССР. 1963. № 2. С. 192—199.

29. Берри Р. Дж. Изменчивость у млекопитающих: основные концепции и проблемы // Успехи современной геронтологии. М., 1977. С. 5—25.

30. Бишимбаев В. К., Токин И. Н., Кузнецова А. Г., Ахназарова С. Л. Исследования процесса окисления сульфита калия в сульфат в реакторе с мешалкой // Технология неорганических веществ, процессы и аппараты, кибернетика химических процессов. М., 1973. С. 47—49.

31. Бобринский Н. А., Кузнецов Б. А., Кузякин А. П. Определитель млекопитающих СССР. М.: Просвещение, 1955. 382 с.

32. Богомбекова А. Резистентность скелетных мышц и содержание в них гемоглобина у акклиматизированных к высокогорью и тренированных к мышечной работе белых крыс // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1968. Т. 4, № 1. С. 42—46.

33. Богоявленская Н. В., Доброхотов В. Н. Влияние адреналина на митотическое деление, дыхание и гликолиз в роговице и слизистой кишечника // Болг. эксперим. биология и медицина. 1958. Т. 46, вып. 8. С. 104.

34. Бойд Р. Основы иммунологии. М.: Мир, 1969. 234 с.

35. Большаков В. Н. К вопросу об адаптации млекопитающих к горным условиям // Журн. общ. биологии. 1967. Т. 28, № 3. С. 341—345.

36. Большаков В. Н. Опыт экологического анализа путей приспособления мелких млекопитающих к горным условиям: Дис. ...д-ра биол. наук. Свердловск, 1968. 719 с.

37. Большаков В. Н. Основные пути приспособления мелких млекопитающих к горным условиям // Общие вопросы экологической физиологии: Температура среды и энергетика животного организма: Тез. докл. V всесоюз. конф. по экол. физиологии. Фрунзе, 1977. С. 193—194.

38. Большаков В. Н. Пути приспособления мелких млекопитающих к горным условиям. М.: Наука, 1972. 200 с.

39. Большаков В. Н. Сравнительная характеристика некоторых экологических и морфологических признаков мелких млекопитающих в северных

и южных районах их ареалов // Вопросы зоологии (Материалы совещания зоологов Сибири, 22—26 нояб. 1966 г.). Томск, 1966. С. 176—177.

40. Большаков В. Н., Васильев И. А., Обидина В. А. Изменчивость строения M^3 памирской и арчевой полевки, их гибридов (*Rodentia Microtinae*) // Зоол. журн. 1975. Т. 54, вып. 12. С. 1900—1903.

41. Большаков В. Н., Покровский А. В. О степени репродуктивной изоляции между памирской (*Microtus juldaschi* Severtzov) и арчевой (*M. carruthersi* Thomas) полевками // Докл. АН СССР. 1969. Т. 188, № 4. С. 940—941.

42. Большаков В. Н., Россолимо О. А., Покровский А. В. Систематический статус памиро-алтайских горных полевок группы *Microtus juldaschi (Mammalia cricetidae)*// Зоология мира. 1969. Т. 48, вып. 7. С. 1079—1089.

43. Бородюк В. П., Мирков И. М. Получение математического описания методами пассивного и активного экспериментов // Журн. МЭИ. 1963. Вып. 51. С. 62.

44. Бояринов А. Н., Кафаров В. В. Методы оптимизации в химической технологии. М.: Химия, 1975. 575 с.

45. Броди А. Ф., Рассел Дж. Промежуточные продукты, образующиеся при энзиматическом восстановлении витамина K_1, и их возможная роль в окислительном фосфорилировании // V Международный биохимический конгресс. V симпозиум: Реф. секции. М., 1962. С. 100.

46. Бронштейн А. А., Крестинская Т. В. Гистохимическое исследование активности сукцинатдегидрогеназы в митохондриях покоящихся и возбужденных нейронов спинальных ганглиев // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. 1961. Т. 40, вып. 5. С. 39—46.

47. Васадзе Т. Ш., Хатиашвили В. Г., Чилия С. М. Планирование экспериментов и обобщенный критерий в задаче поиска оптимальных режимов консервации сердца комбинированным методом нормотермической перфузии и бесперфузионной гипотермии // Биологическая и медицинская кибернетика. М., 1974. Ч. 5. С. 106—110.

48. Вейнесланд Б. Пиридиннуклеотиды в биологическом окислении // V Международный биохимический конгресс. V симпозиум: Реф. секц. М., 1962. С. 48.

49. Вержбинская Н. А. Изменение ферментных систем энергетического обмена мозга в эволюционном ряду позвоночных животных // Биохимия нервной системы. Киев, 1954. С. 193.

50. Вержбинская Н. А. Окислительное форсфорилирование в мозгу позвоночных in vivo // Фосфорилирование и функция. Л., 1960. С. 265—273.

51. Вержбинская Н. А. Окислительное фосфорилирование в мозгу позвоночных животных на разных этапах эволюций // V Международный биохимический конгресс. V симпозиум: Реф. секц. М., 1962. С. 403.

52. Вержбинская Н. А., Савкина М. В. Гликолиз и его регуляция в мышцах холоднокровных позвоночных // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1965. Т. 5, № 2. С. 234.

53. Вигоров Ю. Л. Поведенческие и физиологические особенности двух подвидов узкочерепной полевки // Тез. Всесоюзн. науч. конф. зоологов педвузов. Пермь, 1976. С. 210—212.

54. Вильямс Р. Биогенез продуктов конъюгации и детоксикации // Биогенез природных соединений. М., 1965. С. 368.

55. Винников Я. А., Титова Л. К. Наличие и распределение сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы в кортиевом органе животных, находящихся в состоянии покоя и условиях звукового воздействия // Докл. АН СССР. 1958. Т. 122, № 5. С. 921—924.

56. Винников А. Я., Титова Л. К., Бронштейн А. А. и др. Активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях некоторых клеток, находящихся в состоянии относительного покоя и возбуждения // Памяти О. Н. Насонова: Вопр. цитологии и общей физиологии. М.; Л., 1960. С. 61—67.

57. Виноградов А. Д. Ингибирование окисления янтарной кислоты оксалоацетатом // Биохимия. 1967. Вып. 32. С. 1271—1277.

58. Виноградов А. Д. Окисление сукцината и обратный транспорт электронов в дыхательной цепи: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1967. 50 с.

59. Виноградов Б. С., Агриропуло А. И. Определитель грызунов. М.: Изд-во АН СССР, 1941. 260 с.

60. Виноградов Б. С., Громов И. М. Грызуны фауны СССР. М.; Л: Изд-во АН СССР, 1952. Вып. 48. 296 с.

61. Виноградова Е. Н., Галлай З. А., Финогенова А. З. Методы полярографического и амперометрического анализа. М.: Изд-во МГУ, 1963. 299 с.

62. Вихерт А. М. Экспериментальные аутоиммунные кардиомиопатии у нескольких поколений животных // Кардиология. 1977. № 4. С. 126—132.

63. Владимиров Г. Е. Функциональная биохимия мозга. М.: Наука, 1954. 150 с.

64. Войтенко Н. Н. Участие желудка в адаптации организма к недостатку воды у грызунов // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1971. Т. 17, № 5. С. 163.

65. Высочина Т. К. Содержание воды, натрия и калия в мышцах с разной функциональной активностью у мелких грызунов // Физиологические механизмы адаптаций животных к условиям засушливой и аридной зоны. Новосибирск, 1970. С. 158—165.

66. Вязов О. Е. Иммунология эмбриогенеза. М.: Медгиз, 1962. 328 с.

67. Вязов О. Е. Лабораторная иммунология. М.: Наука, 1962. 328 с.

68. Вязов О. Е., Конюхов Б. В., Литвин Л. А. Капиллярный метод реакции преципитации в агаре // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1959. № 5. С. 117—119.

69. Гацура В. В. Иммунологические сдвиги при введении гемокардионального антигена животным с экспериментальным инфарктом миокарда // Кардиология. 1974. № 9. С. 26—31.

70. Геворкян Ю. М. О влиянии термической гипоксии на содержание гликогена в тканях крыс // Здравоохранение Туркменистана. 1966. № 5. С. 27—30.

71. Гейровский Я. М. Основы полярографии. М.: Наука, 1967. 172 с.

72. Гейровский Я. М. Техника полярографического исследования. М.: Изд-во АН СССР, 1951. 172 с.

73. Гефтер Ю. М., Борщов Л. И., Добринская Н. А. Влияние кислородной недостаточности на обмен веществ в мышцах // Тез. докл. Всесоюзн. конф. по мышечной биохимии. М.; Л., 1966. С. 35.

74. Глазова Т. Л. Физиологическая и биохимическая характеристика крови гренландского тюленя. // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1977. Т. 13, № 3. С. 362—366.

75. Глотов Н. А. Окислительные процессы в митохондриях при гипоксии и их коррекция глутаминовой кислотой: Дис. ... д-ра мед. наук. Свердловск, 1972. 345 с.

76. Голозубова Г. А., Воробьева Л. И., Максимов В. Н. Оптимизация среды для получения витамина B_{12} методом математического планирования // Прикл. биохимия и микробиология. 1970. Т. 6, вып. 4. С. 375—382.

77. Грановский Ю. В., Никишева В. В., Адлер Ю. П. и др. Отсеивающие эксперименты при изучении экстракции циркония трибутилфосфатом // Завод. лаб. 1963. Т. 29, № 3. С. 321—327.

78. Грин Л. Е. Строение и функция митохондрий. Структурные компоненты клетки. М.: Наука, 1962. 78 с.

79. Грин Л. Е., Флейшер С. Молекулярная организация биологических преобразующих систем // Горизонты биохимии. М., 1964. С. 293.

80. Громов М. И., Поляков И. Я. Фауна СССР: Млекопитающие. Л.: Наука, 1977. Т. 3, вып. 8. 504 с.

81. Гусев М. В., Федоров В. Д. Изучение состояния морфологически дифференцированных клеток в развивающихся культурах синезеле-

ных водорослей с помощью трифенилтетразолий хлорида // Микробиология. 1962. Т. 31, № 3. С. 478.

82. Гусева Л. А. Изменение некоторых окислительных процессов при адаптации к холоду //Теплообразование в организме. Киев, 1964. С. 58—60.

83. Гусева Э. П., Логинова Л. Т. Дегидразная активность термотолерантных дрожжей *Sacharomyces Cerevisoae* при различном значении pH среды // Там же. 1963. Т. 32, № 5. С. 783—784.

84. Дедухова В. И., Мохова Е. И. Выбор условий полярографической регистрации дыхания гомогената мозга // Биол. науки. 1971. № 4. С. 129—137.

85. Дементович Е. Н. Некоторые физиологические механизмы приспособления организма к кислородной недостаточности // Физиология и патология дыхания, гипоксия и оксигенотерапия. Киев, 1958. С. 67—70.

86. Дементьев Г. П. Концепция целостности организма и некоторые задачи систематики // Зоол. журн. 1946. Т. 25, вып. 6. С. 16—20.

87. Дерибас В. И., Ливчак Г. Б., Филиченко Р. Е., Тошенко К. А. Физиологические и гистохимические исследования скелетных мышц белых крыс в процессе холодовой адаптации // Физиологические адаптации к теплу и холоду. Л., 1969. С. 186—188.

88. Детерман Г. Гельхроматография. М.: Мир, 1970. 252 с.

89. Джамилов М. Изменения тканевого дыхания и общего газообмена у крыс и сусликов при голодании различной продолжительности // Физиологические механизмы адаптации животных в условиях засушливых и аридных зон. Новосибирск, 1970. С. 177—182.

90. Добринская Л. А. Внутривидовая дифференциация сеголеток карпа // Информ. материалы Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР. Свердловск, 1977. С. 26—27.

91. Добринская Л. А., Следь Т. В. Рост мальков карпа в экспериментальных условиях // Экология. 1974. № 6. С. 62—68.

92. Долинин В. А. Некоторые особенности адаптации рептилий к условиям пустыни // Физиологические механизмы адаптаций животных к условиям засушливой и аридной зоны. Новосибирск, 1970. С. 150—165.

93. Долинин В. А., Осипов В. Ф. Влияние гипоксии на газообмен щуки *Esox lucus* // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1971. Т. 7., № 5. С. 202—206.

94. Дунаева Г. Н. Сравнительный обзор экологии тундровых полевок полуострова Ямал // Тр. Ин-та географии АН СССР. 1948. Т. 41. С. 78—143.

95. Дюбо Р. Биохимические факторы в микробных заболеваниях. М.: Изд-во иностр. лит., 1957. 150 с.

96. Дювис Д., Христиан Д. Популяционная регуляция у млекопитающих // Первый международный технологический конгресс. М., 1974. Т. 1—2. С. 201—204.

97. Еремина О. П., Петрова Н. Н. О приготовлении эталонов для спектрального анализа биологических проб // Материалы VII Уральской конференции по спектроскопии. Свердловск, 1971. Вып. 4. С. 50.

98. Жуков В. В. Иммунологические взаимоотношения некоторых форм в подсемействе Microtinae // Экспериментальные исследования проблемы вида. Свердловск, 1973. С. 74—94. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР; Вып. 86).

99. Завада Н. Ф. Общая активность, теплоустойчивость и коэффициент Вант-Гоффа сукцинатдегидрогеназы в некоторых тканях полевок с разной степенью специализации // Биохимические аспекты некоторых проблем популяционной экологии. Свердловск, 1978. С. 51—63. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР; Вып. 12).

100. Завада Н. Ф., Павлов Г. П. Географическая изменчивость лактатдегидрогеназы и ее изоэнзимов у узкочерепной полевки в условиях экстремального охлаждения // Математическое планирование эксперимента в биологических исследованиях. Свердловск, 1975. С. 121—125. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР; Вып. 97).

101. Заславский В. Г., Аличенкова А. М. Цитохимическое изу-

чение активности сукцинатгидрогеназы в культивируемых вне организма клетках // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1961. Т. 51, № 1. С. 91—93.

102. Иванов И. И. Химическая динамика мышц и подвижных клеток. М.: Наука, 1950. 280 с.

103. Иванова А. Е., Курнакова И. И. Некоторые цитохимические исследования легочной ткани // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. 1960. Т. 39, № 12. С. 93—99.

104. Иванова Л. Н., Лавриненко В. А. Морфофизиологическая характеристика почек грызунов различной экологии при деградации // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1971. Т. 7, № 1. С. 95—98.

105. Иванова Н. И. Сравнительное изучение роста и развития личинок некоторых видов амфибий в контролируемых условиях: Дис. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1975. 120 с.

106. Ивашкина П. Н. Метод изучения активности свободного дыхания на интактных животных с помощью амитала // Теплообразование в организме. Киев, 1964. С. 30—91.

107. Игрэм Л. Механизмы биохимической регуляции. М.: Мир, 1964. 158 с.

108. Ионетани Т. Цитохромоксидаза // V Международный биохимический конгресс. V симпозиум: Реф. секц. М., 1962. С. 415—429.

109. Исаакян Л. А. Метаболическая структура температурных адаптаций. Л.: Наука, 1972. 113 с.

110. Ищенко В. Г. Динамический полиморфизм бурых лягушек фауны СССР. М.: Наука, 1978. 147 с.

111. Ищенко В. Г. Опыт использования алгометрических уравнений для изучения морфологической дифференциации // Тр. Ин-та биологии УФАН СССР. 1966. Вып. 51. С. 8—15.

112. Ищенко В. Г., Пястолова О. А. О систематике кавказских бурых лягушек // Зоол. журн. 1973. Т. 52, № 11. С. 1733—1734.

113. Калабухов Н. И., Сердюк В. А., Шейкина Н. В. Изменчивость некоторых эколого-физиологических признаков разных популяций азиатского суслика // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1976. Т. 12, № 6. С. 532—537.

114. Карасева Е. В. Геофизические особенности структуры природных очагов лептоспироза (Crippotyphosa) и ареал возбудителя: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М. 1967. 51 с.

115. Карнаухов В. Н., Федоров Г. Г. Распределение каротиноидов в тканях высокогорных грызунов // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1976. Т. 12, № 5. С. 479—480.

116. Карнауш Г. А., Максимов В. Н. Изучение активности смешанных культур водорослей с помощью симплекснорешетчатых планов // Биол. науки. 1971. № 8. С. 132—136.

117. Ковальский В. В., Дубинская Н. И. Исследования аргиназы печени разных видов копытных млекопитающих // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1969. Т. 5, № 5. С. 11—15.

118. Ковальчук Л. В. Особенности окислительного метаболизма хвостатых и бесхвостых амфибий в период постэмбрионального развития: Дис. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1977. 145 с.

119. Ковальчук Л. А., Рункова Г. Г. К вопросу о регуляторных свойствах лиофилизированной водной среды из загущенной популяции головастиков *R. arvalis* // Биол. науки. 1976. № 1. С. 58—61.

120. Ковальчук Л. А., Ястребов А. П. О возможности применения метода полярографии для изучения окислительного обмена земноводных // Биохимические аспекты некоторых проблем популяционной экологии. Свердловск, 1978. С. 31—32.

121. Коган И. Б. Полярографический анализ в промышленно-санитарной химии. М.: Медгиз, 1961. 152 с.

122. Колесникова Г. Г. Опыт получения клеточных культур из эмбриональных тканей человека // Разработка препаратов против вирусных и анаэробных инфекций. Томск, 1976. С. 44—46.

123. Колчинская А. З., Маньковская И. Н., Бухман М. Г., Спахов А. С. О потреблении кислорода мышечной тканью дельфина *Phocaena phocaena* // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1977. Т. 13, № 4. С. 508—509.

124. Кольтгоф И. М., Лингейн Д. Л. Полярография. М.; Л.: Госхимиздат, 1948. 508 с.

125 Кондрашева М. Н. Активация энергетических реакций как причина снижения теплопродукции при усилении восстановительных процессов в связи с деятельностью // Теплообразование и терморегуляция организма в норме и при патологических состояниях. Киев, 1971. С. 69—70.

126. Кондрашева М. Н. Биохимический цикл возбуждения // Митохондрии: Ферментативные процессы и их регуляция. М., 1968. С. 122—131.

127. Кондрашева М. Н. Возможное биологическое значение ограничения окисления сукцината щавелево-уксусной кислотой // Митохондрии: Биохимические функции в системе клеточных органелл. М., 1969. С. 23—29.

128. Кондрашева М. Н. Градации метаболического состояния митохондрий и реактивность ткани // Митохондрии: Структура и функции в норме и патологии. М., 1971. С. 28—40.

129. Кондрашева М. Н. Накопление и использование янтарной кислоты в митохондриях // Митохондрии: Молекулярные механизмы ферментативных реакций. М., 1972. С. 151—156.

130. Кондрашева М. Н. Принципиальные преимущества полярографического метода для изучения тканевого дыхания и пути совершенствования твердых электродов // Материалы к научной конференции по определению напряжения кислорода в живых тканях полярографическим методом в эксперименте и клинике. Горький, 1964. С. 40.

131. Кондрашева М. Н. Регуляция дыхания митохондрий при усиливающемся воздействии на клетку // Биофизика. 1970. № 15. С. 312—322.

132. Кондрашева М. Н., Ананенко А. А. Обследование состояния выделенных митохондрий // Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. М., 1973. С. 106—108.

133. Кондрашева М. Н., Родионова М. А. Субстрат окисления как регулятор энергопродукции в дыхательной цепи // Тр. Всесоюз. биохим. съезда: Симпозиум VII. Ташкент, 1969. С. 241—242.

134. Конюхов Б. В., Аверкина Р. Ф. Сравнительное изучение морфологических и антигенных свойств органов и тканей животных в онтогенезе // Проблемы современной эмбриологии. Л., 1956. С. 317—321.

135. Корнеева Л. А., Титарева Л. Н. Особенности индивидуального роста сеголетков карпа при выращивании их в садках на теплых водах // Сборник по прудовому рыбоводству. М., 1969. С. 75—77.

136. Котельникова А. В., Соломатина В. В., Горская И. А. О содержании аденозинфосфорных кислот в печени и мышцах крыс при отравлении динтрофенолом // Биохимия. 1960. № 25. С. 1085.

137. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии. М.: Высш. шк., 1971. 320 с.

138. Кребс Г., Корнберг Г. Превращение энергии в живых системах. М.: Изд-во иностр. лит., 1959. 137 с.

139. Крепс Е. М. Об эволюции морфофизиологической и эволюции биохимической // Там же. 1976. Т. 12, № 6. С. 493—502.

140. Крепс Е. М. Фосфолипиды клеточных мембран нервной системы в развитии животного мира. Л.: Наука, Ленингр. отд-ние, 1967. 205 с.

141. Крепс Е. М., Аврова Н. Ф., Красильникова В. И. и др. О биохимии липидов мозга осетровых рыб Acipenseridae // Там же. 1975. Т. 11, № 3. С. 233—240.

142. Крепс Е. М., Красильникова В. И., Патрикеева М. В. и др. Фосфолипиды внутриклеточных частиц и миелиновых оболочек мозга в ряду позвоночных // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1968. Т. 4, № 3. С. 211—223.

143. Крепс Е. М., Смирнова А. А., Четвериков Д. Д. Новые данные по сравнительному изучению фосфорного обмена в разных отделах

мозга и при разных функциональных состояниях, вызванных кислородным голоданием мозга // Биохимия нервной системы. Киев, 1954. С. 125—138.
144. Кретович В. Д. Введение в энзимологию. М.: Наука, 1967.
145. Кривошеев В. Г. Северо-сибирская полевка. Полевка Миддендорфа // Млекопитающие Якутии. М., 1971. С. 337—342.
146. Кривошеев В. Г., Красильников И. Н. Об интерьерных особенностях мышевидных грызунов Якутии // Зоол. журн. 1966. Т. 45, вып. 7. С. 28—35.
147. Крюкова Г. А., Синякова С. И., Арефьева Т. В. Полярографический анализ. М., 1959. 772 с.
148. Кряжева К. В. Влияние плотности посадки на рост, изменчивость и выживаемость молоди гибридных карпов // Изв. Всесоюзн. ин-та озерного и речного рыбного хозяйства. Л., 1966. Вып. 1. С. 105—108.
149. Куклин В. Т., Бутомо И. В., Розин О. С. и др. Генетические и биохимические исследования ихтиоза // Тез. докл. XI генетического международного конгресса. М., 1978. С. 335.
150. Куплетская М. Б., Максимов В. Н., Касаткина Т. Б. Подбор среды для биоциноза грамицидина с помощью метода крутого восхождения // Прикл. биохимия и микробиология. 1969. Т. 5, вып. 5. С. 541—548.
151. Курохтина Т. П., Малкиман И. И., Парфенова З. Изменение содержания в коре головного мозга фосфокреатина и аденозинтрифосфата при анемии // Укр. биохим. журн. 1950. Т. 22, № 1. С. 85—88.
152. Кушнарев В. М., Благовещенский В. А. Влияние замораживания-высушивания на сукциндегидрогеназную активность бактерий // Микробиология. 1961. Т. 26, вып. 4. С. 688—690.
153. Кушнарев В. М., Благовещенский В. А. Характеристика сукциндегидразной активности кишечной палочки в зависимости от устойчивости к замораживанию и высушиванию // Там же. 1963. Т. 32, вып. 1. С. 17—19.
154. Ларский Э. Методы зонального электрофореза. М.: Медицина, 1971. 112 с.
155. Левачев М. М., Мишукова Е. Д., Сивкова В. Г., Скулачев В. П. Энергетический обмен голубя при самосогревании после гипотермии // Биохимия. 1965. Т. 30. С. 864—873.
156. Ленинджер А. Биохимия: Молекулярные основы структуры и функция. М.: Мир, 1974. 957 с.
157. Ливчак Г. Б. Дыхание тканей и органов грызунов в связи с размерами тела и экологическими особенностями видов // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1975. Т. 11, № 4. С. 340—342.
158. Ливчак Г. Б. К характеристике тканевого дыхания у грызунов в условиях дефицита воды в пище // Физиологические механизмы адаптации животных в условиях засушливых и аридных зон. Новосибирск, 1970. С. 167—169.
159. Ливчак Г. Б. Материалы к эколого-физиологической характеристике млекопитающих Заполярья // Проблемы флоры и фауны Урала. Свердловск, 1960. С. 179—191. (Тр. Ин-та экологии растений и животных; вып. 14).
160. Ливчак Г. Б. О физиологических механизмах холодовой акклимации полевок // Физиологические адаптации к холоду, условиям гор и Субарктики. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние. 1975. С. 104—107.
161. Ливчак Г. Б., Уманцева Н. Д. Общий и тканевый газообмен полярных полевок // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1974. Т. 10, № 6. С. 603—609.
162. Лисенков А. Н. Применение методов планирования эксперимента при исследовании медико-биологических объектов с дрейфом // Биологическая и медицинская кибернетика. Ч. 5. Прикладные вопросы биологической и медицинской кибернетики. М.; Л., 1974. С. 165—170.
163. Лихарев И. М., Раммельмейер Е. С. Наземные моллюски фауны СССР: Определители. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1952. 512 с.

164. Лошаков Ю. Т. Определение общего числа бактерий в воде на мембранных ультрафильтрах с применением трифенилтетразола // Гигиена и санитария. 1962. № 11. С. 48—49.

165. Луганова И. С., Сейц И. Ф. Гликоген в лейкоцитах человека и его превращения // Докл. АН СССР. 1962. Т. 142, № 8. С. 215—218.

166. Лукьяненко В. И., Попов И. В., Мишин Э. А., Сурналь А. И. Внутривидовая изменчивость фракционного состава сывороточных белков севрюги *Acipenser stellatus* // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1975. Т. 11, № 2. С. 191—193.

167. Лучник Н. В., Тимофеева-Ресовская Е. А. Влияние цианистого калия на смертность облученных животных // Докл. АН СССР. 1957. Т. 116, № 2. С. 407—410.

168. Любимова М. Н. Окислительный ресинтез аденозинтрифосфорной кислоты в лейкоцитах // Биохимия. 1937. Вып. 2. С. 367—382.

169. Мазина Н. К. Об ограничениях и возможностях использования известных методов количественного определения белков при изучении сапропелей, водной среды головастиков и гомогенатов тканей // Биохимическая экология и медицина. Свердловск, 1978. С. 26—34.

170. Майр Э. Популяции, виды и эволюция. М.: Мир, 1974. 461 с.

171. Максимов В. Н. Полиномиальные модели при решении задач экологической физиологии и биохимии // Математическое планирование эксперимента в биологических исследованиях. Свердловск, 1975. С. 3—17. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР; Вып. 97).

172. Максимов В. Н., Федоров В. Д. Применение методов математического планирования эксперимента при отыскании оптимальных условий культивирования микроорганизмов. М.: Изд-во МГУ, 1969. 121 с.

173. Манойлов С. Е. Первичные механизмы биологического действия ионизирующей радиации // Ферменты в экспериментальной и клинической онкологии и радиологии. Л., 1967. Ч. 1. С. 131—140.

174. Манойлов С. Е., Хансон К. П. Влияние экзогенного цитохрома С на окислительное фосфорилирование в митохондриях, выделенных из тканей облученных животных // Вопр. мед. химии. 1964. Т. 10, вып. 4. С. 450—453.

175. Маркова Е. В. Латинские квадраты в планировании эксперимента // Завод. лаб. 1968. № 1. С. 60—65.

176. Маркова Е. В. Руководство по применению латинских планов при планировании эксперимента с качественными факторами. Свердловск: Сред.-Урал. кн. изд-во, 1971. 154 с.

177. Маслов С. П. О самостоятельном значении специфической терморегуляции функции мышц // Теплообразование в организме. Киев, 1964. С. 130—132.

178. Маслов С. П., Ивашкина И. Н. Исследования соотношения свободного и фосфорилирующего дыхания с помощью амитала // Вопр. мед. химии. 1964. Т. 10, вып. 1. С. 24—27.

179. Маслов С. П., Ивашкина И. Н. Повышение устойчивости к действию холода и изменение процессов энергетического обмена у белых мышей в результате резких периодических охлаждений // Теплообразование в организме. Киев, 1964. С. 132—135.

180. Медведева М. Н., Саакова Э. О., Горцевская А. А. Вопросы вирусологии и патогенеза респираторных вирусных инфекций. Л., 1970. С. 188—203.

181. Меерсон Ф. З. Общий механизм адаптации и профилактики. М.: Медицина, 1973. 360 с.

182. Меерсон Ф. З., Гомазов О. А. Влияние адаптации к высотной гипоксии и холоду на метаболический эффект норадреналина у крыс // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1970. Т. 6, № 3. С. 276—279.

183. Меерсон Ф. З., Ларионов Н. П. Роль гликолиза в энергетическом обеспечении сократительной функции сердца // Кардиология. 1969. № 1. С. 17—19.

184. Мильман Л. С., Кузяева В. А. Содержание рибонуклеиновой кислоты в митохондриях нормальных и опухолевых тканей // Цитология. 1962. № 4. С. 42—54.

185. Мина М. В., Клевезаль Г. А. Рост животных. М.: Наука, 1976. 291 с.

186. Минаев П. Ф. Влияние аденозинтрифосфата, введенного в мозговые желудочки, на истощенные нервные клетки // Укр. биохим. журн. 1949. № 21. С. 368—370.

187. Миронова Г. Д. Распределение миоглобина и цитохромоксидазы в мышцах в ряду позвоночных // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1969. Т. 5, № 4. С. 375—380.

188. Михалев М. В. Анализ таксономических взаимоотношений в группе Microtinae на основе электрофоретических исследований: Дис. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1970. 118 с.

189. Михлин М. Д. Биохимия клеточного дыхания. М.: Наука. 1960. 450 с.

190. Мишукова Е. А. Гликолиз при терморегуляторном разобщении дыхания и фосфорилирования // Вопр. мед. химии. 1966. Т. 22, № 3. С. 302—309.

191. Моисеев Н. Н. Динамика жира и белка у сеголетков карпа в период зимовки в бассейнах // Физиологические основы повышения продуктивности животных. Новосибирск, 1972. С. 212—213.

192. Мохова Е. Н. Использование различных тканевых препаратов при полярографическом изучении дыхания и сопряженных с ним реакций // Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. М., 1973. С. 125—189.

193. Налимов В. В. Применение математической статистики при анализе вещества. М.: Физматгиз, 1960. 434 с.

194. Налимов В. В., Чернова Н. А. Статистические методы планирования экстремальных экспериментов. М.: Наука, 1965. 340 с.

195. Нейфах С. А. Окислительное фосфорилирование и образование животной теплоты // 9-й съезд Всесоюзного общества физиологов, биохимиков и фармакологов. М.; Минск, 1959. Т. 3. С. 193.

196. Нейфах С. А., Здровская Е. П. Об изменениях фосфоорганического обмена печени при перегревании и экспериментальной лихорадке // Ежегодник ИЭМ. Л., 1956. С. 214—218.

197. Некрасова Л. С. Экспериментальное изучение влияния плотности поселения личинок кровососущих комаров на их рост, развитие и выживаемость: Дис. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1977. 126 с.

198. Николенко И. А Влияние глюкозы на дыхание слизистой желудка // Тр. Сталинабад. мед. ин-та. 1957. Вып. 27. С. 93—96.

199. Новиков В. Гистохимические и цитохимические методы окраски. Методы цитологического синтеза. М., 1957. 94 с.

200. Овсянников Е. Ю., Козлов С. А., Зиновьев Ю. В. Анаэробный гликолиз и устойчивость к кислородному голоданию у кроликов и белых крыс // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1976. Т. 12, № 5. С. 434—437.

201. Овчинникова Н. А. Биологические особенности номинального и северного подвидов полевки-экономки и их гибридов // Вопросы внутривидовой изменчивости наземных позвоночных животных и микроэволюции: Тез. докл. совещ. по внутривидовой изменчивости и микроэволюции. Свердловск, 1964. С. 124.

202. Огнев С. И. Звери СССР и прилегающих стран. М.; Л: Изд-во АН СССР, 1950. Т. 7. 706 с.

203. Одум Е. Экология. М.: Просвещение, 1968. 168 с.

204. Одум Е. Основы экологии. М.: Мир, 1975. 740 с.

205. Островский Д. Н., Гельман Н. С. Определение концентрации кислорода в биологических жидкостях методом полярографии с неподвижным твердым электродом // Биохимия. 1962. Т. 27, № 3. С. 572—576.

206. Павлинин В. Н., Некрасов Е. С. Морфофизиологические осо-

бенности большого суслика в разных частях его ареала // Экология. 1971. № 2. С. 87—89.

207. Палладин А. В. Об обмене веществ в головном мозгу при торможении и возбуждении высшей нервной деятельности // Биохимия. 1952. Т. 17, № 4. С. 457—461.

208. Папанян С. Б. Экология закавказской лягушки в условиях Армянской ССР // Изв. АН Арм. ССР. Биол. науки. 1961. Т. 14, № 10. С. 37—50.

209. Пасынский А. Г. Биофизическая химия. М.: Высш. шк., 1968. 432 с.

210. Пирс Э. Гистохимия. М.: Изд-во иностр. лит., 1962. 477 с.

211. Плохинский Н. А. Биометрия. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1973. 332 с.

212. Покровский А. В. Некоторые вопросы экспериментальной экологии полевок: Дис. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1963. 86 с.

213. Покровский А. В. Скорость роста молодняка полевок в зависимости от времени рождения // Тр. МОИП. Отд. биологии, Урал. филиал. 1967. Т. 25. С. 85—88.

214. Покровский А. А., Абрамчук И. Ф., Бондаренко М. В. и др. К вопросу о денситометрическом анализе изоферментных спектров // Лаб. дело. 1971. № 1. С. 8—12.

215. Покровский А. А., Арчаков А. И. Методы разделения и ферментативной идентификации субклеточных фракций // Современные методы в биохимии. М., 1968. С. 5—8.

216. Покровский А. А., Арчаков А. И., Мухамбетова Л. Х. и др. Дифференцированное определение активности индикаторных ферментов митохондрий, эндоплазматической сети и лизосом как метод изучения состояния мембранных структур // Митохондрии: Структура и функции в норме и патологии. М., 1977. С. 131—137.

217. Покровский А. В., Большаков В. Н. Экспериментальная экология полевок. М.: Наука, 1979. 147 с.

218. Покровский А. В., Гилева З. А., Ищенко В. Г., Михалев М. В. Экспериментальное исследование памирской и арчевой полевок // Экспериментальное исследование проблемы вида. Свердловск, 1973. С. 19—40. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР; Вып. 86).

219. Попова З. И. Быстрый метод дифференциации *S*- и *R*-форм микроорганизмов по их сукциндегидрогеназной активности // Лаб. дело. 1963. № 2. С. 39—41.

220. Пястолова О. А. Полевка-экономка // Млекопитающие Ямала и Полярного Урала. Свердловск, 1971. С. 127—139. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР; Вып. 80).

221. Пястолова О. А. Специфические особенности возрастной структуры популяции полевки-экономки на крайнем северном пределе ее распространения // Материалы совещания «Современные проблемы изучения численности популяций животных». М., 1964. С. 81—82.

222. Пястолова О. А. Эколого-морфологические особенности субарктических популяций полевки-экономки: Дис. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1967. 116 с.

223. Пястолова О. А., Соснин М. И. О физиологической напряженности самцов в период размножения (на примере полевки-экономки и ондатры) // Зоол. журн. 1968. Т. 42, вып. 8. С. 1217—1223.

224. Разумов А. С., Корш П. Е. Обнаружение кишечной палочки в воде при помощи питательных бумажек // Лаб. дело. 1963. № 12. С. 34—37.

225. Рахимов К., Садыков Б. А. Влияние высокой температуры и гидрокортизона на амилолитическую инвертазную активность слизистой тонкой кишки крысят // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1975. Т. 11, № 3. С. 313—316.

226. Репин В. С. Координация дыхания и гликолиза // Механизмы интеграции клеточного обмена. Л., 1967. С. 205—215.

227. Рефирн Е. Р. Исследование возможной функции убихинона (коэнзима *Q*) в транспорте электронов и окислительном фосфорилировании //

V Международный биохимический конгресс, V симпозиум: Рефераты секц. сообщений. М., 1962. С. 80.

228. Рогенберг Ю. С. Эксперименты на изолированных митохондриях и возможность количественного переноса получаемых результатов на целостный организм // Руководство по изучению биологического окисления. М., 1973. С. 213—219.

229. Рогозкин В. Д. Итоги применения различных средств защиты против острой лучевой болезни // Вопросы патогенеза экспериментальной терапии и профилактики лучевой болезни. М., 1960. С. 360—370.

230. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. Минск: Вышэйш. шк. 1973. 320 с.

231. Роус С., Роус Ф. Выделение головастиками веществ, задерживающих рост // Механизм биологической конкуренции. М., 1964. С. 263—276.

232. Рубин Б. А. Идеи В. И. Палладина и современное состояние учения о дыхании растений // Укр. биохим. журн. 1960. Т. 32. С. 595—597.

233. Рункова Г. Г. Об эффективности активного эксперимента в эколого-биохимическом исследовании // Биохимические аспекты некоторых проблем популяционной экологии. Свердловск, 1978. С. 3—12 (Тр. Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР; Вып. 112).

234. Рункова Г. Г. О влиянии метаболитов земноводных разной степени генетической близости на эндогенный метаболизм головастиков в зависимости от стадии их развития и концентрации метаболитов // Информационные материалы Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР. Свердловск, 1974. С. 36—37.

235. Рункова Г. Г. Опыт применения некоторых методов математического планирования эксперимента в эколого-биохимических исследованиях // Биохимическая и медицинская кибернетика: Прикладные вопросы биологической и медицинской кибернетики. М.; Л., 1974 г. Ч. 5. С. 157 (Материалы 2-й Всесоюзн. науч. конф.).

236. Рункова Г. Г. Опыт применения некоторых методов математического планирования эксперимента в эколого-биохимических исследованиях // Математическое планирование эксперимента в биологических исследованиях. Свердловск. 1975. С. 18—104. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР; Вып. 97).

237. Рункова Г. Г. О природе экзобелков, способных к участию в адаптации на двух уровнях: организменном и популяционном // Биохимическая экология — сельскому хозяйству. Свердловск, 1984. С. 129—169.

238. Рункова Г. Г. Особенности биохимической адаптации полевок в зависимости от пространственной структуры вида и таксономического ранга популяций // Там же. С. 250.

239. Рункова Г. Г. Экзометаболическая регуляция как популяционный механизм адаптации у амфибий рода *Rana* // Материалы Всесоюзной научной конференции «Эволюционная экология и происхождение жизни». Ереван. 1978. С. 258.

240. Рункова Г. Г., Бабушкина Н. Ф. Метаболическая реакция серых полевок на охлаждение в условиях лабораторного разведения // Биохимические аспекты некоторых проблем популяционной экологии. Свердловск, 1978. С. 69—77. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР; Вып. 112).

241. Рункова Г. Г., Булаткина Г. Н. Интенсивность гликолиза скелетных мышц полевок с разной степенью специализации в условиях экстремального охлаждения и акклимации // Информационные материалы Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР. Свердловск, 1975. С. 36—37.

242. Рункова Г. Г., Завада Н. Ф. Внутривидовая изменчивость сукцинатдегидрогеназы мышцы двух подвидов полевок // Докл. АН СССР, 1974. Т. 217, № 2. С. 465—467.

243. Рункова Г. Г., Завада Н. Ф. О влиянии температурных условий введения диэтилдитиокарбамата на его радиозащитный эффект при облучении // Экология. 1975. № 6. С. 102—104.

244. Рункова Г. Г., Завада Н. Ф. Сравнительное изучение изме-

нений в эндогенной активности оксидаз в тканях с различной степенью адаптации к γ-облучению в условиях действия малых и летальных доз γ-радиации // Экология. 1975. № 5. С. 9—14.

245. Рункова Г. Г., Завада Н. Ф. Энергия активации сукцинатдегидрогеназы печени охлажденных полевок с разной степенью специализации // Материалы Всесоюзной научной конференции зоологов педвузов. Пермь, 1976. Т. 13, № 9. С. 324—325.

246. Рункова Г. Г., Ковальчук Л. А. О влиянии метаболитов водной среды головастиков на их эндогенный метаболизм и чувствительность к гипоксии в зависимости от возраста и условий развития донора и реципиента // Докл. АН СССР. 1975. Т. 220, № 5. С. 1199—1202.

247. Рункова Г. Г., Ковальчук Л. А. Стадиоспецифичность в действии метаболитов из популяций с различной плотностью на эндогенный метаболизм в гомогенатах и чувствительность интактных головастиков к гипоксии // Информационные материалы Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР. Свердловск, 1974. С. 41—42.

248. Рункова Г. Г., Рудакова Т. И. О влиянии метаболитов водной среды головастиков *R. arvalis* на гликолитическую активность отдельных особей в популяции // Информационные материалы Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР. Свердловск, 1974. С. 38—39.

249. Рункова Г. Г., Степанова З. Л. О зависимости регулирующих свойств экзометаболитов от возрастной структуры популяции // Биохимические аспекты некоторых проблем популяционной экологии. Свердловск. 1978. С. 13—26.

250. Рункова Г. Г., Большаков В. Н., Ястребов А. П. и др. Окислительный обмен в мышцах печени и кроветворной ткани памирской и арчевой полевки в условиях нормы и экстремального охлаждения // Вопросы биохимической экологии. Свердловск, 1976. С. 29—47.

251. Рункова Г. Г., Вульфсон А. М., Колесникова Г. Г. Специфично действующий фактор водной среды из модельных популяций амфибий и перспективы его практического использования в онкологии и вирусологии // Биохимическая экология и медицина. Свердловск, 1986. Вып. 2. С. 130—160.

252. Рункова Г. Г., Голод И. С., Мазина Н. К. Иммунологический и биохимический анализ тканевых белков головастиков, белков водной среды их обитания и сапропеля // Биохимическая экология и медицина. Свердловск, 1978. С. 35—42.

253. Рункова Г. Г., Завада Н. Ф., Купцова В. В. Особенности заработанного метаболизма в тканях двух подвидов полевки-экономки в условиях кратковременного охлаждения и акклимации // Экология. 1974. № 3. С. 11—19.

254. Рункова Г. Г., Ковальчук Л. А., Степанова З. Л. О механизмах экзометаболической регуляции в популяциях развивающихся личинок земноводных // Материалы симпозиума «Роль факторов внешней среды в онтогенезе». М., 1974. С. 38—40.

255. Рункова Г. Г., Ковальчук Л. А., Степанова З. Л. О перспективах выделения регулирующих экзометаболитов с помощью лиофилизации водной среды из загущенных популяций головастиков // Докл. АН СССР. 1975. Т. 223, № 5. С. 1241—1244.

256. Рункова Г. Г., Ковальчук Л. А., Шубин М. А. Стадиоспецифичность действия водной среды головастиков на их окислительный обмен в зависимости от плотности и возрастной структуры популяции // Вопросы биохимической экологии. Свердловск, 1976. С. 18—29.

257. Рункова Г. Г., Ковальчук Л. А., Ястребов А. П. Дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени полевок с разной степенью специализации в условиях экстремального охлаждения и акклимации // Докл. АН СССР. 1975. Т. 223, № 3. С. 734—736.

258. Рункова Г. Г., Степанова З. Л., Ковальчук Л. А. Органоспецифичность в действии метаболитов личинок земноводных на их эндогенный метаболизм в условиях повышенной плотности популяций. Роль белка

в регулирующем вдиянии метаболитов // Докл. АН СССР. 1974. Т. 217, № 3. С. 709—711.

259. Рункова Г. Г., Степанова З. Л., Куклин В. Т. Свободные и связанные аминокислоты в сыворотке больных ихтиозом // Биохимическая экология и медицина. Свердловск, 1978. С. 65—81.

260. Рункова Г. Г., Максимов В. Н., Ковальчук Л. А., Хохуткин И. М. Интенсивность окислительно-восстановительных процессов и их реакция на тироксин в гомогенатах двух морф *B. fruticum* в условиях разных температур // Докл. АН СССР. 1974. Т. 219, № 2. С. 471—472.

261. Рункова Г. Г., Максимов В. И., Ковальчук Л. А., Хохуткин И. М. О чувствительности эндогенных оксидаз в гомогенатах двух морф *B. lantzi* к тироксину // Математическое планирование эксперимента в биологических исследованиях. Свердловск, 1975. С. 117—120. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР; Вып. 97).

262. Рункова Г. Г., Максимов В. И., Ковальчук Л. А., Хохуткин И. М. Интенсивность экстрамитохондриальных и митохондриальных путей окисления у различных морф *B. lantzi* в условиях охлаждения // Там же. С. 113—115.

263. Рункова Г. Г., Николаев В. И., Дубинина Л. Ф. и др. О приспособительном и патологическом сдвигах в окислительном обмене сердца при лечении сапропелем // Биохимическая экология и медицина. Свердловск, 1978. С. 9—26.

264. Рункова Г. Г., Степанова З. Л., Бабушкина Н. Ф., Мазина Н. К. О биохимической специфике адаптации на высших уровнях биологической интеграции // IV Всесоюзный биохимический съезд: Тез. науч. сообщ. М., 1979. Т. 2. С. 166.

265. Рэкер Э. Биоэнергетические механизмы. М.: Мир, 1967. 197 с.

266. Рэкер Э. Биоэнергетические механизмы: Новые взгляды. М.: Мир, 1979. 216 с.

267. Саакян И. Р. Особенности дыхания тканевых срезов // Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. М., 1973. С. 189—190.

268. Сагатовский В. Н. Использование трифенилтетразолий хлорида для ускоренного определения количества живых клеток в чумной вакцине // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1965. № 5. С. 51—54.

269. Сазикова Т. Г. Материалы по вариабельности морфофизиологических признаков домашних птиц // Информационные материалы Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР. Свердловск, 1975. С. 43.

270. Северин С. Е., Скулачев В. П., Маслов С. П. и др. Терморегуляторное разобщение дыхания и фосфорилирования // Докл. АН СССР. 1960. Т. 131, № 4. С. 1447—1452.

271. Сейц И. Ф., Луганова И. С. Биохимия клеток крови и костного мозга в норме и при лейкозах. Л.: Медицина. 1967. 330 с.

272. Семаков В. Г. Влияние дегидрогеназной активности и цитохромоксидазных систем на жизнедеятельность сперматозоидов // Биохимия, 1961. Т. 26, вып. 4. С. 626—630.

273. Сент-Дьёрдьи. Введение в субмолекулярную биологию. М.: Изд-во иностр. литер., 1964. 212 с.

274. Симановский Л. Н., Лившиц Н. М. Изменения гликолиза в тканях мозга при тренировке к гипоксии // Вопр. мед. химии. 1969. Т. 15, вып. 1. С. 66—69.

275. Симановский Л. Н., Чотоев Ж. А. Изменения скорости гликолиза и гликогенолиза в миокарде крыс в разные сроки акклиматизации к высокогорью // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1971. № 5. С. 65—68.

276. Симановский Л. Н., Перцева М. Н., Желудкова З. Б., Мазина Т. И. Влияние острой и хронической гипоксии на некоторые показатели углеводного и жирового обмена у белых крыс // Вопр. мед. химии. 1970. Т. 16, вып. 1. С. 77—81.

277. Скулачев В. П. Аккумуляция энергии в клетке. М.: Наука, 1969. 440 с.
278. Скулачев В. П. Некоторые общие принципы биоэнергетики // Успехи соврем. биологии. 1974. Вып. 77. С. 2.
279. Скулачев В. П. Разобщение окисления и фосфорилирования в скелетных мышцах как механизм химической терморегуляции // Теплообразование в организме. Киев, 1964. С. 200—201.
280. Скулачев В. П. Трансформация энергии в биомембранах. М.: Наука, 1972. 203 с.
281. Скулачев В. П., Маслов С. П. Роль нефосфорилирующего окисления в терморегуляции // Биохимия. 1960. Т. 25. С. 1058—1065.
282. Слоним А. Д. Основы общей экологической физиологии млекопитающих. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1961. 432 с.
283. Слоним А. Д. О физиологических механизмах природных адаптаций животных и человека. М.; Л.: Наука, 1964. 64 с.
284. Слоним А. Д. Частная экологическая физиология млекопитающих. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1962. 496 с.
285. Слоним А. Д. Экологическая физиология животных. М.: Высш. шк., 1971. 448 с.
286. Смирнов В. С., Шварц С. С. Сезонные изменения относительного веса надпочечников млекопитающих в природных условиях // Докл. АН СССР. 1957. Т. 115, № 6. С. 1193—1197.
287. Спирин А. С., Гаврилова Л. П. Рибосома. М.: Наука, 1968. 150 с.
288. Соколов И. Ю. Методическое руководство по определению микроэлементов в природных водах при поисках рудных месторождений. М.: Наука, 1961. С. 181—198.
289. Степанова З. Л. Изучение белково-пептидных веществ водной среды экспериментальных популяций личинок амфибий: Дис. ... канд. биол. наук. М., 1982. 150 с.
290. Сюзюмова Л. М. Внутривидовые особенности реакции тканевой несовместимости у полевок // Экспериментальные исследования проблемы вида. Свердловск, 1973. С. 41—74. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР; Вып. 86).
291. Сюзюмова Л. М. К изучению антигенных особенностей сывороточных белков двух подвидов полевки-экономки методом реакции преципитации в агаре // Экспериментальное изучение внутривидовой изменчивости позвоночных животных. Свердловск, 1966. С. 73—78. (Тр. Ин-та биологии УФАН СССР; Вып. 51).
292. Сюзюмова Л. М. О применении метода гомотрансплантации кожи и реакция гемаглютинации для определения внутривидовой антигенной дифференциации у млекопитающих // Экологические основы адаптации животных. М., 1967. С. 98—101. (Тр. МОИП; Т. 25).
293. Терентьев В. П. Герпетология. Учение о земноводных и пресмыкающихся. М.: Высш. шк., 1961. 253 с.
294. Терентьев П. В. Лягушка. М.: Изд-во «Сов. наука», 1950. 346 с.
295. Тимофеев-Ресовский Н. В. Микроэволюция: Элементарные явления, материал и факторы микроэволюционного процесса // Ботан. журн. 1958. Т. 43, № 3. С. 317—323.
296. Тихомиров О. Б., Плисецкая Э. М. Влияние мышечной нагрузки на углеводный и жировой обмен у сеголеток форели *Salmo irideus* // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1974. Т. 11, № 1, С. 84—85.
297. Токтосунов А. Т. Морфологическая дифференциация амфибий и млекопитающих в условиях Тянь-Шаня: Дис. ... д-ра биол. наук. Свердловск, 1973. 300 с.
298. Толмачев Н. В. Влияние температуры воздуха, плотности посадки рыб и характера прудов на прирост сеголеток карпа и рыбопродуктивность карповых выростных прудов на северо-западе РСФСР. М., 1974. 74 с.
299. Топоркова Л. Я. Рост и развитие личинок рода *Rana* в метаболитах родственных видов // Экология, 1973. № 6. С. 93—97.

300. Топоркова Л. Я., Зубарева Э. Л. Материалы по экологии травяной лягушки на Полярном Урале // Экология позвоночных животных Крайнего Севера. Свердловск, 1965. С. 48—51. (Тр. Ин-та биологии УФАН СССР; Вып. 38).

301. Торчинский Ю. М. Об активности дегидразных систем и содержании сульфгидрильных групп в некоторых отделах мозга кишки // Биохимия. 1959. Т. 24, вып. 3. С. 496—502.

302. Торчинский Ю. М. О содержании сукциндегидрогеназа в микроструктурах аммонова рога мозга (количественная гистохимия) // Гистохимические методы в норме и патоморфологии. М., 1958. С. 54—59.

303. Трусевич В. И. Влияние мышечной нагрузки и утомления на содержание АТФ и КФ в скелетных мышцах ставриды *Trachurus mediterrapeus* // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1972. Т. 8, № 6. С. 629—632.

304. Уилкинсон Д. Изоферменты. М.: Мир, 1968. 260 с.

305. Урбах В. Ю. Математическая статистика для биологов и медиков. М.: Наука, 1963. 323 с.

306. Ушаков Б. П. О классификации приспособлений животных и растений и роли цитоэкологии в разработке проблем адаптации // Проблемы цитоэкологии животных. М.; Л., 1963. С. 21—42.

307. Ушаков Б. П. Теплоустойчивость клеточных белков холоднокровных в связи с видовым приспособлением к температурным условиям существования // Журн. общ. биологии. 1956. Т. 17, № 2. С. 154—160.

308. Уэбб Л. Ингибиторы ферментов и метаболизма. М.: Мир, 1966. 862 с.

309. Федоров В. Д. Экспериментально-экологическое изучение структуры и функции фитопланктона как сообщества: Дис. ... д-ра биол. наук. М., 1970. 478 с.

310. Федоров В. Д., Караущ Г. А. Исследование физиологической активности моно- и смешанных культур некоторых сине-зеленых водорослей // Актуальные проблемы биологии сине-зеленых водорослей. М., 1974. С. 136—140.

311. Хавкина И. В. Окислительный обмен в сердечной мышце крыс, адаптированных к гипоксии // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1971. Т. 7, № 5. С. 207—211.

312. Хаскин В. В. Динамика свободного и фосфорилирующего окисления при температурной адаптации куриных эмбрионов: Материалы III республиканской научной конференции по физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных. Львов, 1964. С. 392—395.

313. Хаскин В. В. Энергетика теплообразования и адаптации к холоду. Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние. 1975. 199 с.

314. Хаскин В. В., Синдаровская И. Н. Влияние холодовой адаптации на температурные коэффициенты окисления, фосфорилирования и активности АТФ-з в скелетных мышцах крыс // Физиол. журн. СССР. 1972. Т. 58, № 1. С. 108—113.

315. Химическая коммуникация животных. Теория и практика: Сб. ст. / Отв. ред. акад. В. С. Соколов. М., 1986. 431 с.

316. Хикс Ч. Д. Основные принципы планирования эксперимента. М.: Мир, 1967. 406 с.

317. Хлебович В. В. Критическая соленость биологических процессов. Л.: Наука, Ленингр. отд-ние, 1974. 235 с.

318. Хогебум Т., Шнейдер В. Цитоплазма // Нуклеиновые кислоты. М., 1957. С. 102.

319. Ходоров Б. И. Цитологическое действие антител на электрическую активность миокарда в отсутствии комплемента. Защитный эффект гепарина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1971. № 1. С. 17—20.

320. Хохуткин И. М. Эколого-морфологическая характеристика популяций наземных моллюсков рода *Bradybáena* (*gastropoda Bradybaeni*) // Экология. 1971. № 5. С. 82—88.

321. Хохуткин И. М., Добринский Л. Н. Исследование газо-

обмена у лево- и правозакрученных морф *Bradybáena lantzi* // Экология. 1974. № 4. С. 97—98.

322. Хохуткин И. М., Добринский Л. Н. Различия в газообмене двух морф наземных моллюсков *Bradybáena fruticum* (Moll.) и *Bradybaena schrencki* (Midd.) // Экология. 1973. № 6. С. 90—93.

323. Хочачка П., Семеро Дж. Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир, 1977. 398 с.

324. Чанс Б., Хаджихара Б. Прямые спектрофотометрические измерения взаимодействия компонентов дыхательной цепи с АТФ, АФФ, фосфатом и разобщающими веществами // V Международный биохимический конгресс, V симпозиум: Реф. секц. сообщений. М., 1962. С. 10—43.

325. Чистова Н. М. Цитохимическое изучение активности ферментов оксидазной системы в эксплантатах лимфатических узлов человека // Цитология. 1961. Т. 3, № 6. С. 612—690.

326. Шапиро М. С., Бобкова А. Н. Роли МДГ беспозвоночных в адаптации к дефициту кислорода // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1975. Т. 11, № 5. С. 546—550.

327. Шаевич А. Б. Методы оценки точности спектрального анализа. М.: Металлургиздат, 1964. 40 с.

328. Шарова М. С. Предварительные данные экспериментальных исследований экологии рыжей полевки // Информационные материалы Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР. Свердловск, 1975. С. 46—48.

329. Шварц С. С. Внутривидовая деятельность млекопитающих и методы ее изучения // Зоол. журн. 1963. Т. 42, вып. 3. С. 417—433.

330. Шварц С. С. Метаболическая регуляция роста и развития животных на популяционном и организменном уровнях // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1972. № 6. С. 822—835.

331. Шварц С. С. Некоторые закономерности экологической обусловленности интерьерных особенностей наземных позвоночных животных // Проблемы флоры и фауны Урала. Свердловск, 1960. С. 113—114. (Тр. Ин-та биологии УФАН СССР; Вып. 14).

332. Шварц С. С. О некоторых путях приспособления млекопитающих (преимущественно Micromammalica к условиям существования в Субарктике // Тр. Салехардского стационара УФАН СССР. 1959. Вып. 1. С. 177—219.

333. Шварц С. С. О путях приспособления наземных позвоночных животных к условиям существования в Субарктике: Млекопитающие // Проблемы Севера. М., 1961. Вып. 4. С. 75—94.

334. Шварц С. С. Теоретические основы построения прогнозов численности мышевидных грызунов в лесостепном Зауралье // Грызуны Урала. Свердловск, 1957. Вып. 8. С. 1—59.

335. Шварц С. С. Характер функциональных связей элементов биологических систем на популяционном и организменном уровнях // Экология. 1972. № 4. С. 87—89.

336. Шварц С. С. Эволюционная экология животных: Экологические механизмы эволюционного процесса. Свердловск, 1969. 199 с. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УФАН СССР; Вып. 65).

337. Шварц С. С. Экологические закономерности эволюции. М.: Наука, 1980. 277 с.

338. Шварц С. С., Ищенко В. Г. Пути приспособления наземных позвоночных животных к условиям существования в Субарктике. Свердловск, 1971. 59 с. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УФАН СССР; Вып. 79).

339. Шварц С. С., Пястолова О. А. Регуляторы роста и развития личинок земноводных. I. Специфичность действия // Экология. 1970. № 1. С. 77—82.

340. Шварц С. С., Пястолова О. А. Регуляторы роста и развития личинок земноводных. Разнообразие действия // Там же. 1970. № 2. С. 38—54.

341. Шварц С. С., Пястолова О. А. Полевка Миддендорфа // Млекопитающие Ямала и Полярного Урала. Свердловск, 1971. С. 107—126. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УФАН СССР; Вып. 80).

342. Шварц С. С., Копеин К. Н., Покровский А. В. Сравнительное изучение некоторых биологических особенностей *M. g. gregalis*, *M. g. major* // Зоол. журн. 1960. Т. 39, № 6. С. 912—925.

343. Шварц С. С., Пястолова О. А., Добринский Л. Н. Энергетика метаморфоза амфибий // Экология. 1973. № 4. С. 13—28.

344. Шварц С. С., Смирнов В. С., Добринский Л. Н. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных. Свердловск, 1968. 380 с. (Тр. Ин-та экологии растений и животных УФАН СССР; Вып. 58).

345. Шварц С. С., Пястолова О. А., Добринская Л. А., Рункова Г. Г. Эффект группы в популяциях водных животных, химическая экология. М.: Наука, 1976. 150 с.

346. Шестопалов В. В., Епиткин А. П., Кафаров В. В. Моделирование процесса ретификации в насадочной колонне // Технология неорганических веществ, процессы и аппараты, кибернетика химических процессов. М., 1973. С. 63—68.

347. Шилов И. А. Физиология доминирования в популяциях грызунов // I Международный териологический конгресс: Реф. докл. М., 1974. Т. 1—2. С. 339—340.

348. Шмидт Э. Ф. Дифференциация штампов клубеньковых бактерий на основании данных по определению активности «бессубстратных» дегидраз // Микробиология. 1964. Т. 33, вып. 2. С. 284—290.

349. Штрауб Ф. Биохимия. Будапешт: Изд-во АН Венгрии, 1965. 772 с.

350. Шуколюков С. А. Изоферменты лактатдегидрогеназы у водных животных // Биохимическая эволюция. Л., 1973. С. 11—21.

351. Энгельгардт В. А. Анаэробный распад и аэробный ресинтез пирофосфата в красных кровяных клетках птиц // Казан. мед. журн. 1931. Т. 27, № 4—5. С. 499—503.

352. Энгельгардт В. А. О взаимоотношениях дыхания и брожения // Успехи соврем. биологии. 1944. Т. 18. С. 17—27.

353. Энгельгардт В. А. Фосфорная кислота и функция клетки // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1945. С 182—190.

354. Эфандиев С. М., Ищенко В. Г. Особенности размножения малоазиатской лягушки (*Rana macrocnemis Blgr.*) в условиях высокогорья Северного Кавказа // Экология. 1974. № 6. С. 80—83.

355. Юнусов А. Ю., Ходжиматов В. А. Возрастные изменения водно-минерального состава различных органов в условиях теплового воздействия у крыс // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1971. Т. 7, № 4. С. 380—389.

356. Яблоков А. В., Познанин Л. П. Особенности современного этапа эволюционной теории // Зоология позвоночных: Проблемы теории эволюции. М., 1975. Т. 7. С. 345—355.

357. Яковлева В. И. Изоферменты // Успехи биологической химии. 1968. Т. 9. С. 55—87.

358. Яскин В. А. О сезонных изменениях относительного и абсолютного веса отделов головного мозга полевки-экономки // Информационные материалы Ин-та экологии растений и животных. УНЦ АН СССР. Свердловск, 1977. С. 48—49.

359. Ястребов А. П. О роли гипоксии в механизме регенерации крови: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Свердловск, 1972. 50 с.

360. Adolph E. F. The size of the body and size of the environment in the growth of tadpoles // Biol. Bull. 1931. Vol. 61 N 2. P. 350—375.

361. Aebli H. von. Rassenunterschiede in Bezug auf Entwicklungsgeschwindigkeit bei Rana temporaria in den Tailern des Kantons gearus (Schweiz.) // Rev. Suisse de Zool. 1966. Bd. 73. S. 1.

362. Akin G. C. Self-inhibition of growth in Rana pipiens tadpoles // Physiol. Zool. 1966. Vol. 39, N 4. P. 341—356.

363. Aldridge W. N., Parker V. H. Oxidative phosphorylation acid

barbiturates // IV Internat. Congr. Biochem., Vienna, Suppl. Internat. Abstr. Biol. Sci. 1958. P. 67.

364. Aldridge W. N., Parker V. H. Barbiturates and oxidative phosphorylation // Biochem. J. 1960. Vol. 76. P. 47.

365. Alexander P., Bacq L., Cousens S. et al. Mode of action of some substances which protect against the letal effects of X-rays // Radiation Research. 1955. P 2.

366. Alle W. C. Studies in animal aggregationa: Further analysis of the protective value of biological conditioned fresh water for the marine turbellarian Procedores // Physiol. Zool. 1933. Vol. 6, N 1. P. 1—22.

367. Alle W. C., Bowen E. S., Welty J. C., Oesting R. The effect of homotybic conditioning of water on the growth of fishes and chemical studies of the factors involved // J. Experim. Zool. 1934. Vol. 68, N 2. P. 183—213.

368. Alle W. C., Finkel A. J., Hoskins W. The growth of goldfish in homotypically conditioned water: A population, study in mass physiology // Ibid. 1940. Vol. 84, N 3. P. 417—443.

369. Alle W. C., Frank P., Berman M. Homotypic and heterotypic conditioning in relation to survial and growth of certain fishes // Physiol. Zool. 1946. Vol. 19, N 3. P. 243—258.

370. Alle W. C., Greenberg B., Rosenthal G. M., Frank P. Some effects of social organization on growth in the green sunfish Lepomis cyanellus // J. Experim. Zool. 1948. Vol. 108, N 1. P. 1—19.

371. Allen J. M. Multiple forms of lactic dehydrogenase in tissues of mouse: Their specificity, cellular localization and response to altered physiological conditions // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1961. Vol. 94. P. 937.

372. Appella E., Markert C. L. Dissociation of lactate dehydrogenase into subunits with guandine hydrogenase // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1961. Vol. 6. P. 171.

373. Atkinson D. E. The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter, interaction with Fled back modifiers // Biochem. 1968. Vol. 7. P. 4030—4034.

374. Atkinson E., Melvin S. M., Fox S. W. Some properties of 2, 3, 5 triphenyl tetrazolium chloride and several iodi derivatives // Science. 1950. Vol. 3. P. 385—387.

375. Backer E. Alternative pathways of glucose and Fructose metabolism // Advances in enzymelogy and related subjects of biochemistry. 1954. Vol. 15. P. 141—182.

376. Bacq L., Herve A. Sur un nouveau protecteur, contre le rag annement // J. Suisse Med. (Schweiz. med. Wschr.). 1952. Vol. 82. P. 1018—1021.

377. Baran J. A study on the taxonomy of the mountain frogs of Anatolia // Sci. Rep. Faculty Sciences Ege Univ. 1969. Vol. 80 (Biology N 54). P. 1—79.

378. Barkes E. M. Tetrazolium reduction as a means of differentiating streptococcus faecalis from streptococcus falcium // J. Gen. Microbiol. 1956. Vol. 14, N 1. P. 57—58.

379. Battellino L. J., Blanco A. Catalytic properties of the lactate dehydrogenase isozyme "X" from mouse testis // J. Experim. Zool. 1970. Vol. 174, N 2. P. 173—185.

380. Beganowic H. A., Muftic A. Bioloske metode na bazi TTC (2, 3, 5-triphenyltetrazolium chlorid) indicatora za dokaz antibiotika i drugih konzervansa w zivezim / nadokaz antibiotika i drugih konzervansa w zivezim / namirpicama // Veterinaria (Jugosl.). 1961. Vol. 10, N 34 (55). P. 461—467.

381. Benson F. R. The chemistry of the tetrazoles // Chem. Rev. 1947. Vol. 41. P. 1.

382. Berger L. E. The effect of inhibitory agents in the development of green-frog tadpoles // Zool. Polen. 1968. Vol. 18, N 3. P. 381—390.

383. Berger M., Stecher H. J., Waelsch H. Action of chlorpormazine on oxidative phosphorylation in liver and brain mitochondria // Nature. 1956. Vol. 177. P. 1234.

384. Beyer R. E. Regulation of energy metabolism during acclimation

of laboratory rats to a cold environment // Federat. Proc. 1963. Vol. 22, N 3. Pt 1. P. 874—877.

385. Bielig H. F., Kausche J. A., Haardick H. Über den Machweis von Reduktionsorten in Bakterien // Z. Naturforsch. 1949. Bd 4. S. 80—91.

386. Black M. M., Opler S. R., Speer F. P. Observations on the reduction of triphenyl tetrazalium chloride by normal and malignant human tissue // Am. J. Pathol. 1950. Vol. 26. P. 1097.

387. Boss J. H. Antibodies to specific homologous tissue antigens in the rat // Clin. and Exp. Immunol. 1967. Vol. 2, N 2. P. 151—202.

388. Box G. E. P., Hunter J. S., Hader B. J. The effect of inadequate models in surface fitting // Mimeo Series N 91, Institute of statistics Baleigh, North Carolina, USA. 1954. P. 112.

389. Brodie A. F., Gots J. S. The reduction of tetrazolium salts by an isolated bacterial flavaprotein // Science. 1952. Vol. 116, N 3022. P. 588—589.

390. Brody J. A. Isozyme histochemistry: anew method for the display of selective lactate dehydrogenase isozymes on an electrophoretic // Nature. 1964. Vol. 201, N 4920. P. 685.

391. Brody T. M., Bain J. A. A mitochondrial preparation from mammalia brain // J. Biol. Chem. 1952. Vol. 195. P. 685.

392. Brown M. E. The growth of brown trout (Salmo trutta Linn.). I. Factors influencing the growth of trout frog // J. Experim. Biol. 1946. Vol. 22, N 3—4. P. 118—129.

393. Brown M. E. The growth of brown trout (Salmo trutta Linn.). 4. The effect of food and temperature on the surviral and growth of frog // Ibid. 1951. Vol. 28, N 4. P. 120—129.

394. Brown M. E. The metabolism of amphibia // Physiology of the amphibia. N.Y., L., 1964.

395. Buno N., Germino H. J. Distribution of succinic dehydrogenase in the organs of the adult albino rat // Acta anat. 1958. Vol. 33, N 3. P. 161—174.

396. Burch H. B., Hunter F. E., Conibs A. M., Schutz B. A. Oxidative enzymes and phosphorylation in hepatic mitochondria from riboflavin — deficient rats // J. Biol. Chem. 1960. Vol. 235. P. 1540.

397. Burk D. A colloquial consideration of the Pasteur effects // Quant. Biol. 1939. Vol. 7. P. 420—459.

398. Cahn R. O., Kaplan N. O., Lewin L., Zwilling E. Nature and development of lactic dehydrogenases // Science. 1962. Vol. 136, N 3517. P. 962—969.

399. Caldwel R. S. Thermal compensation of respiratory enzymes in tissues of the goldfish (carasius auratus L.) // Comp. Biochem. Physiol. 1065. Vol. 31. P. 79.

400. Chance B. Enzymes units of biological structure and function. N.Y., 1956. 447 p.

401. Chance B., Hagihara B. Activation and inhibition of succinate oxidation following adenosine diphosphate supplements if pigeon heart mitochondria // F. Biol. Chem. 1962. Vol. 237, N 11. P. 3540—3544.

402. Chance B., Hess B. Metabolic control mechanisms. I. Electron transfer in the mammalian cells // Ibid. 1959. Vol. 234. P. 2404.

403. Chance B., Hollunger G. Sites of energy conservation in oxidative phosphorylation // J. Amer. Chem. Soc. 1957. Vol. 79. P. 2971.

404. Chance B., Hollunger G. J. The interaction of energy and electron transfer reactions in mitochondria. III. Substrate requirements for pyridine nucleotide reduction in mitochondria // I. Biol. Chem. 1961. Vor. 236. P. 1555.

405. Chance B., Hollunger G. Inhibition of electron and energy transfer in mitochondria. II. The site and the mechanism of quanidine action // Ibid. 1963. Vol. 238. P. 418—432.

406. Chance B., Williams G. R. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation // Ibid. 1955. Vol. 217, N 1. P. 383.

407. Chance B., Williams G. R. The respiratory chain and oxidative

phosphorylation // Advances enzymol. related subjects. Biochem. J. 1956. Vol 17. P. 65.

408. Chance 5B., Estabrook R. W., Williamson J. R. Control of energy metabolism. N.Y., 1965.

409. Chaffee R. R. J., Hoch E. L., Lyman C. D. Mitochondrial oxidative enzymes and phosphorylations in cold exposure and hibernation // Amer. J. Physiol. 1961. Vol. 201. P. 29.

410. Chaffe R. R. J., Glark R. T., Reynafarje M. D. et al. Some effects of cold — acclimation on the biochemistry and histology of the hamster kidney // Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 1963. Vol. 43. P. 115.

411. Chaffe R. R. J., Mayhew J. W., Drebin M., Cassuto I. Studies on thermogenesis in cold acclimated birds // Canad. J. Biochem. and Physiol. 1963. Vol. 41. P. 2215.

412. Chaffe R. R. J., Allen J. R., Brewer M. et al. Cellular physiology of cold and heat — exposed squirrel monkeys (Saimiri sciurea) // J. Appl. Physicol. 1966. Vol. 21. P. 151.

413. Chernin E., Michelson E. Studies on the biological control of schistosome — bearing snails. III. The effect of population density on growth and fecundity in Australorbis glabratus // Amer. J. Hyg. 1957. Vol. 65, N 1. P. 57—70.

414. Chernin E., Michelson E. Further observations on the effects of crowding on growth and fecundity in Australobris grabratus // Ibid. P. 71—80.

415. Christian J. J. Endocrine adaptive mechanisms and the physiologic regulation of population growth in physiological mammology. N.Y.; L., 1963. Vol. 1. 189 p.

416. Christian J. J. Social subordination population density and mammalian evolution // Science. 1970. Vol. 168, N 3927. P. 84—90.

417. Clayton R. M. Antigens on the developing new embryo // Nature. 1951. Vol. 168, N 4264. P. 120—121.

418. Cleland K. W., Slater E. C. Respiratory granulas of heart muscle // Biochem. J. 1953. Vol. 53, N 4. P. 547.

419. Coddard J. W., Seligman A. M. Intracellular topography of succinic dehydrogenase in the thread of the albino rat // Anat. Record. 1952. Vol. 112. P. 543—560.

420. Coleman J. E., Vallee B. L. Aprocarboxypeptidase — substrate complexes // J. Biol. Chem. 1962. Vol. 237. P. 3430.

421. Conner O. R. J. The metabolism of cell division // Brit. J. Exptl. Pathol. 1950. Vol. 31. P. 390.

422. Coopenhaver J. H., Lardy H. A. Oxidative phosphorylation: pathways and yield in mitochondrial preparations // J. Biol. Chem. 1952. Vol. 195. P. 225.

423. Cooper R. S. Adult antigens (or specific combining groups) in the frog // J. Experim. Zool. 1946. Vol. 101, N 2. P. 143.

424. Cooper R. S. A study of frog egg antigens with serumlike reactive groups // Ibid. 1948. Vol. 107, N 2. P. 397—438.

425. Cooper R. S. Antigens of frog embryos and of adult frog serum studied by diffusion antigens into agar columns, containing antisera // Ibid. 1950. Vol. 114, N 2. P. 403—420.

426. Core M., Ibbot F., Mcllwain H. The cosymase of mammalian brain // Biochem. J. 1950. Vol. 47. P. 121.

427. Cottrell H. J. // Nature. 1947. Vol. 159. P. 748. (Цит. по: Science. 1950. Vol. 111. P. 621.)

428. Crabb E. D. Growth of pond snail, Lymnaea stagnalis appressa, as indicated by increase in shell — size // Biol. Bull. 1929. Vol. 56, N 1. P. 41—64.

429. Craston A. R., Makery J. F. // Canad. J. Biochem. Physiol. 1963. Vol. 41. P. 831.

430. Craven G. R., Steers E., Anfinsen C. B. Purification, composition and molecular weight of the β-galactosidase of Escherichia coil K-12 // J. Biol. Chem. 1965. Vol. 240. P. 2468.

431. Currier M. B., Day B. E. The tetrazolium reaction in yeast // Science. 1954. Vol. 119, N 3101. P. 817.
432. Darwin Ch. The origin of species by means of natural selection, or the preservation of favored races on the struggle for life. L., 1858.
433. Dawson D. M., Goodfriend T. L., Kaplan N. O. Lactic dehydrogenases. Function of the two types // Science. 1964. Vol. 143. P. 923—929.
434. Depocas F. Body glucose as fuel in white rats exposed to cold. Results with fasted rats // Amer. J. Physiol. 1962. Vol. 202, N 5. P. 1015—1018.
435. Depocas F. Concentration and turnover of cytochome in skeletal muscles of warm and cold — acclimated rats // Canad. J. Physiol. and Pharmacol. 1966. Vol. 44, N 6. P. 875—880.
436. Dianzani M. H. Colorazione vitale di alcuni microorganismi con-tetrazolin chloruro // Nuovi Ann. Igiene e Michrobiol., 1953. Vol. 4, N 5. P. 392—399.
437. Dickens F., Weil-Malherbe H. Metabolism of normal and tumor tissue. XVI. A note on the metabolism of medulla of kidney // Biochem. J. 1936. Vol. 30, N 4. P. 659.
438. Dickens F., Weil-Malherbe H. Metabolism of normal and tumour tissue. XIX. The metabolism of intestinal mucous membrane // Ibid. 1941. Vol. 35, N 1. P. 7.
439. Dietz A. A., Lubrano T. Separation and quantitation of lactic dehydrogenase isoenzymes by discelectrophoresis // Anal. Biochem. 1967. Vol. 20. P. 825—828.
440. Doorenmaalen W. J. Histo-serological demonstration of the localisation of lensantiegens in the embryonic chick lens // Acta Morph. Neerl — Scand. 1958. Vol. 2, N 1. P. 1—12.
441. Drimmelen G. C. Tetrazolium reduction as a rapid quality test for Brucella vaccine // J. South Afr. Vet. Med. Ass. 1955. Vol. 26, N 2. P. 105—108.
442. Eidus L., Diena B. G., Greenberg L. A rapid method for estimating the bacterial count of BCG vaccine // Canad. J. Publ. Health. 1958. Vol. 49, N 1. P. 18—21.
443. Ellilott B. A., Jepson E. M., Wilkinson J. H. Serum β-hydroxybutyrate dehydrogenase — a new test with improved specificity for myocardial lesions // Clin. Sci. 1962. Vol. 23. P. 305.
444. 5Elliot S., Vessel E. S. pH dependence et lactate dehydrogenase isozyme inhibition by substrate // Nature. 1966. Vol. 210, N 5034. P. 421.
445. Elliot S., Vessel E. S., Peter E. P. Lactate and pyruvate concentrations in exercized ischemic ganine muscle relationship of tissue substrate level to lactate dehydrogenase isozyme pattern // Proc. Nat. Acad. Sci. 1966. Vol. 45, N 55. P. 756.
446. Emerson P. M., Wilkinson J. H., Withycombe W. A. Effect of oxalate on the activity of lactate dehydrogenase isoenzymes // Nature. 1964. Vol. 202, N 4939. P. 1337.
447. Ernster L. Distribution and interaction of enzymes within animal cells // Biochem. J. 1957. Vol. 65. P. 44.
448. Ernster L. Enzymatisk reglering av fettsyreomsättingen isolerade system // Nord. Med. 1955. Vol. 53. P. 374.
449. Ernster L. The enzymic organization of mitochondria and its role in the regulation of metabolic activities in animal. Uppsala, 1956. 250 p.
450. Ernster L., Jalling O., Löw H., Lindberg O. Alternative pathways of mitochondrial DPNH oxidations studies with amilal // Exptl. Cell. Res. Suppl. 1955. Vol. 3. P. 124.
451. Estabrook R. W. Mitochondria respiratory control and the polarographic measurement of ADP rations // Methoda in Enzymology. 1967. Vol. 10. P. 41.
452. Estabrook R. W., Mackler B. Enzymatic and spectrophotometric studies of a reduced dipsosphopyridine nucleotide oxidase preparation from heart muscle // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 229. P. 1091—1103.
453. Fahmy A. R., Walsh E. D. F. The quantitative determination of

dehydrogenase activity in cell suspension // Biochem. J. 1952. Vol. 51, N 1. P. 55—56.

454. Farber E., Sternberg W. H., Dunlap C. E. Histochemical localization of malic isocitric and scuccinic dehydrogenases in kidney // Federation Proc. 1952. Vol. 11. P. 414.

455. Fenderson O., Carpenter M. Effects of crowing on the behaviour of juvenile hatchery and wild land looked Atlantic salmon (Salme salarx L.) // Animal Behaviour. 1971. Vol. 19, N 3. P. 352.

456. Fledler H., Reichel A. Investigations of enzymes in blood fluid and lymph of anuran emphibians // Comparative biochemistry and physiology. 1969. Vol. 28, N 3. P. 1028—1033.

457. Fred R. R., Kright S. G. The reduction of 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride by Penicillium chrysagenum // Science. 1949. Vol. 109, N 2825. P. 196—170.

458. Fritz P. J. Rabbit muscle lactate dehydrogenase 5. A regulatory enzyme // Ibid. 1965. Vol. 150. P. 364—366.

459. Fritz P. J., Jacobson K. B. Multiple molecular forms of lactate dehydrogenase // Biochemistry. 1965. Vol. 4. P. 282—289.

460. Fujita A. Über den Stoffwechsel der Korperzellen // Biochem. Z. 1928. Vol. 197. P. 175.

461. Gastambide-Odier M., Smith P. W. A rapid means of differentiating atypical and — fast bacilli and avian tubercule bacile from other mycobacteria. The neotetrozolium inhibition test // Amer. Rev. Tuberc. 1958. Vol. 7, N 54. P. 662—668.

462. Gatt S., Bocker E. Regulatory mechanisms in carbohydrate metabolism. II. Pasteur effect in reconstructed systems // J. Biol. Chem. 1959. Vol. 234. P. 1015.

463. Geone Ch. A. Taxonomic biochemistry and serology. N.Y., 1964.

464. Good J. The interaction algerythm and practical fourier analysis // J. Rog. Statist. Soc. Ser. B., 1958. Vol. 20. P. 581—594.

465. Godberg E. Lactate dehydrogenase in trout: Hybridization in vivo and in vitro // Science. 1966. Vol. 151. P. 1091—1093.

466. Golod I. S. Age-related occurrence of antibodies to cardiac tissue and vessels in the sera of healthy persons and patients with atherosclerosis // Mech. Ag. and Dev. 1973. Vol. 2. P. 333—343.

467. Graymore C. N. Biochemistry of the eye. L.; N.Y., 1970. 564 p.

468. Green D. E. The cyclophorase complex of enzymes // Biol. Rev. 1951. Vol. 26. P. 410.

469. Green D. E., Fleischner S. The role of lipids in mitochondrial electron transfer and oxidative phosphorylation.
P. 554.

470. Green D. E., Wharton D. C. Stoichiomentry of the fixed oxidation-reduction components of the electron transfer chain // Biochem. J. 1963. Vol. 338. P. 335.
transfer and oxidative phosphorylation // Biochem. Biophys. Acta. 1964. Vol. 70.

471. Giffits D. E., Chaplan R. A. Some properties of a new phosphorylated derivative of NAD, an intermediate in oxidative phosphorylation // Biochem. Biophys. Res. Comm. 1962. Vol. 8, N 6. P. 501—505.

472. Größe H. Optische und chemische Einfüsse der Resiedlungsdichte auf das Wachstum von Xiphophorus helleri quentheri // Zool. Jahr. Physiol. 1968. Vol. 74. P. 233—245.

473. Gromko M. H., Mason F. S., Smithgill S. O. Analysis of the crowding effect in Rana pipiens tadpoles // Ezperim. Zool. 1973. Vol. 186, N 1. P. 63—71.

i 474. Gross R. J., Taggart J. V., Covo J. A., Green L. E. Studies on the cyclophorase system. VI. The coupling of oxidation and phosphorylation // J. Biol. Chem. 1949. Vol. 177, N 2. P. 655—678.

475. Guha A. A new techinique for the viable count bacteria // Nature. 1957. Vol. 179, N 45 (74). P. 1360.

476. Gupta B. L., Kambo V. P. Histochemical localization of succinic

dehydrogenase activity in the mitochondria of some invertebrate spermatozoa // Ibid. 1962. Vol. 193. N 4817. P. 788—789.

477. Gyorgy P., Keller W., Brehme Th. Nierenstoffwechesl und Nierentwicklung // Biochem. Z. 1928. Vol. 200. P. 356.

478. Halbert S. P. The cardiac autoimmuné system // U Int. Arch. Allergy and Appl. Immun. 1971. Vol. 41, N 1. P. 117—121.

479. Hannon J. P. Effect of prolonged cold exposure on oxidative phosphorylation and adenosintriphophatase of rat liver tissue // Amer. J. Physiol. 959. Vol. 196, N 4. P. 890—892.

480. Hannon J. P. Tissue energy metabolism in the cold — acclimatized rat // Federat. Proc. (Amer. J. Physiol.). 1960. Vol. 198, N 4. P. 740—744.

481 Hannon J. P., Vaughan D. D. Cold exposure duration and age // Fed. Proc. 1960. Vol. 19. P. 176.

482. Hannon J. P., Evonic E., Larson A. M. Some physiological and biochemical effects of norepinephrine in the cold — acclimatized rat // Federat. Proc. (Amer. Soc. Exptl. Biol.). 1963. Vol. 22, N 1. P. 783—787.

483. Harding R. W., Welson P. H. Elektron carries of the bovine adrenal cortical respiratory chain and hydrozylating pathways // J. Biol. Chem. 1966. Vol. 241. P. 2212.

484. Hatefi J., Haavik A. G., Iurschuk M. Studies on the electron transport system DTNH-cytochrome C reductase // Biochem. et Biophys. Acta. 1961. Vol. 52. P. 106.

485. Heland M. Influence de la densité du peuplement initial sur l'acquisition des territoires chez la truit commune Sulmo trutta L. en ruisseau artificiel // Ann. Hydrobiol. 1971. Vol. 2. P. 1.

486. Herreid C. F., Kinney S. T. Temperature and development of the wood frog Rana syloatica in Alaska // Ecology. 1967. Vol. 48. P. 4.

487. Hess B. Tahnhauser's Textbook of metabolism and metabolic disorders. N.Y., 1962. 77 p.

488. Heusser H. Intra- und interspezifische Crowding — Effekte bei Kaulguappen der Greuzkröte, Bupo Calamita Lanr // Oecologia (Berl.). 1972. Bd 10, N 1. S. 93—98.

489. Heusser H. Intra- und interspezifische Crowing — Effekte bei Kaulnappen einheimischer Anuren — Arten // Vierteljahresschr. Ges. Zürich. 1972. Bd 117, N 2. S. 121—128.

490. Hiescom H. Sur lapparatio des lesons myocardiques autoimmunes // Arch. Roumans Pathol. Exp. et Minobiol. 1968. Vol. 27, N 2. P. 329—352.

491. Himms-Hagen J. Lipid metabolism during cold exposure and during cold — acclimation // Lipids. 1972. Vol. 7. P. 310—323.

492. Himms-Hagen. Lipid metabolism in warm — acclimatized and cold — acclimatized rats exposed to cold // Canad. J. Physiol. and Pharamacol. 1965. Vol. 43. P. 379—403.

493. Hirsch P., Cattaneo G., Morellini M. Zur Rrage der Reduzierung von 2,3,5-triphenyltetrazolium Chlorid durch Mikroorganismen verschiedener Familienzugehörigkeit // Z. Hyg. und Infektionskrankh. 1958. Bd 145, N 4 (55). S. 355—366.

494. Hochachka P. W. Organization of metabolism during temperature compensation // Molecular mechanism of temperature adaption. Waschington, 1967. P. 117—203.

495. Holder F. Untersuchungen über den Crowd — effect an Kaulguappen von Rana temporaria L. // Rev. Suisse Zool. 1958. Vol. 65, N 2. P. 350—359.

496. Holmes R. S., Markert C. L. Immunichemical homologies among subunits of trout lactate dehydrogenase isozymes // Proc. Nat. Acad. Sci., USA. 1969. Vol. 64. P. 205—210.

497. Holton F. A., Hülsmann W. C., Meyers D. K., Slater E. C. A comparison of the properties of mitochondria isolated from liver and heart // Biochem. J. 1957. Vol. 67. P. 579.

489. Horowiez P., Larrabee M. G. Glucose comsumption and lac-

tate production in a mammalian sympathetic ganglion at rest and in activity // J. Neurochem. 1958. Vol. 2. P. 102.

499. Huddleson F., Baltzer B. Differentiation of bacterial species and variation within species by means of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride in culture medium // Science. 1950. Vol. 112, N 2818. P. 651—652.

500. Hydhes A. A demonstration of dehydrogenase activity in the mitochondria of living cells // Quart. J. Microscop. Sci. 1956. Vol. 97, N 2. P. 165—170.

501. Jacobs E. E., Sanadi D. R. Phosphorylation coupled to electron transport mediated by high potential electron carriers // Biochem. Et biophys. Acta. 1960. Vol. 38. P 12.

502. Jacobson K. B., Murthy J. B., Dunaway P. B. Phylogenetic relationships of rodents on the basis of isoenzymes of lactate dehydrogenase // Comp. Biochem. Phys. 1969. Vol. 28. P. 1281—1294.

503. Jalling O., Lindberg O., Ernster L. On the effect of substitute barbiturates on mitochondrial respiration // Acta Chem. Scand. 1955. Vol. 9. P. 198.

504. Jalling O., Low H., Ernster L., Lindberg O. The relation of the site of action of amital oxidative phosphorylation // Ibid. 1975. Vol. 26. P. 231.

505. Jambor B. Tetrazoliumsalze in der Biologie. Jena: VEB, 1960.

506. Jankowsky H. D., Korn H. Die Einfluss der adeptationstemperature auf den mitochondrieengehalt des Fischmusculs // Naturwissenschaften. 1965. Bd 52. S. 642.

507. Jansky L. Body organ cytochronozidase activity in cold and and warm acclimated rats // Canad. J. Biochem. 1963. Vol. 41. P. 1847.

508. Kaplan N. O., Goodfriend T. L. Role of the two types of lactic dehydrogenase // Adv. Enz. Regulation. 1964. Vol. 2. P. 203—212.

509. King T. E., Nickel K. S., Jensen D. R. Iron copper, cytochrome and lipid contents of heart muscle preparation and heart mitochondria // J. Biol. Chem. 1964. Vol. 239. P. 1989.

510. Klain G., Hannon J. P. Gluconeogenesis in cold exposed rat // Federat. Proc. (Amer. Soc. Exptl. Biol.). 1969. Vol. 28, N 3. P. 285—301.

511. Knoth W. Über die Anwendung des Reduktionsindikators trippenyltetrazolium chlorid (TTC) in der Gewebezuchtugn // Z. Krebsforsch. 1953. Bd 59, N 2 (55). S. 343—356.

512. Kopper P. H. Studies on bacterial reducing activity in relation to age of culture // J. Bacterial. 1952. Bd 63, N 5. S. 639—645.

513. Kornberg D. The participation of inorganic pyrophospate in the reversible enzymatic synthesis of diphosphopyridine nucleotide // J. Biol. Chem. 1948. Vol. 176. P. 1475.

514. Krahl M. E., Kelton A. K., Clowes G. H. A. Studies on cell metabolism and cell division. V. Cytochrome oxydase activity in the eggs of Arbacia Pynctulatu // J. Gen. Physiol. 1941. Vol. 24. P. 597—617.

515. Krebs C. J. Genetic and behavioural studies on fluctuating role populations // Dynamics Populations: Proceedings of Advanced Study of Dynamics Numbers Populations. Osterbeek, 1970. Wageningen, 1971. P. 25—34.

516. Krebs S. H. Rate — limiting factory in cell respiration: Symposium Regulation cellular metabolism. L., 1959. P. 124—126.

517. Krimsky J. Phosphorylation of pyruvate by the pyruvate kinase reaction and reversal of glycolysis in a reconstructed system // J. Biol. Chem. 1959 .Vol. 234. P. 228—232.

518. Krisch K., Standinger H. Isolierung von Cytochrom P_5 aus Nebennieren // Biochem. Z. 1958. Bd 331. S. 37.

519. Krisch K., Standinger H. Zur Wirkung von Ascorbinsäure und Cytochrom B_5 auf die mikrosomale DPNH — oxidations // Ibid. 1959. Bd 331. P. 195.

520. Kuhn R., Ierchel D. Über Invertseifen. VII. Tetrazoliumsalze durch Bakterien garende Hefe und Keimende Samen // Ber. Dtsch. Chem. Ges. 1941. Bd 74, N 1 (55). S. 941—952.

521. Kun E., Abood L. G. Colorimetric estimation of succinic dehydrogenase by tryphenyl tetrazoliumchloride // Science. 1949. Vol. 109, N 2824. P. 144—146.
522. Lakon J. // Ber. Dtsch. Botan G. 1942. Vol. 60, N 299. P. 434. Цит. по: Пирс Э. Гистохимия. М.: Иностр. лит., 1962. С. 478.)
523. Langham M. Glycolys in the connea of the rabbit // J. Physiol. 1954. Vol. 126, N 2. P. 396.
524. Lardy H. A., Wellman H. Oxidative phosphorylation: role of inorganic phosphate and acceptor systems in control of metabolic rates // J. Biol. Chem. 1952. Vol. 195. P. 215.
525. Lardy H. A. The role of phosphate in metabolic control // The Biology of Phosphorus. Baltimore, 1952. Vol. 2. P. 131.
526. Lardy H. A., Maley G. F. Metabolic effects of thyroid hormones in vitro // Recent progress in hormone research. 1954. Vol. 10. P. 129—134.
527. Laxminazayna H., Lya K. K. Studies on the reduction of tetrasolium by lactic and bacteria // J. Dairy Sci. 1955. Vol. 8, N 1. P. 32—38.
528. Lederberg J. Detection of fermentative variants with tetrazolium // J. Bacteriol. 1948. Vol. 56, N 5. P. 695.
529. Lehninger A. L. Esterification of inorganic phosphate coupled to electron transport between dihydrodiphosphopuridine nucleotide and oxugen // J. Biol. Chem. 1949. Vol. 178. P. 625—644.
530. Lehninger A. L. Oxidative phosphorylation in diphosphopyridine nucleotide — linked system // Phosphorus Metabolism. 1951. Vol. 1. P. 344—349.
531. Lehninger A. L. Phosphorylation coupled to oxidation of dihydrodiphosphopuridine nucleotide // Ibid. 1951. Vol. 190. P. 345.
532. Mainardi D. Metodi biochemice bioficne a immunologici in systematica arnitologica // Nuova veterin. 1962. Vol. 38. P. 3.
533. Magnuson I. I. An analysis of aggressive behaviour growth and competition for food and space in medaka (Oryzias latipes) Pisces Cyprinodontinae // Canad. J. Zool. 1962. Vol. 40, N 2. P. 313—363.
534. Maley G. F., Lardy H. A. Efficiency of phosphorylation in selected oxidation by mitochondria from normal and thyroxic rat livers // J. Biol. Chem. 1955. V. 215. P. 377—388.
535. Manwell C., Kerst K. V. Possibilities of biochemical taxonomy of bats using hemoglobin lactate dehydrogenase, asterases and other proteins // Compar. Biochem. and Physiol. 1966. Vol. 17. P. 3.
536. Margaria R., Oliva R. D. Di Prampero Ph. Energy utilisation in intermittent exercise of supramaximal intensity // J. Appl. Physiol. 1969. Vol. 26. P. 752.
537. Margolin B. H. Systematic methods for analysing 2^n3^m factorial experiments with applications // Technometrics. 1967. Vol. 9. P. 2.
538. Markert C. L. Lactate dehydrogenase isozymes dissociation and recombination of subunits // Science. 1963. Vol. 140. P. 1329.
539. Markert C. L. The molecular basis for isozymes // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1968. Vol. 151. P. 14.
540. Markert C. L., Apella E. Immunochemical properties of lactate dehydrogenase isozymes // Ibid. 1963. Vol. 103, N 678. P. 915—929.
541. Markert C. L., Faulhaber I. Lactate dehydrogenase isozyme pattenrns of fish // J. Experim. Zool. 1965. Vol. 159. P. 319—332.
542. Markert C. L., Holes R. S. Lactate dehydrogenase isozymes of the flatfish pleuronectiformes: Kinetic molecular and immunochemical analysis // Ibid. 1969. Vol. 171, N 7. P. 85.
543. Markert C. L., Ursprung H. The ontogeny of isozyme patterns of lactate dehydrogenase in the mouse // Develop. Biol. 1962. Vol. 5. P. 363—381.
544. Marphy J. B., Kies M. W. Note on spectrophotometric determination of proteins in dilute solutions // Biochem. Biophys. Acta. 1960. Vol. 45. P. 382.
545. Martins C. Thyroxin und oxidative Phosphorylierung // Proc. III Intern. Congr. Biochem. Brussels, 1955; N.Y., 1956. P. 1.
546. Massoro E. J., Felts J. M. A biochemical mechanism for the dep-

ression in hepatic acetate oxidation in fasted cold exposed rats // J. Biol. Chem. 1959. Vol. 234. P. 198.

547. Massoro E. J., Markert C. L. Isozyme patterns of Salmonid fishes: Evidence for multiple cistrons for lactate dehydrogenase polypeptides // J. Experim. Zool. 1968. Vol. 168. P. 223.

548. Mattson A. M., Jensen C. O., Dutcher R. A. Triphenyltetrazolium chloride as dye for vital tissues // Science. 1947. Vol. 106, N 2752. P. 294—295.

549. Mitchell P. Chemiosmotic coupling in oxidative and photosynthetic phosphorylation // Bodming. Glynn. Research, 1966. Vol. 12. P. 1348—1351.

550. Mooij—Vogelaar I. W., Jager J. C., Steen W. J. The effect of density changes of the reproduction of the pond snail Lymnea stagnalis (L) Neterl. // J. Zool. 1970. Vol. 20, N 2. P. 279—288.

551. Moore J. A. Geographic variation of adaptive characters in Rana pipiens Schreber // Evolution. 1949. Vol. 3. P. 135—138.

552. Moore J. A. Temperature tolerance and rates of development in the eggs of amphibia // Ecology. 1939. Vol. 20. P. 351—353.

553. Morgolich E., Smith E. L. Peptides released by digestion with chymotrypsin // Nature. 1961. Vol. 192. P. 1121—1123.

554. Morrison G. R., Brook F. E., Sobral D. T., Shank R. E. Cold acclimatization and intermediary metabolism of carbohydrates // Arch. Biochem. and Biophys. 1966. Vol. 114, N 3. P. 494—501.

555. Mudd S., Winterscheid L. C., De Lamater E. D., Henderson H. I. Evidence suggesting that the granules of mycobacteria are mitochondria // J. Bacteriol. 1951. Vol. 62, N 4. P. 459—475.

556. Meyers J. H., Krebs C. J. Genetic, behavioural and reproductive attributes of dispersing field voles Mivrotus pennsylvanicus and Microtus ochrogaster // Ecol. Monogr. 1971. Vol. 41. P. 53—78.

557. Myers J. H., Krebs C. I. Population cycles in rodents // Scien. Amer. 1974. Vol. 230, N 6. P. 38—47.

558. Nachlas M. M., Tsou K. C., de Souza E. et al. Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole // J. Histochem. Cytochem. 1957. Vol. 5, N 4. P. 420—436.

559. Negelein E. Versuche über Glykolyse // Biochem. Z. 1925. Vol. 158. P. 121.

560. Newburgh R. W., Cheldelin V. H. The intracellular distribution of pentose cycle activity in rabbit kidney and liver // J. Biol. Chem. 1956. Vol. 218. P. 89.

561. Niheham A. W. The chemistry of formazan and tetrazolium saltz // Chem. Reviews. 1955. Vol. 55, N 2. P. 355—483.

562. Odense P. H., Allen T. M., Leung T. C. Multiple forms of lactat — dehydrogenase and aspartate aminotransferase in herring (Clupee Harengus Harengus L.) // Canad. J. Biochem. 1966. Vol. 44. P. 1319—1326.

563. Olson M. S., von Korff R. W. Changes in endogenous substrates of isolated mitochondria // J. Biol. Chem. 1967. Vol. 240. P 6.

564. Ozawa K., Seta K., Arakt H., Handa H. The effect of Ischemia on mitochondrial metabolism // J. Biochem., Japan. 1967. Vol. 6, N 4. P. 512—514.

565. Packer L. Metabolic and structural states of mitochondria. I. Regulation by adenosine diphosphate // J. Biol. Chem. 1960. Vol. 235. P. 242.

566. Paebles F. Growth regulating substances in echinoderm larvae // Biol. Bull. 1929. Vol. 57, N 3. P. 176—187.

567. Pagano J., Levin J. J., Trejo W. Diagnostic medium for differentiation of species of Candida // Antibiotic Ann. 1958. P. 137—138.

568. Palade G. E. The fine structure of mitochondria // Anat. Record. 1952. Vol. 114. P. 427.

569. Palade G. E. The fine structure of mitochondria. An electron microscopic study // J. Histochem. Cytochem. 1953. Vol. 1, N 4. P. 188.

570. Panagos S. L., Beyer R. E. Oxidative phosphorylation in liver

mitochondria from cold — exposed rats // Amer. J. Physiol. 1960. Vol. 199. P. 836.

571. Panagos S. L., Beyer R. E., Masoro E. J. Oxidative phosphoryrats // Biochem. Biophys. Acta. 1958. Vol. 29. P 204.

572. Penner Ph. Gluconeogenesis in rats during cold acclimation // Canad. J. Biochem. 1968. Vol. 46, N 10. P. 325—341.

573. Perlman P., Gustafson T. Antigens in the egg and early developmental stages of the sea — urchin // Experimentia. 1948. Vol. 4. P. 481—482.

574. Pesce A., Fondy T. P., Stolenbach F., et al. The comparative enzymology of lactate dehydrogenases // J. Biol. Chem. 1967. Vol. 242. P. 2151—2167.

575. Peterkovsky A., Weischbach H. Release of inorganic tripolyphosphate from adenosine thiophosphate during vitamin B_{12} coenzyme biosynthesis // Ibid. 1963. Vol. 238. P. 1491.

576. Peterson E. A., Winnick T., Greenberg D. M. Stimulation by the adenylic acid system of amino acid incorporation into protein of liver granules // J. Amer. Chem. Soc. 1951. Vol. 73. P. 503.

577. Plagemann G. W., Gregory K. F., Wroblewski F. The electrophoretically distonct forms of mammalian lactic dehudrogenase. II. Properties and interrelationships of rabbit and human lactic dehydrogenase isozymes // J. Biol. Chem. 1960. Vol. 235. P. 2282.

578. Plaũt G. W. E., Plaũt K. A. Oxidative metabolism of heart mitochondria // Ibid. 1952. Vol. 199. P. 141.

579. Porter R. H., Durrell M., Romm H. J. The use of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a measure of seed germinability // Plant Physiol. 1947. Vol. 22. P. 149.

580. Rapoport S., Nieradt Ch. Der gemeinsame oxidationsweg für DPNH und succinat, die Rolle der Cytochrome und Wirkung von Aluminium und Rü-Hemmstoff // Biochem. Biophys. Acta. 1955. Bd 17. S. 583.

581. Raw J. Phosphorylation coupled with electron transport to cytochrome C. by soluble animal enzymes // J. Amer. Chem. Soc. 1955. Vol. 77. P. 53.

582. Reak M. J., Robb E. T., Sapsford C. W. Comparison of lactate dehydrogenase isozymes from weddell and cope fur slals // Compar. Bochem. Physiol. 1971. N 3813. P. 471.

583. Reynafarje B. Pyridine nucleotide oxidases and transhydrogenase in acclimatization to high altitude // Am. Physiol. 1961. Vol. 200. P. 351.

584. Richards C. M. The inhibition of growth in crowded Rana pipiens tadpoles // Physiol. Zool. 1958. Vol. 31, N 2. P. 138—151.

585. Richards C. M. The control of tadpole growth by alga — like cells // Ibid. 1962. Vol. 35, N 4. P. 285—296.

586. Rose S. M. A feedback mechanism of growth control in tadpoles // Ecology. 1960. Vol. 41. P. 188.

587. Rose S. M. Failure of survival of slowly growing members of a population // Science. 1959. Vol. 125. P. 1026.

588. Rose S. M. Population control in guppies // Amer. Midland Naturalist. 1959. Vol. 62. P. 474—481.

589. Rose S. M., Rose F. G. The control of growth and reproducduction in freshwater organisms by specific products // Mitt. Internal. Verein. Limmol. 1965. Vol. 13. P. 21—35.

590. Rose T. A., Warma J. V. B., O'Connell E. L. Role of inorganic phosphate in stimulating the glucose utilisation of human red blood cells // Biochem. Bioph. Res. Comm. 1964. Vol. 45, N 1. P. 33—36.

591. Rosenthal O., Bowic M. A., Wagoner G. On the interdependence of respiration and glycolisis // Science. 1940. Vol. 92, N 2391. P. 382.

592. Rugh R. The space factor in the growth rate of the tadpole // Ecology. 1934. Vol. 15, N 4. P. 407—411.

593 Rywaters E. G. L. The metabolism of joint tissues // J. Pathol. Bacteriol. 1937. Vol. 44, N 1. P. 247.

594. Salthe S. N., Chilson O. P., Kaplan N. O. Hybridization of

lactic dehydrogenase in vivo and in vitro // Nature. 1965. Vol. 207, N 4998. P. 723.

595. Schaifer A. An analysis of the effects of numbers upon the oxygen consumption of carrasias Auratus // Physiol. Zool. 1939. Vol. 12. P. 1052—1055.

596. Selander R. K., Yang S. Y. Horseshoe crab lactate dehydrogeneses: Evidence for dimeric structure // Science. 1970. Vol. 169. P. 173—181.

597. Selander R. K., Hung W. G., Yang S. Y. Protein polymorphism and genic heterozygotij in two European subspecies of the house mouse // Evolution. 1969. Vol. 23, N 3. P. 375—390.

598. Seligmann A. M., Rutenberg A. M. The istochemical demonstration of succinic dehydrogenase // Science. 1951. Vol. 113. P. 317—320.

599. Semenoff R., Robertson F. W. A biolochemical and ecological study of plasma esterase polymorphism in natural populations of the field voll Microtus agrestis, L. // Biochem. Genetic. 1968. Vol. 1. P. 205—227.

600. Serban M., Cortain D. Biochemia comparate a izoenzimelor. XI. Izoenzimale malate hidro genazelor si lactatdehidrogenazei din muschine neted la unele specii de vertebrate // Stud. Si Cere. Biochem. 1971. Vol. 14, N 1. P. 93.

601. Shatz G., Halsbrunner E., Tuppy H. Deoxyribonucleic acid associated with yeast mitochondria // Biochem. Biophys. Res. Com. 1964. Vol. 15. P. 127.

602. Shaw G. The effect of biological conditioned water upon rate of growth of fishes and amphibia // Ecology. 1932. Vol. 13, N 3. P. 263—278.

603. Shaw C. R., Barto E. Genetic evidence for the subunit structure of lactate dehydrogenase isozymes // Proc. Natl. Acad. Sci. (USA). 1963. Vol. 50. P. 211—214.

604. Shelton E., Schneider W. C. On the usefulness of tetrazolium salts as histochemical indicators of dehydrogenase activity // Anat. Record. 1952. Vol. 112, N 1. P. 82.

605. Shimizu N., Norikava N. Histochemical studies of succinic dehydrogenase of the brain of mice, rats, guinea pigs and rabbits // J. Histochem. Cytochem. 1957. Vol. 5, N 4. P. 334.

606. Shire J. G. M. The forms, usual and significance of genetic variation in endocrine systems // Biol. Rev. Cambridge. 1976. Vol. 51, N 1. P. 105—141.

607. Shitty D. Population process in the vole and their relevance to general theory // J. Zool. 1960. Vol. 38, N 1. P. 99—113.

608. Shvarts S. S. The evolutionary ecology of animals. N.Y.; L. 1977 292 p.

609. Sibley Ch. G. The electrophoretic patterns of avian eggwhite proteins as taxonomic characters // Evolution. 1960. Vol. 102. P. 2.

610. Slater E. C. The relationship between the ATP-ase of mitochondria oxidative phosphorylation // Intern. Symp. Enzyme Chem. Tokyo-Kyoto, 1957. P. 230.

611. Slater E. C., Colpa-Boonstra J. P. The role of cytochrome *b* in the respiratory chain // Symp. Intern. Union. Biochem. Haematin Enzymes. Canberra, 1959. P. 575—595.

612. Slater E. C., Lewis S. E. Stimulation of respiration by 2,4-dinitrophenol // Biochem. J. 1954. Vol. 58. P. 337.

613. Smith R. E. Comparative effects of thyroxin in vivo and cold acclimation on metabolic activity of cell fractions from rat liver // Federat. Proc. (Amer. Soc. Exptl. Biol.). 1960. Vol. 19, N 4. P. 101—109).

614. Smith R. E. Mitochondrial of oxidative phosphorylation in cold — acclimated rats // Federat. Proc. Vol. 19, Suppl. 1960. Vol. 5. P. 166—171.

615. Smith R. E. (In discussion). Symposium «Metabolism and codd — adaptation» // Ibid. 1958. Vol. 17. P. 1065.

616. Smith R. E. The temperature dependence of oxidative phosphorylation and of the activity of various enzyme systems in liver mitochondria from cold-and warm-blooded animals // Compar. Biochem. Physiol. 1973. N 4613. P. 445—461.

617. Smith R. E., Hoijer D. J. Metabolism and cellular function in cold acclimation // Physiol. Rev. 1962. Vol. 42, N 1. P. 60—152.
618. Smith R. E., Horwitz B. A. Brown fat and thermogenesis // Ibid. 1969. Vol. 49, N 2. P. 330—425.
619. Srikatan T. N., Krishna-Nurty G. B. Tetrazolium test for dehydrogenases // J. Sci. Industr. Res. 1955. Vol. 146, N 11. P. 206—209.
620. Spar G. L. Antigen differences among early developmental stages of Rana pipiens // J. Experim. Zool. 1953. Vol. 123, N 3. P. 467—497.
621 Speck T F The synthesis of glutamine in pigeon liver dispersiens // J. Biol. Chem. 1949. Vol. 179. P. 1387.
622. Stein R. J., Gerarde H. W. Triphenyltetrazolium chloride in tissue culture // Science. 1950. Vol. 111, N 2895. P. 691.
623. Stewart B. M. The growth of two population densities of pre-adult blue gourami Trichogaster trichopterus in reflecting aquariums // Growth. 1974. Vol. 38, N 2. P. 210—224.
624. Thomas J. D. Schistosomiasis and control of molluscan posts of human schistomes with particular reference to selft-regulatory mechanisms // Advances in Parasitology / Ed. by Ren. Dawes. L., 1973. Vol. 11. P. 307—309.
625. Tordet-Caridoit C., Wegmann R. Differentiation histochemique de la succinoxidase et de la succinide hydrogenase // Ann. Histochem. 1959. Vol. 4, N 3. P. 191—204.
626. Tyler A. Natural heteroagglutinins in the body fluids and seminal fluids of various invertebrates // Biol. Bull. 1946. Vol. 90, N 3. P. 213—219.
627. Vesell E. S. pH dependence oflactate dehydrogenase isozyme inhibition by substrate // Nature. 1966. Vol. 210. P. 421.
628 Vesell E. S. Polymorphism of human lactate dehydrogenase isozymes // Science. 1965. Vol. 148. P. 1103—1105.
629. Vesell E. S., Bearn A. J. Isczmes of lactic dehydrogenase in human tissues // J. Clin. Invest. 1961. Vol. 40. P. 586.
630. Vesell E. S., Osterland K. C., Bearn A. G., Kunkel H. G. Isozymes of lactic dehydrogenase their alterations in arthritic synovial fluice and sera // Ibid. 1962. Vol. 41, N 11. P. 2012—2019.
631. Vidovic V. Z., Penezic S. Les variations de la glycemie du rat en hypothermie et en enthermie: effect de plusieurs refroidissement successifs // Arch. Sci. Jhysiol. 1959. Vol. 13. P. 409.
632. Wagenknecht C., Rapoport S. Intrazellulare Bilanz und Zusammenspiel von DPNH-dehydrogenasens: zur katalitischen Function des Mikrosonien cytochroma // Acta Biol. Med. German. 1959. Vol. 3. P. 321.
633. Wagenknecht C., Rapport S., Nieradt Ch. Entstehung und Absolung löslicher. Diaphorase aus mitochondrialer DPNH-cytochrom C-reductase: zur Frage der Halterung der Mitochondrienzyme // IV Internat. Congr. Biochem. Wien, Suppl. Internat. Abstr. Sci. 1958. P. 72.
634. Wahbe V. G., Balfour W. M., Samson F. E. A comparative study on Vertebrate brain mitochondria // Comp. Biochem. Physiol. 1961. Vol. 3. P. 195—205.
635. Wainberg E. D. Selective inhibition of microbial growth by the incorporating of triphenyltetrazolium chloride in culture media // J. Bacteriol. 1953. Vol. 66, N 2. P. 240—242.
636. Walker D., Carlander K. D. Effects of population density upon chammel catfish inclosures // Proc. Iowa Acad. Sci. 1970. Vol. 77.
637. Warburg O. Ist die aerobe glykolyse spezifisch für die Tumoren // Biochem. Z. 1929. Vol. 204. P. 482.
638. Warburg O., Posener K., Negelein E. Über die Wirkungsgluppen der oxidierenden und reduzierenden Fermente // Naturwissenschaften. 1953. Bd 40, N 19. S. 832—836.
639. Warren E. W. The effects of relative density upon some aspects of the behaviour of the guppy Poecilia reticulata (Peters) // J. Fish Biol. 1973. Vol. 5. P. 6.
640. Waterhouse C., Wittir R. F. The inhibition of human plasma

on dinitrophenol uncoupling of oxidative phosphorylation // Arch. Biochem. Biophys. 1959. Vol. 85. P. 1.

641. Webb L. J. Enzyme and metabolic inhibitors. N.Y., 1963.

642. Weibull C. Observation on the staining of Bacillus megaterium with triphenylterazolium // J. Bacterol. 1953. Vol. 66, N 2. P. 137—139.

643. Weiner J. S. Physiological variations and its genetic basis. L., 1978. 150 p.

644. West L. B. The nature of growth inhibitory material from crowded Rana pipiens tadpoles // Physiol. Zool. 1960. Vol. 33, N 3. P. 232—235.

645. Witt G. S. Developmental genetics of lactate dehydrogenase isozymes unique to the eye and brain of teleosts // Genetics. 1968. Vol. 60. P. 237.

646. Witt G. S. Developmental genetics of lactate dehydrogenase isozymes of fish //J. Experim. Zool. 1970. Vol. 178. P. 2102—2107.

647. Witt G. S., Booth G. M. Localisation of lactate dehydrogenase activity in the cells of the fish (Xiphophorus helleri) Eye // Ibid. 1970. Vol. 174, N 2. P. 215.

648. Wilson A. C., Maxson L. B., Sarich V. M. Two types of molecular evolution evidence from studies of interspecific hybridization // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1974. Vol. 71. P. 2843.

649. Winner B. Statistical principales in experimental design // Technometrics. 1962. Vol. 5, N 3. P. 901—906.

650. Wirtz P. The influence of the sight of a specific on the growth of filenius pholis (Pisces Teleostei) // J. Compar. Physiol. 1974. Vol. 91, N 2. P. 161, 165.

651. Wright C. The crowding phenomenon in laboratory colonies of fresh water snails // Ann. Trop. Med. Parasitol. 1960. Vol. 54, N 2. P. 224—232.

652. Yamagishi H. Growth relation in some small experimental populations of rainbow trout frog Salmo gairdneri Richardson with special reference to social relations among individuals // J. Experim. Zool. 1962. Vol. 150, N 3. P. 541—548.

653. Yu M., Perlmutter A. Growth inhibiting factors in the zebrafish, Brachydanio rerio and the blue gourami Trichogaster trichopterus // Growth. 1970. Vol. 34, N 2. P. 153—157.

654. Ziegler D., Lester R., Green D. E. Oxidative phosphorylation by an electron particle from beef heart // Biochem. Biophys. Acta. 1956. Vol. 21. P. 80.

655. Zimermann H. J., Schwartz M. A., Bolley L. E., West M. Comperative serum enzymology // J. Lab. Clin. Med. 1965. Vol. 66, N 96. P. 972.

656. Zweifach R. W., Black M. M., Shorr E. Histochemical alterations revealed by tetrazolium chloride in hypertensive kidneys in relation to renal VEM mechanisms // Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 1950. Vol. 74. P. 848—854.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 3

Глава 1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 7

1.1. Объекты исследования 7
1.2. Методики исследования 13
1.3. Математическое планирование эксперимента и статистическая обработка результатов 20

Глава 2. СПЕЦИФИКА БИОХИМИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ ВИДОВ И ВНУТРИВИДОВЫХ ГРУПП 28

2.1. Эндогенная активность оксидаз при адаптации к низким температурам на видовом, внутривидовом и внутрипопуляционном уровнях 28
2.2. Цитохромоксидазная активность сердечной мышцы полевок-экономок, узкочерепных и Миддендорфа в условиях нормы и экстремального охлаждения 57
2.3. Сукцинатдегидрогеназная активность в скелетной мускулатуре полевок с разной степенью специализации в условиях нормы и экстремального охлаждения 63
2.4. Интенсивность аэробного и анаэробного гликолиза при адаптации к низким температурам на видовом и внутривидовом уровнях 70
2.5. Лактатдегидрогеназная активность скелетных мышц и ее изоэнзимный спектр у охлажденных полевок в зависимости от степени морфологической дифференциации вида и ранга групп 84
2.6. Дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях печени охлажденных полевок в зависимости от степени морфологической дифференциации вида и ранга группы 109
2.7. О роли адаптивных метаболических реакций с разной энергетической стоимостью в адаптации вида и видообразовании 132

Глава 3. ЭКЗОМЕТАБОЛИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ КАК ПОПУЛЯЦИОННЫЙ МЕХАНИЗМ АДАПТАЦИИ 145

3.1. Стадио- и видоспецифичность действия водной среды из загущенной популяции головастиков на эндогенную активность оксидаз 145
3.2. Стадио- и видоспецифичность действия экзобелков головастиков из загущенной популяции на эндогенную активность оксидаз 148
3.3. Видо- и стадиоспецифичность аминокислотного состава экзобелков водной среды головастиков 154
3.4. Специфичность действия экзометаболитов на эндоген-

ный метаболизм головастиков и их чувствительность к гипоксии в зависимости от плотности популяции . . . 163
3.5. Специфичность действия экзометаболитов головастиков на дыхание и фосфорилирующее окисление в зависимости от плотности популяции 170
3.6. Специфичность действия экзометаболитов на обмен головастиков в зависимости от структуры популяции . . 174
3.7. Перспективы использования лиофилизации и иммунологических методов для выделения и изучения специфически действующих экзобелков амфибий 193
3.8. Биохимический механизм дифференциации роста и развития популяции 215

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 226

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 230

Галина Гурьевна Рункова

О СПЕЦИФИКЕ БИОХИМИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ НА НЕКОТОРЫХ ВЫСШИХ УРОВНЯХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ИНТЕГРАЦИИ

Рекомендовано к изданию
Ученым советом Института экологии
растений и животных и РИСО УрО АН СССР

Редактор А. И. Пономарева
Художник М. Н. Гарипов
Технический редактор Н. Р. Рабинович
Корректоры Г. Н. Старкова, Н. В. Каткова

Сдано в набор 6.02.89. Подписано в печать 05.01.90. НС 17004. Формат 60×90 1/16. Бумага типографская № 2. Гарнитура литературная. Печать высокая. Усл. печ. л. 16,5. Уч.-изд. л. 20. Тираж 600. Заказ № 91. Цена 3 р. 20 к.

620008, Свердловск, ГСП-219, ул. 8 Марта, 202.
Институт экологии растений и животных.
Типография изд-ва «Уральский рабочий».
Свердловск, пр. Ленина, 49.