

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ИНСТИТУТ ЭКОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ

На правах рукописи
УДК 591.5:599.323.4

МАЗИНА Надежда Константиновна

ОПЫТ ИЗУЧЕНИЯ АДАПТИВНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПОЛЕВОК МЕТОДАМИ
КЛЕТОЧНОЙ БИОЭНЕРГЕТИКИ.

03.00.16 - Экология

Автореферат диссертации на
соискание ученой степени
кандидата биологических
наук

Свердловск - 1984

Работа выполнена в Институте экологии растений и животных
Уральского научного центра АН СССР.

Научный руководитель - член-корреспондент АН СССР доктор
биологических наук, профессор
Большаков В.Н.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, старший
научный сотрудник Сюзюмова Л.М.

кандидат биологических наук, доцент
Марвин А.М.

Ведущая организация - Кабардино-Балкарский государственный
университет.

Зашита состоится 26 февраля 1985 г. в 13 час
на заседании специализированного совета Д. 002.05.01 по защи-
те диссертаций на соискание ученой степени доктора наук при
Институте экологии растений и животных Уральского научного цент-
ра АН СССР, ГСП 511, ул.

библиотеке Института

варе 1985 г.

М.Г.Нифонтова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Среди главных направлений экологических исследований в нашей стране до 2000 года, определенных Научным советом АН СССР по проблеме "Биологические основы освоения, реконструкции и охраны животного мира", большое внимание уделяется расшифровке физиологических механизмов, лежащих в основе ряда важных экологических явлений (устойчивости к экстремальным воздействиям, адаптации к зональным условиям). В связи с этим особо подчеркивается необходимость внедрения современных методов при изучении влияния факторов среды и путей приспособления к ним с энергетической оценкой различных адаптаций на организменном, популяционном и видовом уровнях.

Накопленный в последние годы экспериментальный материал свидетельствует о том, что состояние энергетического метаболизма животных тесно связано с их ответной реакцией на действие различных внешних факторов (Скулачев, 1962, 1969; Шилов, 1968, 1977; Башенина, 1977). В частности, показано, что тканевые процессы окисления и энергопродукции представляют собой особенно уязвимую мишень для воздействия физических и химических факторов внешней среды (Булычев, 1969; Кондрашова, 1969-1975; Лукьянова и др., 1982; Арчаков, 1983). В работах, выполненных в Институте экологии растений и животных УНЦ АН СССР, было продемонстрировано, что приспособление некоторых видов мелких млекопитающих к экстремальным факторам среды сопровождается глубокими специфическими перестройками тканевого энергетического метаболизма (Рункова и др., 1974-1976; Ястребов и др., 1978; Бабушкина, 1981; Большаков, Ковалчук, 1982).

Между тем, прикладные и теоретические потребности современной экологии диктуют необходимость дальнейшего накопления сведений, получаемых современными методами исследований и расширения числа изучаемых видов с разной экологической специализацией. Имеющиеся данные о тканевых механизмах приспособительных реакций организмов к действию экологических факторов недостаточны для понимания общих закономерностей тканевых адаптаций к среде обитания у разных видов и внутривидовых групп. Выявление тонких механизмов адаптации актуально для решения практических задач экологии, связанных с акклиматацией и интродукцией новых форм диких и сельскохозяйственных животных, прогнозами их численности и управлением динамикой популяций.

Цель и задачи исследования. Актуальность и общее состояние вопроса о тканевых механизмах приспособления животных в естествен-

ной среде предопределила цель диссертационной работы - изучение адаптивных особенностей грызунов (на примере полевок) современными методами клеточной биоэнергетики. Полевки относятся к многочисленной группе мелких млекопитающих, приспособленной к разнообразным экологическим условиям, и представляют собой весьма удобную модель для изучения тонких механизмов адаптации. В связи с этим в задачи исследования входило:

1. На примере полевок, адаптированных к разным экологическим условиям, используя полярографический метод, изучить видовые особенности энергетического метаболизма в печени.

2. Провести сравнительную экологическую оценку структуры адаптивного ответа разных видов полевок на тестирующее воздействие холодом.

3. Изучить популяционные особенности функциональной активности митохондрий печени разных видов полевок в зависимости от климато-географической характеристики среды их обитания.

4. Исследовать видовые и популяционные особенности сезонной динамики энергетического метаболизма в печени полевок.

Научная новизна. Работа представляет собой раздел комплексных исследований экологических закономерностей адаптации грызунов в естественной среде их обитания и посвящена более углубленному изучению этого вопроса с помощью биохимических методов. Основные вопросы, поставленные в данной работе, касаются изучения функциональной активности митохондрий печени разных видов полевок при вариациях климато-географических и сезонных характеристик местообитания, экспериментальных воздействиях. Впервые получены данные, позволяющие оценить и сопоставить эффективность биохимических и морфо-физиологических сдвигов у лесных, горных полевок, желтых пеструшек и обыкновенных слепушонок в процессе формирования адаптивных реакций. Выявлена популяционная дифференциация некоторых видов полевок по параметрам биоэнергетики печени, связь с экологическими особенностями образа жизни и местообитания исследованных форм.

Практическая значимость работы и пути ее реализации. Полученные данные расширяют современные представления о тканевых факторах адаптации полевок на видовом и популяционном уровне и могут быть использованы при анализе механизмов адаптации и устойчивости видов к неблагоприятным условиям среды. Высокая чувствительность энергетического аппарата печени полевок к специфическим условиям обитания позволяет рекомендовать его в качестве одного из компонентов комплекса диагностических тестов биологичес-

кого мониторинга окружающей среды. Результаты настоящей работы включены в цикл лекций и семинарских занятий по теме "Экологические аспекты проблемы вида" для студентов биологического факультета Уральского государственного университета им. М.Горького.

Апробация работы и публикации. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на III съезде Всесоюзного териологического общества (Москва, 1982); на Всесоюзных школах "Экология горных млекопитающих" (Свердловск, 1981, Нальчик, 1984); на XI Всесоюзной конференции по экологической физиологии (Сыктывкар, 1982); на Всесоюзном совещании "Популяционная структура вида и проблемы охраны генофонда млекопитающих" (Пущино, 1983); на Всесоюзном симпозиуме "Метаболическая регуляция физиологического состояния", (Пущино, 1984); на заседании Уральского отделения Всесоюзного биохимического общества (Свердловск, 1982); на конференциях молодых ученых и отчетных сессиях Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР в 1979-1982 гг. По материалам диссертации опубликовано 11 работ.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, характеристики объектов и методов исследования (глава I), изложения литературных данных (глава 2), результатов работы и их обсуждения (главы 3-6), заключения, выводов, списка литературы (285 названий, из них 85 - на иностранном языке). Работа изложена на 112 страницах машинописного текста, включает II таблиц и 18 рисунков. Общий объем диссертации - 168 стр.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава I. Характеристика объектов и методы исследования. Объектами исследования служили мелкие грызуны, принадлежащие к различным экологическим группам (Громов, Поляков, 1977), отражающим идиоадаптацию, связанную с освоением лесных, горных и степных зон: красная (*Clethrionomys rutilus*, Pallas, 1779), красно-серая (*Clethrionomys rufocanus*, Sundevall, 1846), плоскочерепная (*Alticola strelzovi*, Kastchenko, 1900) и серебристая (*Alticola argentatus*, Severtzov, 1879) полевки, обыкновенная слепушонка (*Ellobius talpinus*, Pallas, 1770), желтая пеструшка (*Lagurus luteus*, Eversmann, 1840). Лесные полевки и слепушонки были отловлены на Среднем, Южном Урале и Зауралье, горные полевки - в Центральном Казахстане и Туве, желтые пеструшки - в Зайсанской котловине (виварное разведение). Исследования проводились в 1979-1983 гг. на животных, доставленных из естественной среды их обитания и предварительно выдержаных в виварии, а также на виварном материале и лабораторных живот-

ных. Стандартизацию полевого материала проводили в соответствии с требованиями экспериментальной экологии методом одноактной акклиматации (Покровский, Большаков, 1979; Хлебович, 1981). Проведено более 1700 эколого-биохимических экспериментов на 504 животных. Работу проводили на зверьках (самцы), сопоставимых по возрасту и весу тела. В экспериментах со слепушонкой использовали самцов и самок, поскольку достоверных различий по параметрам тканевой биоэнергетики у представителей этого вида не обнаружили.

В качестве модели условий, вызывающих мобилизацию энергетических ресурсов организма полевок, использовали охлаждение (7 дней) при температуре воздуха $-2 \pm 2^{\circ}\text{C}$ без ограничения подвижности и 60 минут при -15°C с ограничением подвижности. Об устойчивости животных к тестирующему воздействию и поддержании температурного гомеостазиса судили по изменению температуры тела, измеряемой рефлекто-электротермометром ТПЭМ-1.

Митохондрии печени выделяли методом дифференциального центрифугирования и изучали их энергетические реакции полярографическим методом с помощью закрытого электрода Кларка (Кондрашова и др., 1973; Estabrook, 1967; Lessler, Brierley, 1969). Учитывая, что повышенная чувствительность митохондрий к процедуре выделения и некоторым экспериментальным воздействиям может быть источником неопределенностей, затрудняющих экологическую интерпретацию данных, варьировали ряд условий работы с препаратом и использовали хорошо отработанные, строго аргументированные экспериментально режимы исследования его энергетических реакций (Кондрашова, Ананенко, 1973; Мокова, 1973; Козырева, 1975). Рабочие растворы имели состав: среда выделения - 0,25M сахароза, 0,02M Трис-НСI, 0,001M ЭДТА (рН 7,4); среда инкубации - 0,22M сахароза, 0,02M Трис-НСI, 0,01M KCl, 0,01M KH_2PO_4 , 0,005M MgCl_2 (рН 7,4). Объем ячейки - 1 мл, температура измерения 37°C .

Относительный вес внутренних органов (печени, сердца, почек и надпочечников) определяли в соответствии с требованиями метода морфо-физиологических индикаторов (Шварц и др., 1968). Количество белка митохондрий определяли по Лоури (Lowry et al., 1951). Математическую обработку экспериментального материала осуществляли стандартными статистическими методами (Гласс, Стенли, 1976), а также с помощью факторного анализа по программам ВЦ ИЭРИИ УНЦ АН СССР (Сиси, Эйзен, 1982; Елькин, Жигальский, 1983), на ЭВМ СМ-3 и микрокалькуляторе Электроника БЭ-18М. Сравнительный анализ энергетического метаболизма в печени полевок и его адаптив-

ных перестроек проводили используя совокупность показателей функциональной активности (V_{4p} , V_3 , V_Φ , ДК, АДФ:О) митохондрий при окислении эндогенных и экзогенных энергетических субстратов. В конце главы приведен краткий обзор терминов и обозначений, использованных в работе.

Глава 2. Основные пути адаптации мелких млекопитающих к условиям среды на разных уровнях биологической интеграции. Даётся обзор литературных сведений об адаптивных особенностях изученных видов полевок, а также - об экологической специфике адаптаций мелких млекопитающих на тканевом уровне. Рассматриваются современные представления о тонких механизмах приспособления животных к фактам окружающей среды на примере адаптации к холоду и гипоксии

Глава 3. Видовые особенности энергетического метаболизма в печени полевок. Дыхательная активность митохондрий печени представителей разных видов полёвок существенно различалась (табл. I). Попарное сопоставление экологически различающихся форм полевок в пределах одной весовой категории показало, что между экологической характеристикой вида и энергетическим метаболизмом в печени прослеживается отчетливая связь. Митохондрии печени горных полевок (серебристой и плоскочерепной) окисляли энергетические субстраты с меньшей скоростью, чем у лесных (красной и красно-серой).

Отличия в дыхательной активности митохондрий в парах экологически различных форм проявлялись по-разному в зависимости от типа энергетического субстрата. При сравнении красных и серебристых полевок на первый план вышли отличия в скорости окисления эндогенных субстратов и янтарной кислоты, тогда как при сопоставлении: красно-серых и плоскочерепных - глутаминовой. В митохондриях печени слепушонок, пеструшки и плоскочерепных полевок глутаминовая кислота окислялась практически с одинаковой скоростью, тогда как у остальных трех видов - со скоростью в полтора раза более высокой. Обнаруженное сходство в темпах окисления глутаминовой кислоты, вероятно, отражает тот факт, что слепушонки и плоскочерепные полевки являются типичными представителями териофауны степной и полупустынной зон Евразии (Банников, 1954; Формозов, 1976; Громов, Поляков, 1977; Юдин и др., 1979). Обитание в этих зонах сопряжено со значительными функциональными нагрузками на выделительную систему почек и детоксицирующую систему печени, выводящих азот и другие продукты метаболизма в условиях минимального расхода воды (Хочачка, Сомеро, 1975; Щеглова, 1976; Слоним, 1979). Глутаминовая кислота является эффективным детоксицирующим веществом (Волков и др., 1975). Возможно, что ее относительно слабое использование

Таблица I
Сравнительная характеристика дыхания митохондрий печени разных видов полевок ($M \pm m$)

Виды полевок	N	Вес тела /г/	Выход белка митох. $/\text{мг}/$	Скорость дыхания митохондрий /наиболее O_2 $\text{мкн}-\text{мкн}-I/$	
				V_3	$V_{\text{ЯК}}$
Хвастая	24	31 ± 3,2	15,2 ± 0,9	35,7 ± 3,4	85,5 ± 10,8
Красно-серая	15	42 ± 4,0	12,8 ± 2,3	25,8 ± 4,0	66,3 ± 7,8
Серебристая	10	34 ± 4,6	22,6 ± 2,3	20,1 ± 3,4	54,4 ± 8,7
Плоскочерепная	18	41 ± 5,6	26,0 ± 1,1	24,2 ± 2,4	53,7 ± 8,4
Слепушонка	21	43 ± 4,1	17,8 ± 1,3	19,0 ± 2,0	36,4 ± 3,3
Желтая пеструшка	6	74 ± 10,0	19,0 ± 2,5	14,3 ± 2,6	45,5 ± 4,4

Примечание: N – количество животных; V – скорость окисления энергетических субстратов (э – эндогенных; У ЯК – янтарной кислоты; Угуу – глутаминовой кислоты).

в качестве энергетического субстрата связано с преимущественной утилизацией в реакциях детоксикации, а не в энергетическом обмене. У горных полевок более низкие скорости дыхания митохондрий сочетались с увеличенным выходом митохондриального белка в печени (табл. I). Наряду с этим, им были присущи сравнительно высокие скорости окислительного фосфорилирования (табл. 2).

Таблица 2

Скорость и эффективность окислительного фосфорилирования в митохондриях печени полевок ($M \pm m$).

Виды полевок	N	Янтарная кислота		Глутаминовая кислота	
		v_f	АДФ:0	v_f	АДФ:0
Красная	24	318 \pm 29	1,6 \pm 0,16	184 \pm 24	2,2 \pm 0,2
Красно-серая	15	226 \pm 21	1,1 \pm 0,20	171 \pm 13	1,4 \pm 0,3
Серебристая	10	182 \pm 22	1,1 \pm 0,20	127 \pm 18	1,4 \pm 0,2
Плоскочерепная	18	223 \pm 20	1,4 \pm 0,10	138 \pm 15	2,0 \pm 0,2
Слепушонка	21	171 \pm 16	1,4 \pm 0,10	160 \pm 21	2,0 \pm 0,2
Желтая пеструшка	6	207 \pm 48	1,1 \pm 0,10	108 \pm 16	1,5 \pm 0,2

Примечание: v_f - скорость фосфорилирования /мкмоль АДФ мин⁻¹ мг⁻¹.

Известно, что длительная адаптация животных к холоду и гипоксии сопровождается увеличением количества цитохромов, усилием биогенеза митохондриальных белков в тканях (Маслова, 1971; Меерсон, 1973; Корниенко, 1979; Jansky, 1963; Petrović et al., 1978), позволяющим уменьшать потребность в кислороде и энергетических субстратах при выработке АТФ (Меерсон, 1975; Нейфах, 1979). Вероятно, при освоении горных районов, где основными экологическими факторами выступают холод и гипоксия (Большаков, 1972) в процессе эволюционного становления видов горных полевок закрепились некоторые биохимические особенности, в том числе, и повышенное содержание митохондриального белка на фоне сниженных темпов дыхания митохондрий. Сходные по диапазону и направленности различия были получены при изучении окислительного метаболизма в разных тканях других экологически различающихся пар видов полевок (Багдасарова, 1977, 1980; Ястребов и др., 1978; Муннов, 1982).

Низкая по сравнению с другими видами полевок дыхательная активность митохондрий печени слепушонок и желтых пеструшек также была созвучна с данными других авторов, отмечавших низкий уро-

вень обмена веществ у степных, пустынных и ведущих подземный образ жизни млекопитающих (Исаакян, 1972; Ливчак, 1972, 1975; Слоним, 1979; Pearson, 1959; McNab, 1966). Такого рода соотношение темпов окислительных процессов в митохондриях, уровня митохондриального белка и скорости фосфорилирования в ткани печени может иметь важное адаптивное значение. В силу роющего образа жизни слепушки испытывают постоянные физические нагрузки. Наряду с этим, в гнездах и ходах землероев и норных животных парциальное давление кислорода может существенно понижаться, а содержание углекислоты увеличиваться (Некипелов, 1958; Пантелеев, 1983). Следовательно, и у этих зверьков в условиях физиологической или гипоксической гипоксии энергетические потребности ткани печени удовлетворяются за счет высоких темпов окислительного фосфорилирования и повышенного содержания митохондриальных белков, обеспечивающих необходимый уровень АТФ при сниженном потреблении кислорода (табл. 1,2). Митохондрии печени разных видов полевок практически не различались по прочности сопряжения окисления с фосфорилированием (ДК по Чансу на янтарной и глутаминовой кислоте колебался в пределах $2,0 \pm 3,0$, что свидетельствовало о функциональной полноценности органелл), тогда как эффективность окислительного фосфорилирования была разной (табл. 2).

Глава 4. Экологическая оценка структуры адаптивного ответа полевок на холодовое воздействие. Кратковременное охлаждение вызывало разнонаправленные изменения в энергетическом метаболизме печени полевок и снижение температуры тела (табл. 3).

Таблица 3

Изменение температуры тела и эффективности окислительного фосфорилирования в печени полевок при кратковременном холодовом воздействии ($M \pm m$).

Виды полевок	Температура тела, °C		АДФ:О _{як}	
	Контроль	Холод	Контроль	Холод
Красная	$37,3 \pm 0,7$	$32,0 \pm 3,1$	$1,6 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,02$
Красно-серая	$37,6 \pm 0,6$	$24,1 \pm 2,4$	$1,1 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,01$
Слепушонка	$37,5 \pm 0,7$	$16,7 \pm 1,4$	$1,4 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,10$
Желтая пеструшка	$38,5 \pm 0,4$	$33,6 \pm 2,9$	$1,1 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,01$

Примечание: экспериментальные группы животных состояли из 4-7 особей; контрольные группы содержались в виварии при $22-24^{\circ}\text{C}$.

У красных полевок и желтых пеструшек, снижающих температуру тела в наименьшей степени, наблюдали уменьшение АДФ:О на янтарной кислоте ($P < 0,001$), частичное разобщение окислительного фосфорилирования в митохондриях. Функция энергопродукции в печени перемещалась на преимущественное окисление янтарной кислоты, тогда как окисление глутаминовой было существенно заторможено, особенно у желтых пеструшек. При резком снижении температуры тела у красно-серых полевок и слепушонок ($P < 0,001$) ответная реакция митохондрий печени была выражена в меньшей степени. Наблюдалось повышение скорости окисления и фосфорилирования на янтарной кислоте при неизменных значениях АДФ:О. У слепушонок при этом отмечали практически полное выключение окислительных процессов на глутаминовой кислоте. Специфическая особенность энергетического метаболизма печени степных и полупустынных форм полевок, состоящая в более слабом использовании глутаминовой кислоты в качестве энергетического субстрата, нашла свое реальное подтверждение в экспериментах с острым охлаждением. В критические моменты в печени слепушонок и желтых пеструшек окисление глутаминовой кислоты почти полностью выключалось, тогда как у красных и красно-серых полевок активность митохондрий на этом субстрате еще можно было регистрировать. Разобщение окислительного фосфорилирования наблюдалось в печени именно тех видов полевок, которые в процессе своей жизнедеятельности сталкиваются с резкими перепадами температур и по литературным данным обладают развитой химической терморегуляцией (Калабухов, 1970; Большаков, 1972; Башенина, 1977; Сафонов, 1983). Это во многом согласовалось с данными других авторов о ведущей роли разобщения тканевого дыхания и фосфорилирования в химической терморегуляции (Северин и др., 1960; Скулачев, 1962; Хаскин, 1975), а также явилось еще одним свидетельством участия печени в терморегуляторных реакциях мелких млекопитающих (Fedorov, Shure, 1942; Donhoffer et al., 1957; Jansky, 1963, 1971; Stoner, 1973).

Сниженная устойчивость слепушонок и красно-серых полевок к охлаждению, выражаясь в резком падении ректальной температуры сочеталась с отсутствием механизма разобщения окисления и фосфорилирования в печени. В силу подземного образа жизни слепушонки не сталкиваются со столь резкими перепадами температуры окружающей среды (Банников, 1954; Формозов, 1976; Орлов, 1978), а красно-серые полевки избегают их, предпочитая местообитания со стабильным микроклиматом (Семенов, 1975; Бердогин, 1979; Сафонов, 1983).

Структура адаптивного ответа разных видов полевок на длитель-

ное воздействие холода существенно различалась, как диапазоном и направленностью сдвигов отдельных параметров энергетического метаболизма в печени, так и по степени вовлечения в ответную реакцию морфо-физиологических показателей. При этом также прослеживалась отчетливая связь морфо-физиологических и биохимических сдвигов с экологическими особенностями полевок.

У лесных полевок и слепушонок, несмотря на значительные экологические, физиологические и морфологические различия, структура ответной реакции на многодневное холодовое воздействие обладала некоторыми сходными чертами. Составляющими компонентами адаптивного ответа явились: метаболические перестройки в дыхательной цепи митохондрий по типу низко энергетического сдвига (Кондрашова, 1974, 1975; Козырева, 1975), наиболее рельефно проявляющиеся на глутаминовой кислоте; увеличение выхода митохондриального белка в печени; увеличение внутренних органов (печени, сердца, почек, надпочечников), выраженное, однако, в зависимости от видовой принадлежности животных, по-разному. В наименьшей степени эти изменения проявлялись у красных полевок. Горные полевки (серебристая и плоскочерепная) и желтые пеструшки при формировании ответной реакции на длительное холодовое воздействие использовали, главным образом, изменение функциональной активности митохондрий печени, признаки низко энергетического сдвига были менее отчетливы, тогда как изменение выхода митохондриального белка и гипертрофия внутренних органов либо отсутствовали вовсе, либо проявлялись слабо.

Режим многодневной акклиматации к холodu представляет собой разновидность хронического стресса (Пастухов, 1976; Негоух , 1970). Слабая устойчивость животных к такого рода воздействиям проявляется в целом ряде негативных последствий, и прежде всего - в гипертрофии внутренних органов, свидетельствующей о возросшем напряжении энергетических процессов и о низкой эффективности адаптивных механизмов (Избинский, 1953; Гирголав, 1953; Пастухов, 1976; Негоух , 1970). В общую адаптивную реакцию лесных полевок и слепушонок вовлекалась гипертрофия внутренних органов, что косвенно свидетельствовало о недостаточной мощности энергообмена и механизмов терморегуляции у этих животных. Горные полевки и желтая пеструшка, напротив, характеризовались слабо выраженной биохимической и морфо-физиологической компонентами ответной реакции, что отражало высокую эффективность адаптивных механизмов. В целом, полученные данные во многом согласовались с имеющимися в литера-

туре частными экологическими характеристиками терморегуляции исследованных форм (Большаков, Некрасов, 1968; Калабухов, 1970; Башенина, 1977; Иркалиева-Хибашева, 1983; Сафонов, 1983).

Глава 5. Популяционная изменчивость параметров энергетического метаболизма в печени полевок. Популяционные различия большинства биоэнергетических параметров полевок, изученные на примере плоскочерепных полевок и слепушонок, носили направленный характер.

У слепушонок скорость энергетических процессов, выход митохондриального белка в печени возрастали с юго-запада (Оренбургская, Кустанайская обл.) на северо-восток (Челябинская, Курганская обл.) Уральской части ареала в 1,5 - 2,5 раза. Изменчивость энергетического метаболизма глутаминовой кислоты и эффективности окислительного фосфорилирования (АДФ:O) была менее выражена, чем на янтарной кислоте. Направление изменчивости показателей скорости окисления и фосфорилирования в печени слепушонок коррелировало с потемнением окраски меха и изменением некоторых интерьерных и экстерьерных показателей, изученных в полевых условиях (Большаков и др., 1982; Евдокимов, Позмогова, 1982-1984; Васильев и др., 1983).

Темноокрашенные слепушонки обладали более экономичным типом энергетического обмена в печени. Это проявилось при сравнительном анализе функциональной активности митохондрий бурых и черных зверьков из одной популяции, а также при сопоставлении структуры их адаптивного ответа на длительное воздействие холода. Меланисты, обитающие в сходных со светлой морфой погодно-климатических условиях (в пределах одной и той же популяции) характеризовались достоверно более низкими (в 1,5 - 2,0 раза) темпами окисления энергетических субстратов и более высоким уровнем митохондриального белка в печени (на 15%, $P < 0,05$). Высокая эффективность окислительного фосфорилирования и уровень энергетического сопряжения митохондриального дыхания на фоне более низких темпов потребления кислорода свидетельствовали о высокой экономичности энергетического метаболизма в ткани печени меланистов. На глутаминовой кислоте различия между двумя морфами не выявлялись, тогда как на янтарной и при окислении эндогенных субстратов регистрировались четко. Попарное сравнение представителей равнинных и горных популяций слепушонок показало, что усиление энергетических процессов в печени в северном направлении происходит независимо от высоты обитания, однако, в горной местности уровень тканевого энергетического метаболизма увеличен, а его эффективность снижена.

Ответная реакция на длительное охлаждение у представителей

южных популяций слепушонок формировалась на фоне значительного низко энергетического сдвига в митохондриях печени, увеличения содержания белка митохондрий в этой ткани и массы внутренних органов. У обитателей северной периферии ареала подобные изменения отсутствовали, что свидетельствовало о высокой эффективности механизмов адаптации этих животных. Полученные нами данные об энергетических преимуществах темноокрашенной морфы слепушонок согласовались с результатами изучения других видов грызунов, у которых известны явления адаптационного полиморфизма по окраске меха (Гершензон, 1945; Фолиатек, Анненкина, 1959; Николаева, 1978; Якименко, Воронова, 1979).

У плоскочерепных полевок, обитающих в северных районах ареала (Северный Казахстан, г. Ерментау; Тува, пос. Мугур-Аксы) были снижены скорости окисления энергетических субстратов в митохондриях печени по сравнению со зверьками из более южного района (Казахское нагорье, ст. Бассага). Диапазон различий между представителями разных популяций достигал почти полуторакратных значений, причем различия скоростей дыхания на эндогенных субстратах и на янтарной кислоте были выражены более ярко, чем на глутаминовой. Эффективность и прочность сопряжения окислительного фосфорилирования (АДФ:О и ДК) содержание митохондриального белка достоверно не различались.

Результаты экспериментов с длительным охлаждением показали, что у обитателей северных районов ареала в структуре адаптивного ответа были ярко выражены как биохимическая, так и морфо-физиологическая компоненты. Это свидетельствовало о недостаточной мощности систем тканевого энергообеспечения и снижении эффективности адаптивных механизмов и устойчивости к низким температурам. У полевок из Казахского нагорья, обладающих исходно более высоким уровнем энергетического метаболизма печени, не происходило существенных изменений функционального состояния митохондрий, а содержание митохондриального белка и масса внутренних органов не менялись. Известно, что в центральных областях ареала плоскочерепные полевки способны избегать неблагоприятных воздействий окружающей среды с помощью набора сложных поведенческих реакций (Банников, 1954; Большаков, 1967?), реализация которых требует интенсификации энергетического метаболизма и сопряжена со значительными физическими нагрузками (Формозов, 1976; Громов, Поляков, 1977; Слудский и др., 1978; Юдин и др., 1979). Вместе с тем, у полевок в периферийных северных районах эта деятельность ослаблена; для защиты и устройства гнезд они используют естественные убежища в камнях (Банников, 1954; Большаков, 1967, 1972; Юдин и др., 1979). Вероятно, это связано и с изменением физиологии

ческих и биохимических адаптаций. Снижение скорости энергетических процессов на тканевом уровне (печень) сопровождается снижением устойчивости к действию низкой температуры. В природе это компенсируется развитием экологической терморегуляции - способности использовать естественные убежища для укрытия от неблагоприятных факторов среды. В эксперименте такая способность не может реализоваться и развиваются патологические изменения.

Глава 6. Сезонные колебания энергетического метаболизма в печени полевок. Межвидовой анализ сезонных колебаний энергетического метаболизма в печени грызунов проводили в мае, июле, сентябре 1980, 1981 гг. на примере красной, красно-серой полевок и обыкновенных слепушонок. На протяжении всего периода наблюдений в печени красных полевок отмечали наиболее высокий уровень окисления и фосфорилирования. Осенне-зимняя перестройка погодно-климатических условий среди приводила к существенным сдвигам функциональных состояний митохондрий от максимально энергизованного ($\text{ДК}_{\text{як}} > 3,0$ и АДФ:О_{як} = 1,8 ± 2,0) до оптимально энергизированного ($\text{ДК}_{\text{як}} < 3,0$ и АДФ:О_{як} = 1,4 ± 1,6). Усиливалось окисление эндогенных субстратов, способных по литературным данным (Скулачев, 1969; Хаскин, 1975) увеличивать тепловой эффект окислительных процессов путем частичного разобщения окислительного фосфорилирования. Выход белка митохондрий в печени возрастал почти в 2 раза. Независимо от величины сезонных колебаний, красно-серые полевки уступали красным по абсолютным значениям показателей энергетики печени, что согласовалось с данными литературы о более низком уровне дыхания *in vivo* этих полевок при температурах 0 - 30°C (Башенина, 1977; Сафонов, 1983). Сезонные перестройки энергетического метаболизма в печени осуществлялись по линии экономии энергии, что выражалось в снижении скоростей окисления субстратов, повышении скорости и эффективности фосфорилирования. Выход белка митохондрий повышался на 72% ($P < 0,001$). Высокие скорости тканевого окисления, вероятно, позволяют красным полевкам компенсировать повышенные, по сравнению с красно-серыми, теплопотери вследствие меньших размеров тела и низких теплоизоляционных свойств меха. Подобный характер сезонных перестроек энергетики печени красных полевок, наряду с хорошо развитой химической терморегуляцией, может способствовать развитию эффективных метаболических реакций на холод и обеспечивать их устойчивость к перепадам температур в природе. Экономичность сезонных перестроек энергетики печени красно-серых полевок, вероятно связана с высокой требовательностью этих зверьков к микроклиматическим характеристикам местообитания, с высокой оседлостью и другими экологическими особенностями.

Обыкновенные слепушонки испытывают воздействие погодно-климатических факторов в более мягкой форме, чем наземные виды грызунов. Возможно поэтому, сезонные колебания энергетических параметров в печени оказались более сглаженными. У зверьков из северной периферийной популяции диапазон сезонных колебаний и абсолютные значения большинства энергетических параметров печени были выше, чем у южных. К осени у слепушонок увеличивалась скорость эндогенного дыхания митохондрий, уменьшалось содержание митохондриального белка, но возрастала скорость и прочность сопряжения окислительного фосфорилирования. В общих чертах метаболическая реакция энергетического аппарата печени слепушонок на сезонные перестройки погодно-климатических факторов характеризовалась некоторыми общими свойствами с реакцией красно-серых полевок. У тех и других функциональное состояние митохондрий печени сдвигалось в сторону повышения энергизованности. Вероятно, одной из причин этого сходства является степотопность сравниваемых форм - их обитание в относительно стабильных условиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно полученным данным, состояние энергетического метabolизма в печени разных видов полевок характеризовалось специфическим комплексом параметров окисления и фосфорилирования и было связано с экологическими особенностями изученных животных. Эта связь прослеживалась при сравнительном анализе как на видовом, так и на популяционном уровне. Наибольшей разрешающей способностью в выявлении видовых и популяционных особенностей энергетического метabolизма печени полевок обладали показатели, характеризующие скорость и эффективность окисления янтарной кислоты, а также уровень митохондриального белка в этой ткани. Это свидетельствовало о важной роли янтарной кислоты в энергообеспечении адаптивных реакций полевок в природе. Информативная ценность параметров окисления и фосфорилирования на глутаминовой кислоте была ниже. Характер метаболических сдвигов в митохондриях и структура адаптивного ответа полевок на кратковременное и длительное воздействие холодом были связаны с экологическими особенностями полевок и с эффективностью видовых и популяционных механизмов адаптации. Популяционная изменчивость большинства параметров энергетического метabolизма в печени слепушонок и плоскочерепных полевок носила направленный характер, косвенно была связана с изменением климатических факторов, что позволило отнести ее к рангу географической. На внутривидовом уровне проявилась четкая зависимость структуры адаптивного ответа на тестирующее охлаждение от ис-

ходного уровня энергетического метаболизма и содержания митохондриального белка в ткани печени. Оказалось, что чем выше скорость окисления и фосфорилирования в митохондриях, а также выход митохондриального белка, тем меньше выражены биохимические и морфо-физиологические сдвиги при формировании адаптивного ответа полевок на многодневное холодающее воздействие. Эта закономерность была свойственна и слепушонкам и плоскочерепным полевкам. Однако, у первых она проявлялась при обитании на северной периферии ареала, а у вторых была присуща представителям центральной популяции. Полученные результаты и их сопоставление с литературными данными свидетельствуют о том что свойства энергетического аппарата печени полевок во многом связаны с их устойчивостью к действию природных факторов. Сравнительный анализ биохимических и морфо-физиологических перестроек в организме этих животных при моделировании критических ситуаций в эксперименте, при смене сезонов года и климато-географических характеристиках среды обитания, позволяет косвенно судить об эффективности их адаптивных механизмов.

В В О Д Ы

1. Изучение адаптивных особенностей полевок с помощью полярографического анализа функциональной активности митохондрий продемонстрировало его высокую чувствительность и разрешающую способность в выявлении видовых, популяционных и внутрипопуляционных особенностей животных. Видовые и популяционные различия энергетического метаболизма в печени наиболее рельефно проявлялись при окислении янтарной кислоты митохондриями.

2. Состояние энергетических процессов в печени разных видов полевок связано с их экологическими особенностями. Лесные полевки (красная и красно-серая) характеризуются высоким уровнем энергетического метаболизма в печени, но низким содержанием белка митохондрий. Эндемичным горным полевкам (серебристой и плоскочерепной) свойственна более низкая дыхательная активность, но повышенное содержание белка митохондрий. Обитатели степной и полупустынной зоны (желтая пеструшка и обыкновенная слепушонка) характеризовались наименее низким среди изученных видов уровнем дыхательной активности митохондрий, но повышенным выходом митохондриального белка в печени.

3. В структуре ответной реакции на холодающее воздействие (кратковременное и многодневное) прослежена связь с эффективностью адаптивных механизмов полевок и их экологическими особенностями.

4. Популяционная изменчивость энергетического метаболизма в пе-

чени полевок видоспецифична, имеет направленный характер, связана с экологической спецификой среды обитания и образа жизни отдельных популяций и может быть отнесена к географической. У обыкновенных слепушонок в северном направлении интенсивность энергетического метаболизма печени увеличивается. У плоскочерепных полевок в северных популяциях уровень энергетического метаболизма печени снижен по сравнению с южной популяцией.

5. В пределах одного вида полевок представители разных популяций отличаются друг от друга по уровню энергетических процессов в печени и по структуре адаптивного ответа на тестирующее воздействие холодом. Вклад биохимической и морфо-физиологической компонент в ответную реакцию полевок зависит от исходного уровня энергетического метаболизма печени и содержания митохондриального белка.

6. Функциональная активность энергетического аппарата печени лесных полевок и слепушонок значительно колеблется по сезонам. Величина и направленность этих колебаний связаны с видовой стратегией адаптации полевок к неблагоприятным изменениям окружающей среды и, как показано на примере слепушонок, находятся под влиянием экологических особенностей отдельных популяций.

Список работ, опубликованных по теме диссертации.

1. Мазина Н.К., Бабушкина Н.Ф., Садыков О.Ф., Ванчугова Н.П. Особенности окислительного обмена в печени красной полевки в зависимости от условий обитания. - В кн.: Инф. материалы ИЭРИЖ УНЦ АН СССР. Свердловск, 1980, с. 70-71.
2. Мазина Н.К. О мощности внутриклеточных систем энергообеспечения у полевок с разной экологической специализацией. - В кн.: Териология на Урале. Свердловск, 1981, с. 51-55.
3. Большаков В.Н., Мазина Н.К., Евдокимов Н.Г. Особенности интерьера признаков и энергетики тканевого окислительного обмена бурой и черной морф слепушонки обыкновенной. - Докл. АН СССР, 1982, т. 263, № 1, с. 244-247.
4. Мазина Н.К. Сравнение параметров тканевой биоэнергетики у представителей двух популяций обыкновенной слепушонки. - В кн.: Вопросы экологии животных. Свердловск, 1982, с. 44.
5. Мазина Н.К. Адаптивные особенности окислительного и энергетического метаболизма в печени полевок Стрельцова, обитающих на границах и в центре формирования ареала. - В кн.: Адаптация на разных уровнях биотогической интеграции. Материалы VI Всес. конф. по экол. физиол. Сыктывкар, 1982, т.2, с.115.
6. Мазина Н.К. О путях адаптации на тканевом уровне у мелких

грызунов с разной экологией. - В кн.: Млекопитающие. Материалы III съезда Всесоюзн. териол. о-ва. М., 1982, т. I. с. 249.

7. Мазина Н.К. Сравнение адаптивных реакций митохондрий печени двух видов горных полевок. - В кн.: Экология горных млекопитающих. Свердловск, 1982, с. 69-70.

8. Мазина Н.К. Изучение адаптации на тканевом уровне биохимическими методами. - В кн.: Экология, человек и проблемы охраны природы. Свердловск, 1983, с. 70.

9. Мазина Н.К. К оценке энергетической стоимости приспособительных реакций у мышевидных грызунов. - В кн.: Исследование актуальных проблем териологии. Свердловск, 1983, с. 48-50.

10. Мазина Н.К. Географическая изменчивость параметров тканевой биоэнергетики у обыкновенной слепушонки. - В кн.: Популяционная изменчивость и проблемы охраны генофонда млекопитающих. М., 1983, с. 123-125.

II. Мазина Н.К. Сезонные изменения окислительного фосфорилирования в печени у полевок разных видов. - В кн.: Метаболическая регуляция физиологического состояния. Пущино, 1984, с. 62.

Н. Мазина

НС 19147 ПОДПИСАНО К ПЕЧАТИ 25/ХII 1984 г. ФОРМАТ 60x84 1/16
ОБЪЕМ 1,0 ПЕЧЛ. ТИРЖ 100 ЗАКАЗ 10
ЦЕНТРАЛЬНОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ ПО ПОДПИСАНИЮ ДОКУМЕНТОВ
ПЕХ № 4 ОБЪЕДИНЕНИЯ "ПОЛИГРАФИСТ",
СВЕРДЛОВСК, ТУРГЕНЕВА, 20