

Т. Г. АРУТЮНЯՆ, М. А. ДАВТՅԱՆ

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ ГУСЕНИЦ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА V ВОЗРАСТА

Сведения о качественном составе и количественной характеристике свободных аминокислот [1, 5, 7] и аминокислот белков тутового шелкопряда [3, 4, 6] привели авторов к заключению, что белковый и аминокислотный обмен насекомого связан с фазами развития и физиологическим состоянием организма. У тутового шелкопряда интенсивность обмена аминокислот и белков особенно резко выражена в V возрасте развития, когда одновременно происходят, с одной стороны, продукция белка шелка, а с другой—подготовка к метаморфозу.

Однако, судя по литературным данным, вопросы белкового и аминокислотного обмена как в целом организме, так и в тканях, с точки зрения механизмов и локализации превращения азотсодержащих соединений, разработаны еще недостаточно. Задачей настоящей работы явилось изучение динамики фонда свободных, связанных и структурных аминокислот гусениц шелкопряда V возраста развития, а также куколок 10-го дня с целью выявления основных направлений в аминокислотном обмене шелкопряда породы «АрС-43».

Материал и методы. Объектом исследования служили гусеницы шелкопряда 1-го и 9-го дней V возраста, куколки 10-го дня развития, а также коконы и чешуйки. Подопытный материал был получен и зафиксирован в период весенней выкормки 1970 и 1971 гг. (шелководческая станция Ин-та земледелия МСХ).

Из гусениц были сформированы подопытные партии по 50 штук каждого пола в 3-х повторностях. Образцы корма, его остатка (после поедания корма гусеницами) и экскрементов подвергали предварительной сушке (воздушно-сухое состояние) и, размельчив в порошок, сохраняли для анализов. Количество усвоенных питательных веществ рассчитывали по разнице между таковым корма, его остатка и экскрементов.

Спирторастворимые и нерастворимые фракции гусениц 1-го и 9-го дня V возраста и куколок 10-го дня развития были получены путем двукратной экстракции разрезанного на куски объекта 75% кипящим этиловым спиртом с гидромодулем 15 и 7, в течение 1 и 0,5 часа соответственно.

Экстракт отделялся от осадка центрифугированием при 8000 об/мин.

Определение общего азота производили микрометодом Кьельдаля аминного—методом Хардинга и Мак-Лина [2]. Структурные и экстрагируемые этанолом соединения белкового ряда исследовали после кислотного гидролиза 20% HCl методом хроматографии на бумаге (Filtrak F № 11—немецкая) одномерным нисходящим способом. Для разделения аминокислот использовали смесь бутанола, уксусной кислоты и воды (300 : 60 : 140). Проявителями служили 0,2% раствор нингидрина в ацетоне и раствор изатина [8, 9]. Идентификацию производили методом выпадающего и усиливающегося пятна.

Таблица 1

Сухой вес, общий и аминный азот, г на 50 особей

| Пол | Усвоено корма | Гусеницы V возраста | | | | | | Прирост | Куколки 10-го дня | | | Кокконы | Чешуйки | Сумма коконов, куколок, чешуек | Разность от гусениц 9-го дня |
|----------------------|---------------|---------------------|------------------------------------|-------|--------------------|------------------------------------|-------|---------|--------------------|------------------------------------|-------|---------|---------|--------------------------------|------------------------------|
| | | 1-ый день | | | 9-ый день | | | | спиртовой экстракт | остаток после спиртового экстракта | сумма | | | | |
| | | спиртовой экстракт | остаток после спиртового экстракта | сумма | спиртовой экстракт | остаток после спиртового экстракта | сумма | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| +♂ | 71,44 | 7,21 | 3,73 | 10,94 | 6,73 | 29,85 | 36,58 | 25,64 | 3,52 | 10,40 | 13,92 | 15,10 | 0,43 | 29,45 | -7,13 |
| | 72,53 | 7,73 | 4,07 | 11,80 | 8,12 | 32,30 | 40,42 | 28,62 | 3,88 | 12,30 | 16,18 | 14,10 | 0,47 | 30,75 | -9,67 |
| N (общий) | | | | | | | | | | | | | | | |
| +♂ | 4,49 | 0,12 | 0,51 | 0,63 | 0,42 | 3,82 | 4,30 | 3,67 | 0,35 | 1,34 | 1,69 | 2,82 | 0,05 | 4,56 | +0,26 |
| | 5,22 | 0,16 | 0,57 | 0,73 | 0,58 | 4,44 | 5,02 | 4,29 | 0,38 | 1,62 | 1,99 | 2,40 | 0,07 | 4,46 | -0,56 |
| N (NH ₂) | | | | | | | | | | | | | | | |
| ♂ | 3,09 | 0,085 | 0,377 | 0,464 | 0,388 | 2,596 | 2,984 | 2,520 | 0,211 | 0,696 | 0,907 | 3,093 | 0,029 | 4,029 | +1,045 |
| | 3,42 | 0,085 | 0,438 | 0,523 | 0,407 | 3,647 | 4,054 | 3,531 | 0,167 | 0,928 | 1,095 | 2,333 | 0,036 | 3,464 | -0,590 |

Результаты и обсуждение. В период V возраста развития количество усвоенных сухих веществ корма (табл. 1) 50 особями составляет у самцов—71,44, у самок—72,53 г, с общим азотом 4,49 и 5,22 г и аминным—3,09 и 3,42 г соответственно. За счет этих усвоенных питательных веществ на 9-ый день развития (по сравнению с 1-ым днем) происходит прирост сухих веществ и у самок (11,80—40,42 г), и у самцов (10,94—36,58 г) в среднем 3,5 раза. Причем это имеет место в спиртонерастворимой фракции червя, тогда как растворимая фракция не претерпевает заметных изменений. Соответственно происходит и увеличение азотсодержащих соединений. На 9-ый день развития общий и аминный азот возрастают примерно в 5,5—7,0 раза, главным образом за счет таковых спиртонерастворимой фракции. Определенное возрастание общего и аминного азота происходит и в спирторастворимой фракции, вероятно, параллельно уменьшению безазотистых соединений.

Судя по содержанию сухих веществ, общего и аминного азота в куколках и коконах шелкопряда наблюдается выраженный половой диморфизм. Кокон самцов отличаются высоким содержанием сухих веществ, азотсодержащих соединений, тогда как у самок указанные показатели более выражены в куколках.

В следующей серии опытов мы задались целью выяснить, за счет каких аминокислот происходит столь заметное возрастание общего и аминного азота по сравнению с весом спиртонерастворимой фракции. Можно допустить, что подобное увеличение азотсодержащих соединений обусловлено как новообразованием аминокислот за счет имеющихся углеродистых скелетов и азотсодержащих соединений, поступающих извне, так и, в основном, превращением аминокислот, ведущим к образованию специфических для шелкопряда аминокислот с низким молекулярным весом. Это предположение согласуется с данными наших экспериментов, приведенными в табл. 2. По данным табл. 3, на 9-ый день развития, по сравнению с 1-ым днем, количество аминокислот с высоким молекулярным весом—лизина, валина, фенилаланина, лейцина, глутаминовой кислоты, треонина—увеличивается не более чем в два раза, тогда как аминокислоты с низким молекулярным весом—аланин, глицин, серин—увеличиваются более чем в четыре раза. Исключение составляют гистидин и тирозин, которые возрастают в три раза. Полученные данные свидетельствуют о глубоких качественных и количественных изменениях в белках спиртонерастворимой фракции. Резкое качественное различие в содержании аминокислот на 9-ый день развития сравнительно с 1-ым днем наводит на мысль, что в течение развития шелкопряда либо появляются новые фракции белков с высоким содержанием аминокислот с низким молекулярным весом (а также тирозина и гистидина), либо происходит неравномерный прирост имеющихся фракций с превалированием синтеза фракций, содержащих преимущественно аминокислоты с низким молекулярным весом. Что же касается спирторастворимой фракции, то, ввиду низкого содержания аминного азота в ней, она не мо-

Аминокислоты гусениц V возраста развития, ммоль в 100 г абсолютно сухого веса

| | Усвоено | | 1-ый день | | | | | | 9-ый день | | | | | |
|--------------------|---------|-------|--|--|-------|--|--|-------|--|--|-------|--|--|-------|
| | ♂ | ♀ | ♂ | | | ♀ | | | ♂ | | | ♀ | | |
| | | | спирто- раствори- мая фракция | спирто- нераствори- мая фракция | сумма | спирто- раствори- мая фракция | спирто- нераствори- мая фракция | сумма | спирто- раствори- мая фракция | спирто- нераствори- мая фракция | сумма | спирто- раствори- мая фракция | спирто- нераствори- мая фракция | сумма |
| Цистеин | | | 4,12 | 5,56 | 9,68 | 4,87 | 3,83 | 8,70 | 5,19 | 10,82 | 16,01 | 7,72 | 17,87 | 25,59 |
| Лизин | 6,96 | 1,05 | 1,63 | 13,66 | 15,29 | 1,54 | 12,28 | 13,82 | 2,50 | 25,11 | 27,61 | 1,44 | 23,26 | 24,70 |
| Гистидин | 22,26 | 26,45 | 1,13 | 5,51 | 6,61 | 0,97 | 5,72 | 6,69 | 1,63 | 16,64 | 18,27 | 2,15 | 10,18 | 12,33 |
| Аргинин | 20,80 | 18,10 | 1,04 | 8,16 | 9,20 | 1,05 | 7,41 | 8,46 | 0,97 | 20,04 | 21,01 | 1,04 | 20,51 | 21,54 |
| Аспарагиновая к-та | 7,10 | 7,06 | 3,01 | 7,33 | 10,34 | 3,30 | 8,18 | 12,48 | 3,28 | 25,91 | 29,19 | 3,17 | 28,93 | 32,10 |
| Серин | | | 2,20 | 14,92 | 17,12 | 1,22 | 12,12 | 13,34 | 1,47 | 49,86 | 51,33 | 1,24 | 42,55 | 43,79 |
| Глицин | 42,66 | 38,93 | 3,85 | 22,39 | 26,24 | 4,63 | 15,16 | 19,79 | 4,36 | 87,71 | 92,07 | 5,96 | 73,99 | 79,95 |
| Глутаминовая к-та | 1,73 | 0,15 | 1,98 | 6,03 | 8,01 | 1,92 | 5,78 | 7,70 | 3,40 | 11,17 | 14,57 | 3,00 | 12,99 | 15,99 |
| Треонин | 1,01 | — | 1,64 | 17,65 | 19,29 | 2,03 | 15,32 | 17,35 | 5,28 | 93,84 | 99,12 | 5,31 | 79,92 | 85,23 |
| Аланин | — | 13,47 | 1,11 | 11,78 | 12,89 | 1,36 | 15,14 | 16,50 | 7,85 | 15,62 | 17,47 | 1,99 | 17,55 | 19,54 |
| Пролин | 24,31 | 24,42 | 0,49 | 9,15 | 9,64 | 0,51 | 6,85 | 7,36 | 2,50 | 28,23 | 30,73 | 2,65 | 28,81 | 30,46 |
| Тирозин | 35,07 | 27,20 | 1,16 | 8,65 | 9,81 | 2,14 | 8,39 | 10,53 | 2,89 | 15,82 | 18,71 | 2,90 | 15,40 | 18,30 |
| Вал/мет | 17,40 | 15,33 | — | 10,03 | 10,03 | — | 10,20 | 10,20 | 1,76 | 13,18 | 14,34 | 1,07 | 13,83 | 14,90 |
| Фенилаланин | 38,24 | 33,43 | 1,65 | 21,38 | 23,03 | 1,51 | 20,27 | 21,78 | 3,22 | 39,65 | 42,87 | 3,05 | 39,19 | 42,24 |

Таблица 3

Аминокислоты куколок, коконов и чешуек, ммоль в 100 г абсолютно сухого веса

| | Куколки 10-го дня | | | | | | Коконь | | Чешуйки | |
|--------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-------|-----------------------------------|-------------------------------------|-------|--------|--------|---------|--------|
| | ♂ | | | ♀ | | | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ |
| | спиртора- створимая фракция | спиртоне- растворимая фракция | Сумма | спиртора- створимая фракция | спиртоне- растворимая фракция | сумма | | | | |
| Цистеин | 7,86 | 3,71 | 11,57 | 7,76 | 15,30 | 23,06 | 23,49 | 42,24 | 20,97 | 11,01 |
| Лизин | 2,86 | 17,74 | 20,60 | 3,64 | 26,80 | 30,44 | 12,22 | 13,16 | 13,91 | 12,97 |
| Гистидин | 5,50 | 8,87 | 13,97 | 3,89 | 13,86 | 17,75 | 16,91 | 23,30 | 35,90 | 32,70 |
| Аргинин | 1,25 | 9,85 | 11,10 | 0,98 | 18,86 | 19,84 | 16,60 | 19,32 | 11,52 | 9,33 |
| Аспарагиновая к-та | 1,11 | 18,85 | 19,96 | 1,09 | 26,78 | 27,87 | 51,75 | 52,71 | 21,53 | 101,34 |
| Серин | 1,11 | 18,34 | 19,45 | 1,09 | 20,24 | 21,33 | 195,76 | 160,58 | — | — |
| Глицин | 9,47 | 21,84 | 31,31 | 5,64 | 26,56 | 32,2 | 333,84 | 322,22 | 96,30 | 102,91 |
| Глутаминовая к-та | 2,80 | 19,00 | 21,80 | 3,32 | 27,02 | 30,34 | 13,06 | 12,62 | 22,87 | 23,08 |
| Треонин | 1,63 | 16,74 | 18,37 | 1,08 | 26,23 | 30,31 | 328,26 | 303,15 | 66,91 | 61,70 |
| Аланин | 3,34 | 21,93 | 25,27 | 2,42 | 30,43 | 32,85 | 6,15 | 5,60 | 75,55 | 77,98 |
| Пролин | 0,90 | 10,72 | 11,62 | 1,62 | 19,77 | 21,39 | 57,45 | 50,92 | 10,06 | 12,66 |
| Тирозин | сл. | 17,99 | 17,99 | сл. | 28,56 | 26,56 | 5,78 | 5,73 | 28,96 | 23,83 |
| Вал/мет | сл. | 18,46 | 18,46 | сл. | 22,06 | 22,06 | сл. | сл. | сл. | сл. |
| Фенилаланин | 2,76 | 27,82 | 30,58 | 1,58 | 32,80 | 34,38 | 15,13 | 17,70 | 44,24 | 43,49 |

жет заметно повлиять на указанную закономерность. К 9-му дню развития в этой фракции наблюдается заметное увеличение лейцина, фенилаланина, валина + метионина, тирозина, аланина, глутаминовой кислоты + треонина, остальные аминокислоты почти не изменяются. Интересно отметить значительное возрастание фенилаланина в этой фракции, тогда как в спиртонерастворимой этот процесс очень незначителен. Здесь, вероятно, происходит усиленное превращение фенилаланина в тирозин, который составляет одну из основных структурных аминокислот шелка.

Изучение аминокислотного состава коконов, куколок и чешуек вносит некоторую ясность в высказанное предположение (табл. 3).

Аминокислотный состав коконов показывает, что в шелке в большом количестве содержатся низкомолекулярные аминокислоты—аланин, серин, глицин, а также тирозин и аспарагиновая кислота, т.е. именно те, которые значительно увеличиваются в спиртонерастворимой фракции гусениц 9-го дня развития.

Таким образом, наблюдаемое в процессе развития гусениц закономерное увеличение аминокислот с низким молекулярным весом обусловлено главным образом синтезом шелка.

Определенный интерес представляет также высокое содержание гистидина в шелке и в куколках, что свидетельствует о наличии ферментных систем с выраженной активностью для синтеза гистидина.

Аминокислотный состав тела куколок в качественном и количественном отношении отличается от аналогичного показателя у гусениц. Это отчасти связано с выделением значительной части некоторых аминокислот в состав белков шелка и изменением белкового и аминокислотного состава тела в процессе метаморфоза. В теле куколок значительную долю в структурных аминокислотах составляют глутаминовая кислота + треонин, пролин, фенилаланин и меньшую—моноаминокислоты.

Отмеченная закономерность в отношении перехода аминокислот с высоким молекулярным весом в аминокислоты с низким молекулярным весом особенно выражена у самцов [3], поскольку, как установлено, самцы вырабатывают больше шелка, чем самки. В аминокислотном составе шелка самцов и самок качественных и количественных различий нет, если не считать, что гистидин и цистеин у самок более выражен (табл. 3).

Совокупность полученных данных позволяет заключить, что в процессе развития гусениц происходят глубокие сдвиги в аминокислотном обмене, особенно выраженные в интенсивном образовании аланина, глицина, серина, тирозина и аспарагиновой кислоты. Дальнейшие исследования будут вестись в направлении выявления локализации и механизма возможных превращений отдельных аминокислот.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии

Поступило 20.XII 1971 г.

Տ. Գ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՑԱՆ, Մ. Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ

ԹԹԵՆՈՒ ՇԵՐԱՄԻ ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ 5-ՐԴ ՀԱՍԱԿԻ ԹՐԹՈՒՐՆԵՐԻ
ԱՄԻՆԱԹՓՈՒՆԵՐԻ ԳԻՆԱՄԻԿԱՆ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Մեր նպատակն է եղել ուսումնասիրել թթենու շերամի զարգացման 5-րդ հասակի թրթուրների, ինչպես նաև 10 օրական հարսնյակների պաշարային ֆոնդի ազատ, կապված և կառուցվածքային ամինաթթուների դինամիկան՝ նպատակ ունենալով բացահայտել շերամի APC-43 ցեղի մոտ ամինաթթուների փոխանակության հիմնական ուղիները:

Ստացված տվյալներից հանգել ենք այն եզրակացության, որ թրթուրի զարգացման ընթացքում նրանց ամինաթթվային փոխանակության մեջ տեղի են ունենում խորր փոփոխություններ: Հատկանշական են ալանինի, գլիցինի, սերինի, թիրոզինի և ասպարազինաթթվի ավելացումը լիզինի, լեյցինի, արգինինի պակասեցմանը զուգահեռ:

Նշված օրինաչափությունը խիստ արտահայտված է արունների մոտ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алиева М. И., Филиппович Ю. Б. Биологические науки, 1, 44, 1967.
2. Аналитические методы белковой химии. М., 1963.
3. Бунгова В. Г., Филиппович Ю. Б. Ученые записки Московского гос. пед. ин-та им. В. И. Ленина, 299, 219, 1969.
4. Филиппович Ю. Б. Биохимия, 24, 5, 904, 1959.
5. Филиппович Ю. Б. Труды Московского пед. ин-та им. В. И. Ленина. Биохимия шелкопряда, 156, 10, 49, 1960.
6. Филиппович Ю. Б., Алиева М. И. Журнал общей биологии, 27, 4, 489, 1966.
7. Филиппович Ю. Б., Бунгова В. Г. Биохимия, 31, 3, 631, 1966.
8. Филиппович Ю. Б., Клунова С. М. Журнал общей биологии, 28, 6, 715, 1967.
9. Хроматография на бумаге. Под ред. И. М. Хайса и К. Мацека. М., 1962.
10. Hrabetova E., Tury J. J. chromat. 3 (2), 199, 1960.