

Т. Г. АРУТЮНЯН

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ОБЩЕГО АЗОТА И АМИНОКИСЛОТ В РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ ГРЕНЕ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

Исследовалось качественное и количественное содержание структурных и экстрагируемых спиртом «свободных» аминокислот 1, 3, 5, 7 и 9 дня развития грены и вылупившихся мурашей. Обнаружились глубокие количественные и качественные сдвиги в содержании аминокислот в разных фракциях развивающейся грены. В спирторастворимой фракции грены в течение инкубации идет понижение аминного азота, обнаружено увеличение гистидина и аланина в спирторастворимой фракции мурашей.

Изучение аминокислотного обмена в развивающейся грене представляет определенный интерес. Несмотря на большую теоретическую и практическую значимость этого вопроса, в литературных источниках весьма ограничены сведения, касающиеся аминокислотного состава грены объема синтеза и распада отдельных аминокислот в период становления следующей фазы развития — гусеницы [1, 2, 5].

В настоящей работе поставлена задача исследовать с точки зрения качественной и количественной характеристики состав структурных и экстрагируемых спиртом «свободных аминокислот» в развивающейся грене тутового шелкопряда.

Материал и методика. Объектом исследования служила гrena тутового шелкопряда породы Арс-43, возделываемого на шелководческой станции Ин-та земледелия МСХ АрмССР.

Спирторастворимую фракцию грены 1, 3, 5, 7 и 9 дня развития и мурашей получали экстрагированием 75%-ным этиловым спиртом, с гидромодулем $\frac{\text{объем}}{\text{вес}}$, равным

150. Свежую грену переносили в ступку (холодные условия), тщательно растирали в течение 30 мин, постепенно добавляя спирт. Содержимое ступки переносили в колбу с обратным холодильником и ставили в водяную баню на 1 час при температуре 80°C. Полученный гомогенат подвергали центрифугированию при 8000 об/мин в течение 15 мин, после чего декантацией отделяли надосадочную жидкость. Остаток вторично подвергали горячей экстракции в течение 40 мин и снова центрифугировали. Сдвиг надосадок, осадок промывали два раза 75%-ным спиртом и доводили до воздушно-сухого состояния для анализа. Экстракты объединялись.

Определение общего азота производили микрометодом Кельдаля, аминного $[N(NH_2)]$ — пиридиновым.

Структурные и экстрагируемые этанолом соединения белкового ряда исследовали после кислотного гидролиза 20%-ным HCl методом хроматографии на бумаге (Filtrak FN 11-немецкая) одномерным нисходящим способом. Для разделения аминокислот использовали смесь бутанола, уксусной кислоты и воды (300:60:140). Проявителем служили 0,2%-ый раствор нингидрина в ацетоне и изатин [3, 4]. Идентификацию про-

изводили либо методом выпадающего и усиливающегося пятна, либо при помощи индивидуальных тестов.

В спиртовых экстрактах развивающейся грены, а также мурашей, выявлено пятно с $Rf=0,34$, соответствующее глутамину. Это пятно было обнаружено и у других пород тутового шелкопряда (Lem-54, Б₂УЛ). После гидролиза этой фракции оно исчезает, и взамен возрастает количество глутаминовой кислоты.

Результаты и обсуждение. Как видно из табл. 1, в грене тутового шелкопряда во все периоды ее развития до вылупления мурашей количество сухого вещества и общего азота не подвергается значительным

Таблица 1

Сухой вес, общий и аминный азот в развивающейся грене тутового шелкопряда, % на абс. сухое вещество грены

Дни развития	Сухой вес			Общий азот		Азот аминный		
	грена	остаток после спиртовой экстракции	спирторастворимая фракция	остаток после спиртовой фракции	спирторастворимая фракция	остаток после спиртовой экстракции	спирторастворимая фракция	
							до гидролиза	после гидролиза
1	40,1	32,4	7,7	11,12	2,41	8,85	0,586	1,156
3	41,0	33,2	7,8	10,50	2,61	8,31	0,375	1,220
5	40,1	33,4	6,7	11,22	2,49	8,72	0,307	1,044
7	42,9	32,7	10,2	10,02	2,10	8,36	0,303	0,652
9	42,9	33,8	8,9	11,20	2,38	8,90	0,270	0,603
Мураши	28,7	10,3	18,4	12,61	4,15	5,57	0,542	1,830
Скорлупы	99,6			20,04*		14,58*		

* Целые скорлупы.

изменениям. Доля сухого вещества остатка грены после спиртовой экстракции почти постоянна и составляет в среднем 80%. После вылупления мурашей указанное соотношение меняется, т. е. количество сухого вещества растворимой фракции (65—70%) превалирует над таковым остатка (30—35%), что объясняется отбросом скорлупок.

Такая же картина наблюдается при сравнении данных по общему азоту спиртонерастворимой и растворимой фракции. Из приведенных данных видно также, что количество аминного азота спиртонерастворимой фракции в течение развития грены почти постоянно и резко падает после вылупления мурашей. Подобное явление вновь можно объяснить изменением доли сухих веществ остатка до и после вылупления мурашей.

Из приведенных данных явствует, что при исследовании азотсодержащих соединений цельной грены или ее остатка после спиртовой экстракции изменения не улавливаются.

С другой стороны, исследование аминного азота в спирторастворимой фракции показало постепенное падение его во все периоды развития грены и возрастание у мурашей. Эта закономерность наблюдается и после гидролиза этой фракции.

При оценке факта спада аминного азота спирторастворимой фракции в течение инкубации грены необходимо обратить внимание на то, что в этой фракции общий азот не подвергается каким-либо заметным изменениям. Это наталкивает на мысль о его переходе в неаминные формы азотсодержащих соединений, которые остаются в той же фракции. По всей видимости, происходит дезаминирование аминокислот с образова-

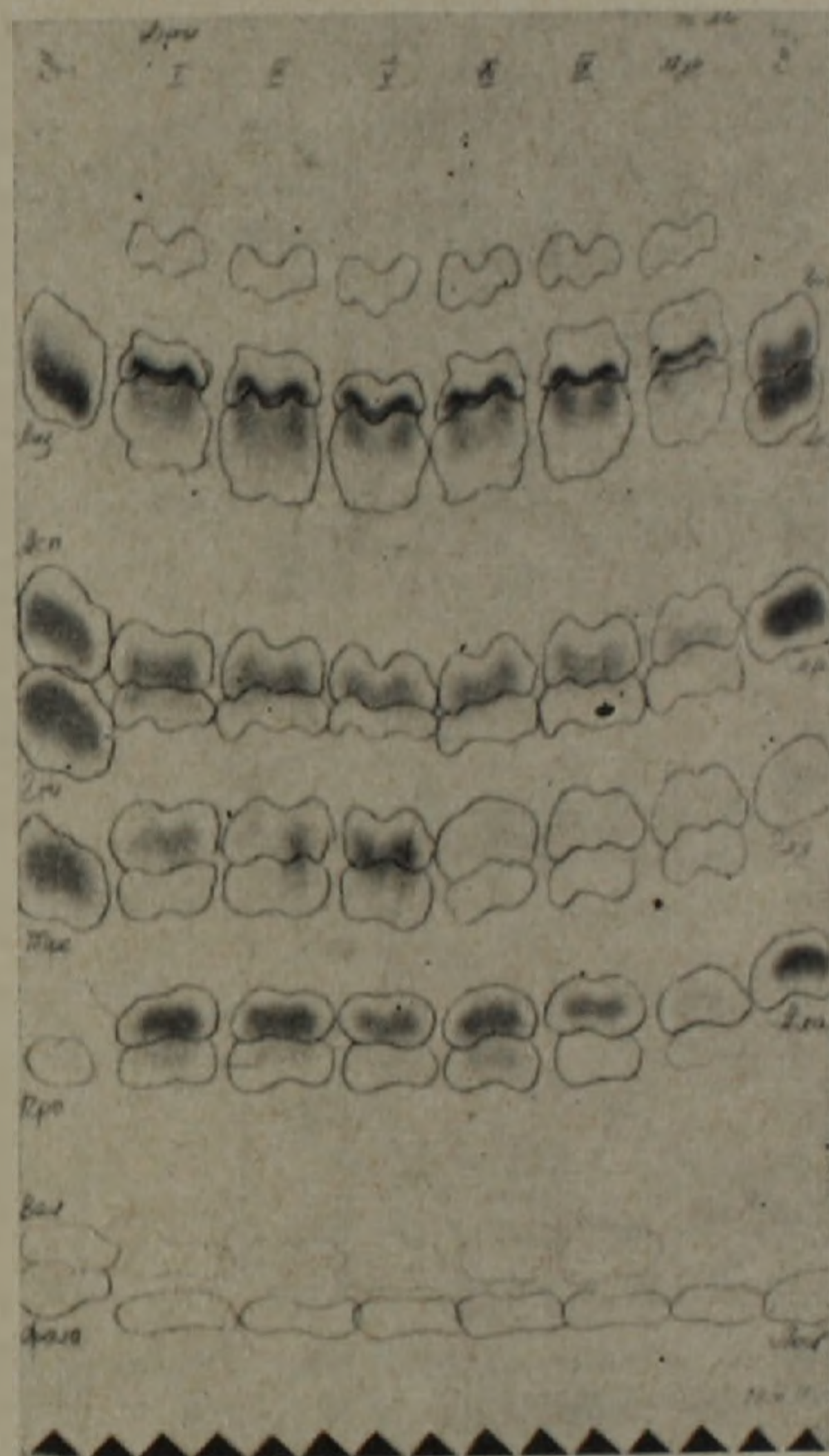


Рис. 1.

Рис. 1. Аминокислоты спирторастворимой фракции развивающейся грены тутового шелкопряда (после гидролиза).

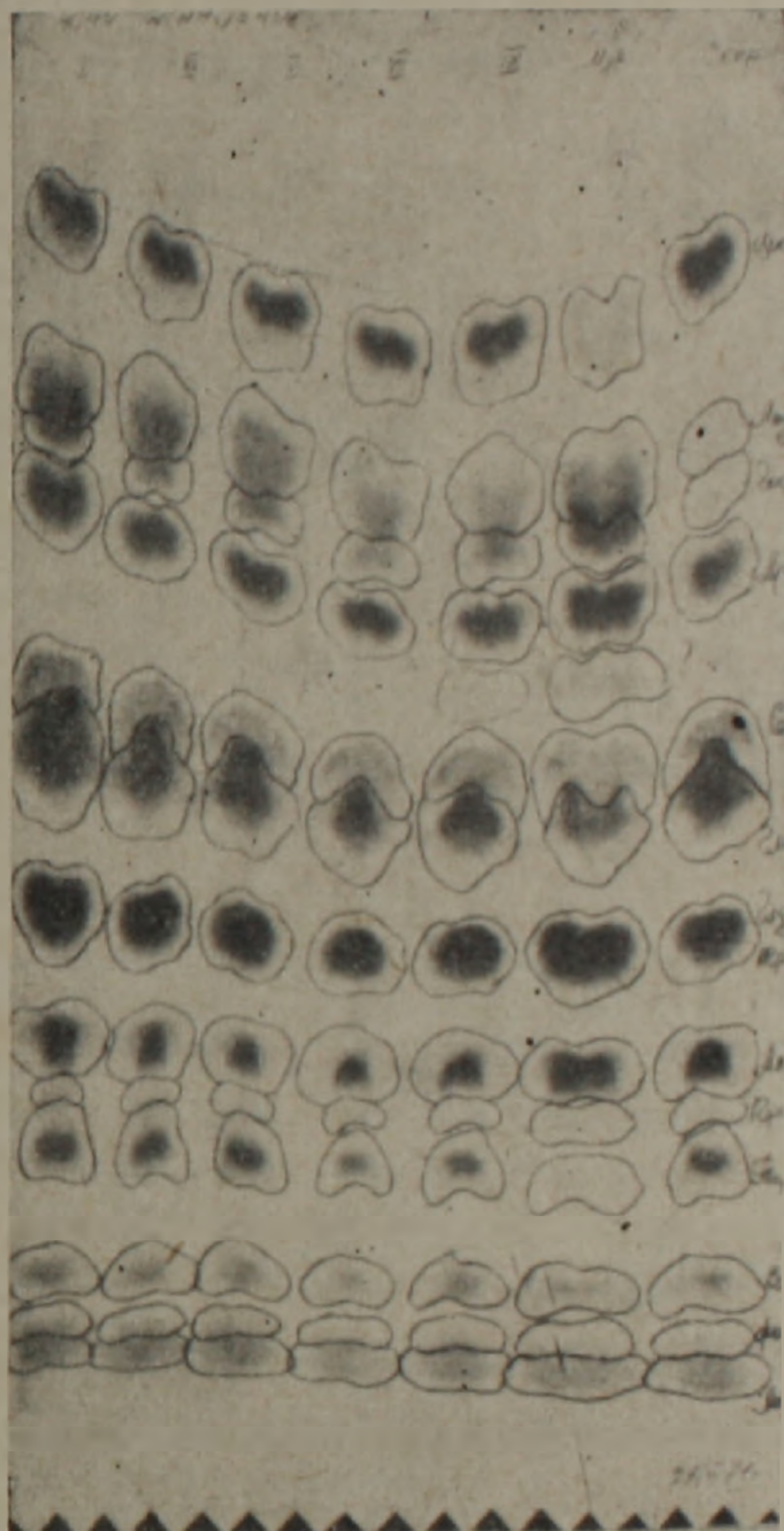


Рис. 2.

Рис. 2. Аминокислоты спиртонерастворимой фракции развивающейся грены тутового шелкопряда.

нием кетокислот с целью покрытия энергетических потребностей формирующегося зародыша. С этой точки зрения интересно было рассмотреть, за счет каких аминокислот происходит наблюдаемое понижение аминного азота в течение развития грены.

Приведенные данные показывают, что в развивающейся грене наблюдаемое понижение аминного азота спирторастворимой фракции идет преимущественно за счет понижения аланина, пролина, глутаминовой кислоты, глицина, серина, аргинина, что свидетельствует о высокой метаболической активности перечисленных аминокислот. Содержание же

Таблица 2

Свободные аминокислоты спирторастворимой фракции развивающейся грены
тутового шелкопряда, ‰ на абс. сухое вещество грены

Дни развития	1		3		5		7		9		Мураши	
Аминокислоты	г	N(NH ₂)	г	N(NH ₂)	г	N(NH ₂)	г	N(NH ₂)	г	N(NH ₂)	г	N(NH ₂)
Цист(е)ин												
Лизин												
Гистидин	0,37	0,037	0,30	0,030	0,30	0,030	0,26	0,026	0,25	0,025	0,40	0,040
Аргинин	0,68	0,048	0,60	0,042	0,52	0,036	0,39	0,027	0,42	0,029	0,22	0,015
Глутамин	0,65	0,065	0,61	0,061	0,49	0,049	0,45	0,045	0,39	0,039	1,03	0,103
Аспарагиновая к-та	0,13	0,014	0,14	0,015	0,14	0,015	0,16	0,018	0,10	0,011	0,24	0,024
Серин	0,43	0,066	0,25	0,033	0,19	0,025	0,18	0,024	0,20	0,026	0,53	0,069
Глицин	0,43	0,082	0,35	0,067	0,35	0,067	0,27	0,051	0,23	0,044	0,61	0,116
Глутаминовая к-та	0,93	0,093	0,51	0,051	0,52	0,052	0,39	0,039	0,38	0,038	0,88	0,088
Треонин	0,19	0,023	0,12	0,014	—	—	—	—	—	—	—	—
Аланин	0,11	0,018	0,07	0,011	0,06	0,010	0,06	0,010	0,06	0,010	0,08	0,013
Пролин	0,95	—	0,83	—	0,75	—	0,65	—	н/опр	—	н/опр	—
Тирозин												
Сумма:		0,446		0,324		0,284		0,240		0,222		0,468

Таблица 3

Аминокислоты спирторастворимой фракции развивающейся грены
тутового шелкопряда после гидролиза, ‰ на абс. сухое вещество грены

Дни развития	1		3		5		7		9		Мураши	
Аминокислоты	г	N(NH ₂)	г	N(NH ₂)	г	N(NH ₂)	г	N(NH ₂)	г	N(NH ₂)	г	N(NH ₂)
Цист(е)ин	1,11	0,111	0,82	0,082	0,68	0,068	0,85	0,085	0,80	0,080	1,94	0,194
Лизин	0,84	0,092	0,68	0,075	0,64	0,070	0,56	0,062	0,56	0,062	0,34	0,037
Гистидин	1,29	0,116	0,91	0,082	0,69	0,062	0,76	0,068	0,72	0,065	1,73	0,156
Серин	0,66	0,086	0,36	0,047	0,29	0,038	0,33	0,043	0,31	0,040	0,63	0,082
Глицин	0,40	0,076	0,21	0,040	0,11	0,013	0,20	0,038	0,19	0,036	0,45	0,086
Глутаминовая к-та	1,69	0,169	0,86	0,086	1,39	0,139	0,52	0,052	0,56	0,056	1,35	0,135
Треонин	0,16	0,019	0,42	0,050	0,70	0,084	0,18	0,022	0,15	0,018	0,19	0,023
Аланин	1,23	0,197	0,79	0,126	0,61	0,098	0,68	0,109	0,62	0,098	0,58	0,093
Пролин	1,01	—	1,27	—	1,24	—	1,09	—	0,50	—	—	—
Лейцин	0,08	0,009	0,05	0,006	0,04	0,004	0,05	0,006	0,05	0,006	0,11	0,012
Сумма:		0,875		0,594		0,576		0,498		0,461		0,818

треонина не меняется, что говорит о его стносительной метаболической инертности.

Хотя приведенные в табл. 2 и 3 данные в отношении грены и мурашей не сопоставимы (т. к. цифры относительно мурашей выражены в г аминокислот на 100 г их сухого веса без скорлупок), тем не менее они наглядно показывают, что количественное соотношение аминокислот

Таблица 4

Аминокислоты спирторастворимой фракции развивающейся грены тутового шелкопряда, ‰ на абс. сухое вещество грены

Дни развития	1		3		5		7		9		Мураши		Скорлупы	
	г	N (NH ₂)	г	N (NH ₂)	г	N (NH ₂)	г	N (NH ₂)	г	N (NH ₂)	г	N (NH ₂)	г	N (NH ₂)
Аминокислоты														
Цистеин	12,25	1,34	14,45	1,59	14,13	1,55	11,10	1,22	14,55	1,60	3,86	0,85	25,90	2,85
Лизин	2,89	0,32	3,06	0,34	3,11	0,34	2,71	0,30	2,96	0,33	2,42	0,27	1,30	0,14
Гистидин	1,56	0,14	1,24	0,11	1,63	0,15	1,55	0,14	2,09	0,19	4,59	0,41	0,81	0,07
Аргинин	3,78	0,26	3,81	0,27	3,95	0,28	4,07	0,29	4,24	0,30	4,31	0,30	5,38	0,38
Аспарагиновая к-та	2,18	0,24	2,43	0,27	2,21	0,24	2,40	0,26	2,66	0,29	2,31	0,25	4,61	0,51
Серин														
Глицин	7,05	1,34	6,50	1,24	6,37	1,21	6,25	1,19	5,69	1,08	2,58	0,49	15,44	2,93
Глутаминовая к-та	6,98	0,77	6,91	0,76	6,32	0,70	6,36	0,70	7,34	0,80	6,92	0,76	9,92	1,09
Треонин														
Аланин	2,54	0,41	3,07	0,49	2,69	0,43	2,65	0,42	3,92	0,63	4,97	0,80	9,44	1,51
Пролин	3,17	—	3,00	—	2,88	—	3,10	—	3,22	—	1,04	—	9,62	—
Тирозин	3,75	0,30	4,34	0,35	4,82	0,39	4,65	0,37	3,74	0,30	1,05	0,08	10,36	0,83
Валин	6,25	0,75	6,16	0,74	7,83	0,94	5,83	0,70	7,82	0,94	4,89	0,59	13,16	1,58
Фенилаланин	3,53	0,28	3,48	0,28	3,21	0,26	3,06	0,25	3,20	0,26	2,66	0,21	7,03	0,56
Лейцин	4,63	0,51	3,96	0,44	4,77	0,52	4,41	0,49	4,61	0,51	3,91	0,43	8,14	0,90
Сумма:		6,65		6,68		7,01		6,33		7,23		5,44		13,35

спирторастворимой фракции мурашей заметно отличается от такового грены. Так, если после гидролиза спирторастворимой фракции отношение гистидина к лизину у грены равно 1,0—1,5, то у мурашей оно равняется 4,0—4,9.

В следующей серии наших исследований мы задались целью изучить качественные и количественные изменения аминокислот в спирторастворимой фракции развивающейся грены.

Данные, приведенные на рис. 2 и табл. 4, не выявляют более или менее заметных изменений в качественном и количественном содержании аминокислот. Эта фракция характеризуется высоким содержанием цистеина (12—14%), глицина, глутаминовой кислоты + треонина и валина (6—8%). Остальные аминокислоты содержатся в умеренных количествах, а количество гистидина, аспарагиновой кислоты + серина и пролина колеблется в пределах 1,5—3,0%. При сравнении аминокислотного состава нерастворимой фракции грены с соответствующей фракцией мурашей отмечается заметное снижение тирозина, глицина, цистеина и увеличение аланина, гистидина. Эти данные, однако, не являются доказательством существенных изменений качественного состава белков при вылуплении мурашей, т. к. перечисленные аминокислоты, кроме гистидина и аланина, соответственно уменьшаются или увеличиваются в скорлупе. Лишь достоверное увеличение гистидина и аланина в спиртонерастворимой фракции мурашей является характерным для данного этапа развития. По-видимому, на данном этапе активируются ферментные системы биосинтеза обеих аминокислот. Итак, полученные нами данные свидетельствуют о том, что наблюдаемая стабильность в содержании азотсодержащих соединений цельной грены или остатка на всех этапах развития не является критерием ранее предполагаемой инертности аминокислотного обмена. При изучении количественного содержания аминокислот в разных фракциях развивающейся грены удастся обнаружить глубокие количественные и качественные сдвиги.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии

Поступило 22.IX 1971 г.

Տ. Գ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ԱԶՈՏԻ ԵՎ ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ
ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ԹԹՆՈՒ ՇԵՐԱՄԻ ԶԱՐԳԱՅՈՂ ԳՐԵՆԱՅՈՒՄ

Ա. Վ Փ Ն Փ Ն Ա Վ

Ներկա աշխատանքի նպատակն է եղել 1,3,5,7, և 9 օրական գրենայի և թրթուրների կառուցվածքային և սպիրտալուծ «ազատ» ամինաթթուների քանակական և որակական ուսումնասիրությունը:

Ստացված տվյալները վկայում են, որ քանակական և որակական տեսակետից գոյություն ունի խորը տեղաշարժ զարգացող գրենայի տարրեր ֆրակ-

ցիանների ամինաթթվային պարունակությունում՝ գրենայի սպիրտալուծ ֆրակցիայում ինկուբացիայի ընթացքում կատարվում է ամինային ազոտի նվազում՝ գլխավորապես ի հաշիվ ալանինի, պրուլինի, գլուտամինաթթվի, գլիցինի, սերինի, որը վկայում է այդ ամինաթթվի մետաբոլիկ ակտիվության մասին: Իսկ հիստիդինի և ալանինի ավելացումը նորածին թրթուրների ոչ սպիրտալուծ ֆրակցիայում բնորոշ է զարգացման տվյալ էտապին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунгова В. Г., Филипович Ю. Б. Прикладная биохимия и микробиология, 2, 3, 227, 1966.
2. Кузнецов Н. Я. Основы физиологии насекомых, II, 1953.
3. Хроматография на бумаге (под ред. И. М. Хайса и К. Мацека) , М., 1962.
4. Hrabetovo E., Typy J. J. Chromat, 3 (2), 199, 1960.
5. Sasaki S. T., Watanabe and Koudo J. J. of sericultural science of Japan, 26, 4, 1957.