ЛИТЕРАТУРА

1. *Белерадек Ж.* Роль клеточных реакций в приспособлении организмов к температуре среды. 16—18, М.—Л., 1963.
2. *Васильева Е. Д., Милюшкевич Г. Ф.* Тез. второго Всесоюзного биохим. съезда, секция 10. Химия и обмен липидов. Ташкент, 67—68, 1969.
3. *Гилмур Д.* Метаболизм насекомых. М., 1—227, 1967.
4. *Мережинский М. Ф.* Изв. АН БССР, сер. биол., *1*, 47—52, 1963.
5. *Прохорова М. И., Тупикова З. Н.* Большой практикум по углеводному и липидному обмену. Л., 95—216, 1968.
6. *Ушатинская Р. С.* Сб.: Вредная черепашка, *3*, М., 134—140, 1955.
7. *Ушатинская Р. С.* Успехи совр. биол., 65, вып. 1, 120—132, 1968.
8. *Moore R. F. Jr., Taft H. M.* J. Econ. Entomol., *64*, 5, 1060—1065, 1971.
9. *Peisker K. A. A.* J. Amer Oil. Soc., 41, 1, 1964.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 5, 1982

УДК 595.7:591.185.6

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКОВ ГЕМОЛИМФЫ СОВКИ-ИПСИЛОН В РАЗЛИЧНЫХ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

А. Г. АЙРАПЕТЯН

Изучались количественные соотношения белков гемолимфы совки-ипсилон в различных фотопериодических условиях. Обнаружено, что при короткодневном световом режиме в полиакриламидном геле появляется добавочная белковая полоса.

Ключевые слова: совка, фотопериод, гемолимфа, белки, насекомые.

Фотопериодизм—крупная общебиологическая проблема. Многими экспериментальными исследованиями показано, что для насекомых продолжительность дня служит важным фактором, регулирующим наступление диапаузы, рост, развитие и размножение [4, 8, 11, 20]. У совки-ипсилон (Agrotis ypsilon Rott.) длина дня оказывает существенное влияние на темпы роста гусениц [3, 4]. Реакция этого вида на длину дня, относящаяся к категории количественных фотопериодических реакций, в физиологическом отношении остается неизученной. Особый интерес представляет вопрос о возможных изменениях белкового состава гемолимфы гусениц, воспитанных в разных фотопериодических условиях и различающихся по темпам развития.

В литературе имеются данные относительно качественных и количественных изменений белков гемолимфы во время личиночного роста и метаморфоза чешуекрылых [9, 10, 14, 16, 17]. На гусеничной стадии у всех изученных видов наблюдаются периодические изменения белков гемолимфы, а у некоторых из них обнаружены и специфические возрастные белковые фракции [18].

Изменения белкового состава гемолимфы под влиянием фотопериодических условий и при наступлении диапаузы рассматривались лишь в

некоторых работах. По данным Чиппендейла и Бэка [13], состав белков в гемолимфе гусениц кукурузного мотылька (Ostrinia nubilalis) остается постоянным при разных фотопериодических режимах и не различается у диапаузирующих и развивающихся предкуколок. Однако у капустной белянки (Pieris brassicae) воспитание гусениц в короткодневных условиях, индуцирующих куколочную диапаузу, способствует повышению концентрации белков в гемолимфе по сравнению с гусеницами, содержащимися при длиннодневных условиях, обеспечивающих бездиапаузное развитие куколок [15]. Исследования Лузева и Белозерова [6] показали, что состоянию гусеничной диапаузы у соснового шелкопряда (Dendrolimus pini) свойственны процессы аккумуляции белков гемолимфы, увеличение полноты и стабилизация ее белкового спектра. Диапаузирующие гусеницы розового коробочного червя (Pectinophora gossypiella) характеризуются повышенным содержанием общего белка по сравнению с недиапаузирующими гусеницами [19]. Гусеницы огневки (Dratraea grandiosella) перед наступлением пронимфальной диапаузы накапливают специфический белок, который синтезируется в жировом теле и выделяется в гемолимфу [12]. Этот связанный с диапаузой белок предлагается называть диапаузелином, его молекулярная масса, по одним данным, составляет 41000 д [12], а по другим—35000 д [21]. По-видимому, диапаузелин выполняет функции резервного белка и почти полностью расходуется во время диапаузы.

Во всех упомянутых выше работах изучались только такие виды чешуекрылых, у которых качественная фотопериодическая реакция определяет наступление факультативной диапаузы. Подобные исследования пока не проводились на видах, обладающих количественными фотопериодическими реакциями и не имеющих настоящей диапаузы. Это обстоятельство и побудило нас изучить влияние фотопериода на белковый состав гемолимфы у гусениц Agrotis ypsilon.

Автор выражает глубокую благодарность Назарян О. А., а также всем остальным сотрудникам лаборатории молекулярно-клеточных основ памяти Института физиологии им. Л. А. Орбели за ценные указания и помощь при выполнении биохимических исследований.

Материал и методика. Работа проводилась на гусеницах армянской популяции совки-испилон. Опыты по определению влияния фотопериодов на рост и развитие гусениц проводились в термостатированных фотопериодических камерах с программным управлением. Испытывалось действие следующих фотопериодов: 0, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 18, 20 и 24 ч света в сутки при температуре 25°.

Для изучения количественных соотношений белков методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) использовали гусениц VI возраста на 5-й день после линьки при температурах 20 и 25° и длине дня 11, 12, 14 и 16 ч. Контролем служили гусеницы в природных условиях (конец июля—начало августа, длина дня 16—17 ч при среднесуточной температуре воздуха 25°).

Стерилизацию гусениц, получение и очистку гемолимфы проводили по методу, описанному Филипповичем и др. [10]. Количественную характеристику белков гемолимфы проводили спектрофотометрически на СФ-16 (ЛОМО) при длине волн 260 и 280 нм. Фракционирование и идентификацию белков гемолимфы осуществляли при помощи электрофореза в 7,5%-ном ПААГ по методу Майзеля [7]. Электрофорез проводили при силе тока 6 mA на трубку в течение 60 мин. Об окончании его судили по прохож-

дению бромфенолсинего. Гели окрашивали амидошварцем. Молекулярные массы белковых фракций оценивали по сравнению с электрофоретической подвижностью маркерных белков (бычий альбумин—66000 д, РНК-аза—13700 д, каталаза—60000 д).

Результаты и обсуждение. Влияние длины дня на рост гусениц. У многих подгрызающих совок (Agrotinae), к которым относится и A. ypsilon, длина дня оказывает значительное влияние на темпы роста гусениц [1—5]. По нашим данным, у армянской популяции совки-ипсилон разница в росте гусениц проявляется уже на 5-й день после вылупления из яиц. При фотопериодах 10—14 ч света в сутки наблюдается задержка в росте гусениц по сравнению со всеми остальными испытанными фотопериодами.

Установлены изменения средней массы гусениц в зависимости от фотопериодических условий на 15-й день развития. При коротком дне (6—12 ч) средняя масса гусениц варьирует от 30 до 75 мг, а при длинном дне (14—20 ч) превышает 100 мг. Максимальные темпы роста наблюдаются при 16-часовом дне; в этих условиях на 15-й день средняя масса гусениц составляет 320 мг. При круглосуточном освещении и постоянной темноте гусеницы развиваются так же, как при длинном дне.

Гусеницы, развивающиеся при 16-часовом фотопериоде, на 20-й день имеют максимальную массу 800—900 мг и приближаются к завершению развития. За этот же срок гусеницы при 12-часовом фотопериоде достигают массы не более 300—350 мг. В типично короткодневных условиях окукление гусениц задерживается на 11 дней по сравнению с гусеницами, содержащимися при 16-часовом фотопериоде.

Влияние длины дня на белковый состав гемолимфы. Количественный анализ показал, что существует пропорциональная зависимость между длиной дня и суммарным содержанием белков в гемолимфе гусениц. При температуре 20° количество белка (мг/мл) составляет: при 16-часовом освещении—95—100, 14-часовом—85—90, 12-часовом—64—70 и 11-часовом—46—50. В гемолимфе контрольных гусениц содержание белков примерно такое же, как и у таковых при 16-часовом фотопериоде (90—100 мг/мл). Повышение температуры до 25° сопровождается увеличением содержания белков в гемолимфе во всех фотопериодических режимах.

Электрофоретический анализ белков выявил 10 белковых фракций в гемолимфе гусениц, содержащихся при температурах 20 и 25° (рис., б—д). При воспитании гусениц в природных условиях выявлены только 9 белковых полос (рис., а). По-видимому, при содержании гусениц в различных постоянных фотопериодах в гемолимфе появляется новый белок, отсутствующий у гусениц, воспитанных в природных условиях. На этот же факт указывает нарастание интенсивности окраски 9-й белковой фракции, а, следовательно, и количества этого белка с уменьшением продолжительности светового дня. Так, при коротком дне (11—12 ч) интенсивность окраски этого белка наибольшая (рис., д, г), но она заметно ослабевает с увеличением длины дня до 14—16 ч (рис., в, б).

Молекулярные массы обнаруженных белков составляли: 1—77 000, 2—72 000, 3—65 500, 4—64 000, 5—61 000, 6—52 000, 7—47 500, 8—41 000, 9—36 000 и 10—30 000 д (определено по сравнению с электрофоретиче-

ской миграцией маркерных белков). Полученные нами данные показывают, что фотопериод в наибольшей степени влияет на содержание белка, имеющего молекулярную массу 36 000 д. По-видимому, именно

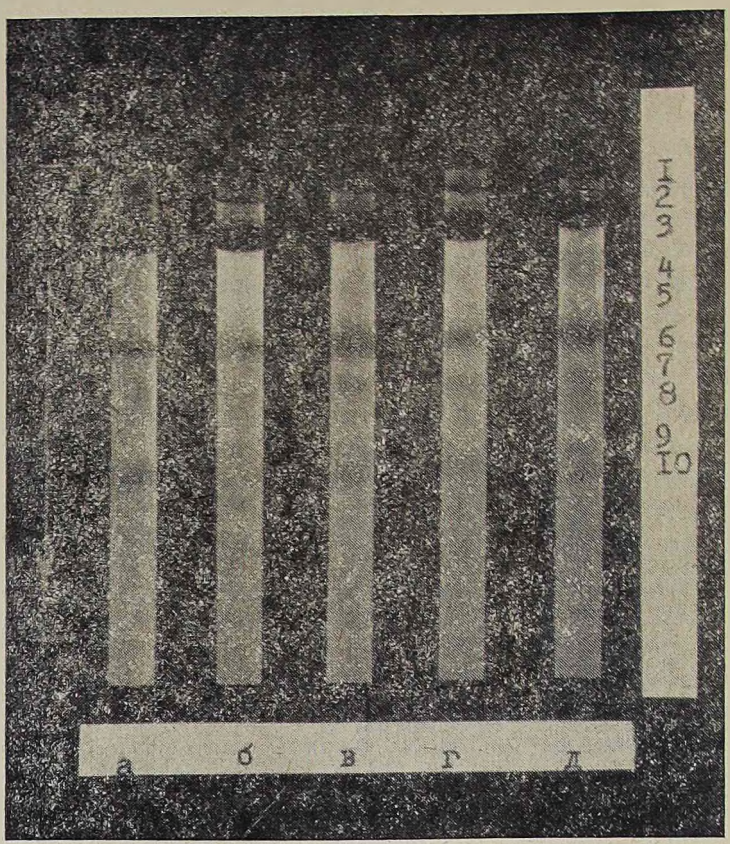

Рис. Электрофорез белков гемолимфы гусениц VI возраста совки-ипсилон в 7,5%-ном полиакриламидном геле: а—природные условия; освещение (свет в сутки) б—16 ч, в—14, г—12 ч, д—11 ч.

этот белок связан с теми биохимическими процессами, которые обеспечивают торможение роста гусениц в короткодневных условиях.

Таким образом, у армянской популяции совки-ипсилон при 25° длиннодневные фотопериоды стимулируют, а короткодневные тормозят рост гусениц. Максимальные темпы роста наблюдаются при 16-часовом освещении.

При 20 и 25° установлена пропорциональная зависимость между длиной дня и суммарным содержанием белков в гемолимфе гусениц.

В короткодневных условиях (11—12 ч света в сутки) при 20 и 25° в гемолимфе гусениц VI возраста на электрофореграммах выявляются 10 белковых фракций. Развитие в условиях длинного дня и природного освещения приводит к резкому снижению относительной концентрации 9-й белковой фракции с молекулярной массой 36 000 д.

Институт защиты растений МСХ Армянской ССР

Поступило 16.XI 1981 г.

ԻՊՍԻԼԻՈՆ ԲՎԻԿԻ (AGROTIS YPSILON ROTT.) ԹՐԹՈՒՐՆԵՐԻ ՀԵՄՈԼԻՄՖԻ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ԷԼԵԿՏՐԱՖՈՐԵՏԻԿ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ՝ ՏԱՐԲԵՐ ՖՈՏՈՊԵՐԻՈԴԻԿ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա. Գ. ՀԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ

Իպսիլիոն բվիկի հայկական պոպուլյացիայի մոտ 20 և 25°-ի պայմաններում նկատվում է համաչափ կախվածություն լուսային օրվա տևողության և թրթուրների հեմոլիմֆի սպիտակուցների պարունակության միջև։ Կարճ օրվա պայմաններում (11—12 ժամ լուսավորություն) 6-րդ հասակի թրթուրների հեմոլիմֆի էլեկտրաֆորեգրամայում ի հայտ են գալիս 10 սպիտակուցային ֆրակցիաներ։ Երկար օրվա և բնական լուսավորության պայմանների ազդեցությունը առաջացնում է 36000 դ. մոլեկուլյար կշիռ ունեցող 9-րդ սպիտակուցային ֆրակցիայի հարաբերական խտության կտրուկ իջեցում։

ELECTROPHORETIC INVESTIGATIONS OF HEMOLYMPH PROTEINS OF BLACK CUTWORM CATERPILLARS (*AGROTIS YPSILON ROTT.*) UNDER DIFFERENT PHOTOPERIODICAL CONDITIONS

A. G. HAIRAPETIAN

The present paper is devoted to the investigation of quantitative ratio of cartepillar hemolymph proteins in different photoperiodical conditions.

An additional protein belt in short light conditions has been found

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ахмедов Р. М.* Вестн. зоол., 62, 1972.
2. *Гейспиц К. Ф., Пенязь М. И., Шашенкова Д. Х.* Зоол. ж., *50*, 1674, 1971.
3. *Горышин Н. И., Ахмедов Р. М.* Зоол. ж., *50*, 56, 1971.
4. *Данилевский А. С.* В кн.: Фотопериодизм и сезонное развитие насекомых, 243, Л., 1961.
5. *Дружелюбова Т. С.* Энтомол. обозрение, *55*, 277, 1976.
6. *Лузев В. В., Белозеров В. Н.* Энтомол. обозрение, *56*, 263, 1977.
7. *Майзель Дж. В.* В кн.: Методы вирусологии и молекулярной биологии, 267, М., 1972.
8. *Тыщенко В. П.* Тр. Всесоюзн. энтомол. о-ва, *59*, 3, 1977.
9. *Филиппович Ю. Б., Алиева М. И.* Ж. общей биол., *27*, 489, 1966.
10. *Филиппович Ю. Б., Егорова Т. А., Севастьянова Г. А.* В кн.: Практикум по общей биохимии, 318, М., 1975.
11. *Beck S. D.* Insect photoperiodism., New York—London, Acad. Press., 1968.
12. *Brown J. J.* Insect Biochem., *4*, 359. 1978.
13. *Chippendale G. M., Beck S. D.* Insect Physiol., *12*, 1629, 1966.
14. *Chippendale G. M., Kilby B. A.* J. Insect Physiol, *15*, 905, 1969.
15. *Claret J.* Comp. Rend. hebd. Acad. Sci., D, *268*, 1326, 1969.
16. *Denuce J. M., Z.* Naturforsch. B, *13*, 215, 1958.
17. *Greene J. R., Dahlman D. L* J. Insect Physiol., *19*, 1241, 1973.
18. *Loughton B. G., West A. S.* J. Insect Physiol., *11*, 919, 1965.
19. *Raine A. K.* Experientia, *36*, 57, 1980.
20. *Saunders D. S.* Insect clocks, 279, Oxford—Yew York, Perg. Press, 1976.
21. *Turunen S., Chippendale G. M.* Comp. Biochem. and Physiol., B, *65*, 595, 1980.