

DIALLEL ANALYSIS OF TOBACCO TYPES ACCORDING TO DRY SUBSTANCES CONTENT

V. A. MARKARIAN, M. A. GULKHIASSIAN, L. M. MOVSISIAN
S. O. BAZBAZIAN, O. KH. KAZANCHIAN

The results of genetic analysis of tobacco types according to the dry substances content have shown that superdomination is characteristic of the inheritance of the tested property, while its high positive significance, in such varieties as Trapezond 42 and Trapezond 10, is conducted by recessive genes. It has been revealed that the effects of general combining ability and the sign of index do not fully correlate. It is recommended to use the Trapezond 10 and Samsun 36 types, characterized by high index of GCA effect.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бурлакина А. В., Дьячкин Н. Н., Лисенко Л. В. Сб научн. работ ВНИИ табака и махорки, 167, 15—19, 1978.
2. Маркарян В. А. Тез. докл. юбилейной научной сессии Армянского отделения ВООиС им. Н. Н. Вавилова, посвящен. 60-летию образования СССР, 57, 1982.
3. Нерсисян П. М., Саакян Ж. Г. Биолог. ж. Армении, 23, 1, 26—33, 1970.
4. Фишер Р. А. Статистические методы для исследователей, М., 1958.
5. Gopinath D. M., Ramani Rao V. Y., Subrahmanyam M., Narayana C. L. Euphytica 15, 171—178, 1966.
6. Griffing B., Austral. J. Biol. Sci., 9, 463—483, 1956.
7. Hayman B. J. Genetics, 39, 759—809, 1954.
8. Legg P. D., Collins G. B., Litton C. C. Crop science, 10, 705—707, 1971.
9. Marani A., Sachs I. Crop science, 6, 19—22, 1966.
10. Matzinger D. F., Mann T. T., Coesterham C. C. Crop science, 2, 353—356, 1962.
11. Ogilvie I. S., Kozumplik V. Can. J. Genet. Cytol., 22, 173—182, 1980.
12. Povital's B. Can. J. Genet. Cytol., 8, 336—346, 1966.
13. Shamsuddin A. K. M., Newaz M. A., Kuzcaqir C. A. Z. Pflanzenzüchtg., 47, 139—147, 1980.

«Биолог. ж. Армении» т. XXXI III, № 2, 1985

УДК 577.121.7:576.7:121.4+577.151.33

ВЛИЯНИЕ ФРАКЦИИ ПРОПОЛИСА НА НЕКОТОРЫЕ СТОРОНЫ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС

А. А. СИМОНЯН, Р. А. СТЕПАНИАН, Р. Б. БАДАЛЯН, Г. Г. БАТНЯН

Исследовано влияние фракций прополиса на окислительную активность тканей мозга и печени крыс. Показано, что они позволяют повысить окислительное фосфорилирование, АТФазную, малатдегидрогеназную и изоцитратдегидрогеназную активности. Лактатдегидрогеназная активность в присутствии минимальных количеств водорастворимой фракции прополиса движется в сторону образования молочной кислоты.

Ключевые слова: прополис, митохондрии, окислительное фосфорилирование, АТФ-аза, малатдегидрогеназа.

Широкий спектр биологического и фармакологического действия прополиса (бактерицидного, местно-анестезирующего, противотоксического, антивирусного, дерматопластического и т. д.) является следствием большого разнообразия его химического состава [7, 8, 15].

Прополис—натуральный пчелиный продукт, содержащий около 55% смол и клейких веществ, 10% летучих масел, 30% воска и 5% пылицы [2]. В нем обнаружено 19 веществ разной химической структуры: ванилин и изованилин, пиностробин, галаингин, хризин и др. [11].

Несмотря на большое число исследований, проводимых с целью изучения химического состава и фармакологического действия прополиса, многочисленные вопросы, связанные с его влиянием на энергетический обмен клетки, остаются еще не изученными.

В настоящей работе представлены данные, полученные при исследовании влияния прополиса на окислительную активность мозговой и печеночной тканей крыс.

Материал и методика. Исследовали влияние двух фракций прополиса на окислительное фосфорилирование, АТРазиую, лактатдегидрогеназную (ЛДГ), малатдегидрогеназную (МДГ) и изопитридегидрогеназную (ИЦДГ) активности.

Фракции прополиса выделяли по методу Боерну и Деренич [2]. Использовали две фракции прополиса—водорастворимую и фракцию, растворимую в холодном этаноле.

Для изучения водорастворимой фракции 15 г прополиса обрабатывали 80 мл бидистиллированной воды в фарфоровой чашке, постепенно нагревали и кипятили в течение трех минут. Затем содержимое чашки охлаждали. Горячее экстрагирование и охлаждение повторяли трехкратно. Водорастворимую фракцию добавляли к пробе из расчета 1 мг исходного прополиса в 0,01 мл воды.

Оставшуюся на фильтре фракцию после предварительного просушивания растворяли в 80 мл этанола и нагревали до 70—80°. Фильтровали при 70°, полученный фильтрат охлаждали. Нерастворимое в холодном этаноле соединение отделяли путем повторного холодного фильтрования, в результате чего получали вторую фракцию—растворимую в холодном этаноле. Фракцию добавляли к пробе из расчета 7 мг сухого прополиса в 0,01 мл этанола.

Исследования проводили на митохондриях мозга и печени крыс. Ткань измельчали в гомогенизаторе Поттера с тефлоновым пестиком в 0,25 М сахарозе—0,02 М трис-НСl буфере, рН 7,4 (среда выделения). Ядерную фракцию осаждали при 600—800 g в течение 15 мин, митохондриальную фракцию—при 18000 g (мозг) и 12000 g (печень) в течение 15 мин. Митохондриальную фракцию суспендировали в среде выделения.

Поглощение кислорода митохондриями измеряли манометрическим методом Варбурга [10] при 26° в течение 15 мин. Инкубационная смесь содержала (в мкмольх) субстрат окисления (сукцинат или глутамат)—50, K_2HPO_4 —40, KCl—100, $MgCl_2$ —10, глюкозу—150, АТФ—3 и 1 мг кристаллической гексокиназы (Sigma). Об интенсивности окислительного фосфорилирования судили по убыванию неорганического фосфата в среде в результате его фосфорилирования. Содержание неорганического фосфата определяли по Лоури и Лопес [7] в модификации Пелла и Лохмея [11], активность АТРазиы—по нарастающему количеству неорганического фосфата [9].

Определение активности ИЦДГ проводили по методу Геббеля и сопр. [4], активность МДГ—методом Оча и Кинга [5]. Методы выделения ферментного препарата и определения общей активности МДГ подробно описаны в наших предыдущих работах [1]. Активность ЛДГ рассматривали в единицах Вроблевского на мг белка [16]. Белок определяли по Лоури и сопр. [13]. Данные подвергались обычной статистической обработке [6]. Результаты, полученные при изучении влияния растворимой в этаноле фракции, рассчитаны в процентах от контроля (без добавления этой фракции).

Результаты и обсуждение. В табл. 1 сведены данные о влиянии различных добавок водорастворимой фракции прополиса на интенсивность дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга и печени крыс. При использовании в качестве субстрата окисления сукцината высокий уровень поглощения кислорода митохондриями мозга был отмечен в контрольных опытах. В присутствии прополиса уровень тканевого дыхания понижается, причем чем больше его количество, тем ниже уровень поглощения кислорода: при добавлении 0,01 мл водорастворимой фракции прополиса он составляет по сравнению с контролем 88%, а при 0,1 мл—всего 66%. Аналогичным изменениям подвергается и процесс эстерификации неорганического фосфата. При использовании в качестве субстрата окисления глутамата и увеличении количества водорастворимой фракции прополиса от 0,05 до 0,15 мл дыхание и эстерификация проявляют тенденцию к резкому понижению.

В той же таблице приведены данные, касающиеся поглощения кислорода и эстерификации неорганического фосфата в митохондриях печеночной ткани крыс. Сопоставление приведенных данных показывает более высокий уровень дыхания при использовании сукцината и угнетающее действие прополиса на потребление кислорода и связывание неорганического фосфата. Причем с увеличением концентрации прополиса степень ингибирования обоих процессов возрастает.

Результаты исследования влияния фракции, растворимой в этаноле, на процесс окислительного фосфорилирования приведены в табл. 2. В качестве контроля использовали также пробы с добавлением соответствующих количеств этанола.

При использовании в качестве субстрата окисления сукцината дыхание и эстерификация фосфата подавляются, причем при добавлении прополиса в количестве 0,01 мл поглощение кислорода уменьшается на 80,2%, тогда как увеличение его до 0,15 мл подавляет этот процесс на 99%. Аналогичное подавление дыхания в мозгу отмечалось и при использовании глутамата. Процесс эстерификации неорганического фосфата также оказался чувствительным к изменению количества добавленного прополиса. Последовательное подавление процесса поглощения кислорода и эстерификации неорганического фосфата наблюдалось также в печеночной ткани крыс.

Сопоставление данных табл. 1 и 2 показывает, что водорастворимая фракция прополиса подавляет процесс поглощения кислорода значительно меньше, чем фракция, растворимая в этаноле.

В табл. 3 представлены результаты определения АТФазной активности мозга и печени крыс при добавлении различных количеств прополиса. Активность митохондриальной АТФазы мозга и печени крыс проявляет тенденцию к понижению, причем если водорастворимая фракция позволяет активность фермента в мозгу на 15%, а в печени—всего на 8%, то растворимая в этаноле фракция прополиса ингибирует АТФазу мозга и печени почти в одинаковой степени (91 и 95,5% соответственно).

Таблица 1

Влияние водорастворимой фракции прополиса на интенсивность дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий мозга и печени крыс. ΔO и ΔP в мкатамах/мг белка $M \pm m$

Количество фракции прополиса, мг	М о з г						П е ч е н ь					
	сукцинат			глутамат			сукцинат			глутамат		
	ΔO	ΔP	P/O	ΔO	ΔP	P/O	ΔO	ΔP	P/O	ΔO	ΔP	P/O
Контроль (без фракции прополиса)	4.18± 0.10 (9)	2.81± 0.10 (9)	0.68	1.69± 0.26 (9)	1.52 0.21 (9)	0.90	2.05± 0.12 (12)	1.98± 0.10 (12)	0.97	1.21± 0.03 (9)	1.60± 0.04 (9)	1.32
0.01	3.69± 0.07 (6)	2.05± 0.18 (4)	0.49	1.39± 0.28 (6)	1.27± 0.18 (6)	0.97	1.66± 0.16 (8)	1.84± 0.02 (8)	0.98	1.06± 0.01 (6)	1.60± 0.07 (6)	1.53
0.03	2.77± 0.25 (6)	0.60 (+) (6)	—	0.60± 0.16 (6)	0.12 (—) (6)	—	1.52± 0.02 (8)	0.49 (8)	—	0.30± 0.04 (6)	0.038 (+) (6)	—
0.10	2.77± 0.16 (9)	0.51 (+) (9)	—	0.56± 0.13 (6)	0.16 (+) (6)	—	1.06± 0.01 (8)	0.09 (8)	—	0.03 (6)	0.11 (—) (6)	—
0.15	2.35± 0.16 (9)	0.50 (+) (9)	—	0.46± 0.12 (6)	0.25 (+) (6)	—	0.54± 0.10 (8)	0.12 (—) (8)	—	0.06 (6)	0.27 (+) (6)	—

(+) — Прирост свободного фосфата. В скобках количество опытов.

Таблица 2

Влияние растворимой в этаноле фракции прополиса на интенсивность дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга и печени крыс, % к контролю.

Количество фракции прополиса, мл	М о з г				П е ч е н ь			
	сукцинат		глутамат		сукцинат		глутамат	
	О	Р	О	Р	О	Р	О	Р
Контроль (без добавления фракции)	100	100	100	100	100	100	100	100
Контроль на этанол	37.00	26.50	44.80	20.00	44.20	9.52	34.80	4.52
0.01	19.80	1.80	15.00	15.00	25.40	4.70	17.00	4.52
0.05	3.96	3.00	4.67	8.20	9.94	5.70	12.60	3.51
0.10	1.98	5.40	0.93	8.95	6.07	4.28	3.16	3.51
0.15	1.00	4.80	0.93	5.97	6.62	3.33	7.60	6.03

Средние данные 4—6 опытов.

Таблица 3

Действие фракций прополиса на АТФазную активность митохондрий мозга и печени крыс, Р и мкатомах/мг белка/30 мин. М±m

Количество фракции прополиса, мл	Ф р а к ц и и			
	водорастворимая		этанолрастворимая	
	мозг	печень	мозг	печень
Контроль (без фракции прополиса)	4.98±0.27 (6)	2.40±0.27 (4)	3.83±0.17 (8)	1.62±0.01 (4)
Контроль на спирт	—	—	2.16±0.27 (8)	1.23±0.02 (4)
0.01	4.10±0.31 (6)	2.16±0.28 (4)	1.71±0.04 (8)	1.02±0.01 (4)
0.05	3.42±0.20 (6)	2.37±0.22 (4)	0.51±0.06 (8)	0.41±0.05 (4)
0.10	3.13±0.17 (6)	2.26±0.20 (4)	0.34±0.03 (8)	0.14±0.01 (4)
0.15	2.74±0.15 (6)	2.21±0.26 (4)	0.22±0.03 (8)	0.09±0.01 (4)

Мы нашли целесообразным исследовать также изменения активности некоторых окислительных ферментов, участвующих в энергетическом метаболизме. Нам было изучено влияние различных фракций прополиса на активность ЛДГ, МДГ и ПИДГ в митохондриях и гиаоплазме мозга и печени крыс.

Результаты проведенных исследований показали, что водорастворимая фракция прополиса в митохондриях почти полностью подавляет

активность МДГ и ИЦДГ. Активность ЛДГ измеряли как в прямой так и в обратной реакциях. Данные, приведенные в табл. 4, показывают что с увеличением количества прополиса общая активность ЛДГ в присутствии НАД в гиалоплазме и митохондриях мозга несколько подавляется. Иная картина наблюдается в обратной реакции — в гиалоплазме

Таблица 4

Действие водорастворимой фракции прополиса на общую удельную активность лактатдегидрогеназы в мозге и печени крысы, мкмоль пиридиннуклеотида/мг белка/мин ($M \pm m$)

Коферменты	Ткань	Источник фермента	Количество добавленной фракции, мг			
			контроль (без добавления фракции)	0,01	0,05	0,10
НАД	мозг	гиалоплазма	0.11±0.001	0.11±0.009	0.09±0.001	0.08±0.001
НАДН		митохондри	0.13±0.001	0.12±0.01	0.11±0.009	0.07±0.001
	печень	гиалоплазма	3.30±0.09	4.00±0.09	3.60±0.14	2.14±0.04
		митохондри	3.08±0.08	3.54±0.04	2.96±0.05	2.20±0.05
НАД	печень	гиалоплазма	0.10±0.006	0.08±0.004	0.08±0.005	0.06±0.001
НАДН		митохондри	0.07±0.001	0.06±0.003	0.05±0.002	0.05±0.001
	печень	гиалоплазма	2.60±0.09	2.84±0.07	1.72±0.07	1.09±0.02
		митохондри	1.98±0.04	2.43±0.04	2.38±0.01	1.53±0.02

Средние данные 4 опытов.

ме и митохондриях мозга в контрольных опытах активность фермента высокая, при добавлении прополиса в небольших количествах (0,01 мг/мл) она несколько возрастает, а с увеличением его концентрации уменьшается и поднимается. Аналогичное воздействие на активность ЛДГ прополис оказывает и в печеночной ткани, подавляя скорость прямой реакции и несколько активируя обратную.

Резюмируя полученные результаты, можно заключить, что выделенные фракции прополиса содержат вещества, угнетающие окислительное фосфорилирование и подавляющие активность некоторых ферментов. Сдвиг активности ЛДГ в сторону образования молочной кислоты, вероятно, носит скорее компенсаторный характер, связанный с нарушениями тканевого дыхания.

Институт биохимии АН Армянской ССР

Получено 25 I 1984 г.

ՊՐՈՊՈԼԻՍԻ ՏՐԱԿՏԻԱՆԵՐԻ ԱԶԳԵՅՈՒԹՅՈՒՆ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՈՒՂԵՂԻ ԵՎ ԼՅԱՐՊԻ ԷՆԵՐԳԵՏԻՎ ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՄԻ ՔԱՆԻ ԿՈՂՄԵՐԻ ՎՐԱ

Ա. Ա. ՍԵՄՆՅԱՆ, Թ. Ա. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ, Գ. Բ. ԲԵՐԱՇՅԱՆ, Գ. Հ. ԲԱՏԻՅԱՆ

Հետազոտվել է պրոպոլիսի անջատված ջրալուծ և էթանոլում լուծվող ֆրակցիաների ազդեցությունը միտոքոնդրիաների շնչառության և օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման, ինչպես նաև՝ ԱՏՖազայի, իզոցիտրատ-, մալատ- և լակտատդեհիդրոգենոլայի ակտիվության վրա: Յուրյ է արվել, որ պրոպոլիսի անջատված ֆրակցիաների ազդեցությամբ միտոքոնդրիաներում օքսի-

դացիոն ֆոսֆորիլացման պրոցեսը ճնշվում է: Տարբեր շափով արդելակվում է նաև ուսումնասիրված ֆերմենտների ակտիվությունը: Ինքնադրվում է, որ պրոպոլիսից անջատված ֆրակցիաները պարունակում են մի միացություն, որը և արգելակում է ուսումնասիրված օրգիզացման սեպիցիաները:

EFFECT OF PROPOLIS FRACTIONS ON SOME ASPECTS OF ENERGETIC METABOLISM OF RAT LIVER AND BRAIN

A. A. SIMONIAN, R. A. STEPANIAN, R. B. BADALIAN, G. H. BATIKIAN

The effect of fractions of propolis dissoluble in water and ethanol on the oxidative activity of rat liver and brain has been investigated. It has been shown that both fractions inhibit the oxidative phosphorylation, as well as the activity of ATP-ase, malate dehydrogenase and isocitrate dehydrogenase. The activity of lactate dehydrogenase has been displaced to the side of formation of lactic acid in the presence of minimum quantities of water-dissoluble fraction of propolis. The studied fractions of propolis contain substances inhibiting the energetic metabolism.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ботикян Г. Г., Симонян А. А. Биолог ж. Армении, 34, 8, 807, 1981.
2. Босриу В., Деревич А. В кн.: Прополис, 5, Бухарест, 1981.
3. Вьехет Л. В кн.: Прополис, 51, Бухарест, 1981.
4. Ещенко Н. Д. В кн.: Методы биохимических исследований. 195, Л., 1982.
5. Ещенко Н. Д., Вольский Г. Г. В кн.: Методы биохимических исследований. 212, Л., 1982.
6. Закугинский Д. И., Селиванова Л. И. Биологическая оценка препаратов для профилактики и лечения лучевой болезни. 97, М., 1960.
7. Палмбаха С. Е., Поправко С. А. В кн.: Прополис, 20, Бухарест, 1975.
8. Поправко С. А. В кн.: Прополис, 17, Бухарест, 1975.
9. Скулачев В. П. Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи. М., 1962.
10. Умбретт В. В., Бурис Р. Х., Штауффер Дж. Ф. Монометрические методы изучения тканевого обмена. М., 1951.
11. Чижмарик Н., Магел Н. В кн.: Прополис, 33, Бухарест, 1981.
12. Lowry O. H., Lopez J. A. J. Biol. Chem., 162, 421, 1946.
13. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
14. Pell J. L., Zoughman B. C. Biochem. J., 65, 709, 1957.
15. Villanueva V., Bogdanovski D., Barbler M., Gounet M., Lavie P. Ann. Inst. Pasteur, 105, 292, 4124, 1963.
16. Wroblewski F., La Duc J. S. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 20, 210, 1955.