

Биолог. журн. Армении, 3-4 (57), 2005

УДК 591.1.05.

ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ МЕТАБОЛИЗМА ПРОЛИНА У ФАСОЛЕВОЙ ЗЕРНОВКИ *ACANTHOSCELIDES OBTECTUS* SAY

А.Х. АГАДЖАНИЯН, А.М. КАРАПЕТЯН, А.А. АГАДЖАНИЯН,
М.С. МАРТИРОСЯН, Г.С. МИСАКЯН, Р.Р. МАРКОСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375049

Установлено, что количество свободного пролина у жуков фасолевой зерновки значительно увеличивается в течение их созревания. У молодых жуков, которые были подвергнуты рентгеновскому облучению, содержание свободного пролина увеличивается в три раза по сравнению с интактными жуками, в то время как у зрелых (10-дневных) жуков оно увеличивается незначительно. Содержание свободного пролина возрастает также у жуков, вышедших из подвергнутых рентгеновскому облучению личинок. Установлено, что под действием рентгеновских лучей активность ферментов биосинтеза пролина повышается, а активность ферментов его катаболизма падает.

Հաստատվել է, որ ազատ պրոլինի քանակությունը լոբու ընդակերի բզեզներում նրանց հասունացմանը զուգընթաց ավելանում է: Ռենտգենյան ճառագայթների ազդեցությանը ենթարկված լոբու ընդակերի երիտասարդ բզեզներում ազատ պրոլինի քանակությունը չճառագայթված բզեզների համեմատությամբ ավելանում է շուրջ 3 անգամ, իսկ հասուն ձևերի մոտ ճառագայթման ազդեցությամբ, նրա քանակը քիչ է ավելանում: Պրոլինի քանակությունը ավելանում է նաև այն բզեզներում, որոնք ծնավորվել են ճառագայթված թրթուռներից. և այն բզեզներում, որոնք աճեցվել են ճառագայթված լոբու մեջ: Պարզվել է նաև, որ պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտների ակտիվությունը ռենտգենյան ճառագայթների ազդեցությամբ բարձրանում է, իսկ կատաբոլիզմի ֆերմենտների ակտիվությունը, ընդհակառակը՝ ընկճվում է:

The quantity of proline in haricot beetles increase during it's ripen. In young beetles, which were exposed to the influence of X-rays, contents of free proline is increased 3 times, at comparison with non-radiated beetles, and in radiated mature (10 daily) beetles, the quantity of free proline is increased only a few. The content of free proline also increases in beetles, which are ripen from radiated larvae. The activity of enzymes of proline biosynthesis is rised by influence of X-rays, and on the contrary, the activity of the enzymes of proline catabolism is falled.

Пролин - фасолевая зерновка

Известно, что в условиях засоления у некоторых растений увеличивается содержание пролина и сахарозы [8, 12], которые выполняют функцию внутриклеточных осморегуляторов [7]. В нашей лаборатории в последние годы было показано, что во время солевого стресса в побегах гороха накапливается значительное количество свободного пролина, что является способом адаптации в этих условиях [5]. Пролин у насекомых является энергетическим субстратом [10]. Летательные мышцы насекомых богаты

пролином, который окисляется в 130 раз интенсивнее других аминокислот [11].

Источниками синтеза пролина у различных насекомых могут служить разные аминокислоты. Так, личинки синей мухи [13] и гусеницы тутового шелкопряда [1] предпочитают использовать с этой целью орнитин, а личинки дрозофилы - глутамат.

Известно, что ферменты биосинтеза и катаболизма пролина пространственно изолированы: ферменты биосинтеза пролина локализованы в цитозоле, а ферменты катаболизма - в митохондриях. В экстремальных условиях ферменты биосинтеза пролина проявляют устойчивость или даже активируются, а ферменты катаболизма, наоборот, подвержены отрицательному влиянию экстремальных факторов среды [3].

Настоящая работа посвящена изучению влияния рентгеновского облучения на содержание свободного пролина и активность ферментов биосинтеза и катаболизма пролина у жуков фасоловой зерновки.

Материал и методика. Объектом исследования служили жуки *A. obtectus* Say, откладывающие яйца на бобах фасоли. Развитие яиц при 28° длится 7 дней. При указанной температуре и 75%-ной влажности воздуха созревание жуков заканчивается в течение 28-30 дней.

Гомогенизацию жуков проводили в стеклянном гомогенизаторе типа Поттера-Элвельда в K-Na-фосфатном буфере. Использовали 5%-ный гомогенат.

Определение активности ферментов биосинтеза пролина проводили по описанному нами ранее методу [1], а активности ферментов катаболизма пролина - по разработанному в нашей лаборатории методу [4].

Пролин определяли химическим [6] и хроматографическим [9] методами.

Облучение жуков проводили на рентгеновской установке ИРИС-6, ($\lambda=0.78 \times 10^{-8}$ см, U=25 кВ, I=15мА, экспозиция - 30мин).

Статистическая обработка данных проведена по Вознесенскому [2].

Результаты и обсуждение. В первую очередь мы изучили влияние рентгеновского облучения на количественное изменение свободного пролина у жуков фасоловой зерновки. Полученные данные приведены в табл.1. В разных опытах доза рентгеновского (50 кр) облучения оставалась постоянной.

Полученные данные показали, что у жуков фасоловой зерновки количество свободного пролина увеличивается почти в 3 раза по мере их возрастания. Это свидетельствует о том, что пролин играет важную роль в метаболических процессах у фасоловой зерновки. Из данных табл. видно, что у жуков, которые вышли из личинок, подвергнутых рентгеновскому облучению, количество свободного пролина увеличивается приблизительно в 2.5 раза и, даже при последующем некотором снижении его уровня в потомстве первого поколения, количество свободного пролина тем не менее в 1.5-2 раза превышает таковое у жуков из необлученных личинок. Выявлено также, что у жуков, выросших на предварительно облученной фасоли, количество свободного пролина приблизительно в три раза превышает таковое у интактных. При облучении зрелых жуков, которые по сравнению с молодыми, содержат в 3 раза больше свободного пролина, уровень последнего повышается незначительно и в последующих поколениях возвращается к исходному.

Таблица 1. Количество свободного пролина у облученных и необлученных жуков фасолевой зерновки, мкмоль про/г свежей ткани

Жуки		Количество свободного пролина
4-дневные	необлученные	3.21 ± 0.28
	вышедшие из личинок, подвергнутых рентгеновскому облучению	8.04 ± 0.56
	1-е потомство, вышедшее из личинок, подвергнутых рентгеновскому облучению	5.14 ± 0.31
	выросшие на облученной фасоли	9.67 ± 0.66
10-дневные	необлученные	10.9 ± 0.7
	облученные	11.2 ± 0.81
	1-е потомство облученных	9.62 ± 0.65
	2-е потомство облученных	10.8 ± 0.69

Таким образом, при облучении жуков в них происходит накопление свободного пролина, который является протектором. Чтобы установить является ли такое накопление результатом усиления процесса биосинтеза пролина, или же, наоборот, снижением его распада, далее мы исследовали активность ферментов биосинтеза и катаболизма пролина. Во-первых, изучали активность ферментов биосинтеза пролина без воздействия рентгеновских лучей (табл.2). Представленные данные показывают, что у насекомых активность ферментов биосинтеза пролина не меняется в течение всей жизни.

Таблица 2. Активность ферментов биосинтеза пролина (ОТ и П5КР) у жуков фасолевой зерновки, мкмоль про/г свежей ткани

Жуки	Активность ОТ и П5КР
4-дневные	2.51 ± 0.21
10-дневные	2.51 ± 0.21

Наши дальнейшие опыты были посвящены изучению влияния рентгеновского облучения на активность ферментов биосинтеза пролина у зрелых жуков фасолевой зерновки. Опыты показали (табл. 3), что у 10-дневных облученных жуков активность вышеуказанных ферментов подавляется, но в последующих поколениях она достигает своего исходного уровня. Вероятно, 10-дневные жуки (средняя продолжительность их жизни 12-14 сут) либо с трудом приспосабливаются к воздействию стрессового фактора, либо черпают пролин за счет не синтетических, а катаболических процессов. Это, скорее всего, может быть результатом гидролитического распада белков.

Нами изучалась также активность ферментов биосинтеза пролина у 4-дневных жуков вышедших из облученных личинок, а также у жуков в предварительно облученной фасоли. Полученные данные представлены в табл. 4.

Таблица 3. Активность ферментов биосинтеза пролина (ОТ и П5КР) у облученных жуков фасоловой зерновки, мкмоль про/г свежей ткани

Жуки (4-дневные)	Активность ОТ и П5КР
необлученные	2.51 ± 0.21
облученные	0.90 ± 0.05
1-е потомство облученных	2.41 ± 0.19
2-е потомство облученных	2.64 ± 0.22

Согласно таблице, у 4-дневных жуков, которые вылупились из личинок, подвергнутых рентгеновскому облучению, активность ферментов биосинтеза пролина повышается более чем в 2 раза, а у жуков, выросших в облученной фасоли, в 1.5 раза. Исходя из этих данных, можно сказать, что накопление свободного пролина у 4-дневных жуков является результатом активирования ферментов биосинтеза пролина под воздействием рентгеновского облучения.

Таблица 4. Активность ферментов биосинтеза пролина (ОТ и П5КР) у жуков, находившихся в разных состояниях, мкмоль про/г свежей ткани

Жуки (4-дневные)	Активность ОТ и П5КР
необлученные	2.51 ± 0.21
вышедшие из личинок, подвергнутых рентгеновскому облучению	5.5 ± 0.33
выросшие на облученной фасоли	3.48 ± 0.3

Чтобы убедиться в этом, мы исследовали также активность ферментов катаболизма пролина ПО у жуков фасоловой зерновки. Полученные данные приведены в табл.5, из которой видно, что активность ферментов катаболизма пролина более высока у зрелых жуков по сравнению с молодыми.

Таблица 5. Активность ферментов катаболизма пролина (ПО и П5КД) у жуков фасоловой зерновки, мкмоль глу/г свежей ткани.

Жуки	Активность ПО и П5КД
4-дневные	6.18 ± 0.21
10-дневные	7.21 ± 0.26

Дальнейшие серии опытов были посвящены изучению влияния рентгеновского облучения на активность ферментов катаболизма пролина у жуков фасоловой зерновки (табл. 6).

Полученные данные показывают, что активность ферментов катаболизма пролина у облученных 10-дневных жуков подавляется в 7 раз, приравниваясь в потомстве таковой у необлученных жуков. Резкое падение активности фермента, по всей вероятности, происходит из-за высокой чувствительности ферментов катаболизма пролина. Не исключается, что под воздействием рентгеновских лучей ферменты подвергаются глубоким структурным изменениям.

Таблица 6. Активность ферментов катаболизма пролина (ПО и П5КД) у облученных и необлученных жуков фасоловой зерновки, мкмоль гл/г свежей ткани

Жуки (10-дневные)	Активность ПО И П5КД
необлученные	7.21±0.26
облученные	1.03±0.056
1-е потомство облученных	7.06±0.25
2 -е потомство облученных	5.71±0.23

Изучалась также активность ферментов катаболизма пролина у жуков, которые вышли из облученных личинок, а также у жуков, выросших на предварительно облученной фасоли (табл. 7). Из полученных данных видно, что активность ферментов катаболизма пролина полностью подавляется у жуков, которые вылупились из облученных личинок, а у жуков, выросших на облученной фасоли, активность вышеуказанного фермента подавляется на 5%.

Таблица 7. Активность ферментов катаболизма пролина (ПО и П5КД) у жуков фасоловой зерновки, находившихся в разных состояниях, мкмоль гл/г свежей ткани

Жуки (4-дневные)	Активность ПО И П5КД
необлученные	6.18 ±0.21
вышедшие из личинок, подвергнутых рентгеновскому облучению	0
выросшие на облученной фасоли	5.92 ±0.2

Обобщая результаты наших исследований, можем сказать, что ферменты катаболизма пролина фасоловой зерновки более чувствительны к рентгеновскому облучению по сравнению с ферментами биосинтеза пролина

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.Х., Давтян М.А. Биолог. журн. Армении, 27, 5, 1974.
2. Вознесенский В.Л. Первичная обработка экспериментальных данных. Л., 1969.
3. Гильмур Д. Метаболизм насекомых. Изд. Л., М., 1968.
4. Молаи Рад М.Б., Агаджанян А.Х. Биолог. журн. Армении, 3-4, 242, 1999.
5. Мартиросян М.С., Агаджанян А.Х. Вестник МАНЭБ 6, 42, 2001.
6. Blumenkrantz N. Chem. Biochem., 13, 177, 1980.
7. Brown L.M., Hellerbust J.A. Canad. J. Bot., 56, 6, 676, 1978.
8. Greenberg H., Setter T.L. Austr. J. plant Physiol., 6, 1, 69, 1979.
9. Hrabetova E., Tupy L.J. Chromatogr. 3, 199, 1960.
10. Sactor B., Childress C. Arch. Biochem. Biophys. 120, 583, 1967.
11. Sactor B. Wormser Shavit Biol. Chem., 241, 624, 1960.
12. Stewart G.R., Lee J.A. Pi. Sci. Letters 3, 173, 1974.
13. Vecchio D.A., Kalman S.M. Arch. Biochem. Biophys. 127, 376, 1968.

Поступила 12.VII.2004