

Добавление в среду пептона, молочной сыворотки, кукурузного и дрожжевого экстрактов (в 0,2%-ной концентрации) не увеличивает выхода внеклеточного белка, но способствует большему накоплению биомассы псевдомонадами.

Некоторые штаммы (366, 22к, 278) выделяют в среду до 60% общего белка, синтезируемого клеткой. Содержание внеклеточного белка в бесклеточной культуральной жидкости может быть значительно повышено путем внесения в среду веществ (пенициллин), влияющих на проницаемость клеточной стенки бактерий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Такака К. (Япония). Пат. 3709783 (США).
2. Uda K. Shiges. — *Amino Acid and Nucl. Acid.*, 1976, № 33, p. 71.
3. Квасников Е. И., Исакова Д. М., Киприанова О. Н. и др. — *Микробиологический ж.*, 1974, т. 36, вып. 6, с. 683.
4. Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Farr A. L., Randall R. I. — *J. Biol. Chem.*, 1951, v. 193, p. 265.
5. Термхитарова Н. Г., Шульга А. В. — *Прикладная биохим. и микробиол.*, 1974, т. 10, с. 6, 928.
6. Идельчик М. С., Горнак Н. М. — В сб.: *Микроорганизмы в промышленности и сельском хозяйстве*. Минск, 1975, с. 42.

Поступила в редакцию
20.02.79.

Кафедра микробиологии

УДК 577.472+578.08

Н. М. КРЮЧКОВА, В. Х. РЫБАК

ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ РАЗВИТИЯ ДАФНИИ ПРИ РАЗНЫХ ПИЩЕВЫХ УСЛОВИЯХ

До настоящего времени вопрос о том, в какой мере темп развития планктонных животных зависит от трофических условий, окончательно не выяснен. Согласно одним данным [1], в условиях лабораторного выращивания ветвистоусых ракообразных концентрация пищи заметно влияет на продолжительность их развития, по другим [2] — при удовлетворении пищевых потребностей прослеживается лишь тенденция к сокращению продолжительности постэмбрионального развития планктонных раков (D_n) с улучшением пищевых условий.

Задачей настоящего исследования было выяснить особенности роста *Daphia magna* Straus, кормом для которой служила зеленая водоросль *Chlamydomonas eugametos* Moew. при разных концентрациях последней: 0,02; 0,17; 0,65; 1,16; 2,70; 6,11; 10,5 мг/л сухого веса (по 9 параллельных при каждой концентрации). Сухой вес клетки, определенный экспериментально, составлял $261 \cdot 10^{-9}$ мг, калорийность — 4,5 кал/мг сухого веса.

Однодневных дафний по одному экземпляру помещали в склянки (объем 30 мл), укрепленные на вращающемся диске барабана (скорость вращения 16 об/ч) для предотвращения оседания водорослей на дно сосуда. Опыты проводили в темной комнате. Ежедневно корм меняли; животных измеряли под микроскопом МБС-1; отмечали появление выводковой камеры и яиц; появившуюся молодь отсаживали. Средняя температура опыта 19,8°С (18—21°С), продолжительность 18—21 день.

При самых низких концентрациях водорослей (0,02 и 0,17 мг/л) уже на вторые-третьи сутки опыта дафнии начали отставать в росте. На протяжении всей экспозиции они были прозрачны, малоактивны, часто с темными включениями в области кишечника. В последние дни жизни (18—20-е сутки) рачки опускались на дно склянки. Лишь на 20-е сутки у дафний появлялись выводковые камеры (см. таблицу), и животные погибали, так и не дав яиц.

**Продолжительность развития и скорость питания дафний
на разных концентрациях корма**

Концентрация корма K , мг/л	С, мг/мг%		Появление выводковой камеры, сут	D_n , сут	D_q , сут	Число кладок за экспозицию	Число яиц в кладке
	2-сут. молоди	5-7 сут. молоди					
0,02	11,0	1,5	$19,7 \pm 1,58$	—	—	—	—
0,17	12,0	2,5	$19,2 \pm 2,1$	—	—	—	—
0,65	50,0	10,3	$12,1 \pm 0,9$	$14,4 \pm 1,6$	$3,0 \pm 0$	$1,7 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,6$
1,16	85,5	13,0	$9,4 \pm 0,3$	$13,0 \pm 0,3$	$3,2 \pm 0,11$	$2,0 \pm 0,3$	$2,9 \pm 0,7$
2,70	115,5	49,0	$8,5 \pm 0,3$	$11,8 \pm 1,3$	$3,1 \pm 0,69$	$2,1 \pm 0,4$	$6,5 \pm 1,3$
6,11	266,0	103,0	$7,1 \pm 0,4$	$9,2 \pm 0,8$	$3,0 \pm 0,73$	$3,2 \pm 0,8$	$7,9 \pm 1,8$
10,50	241,3	169,0	$7,1 \pm 0,3$	$7,7 \pm 0,5$	$3,1 \pm 0,44$	$3,2 \pm 0,7$	$8,8 \pm 1,03$

Более активными, особенно в начале опыта, были рачки при концентрации корма 0,65 мг/л. Уже на 12-е сутки у них появились выводковые камеры, яйца — лишь на 15-е. Однако спустя двое суток после откладки яиц, две самки выбросили недоразвитые эмбрионы, две сбросили экзувии вместе с недоразвитыми эмбрионами, у одной яйцо рассосалось. У единственной самки, давшей молодь, новые яйца появились только спустя трое суток после выхода молоди из выводковой камеры и при концентрации корма в три раза большей. К 20-м суткам жизни все самки на этой концентрации водорослей стали прозрачны и малоподвижны, а еще через сутки — шесть из девяти погибли. Это свидетельствовало о том, что концентрация хламидомонасы 0,65 мг/л, как и 0,02—0,17 мг/л, не обеспечивала пищевых потребностей дафний. Действительно, даже при концентрации пищи 0,65 мг/л, в склянке на один экземпляр приходилось только 0,02 мг пищи.

При возрастании биомассы водорослей до 1 мг/л сухого веса и выше дафнии сохраняли активность, были окрашены в розовый цвет, однако половозрелости достигали в зависимости от наличного количества пищи в разное время (см. таблицу).

В опыте отмечена хорошо выраженная связь между длиной тела дафний, достигнутой к концу опыта, и концентрацией пищи. Рассчитав отношение средней длины тела дафний на 18-сутки опыта (l_n) при каждой из концентраций к их длине при самой высокой концентрации корма

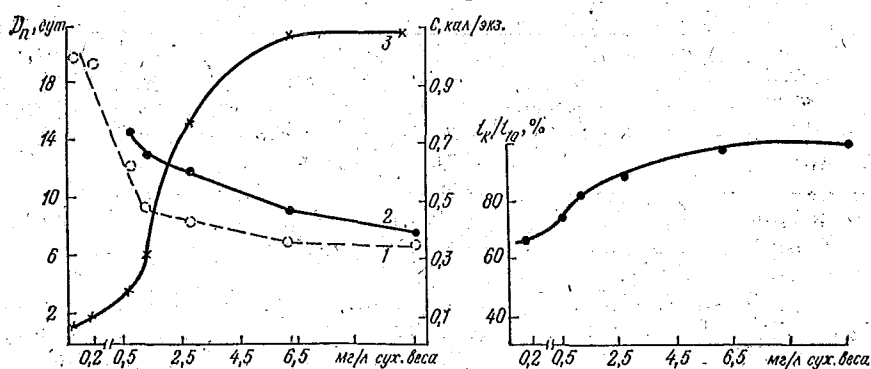


Рис. 1. Конечная длина тела дафний при разных концентрациях корма (объяснение в тексте)

Рис. 2. Связь продолжительности постэмбрионального периода суммарного рациона дафний и концентрации корма:

1 — время появления выводковой камеры; 2 — продолжительность D_n ; 3 — рацион

10,5 мг/л (l_{10}) и выразив полученную величину в процентах (l_k / l_{10} , %), видам, что при низких концентрациях корма на конечную длину дафний заметно влияют пищевые условия (рис. 1). При биомассе хламидомонаса более 5 мг/л, когда, вероятно, пищевые потребности дафний полностью удовлетворялись, эта зависимость практически не прослеживалась.

Продолжительность эмбрионального развития дафний (D_a) составила около трех суток при разных пищевых условиях. Отмечена четкая связь между временем появления выводковой камеры, периодом постэмбрионального развития (D_n) и концентрацией корма (рис. 2). Она была наиболее заметной при самых низких концентрациях водорослей, но тенденция к сокращению D_n наблюдалась и при наиболее высоких концентрациях корма. То же можно сказать и о сроках появления выводковой камеры у дафний. При этом чем выше биомасса водорослей, тем меньше временный разрыв между появлением выводковой камеры и откладкой яиц. Связь продолжительности постэмбрионального развития с концентрацией корма, рассчитанная по D_n , хорошо описывается степенным уравнением:

$$D_n = 13,6 \pm 0,64 K^{-0,22 \pm 0,077}$$

по времени появления выводковой камеры:

$$D_b = 10,6 \pm 2,7 K^{-0,21 \pm 0,28}$$

В обоих случаях коэффициент корреляции $r = 0,97$.

Зависимость D_n от пищевых условий дафний двух видов установлена Венгленской [1]. Приводимый ею угловой коэффициент ($-0,22$) практически совпал с полученным нами для *D. magna*.

Четкая зависимость между продолжительностью D_n и концентрацией корма в опыте, вероятно, свидетельствует о том, что пищевые потребности дафний при низких концентрациях пищи не удовлетворялись. Для проверки этого предположения были поставлены суточные опыты, в которых методом счета клеток определялись рационы двух- и пяти-семидневной молоди при разных концентрациях корма. В зависимости от размера в опытную склянку помещали по два-четыре рачка. Склянки укрепляли на барабане и помещали в темноту при температуре 23 °C. Экспозиция составляла 24 ч. Сухой вес тела (W , мг) рачков рассчитали с помощью полученной нами ранее для данного вида формулы [3].

Минимальные рационы у дафний (2—11%) отмечены при самых низких из рассмотренных концентраций водорослей (см. табл. 1). Четкая зависимость суточного потребления корма от его концентрации наблюдалась до 5 мг/л сухого веса.

Как следует из рис. 2, связь D_n с пищевыми условиями прослеживалась лишь до тех пор, пока рацион зависел от пищевых условий. При максимальном рационе продолжительность постэмбрионального развития дафний в эксперименте уже не зависела от трофических условий. Сопоставление пищевых потребностей дафний с полученными рационами показало, что при первых двух концентрациях пищевые потребности рачков удовлетворялись только на 40 и 60%. Это, вероятно, и было одной из причин плохого роста дафний. С увеличением концентрации хламидомонаса до 1 мг/л и выше рацион дафний превышал их пищевые потребности в 2,3; 6,1; 20 и 46 раз. Следовательно, уже при концентрации 0,65 мг/л пищевые потребности рачков удовлетворялись. Однако дафнии росли и размножались довольно слабо, по-видимому, в связи с отсутствием достаточного для роста рачков количества микроэлементов в монокультуре хламидомонаса [4]. Следовательно, результаты, получаемые для одного и того же вида животных на разных видах корма, будут в значительной степени зависеть от полноценности предлагаемой пищи.

Таким образом, проведенные исследования показали, что при выращивании дафний на одном виде пищи (в данном случае *Chlamydomonas*)

обнаружилась четкая связь темпов их развития с биомассой корма, вплоть до очень высоких ее значений. Не вызывает, однако, сомнений, что для решения вопроса о степени влияния трофических условий естественных водоемов на продолжительность постэмбрионального развития водных животных, необходимы специально поставленные опыты в условиях свободного выбора животными соответствующего вида корма. Исходя из общеэкологических представлений можно полагать, что в природе пищевые условия в меньшей степени влияют на скорость развития планктонных раков, чем в эксперименте.

ЛИТЕРАТУРА

1. Węglińska T.—*Ecolog. Polska*, 1971, t. 19, № 30, s. 427.
2. Крючкова Н. М.—*Гидробиологический журнал*, 1973, т. 9, № 2, с. 69.
3. Крючкова Н. М., Рыбак В. Х.—*Вестн. Белорусского ун-та. Сер. 2, хим., биол., геол., геогр.*, 1975, № 1, с. 42.
4. Corner E. D. S., Cowey C. B.—*Biol. Rev.*, 1968, v. 43, p. 393.

Поступила в редакцию
01.12.78.

Проблемная НИИ экспериментальной
биологии

УДК 577.15

Н. М. ОРЕЛ, А. Т. ПИКУЛЕВ

АКТИВНОСТЬ ИЗОФЕРМЕНТОВ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА И СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ КРЫС ПРИ ДОБАВЛЕНИИ КАТЕХОЛАМИНОВ И АДРЕНОБЛОКАТОРОВ IN VITRO

Введение катехоламинов *in vivo* оказывает существенное влияние на общую активность лактатдегидрогеназы (КФ, 1.1.1.27, ЛДГ) и ее изоферментов, которое в какой-то степени опосредуется через адренорецепторы [1, 2]. Однако имеются указания [3] на то, что адреналин и норадреналин способны связывать сульфгидрильные группы, входящие в активный центр ферментов, приводя к снижению активности последних. Подобные сведения для ЛДГ отсутствуют, в то же время известно, что в формировании активного центра ЛДГ принимают участие *SH*-группы [4]. В связи с этим нами проведены исследования активности изоферментов ЛДГ-1 и ЛДГ-5 головного мозга и сердечной мышцы крыс при добавлении катехоламинов и адренолитиков *in vitro*.

Исследования проводили на белых крысах-самцах линии Вистар массой 130—180 г. Адреналин (α и β -адреномиметик) α -адреномиметик норадреналин, β -адренолитик обзидан (пропранолол, анаприлин, 1-изопропил-амино-3-нафтил-оксипропанол гидрохлорид; Изис-Хеми, ГДР) и α -адренолитик фентоламин (регитин, 2 [N-пара-толил N-(метаоксифенил - аминотетан)] - имидозалилгидрохлорид) раздельно добавляли к элюатам изоферментов ЛДГ-1 и ЛДГ-5 головного мозга и сердечной мышцы крыс в концентрациях от $1 \cdot 10^{-9}$ М до $1 \cdot 10^{-3}$ М в пробу и преинкубировали 10 мин. Для предотвращения окисления исследуемых веществ все операции проводили при температуре $+5^\circ\text{C}$. Изоферменты выделяли из 10%-ных гомогенатов головного мозга и сердечной мышцы (сахароза 0,32 М, трис-НСI буфер 0,02 М, рН 7,4) методом диск-электрофореза в полиакрил-

Способы элюирования изоферментов ЛДГ головного мозга (18 ч)*

Исследуемые растворы	ЛДГ-1	ЛДГ-5
H ₂ O	0,193	0,020
Фосфатный буфер рН 7,4	0,312	0,110
Трис буфер рН 7,4	0,300	0,116
0,9%-ный NaCl	0,460	0,212

* Активность представлена в экстинциях