

УДК 577.152.31:591.36:599.322.2

А. М. Андриевский¹, к.б.н., доцент

Ю. Н. Олейник², к.б.н., доцент

А. С. Асманская², магистр

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,

¹ кафедра генетики и молекулярной биологии,

² кафедра зоологии;

ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, e-mail: andriev_scar@mail.ru

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФОРМЫ КАРБОКСИЭСТЕРАЗ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ СУСЛИКА КРАПЧАТОГО *SPERMOPHILUS SUSLICUS* (GULD.) В ПОЗДНЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА

Получены данные о распределении карбоксиэстераз в органах и тканях суслика крапчатого. Исследовали кровь, сердце, головной мозг, отделы желудочно-кишечного тракта, половые железы самцов и самок, а также щитовидную и поджелудочную железы, печень. Установлена специфичность и характер проявления карбоксиэстераз в отдельных органах половозрелых особей крапчатого суслика в позднем постнатальном развитии.

Ключевые слова: эстеразы, постнатальное развитие, *Spermophilus suslicus*.

Популяционная экология крапчатого суслика в северо-западном Причерноморье интенсивно изучается уже на протяжении почти сорока лет [6]. Получены данные о пространственном распределении особей, особенностях размножения на разных стадиях формирования колоний, изменении размерно-массовых показателей. Однако данные экологических исследований не обладают достаточной разрешающей способностью, необходимой для объяснения механизмов внутривидовой дифференциации, развития и преобразования популяций во времени. Это определяет необходимость проведения исследования генетической структуры популяций, физиологической разнокачественности, а также полиморфизма по отдельным признакам биохимического фенотипа у изучаемого объекта.

В то же время уровень популяционно-генетической изученности большинства видов в силу ряда причин (малочисленность вида, труднодоступность, длительность смены поколений и т. п.), даже с использованием метода электрофоретического анализа белков и ферментов, относительно невысок [5, 10]. Остается невысокой и степень изученности природных популяций беличьих, в том числе и сусликов [4, 7, 8]. Следует отметить, что подобного рода исследования зачастую проводятся без учёта особенностей популяционной экологии вида. Однако только в сочетании с данными, отражающими экологическую специфику вида, аллозимный анализ, анализ частот морф сбалансированного полиморфизма в пределах ареала может указать на роль средовых факторов в развитии и дифференциации популяций. Ввиду того, что эстеразы представляют собой многочисленное семейство гидролитических ферментов, участвующих в различных процессах, обеспечивающих жизнедеятельность организма животных, их целесообразно использовать в качестве маркерных энзимов, позволяющих изучать как онтогенетические, так и популяционные изменения [2, 3].

Это и определило цель исследования – изучить полиморфизм карбоксиэстераз крапчатого суслика *Spermophilus suslicus*.

Материал и методы исследования

Материалом для исследований послужили суслики, добытые весной 2004–2005 годов из рядом расположенных поселений в Овидиопольском районе Одесской области. Для изучения распределения карбоксиэстераз в органах и тканях суслика было использовано 10 самцов и 12 самок.

Для разделения белков кислой природы в работе использовали метод щелочного электрофореза в полиакриламидном геле с помощью аппарата для электрофореза с вертикально расположенными пластинами [1, 9]. Путём проведения реакции одновременного азосочетания нафталов с прочным синим идентифицировали молекулярные формы тканевых карбоксиэстераз.

Исходным экспериментальным материалом служили следующие ткани и органы: цельная кровь, печень, сердце, желудок, средний отдел тонкого кишечника, щитовидная железа, головной мозг, семенники (яичники), придатки семенника, поджелудочная железа взрослых половозрелых самцов и самок. Выделение указанных органов и тканей проводили после наркотизации животных хлороформом с соблюдением норм биологической этики при экспериментальной работе с животными.

Для получения экстрактов гомогенизировали 100–200 мг навески ткани или органа в 600 – 1 200 мкл буфера (соотношение 1 : 6) глицин-*NaOH* 0,1 М ($pH = 9,0$) + 1 % тритона X-100 в фарфоровой ступке с помощью фарфорового пестика. Гомогенаты центрифугировали в течение 15 мин при 10 000 g. Надосадочную жидкость собирали и хранили в морозильной камере при $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение месяца. Полученные экстракты использовали для электрофоретического разделения содержащихся в них карбоксиэстераз. Пробы, полученные от особей 2005 года, с целью снижения экспрессии содержащихся в них карбоксиэстераз были разведены дистиллированной водой в два раза.

Разделяющая фаза носителя представляла собой пластинчатый блок ($140 \times 120 \times 1$ мм) с концентрацией полиакриламидного геля 10 %. Для приготовления геля использовали реактивы венгерского производства (фирма “*Reanal*”).

Полученные экстракты вносили в промытые электродным буфером слоты в объёме 20 мкл с добавкой 5 мкл 60 % раствора сахарозы с 0,01 % бромфеноловым синим, применяемым в качестве лидирующего красителя. Сразу после нанесения проб на стартовую поверхность геля устанавливали электрический ток силой 5 мА (на 10 мин) и 10 мА (на 20 мин), затем 20 мА в расчёте на один гелевый блок. После достижения лидирующим красителем финишного уровня (через 3–4 часа) форец прекращали, высвобождали гелевые блоки, многократно отмывали их от внутреннего буфера (исходное значение $pH = 8,9$) и использовали для гистохимического выявления карбоксильных эстераз. После нейтрализации внутригелевой среды каждый отдельный блок выдерживали в 50 мл нейтрального буфера в течение 10–15 мин.

Инкубационную среду для фиксированного в геле фермента готовили на 0,1 М фосфат-фосфатном буфере ($pH = 7,4$). Каждую гелевую пластину помещали в пенопластовую кювету и заливали 50 мл буфера, содержащего смеси субстратов,

взятых в количестве 25 мг, соответственно, а также прочный синий RR в количестве 50 мг.

В работе было использовано два вида субстрата: α -нафтилацетат и β -нафтилацетат. Продукт азосочетания α -нафтола с диазонием окрашен в чёрно-коричневый цвет, тогда как продукт реакции β -нафтола с синим прочным обладает пурпурной окраской. Это даёт возможность идентифицировать изучаемые карбоксиэстеразы по их стереохимической субстратной специфичности.

Все субстраты, а также прочный синий перед введением в буфер растворяли в 100 мкл диметилформамида. Реакция гидролиза субстратов и азосочетания при +25 °C длилась в течение часа. Для гелей с пробами от особей 2005 года данную реакцию проводили в течение 10 мин. После экспозиции реакционные смеси удаляли, а гели многократно промывали дистиллированной водой и, в случае необходимости, очищали от мелкодисперсного осадка азокрасителя с помощью мягкой кисти.

Влажные отмытые гелевые блоки сканировали, а затем денситометрировали и обрабатывали с помощью компьютерной программы – анализатора изображений спектров «АнаИС». Оптическую плотность (Od) ферментных фракций, отражающую уровень экспрессивности эстераз, выражали в относительных единицах.

По коэффициенту относительной электрофоретической подвижности (Rf) полученные спектры тканевых карбоксиэстераз разделены на три основные группы. Группа, обладающая наибольшей электрофоретической подвижностью (далее всех располагается от линии «старта») обозначена под № 1, её границы составляют от 0,510 и выше, а фракции эстераз, прошедшие наименьший путь – как № 3 (0,000 до 0,250). В рамках этой группы электрофоретические фракции образуют две подгруппы: первая с границами от 0,000 до 0,130, и вторая с границами от 0,180 до 0,250. Между первой и третьей Rf -группами располагается комплекс фракций карбоксиэстераз № 2 (0,260–0,500).

Результаты исследования и обсуждение

Изучение биохимического полиморфизма ферментов на первых этапах требует определения их локализации в организме (органы и ткани), присутствие и проявление их активности у представителей разных полов, возрастных групп.

Спектр эстераз отражает многокомпонентность комплекса, в котором можно идентифицировать целый ряд энзимов. Выделенные из разных органов половозрелых особей крапчатого суслика ферменты этого комплекса, способные расщеплять сложные эфиры, нами были типированы как карбоксиэстеразы.

Исследуя электрофоретические спектры эстераз взрослых особей крапчатого суслика, нами установлена разная степень присутствия ферментов этой группы в тканях и органах данного вида. Фракции эстераз оказались наиболее многочисленны в крови, печени, желудке, кишечнике, половых железах (семенники, яичники), придатках семенника. В то же время в миокарде, головном мозге, щитовидной и поджелудочной железах карбоксиэстеразы встречаются в значительно меньшем числе молекулярных форм.

Анализ субстратной специфичности выделенных из разных органов половозрелых особей крапчатого суслика карбоксиэстераз указывает на наличие двух групп: α -фильных и β -фильных карбоксиэстераз. По числу форм эти группы представлены неодинаково. Присутствие α -фильной группы карбоксиэстераз

установлено у самцов и самок во всех исследуемых органах и тканях, за исключением головного мозга. β -Фильная группа ферментов зафиксирована в крови, печени, миокарде, головном мозге, семенниках, яичниках и поджелудочной железе.

В крови, печени, сердце, желудке, кишечнике, семенниках обнаружены все три *Rf*-группы (табл. 1). В поджелудочной железе и придатках семенников *Rf*-групп две: вторая и третья. В щитовидной железе и головном мозге установлено присутствие только наиболее медленных фракций эстераз, принадлежащих к *Rf*-группе № 3.

У половозрелых самцов электрофоретические группы эстераз отличаются своей вариабельностью. В группе наиболее «быстрых» эстераз (диапазон 0,510–0,620) наибольшее число фракций (от 3 до 5-ти) (рис. 1, 2; табл. 1).

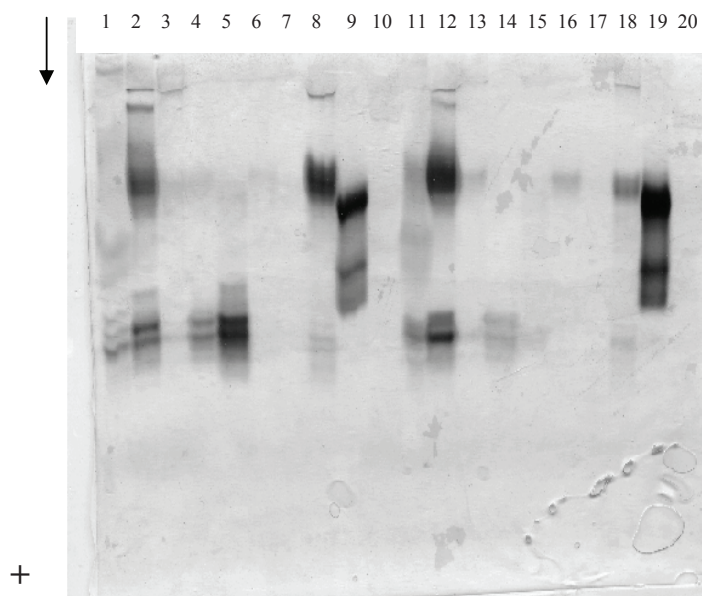


Рис. 1. Электрофоретический спектр карбоксиэстераз органов и тканей самцов (2004 год) суслика крапчатого:

Субстраты: α -нафтилацетат + β -нафтилацетат.

Треки: 1, 11 – кровь; 2, 12 – печень; 3, 13 – сердце; 4, 14 – желудок; 5, 15 – кишечник; 6, 16 – щитовидная железа; 7, 17 – головной мозг; 8, 18 – семенник; 9, 19 – придаток семенника; 10, 20 – поджелудочная железа (1 – 10 – ♂1, поселение № 1; 11 – 20 – ♂2, поселение № 2).

Самые медленные из электрофоретического спектра эстеразы отличаются большей вариабельностью по числу молекулярных форм: на электрофореграммах отмечено от 1 до 4-х фракций. Эстеразы этой группы преимущественно представлены 1-ой или 2-мя фракциями. Последнее может рассматриваться как косвенное подтверждение предполагаемого выше деления этой группы на 2 подгруппы.

Наиболее разнообразен спектр карбоксиэстераз по количеству фракций в крови (12) (в самом сердце их обнаруживается только 6). Число фракций эстераз в пищеварительной системе несколько меньше: в печени – на четверть, в желудочно-кишечном тракте (желудок, тонкий кишечник) примерно на 50 % (6 и 7 фракций, соответственно). В поджелудочной железе установлено присутствие только 4-х фракций. Резко различаются электрофоретическими спектрами семенники и придатки семенников – 8 и 4 фракции, соответственно. Наименьшее разнообразие карбоксиэстераз по коэффициенту подвижности характерно для щитовидной железы и головного мозга (2 фракции).

Экспрессивность карбоксиэстераз (по показателям оптической плотности соответствующих электрофоретических фракций) в исследуемых органах и тканях имеет такой же характер, как и распределение по коэффициенту подвижности (R_f). Наибольшая экспрессия наблюдается у изоформ карбоксиэстераз крови (до 0,797), печени (до 2,110), желудочно-кишечного тракта (0,819–1,910), семенников и их придатков (до 3,720) (рис. 1; табл. 2). Наименьшая экспрессия по данному признаку наблюдается в сердце, головном мозге, щитовидной железе и поджелудочной железе, где она составляет в среднем около 0,400.

Не изменяется наблюдаемая тенденция и при разбавлении (в 2 раза) экстрактов соответствующих органов и тканей. Так, у самцов, добытых в 2005 году, наблюдается уменьшение лишь абсолютных показателей экспрессии по оптической плотности: в печени (до 1,900), желудочно-кишечном тракте (0,627–0,690), придатках семенников (0,212–0,418). В сердце установлено присутствие фракций как с невысокой (0,251), так и с повышенной экспрессией (0,378) (рис. 2, табл. 2). В половых железах изменений в экспрессии при разведении экстрактов не установлено.

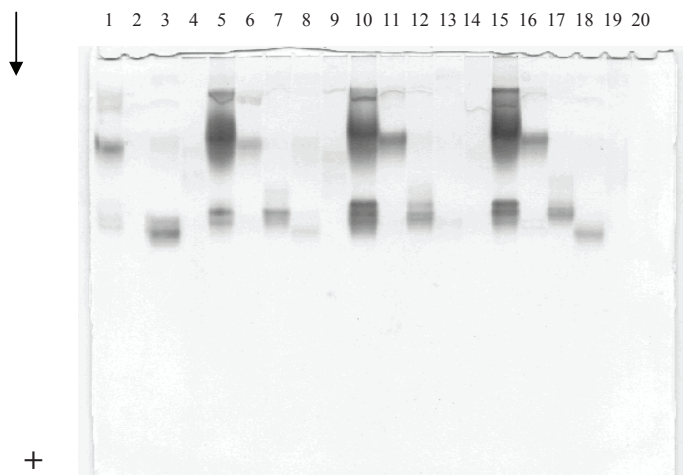


Рис. 2. Электрофоретический спектр карбоксиэстераз органов и тканей самцов (2005 год) суслика крапчатого:
 Субстраты: α -нафтилацетат + β -нафтилацетат. Треки: 1, 6, 11, 16 – сердце;
 2, 7, 12, 17 – желудок; 3, 8, 13, 18 – кишечник; 4, 9, 14, 19 – придаток семенника,
 5, 10, 15 – печень.

Таблица 1

Характеристика молекулярных форм карбоксиэстераз у половозрелых самцов и самок суслика крапчатого по коэффициенту относительной электрофоретической подвижности

Ткани, органы	Группы по <i>R_f</i>	Самцы (<i>n</i> = 10)		Самки (<i>n</i> = 12)	
		2004 год (<i>min</i> – <i>max</i>)	2005 год (<i>min</i> – <i>max</i>)	2004 год (<i>min</i> – <i>max</i>)	2005 год (<i>min</i> – <i>max</i>)
Кровь	1	0,530 – 0,610 (3)		0,580 – 0,630 (3)	
	2	0,350 – 0,500 (3)	–	0,310 – 0,420 (3)	–
	3	0,014 – 0,240 (4)		0,120 – 0,180 (1)	
Печень	1	0,510 – 0,580 (3)	–	0,590 – 0,690 (3)	–
	2	0,290 – 0,460 (2)	0,330 – 0,380 (3)	0,310 – 0,320 (1)	0,290 – 0,480 (5)
	3	0,069 – 0,250 (4)	0,042 – 0,190 (4)	0,100 – 0,180 (2)	0,015 – 0,220 (4)
Сердце	1	0,510 – 0,580 (3)	–	0,610 (1)	
	2	–	0,350 – 0,400 (2)	0,310 (1)	–
	3	0,037 – 0,250 (3)	0,073 – 0,210 (3)	0,094 – 0,110 (2)	
Желудок	1	0,510 – 0,580 (3)	–	0,580 – 0,640 (4)	–
	2	0,500 (1)	0,280 – 0,370 (4)	0,310 – 0,480 (2)	0,340 – 0,480 (4)
	3	0,056 – 0,240 (2)	0,068 – 0,140 (1)	0,110 – 0,210 (1)	0,100 – 0,240 (2)
Тонкий кишечник	1	0,510 – 0,570 (3)	–	0,640 – 0,660 (1)	0,510 (1)
	2	0,270 – 0,470 (3)	0,380 – 0,410 (2)	0,330 (1)	0,400 – 0,500 (3)
	3	0,054 – 0,062 (1)	0,044 – 0,200 (3)	0,110 – 0,210 (2)	0,120 – 0,240 (2)
Щитовидная железа	1	–		–	
	2	–	–	–	–
	3	0,050 – 0,240 (2)		0,091 – 0,200 (1)	
Головной мозг	1	–		–	
	2	–	–	–	–
	3	0,042 – 0,070 (1)		0,072 – 0,200 (1)	
Половые железы	1	0,510 – 0,620 (5)		0,610 (1)	–
	2	0,260 (1)	–	0,310 – 0,380 (2)	0,480 (1)
	3	0,060 – 0,250 (2)		0,078 – 0,190 (2)	0,088 – 0,160 (1)
Придаток семенника	1	–	–		
	2	0,290 – 0,480 (4)	0,270 – 0,360 (3)	–	–
	3	–	0,069 – 0,220 (3)		
Поджелудочная железа	1	–		0,630 (1)	
	2	0,290 – 0,370 (2)	–	0,320 – 0,410 (3)	–
	3	0,120 – 0,130 (2)		0,190 – 0,230 (2)	

Примечание: электрофоретическая подвижность эстераз выражена в относительных единицах в диапазоне минимальных (*min*) и максимальных (*max*) значений; «–» – данные отсутствуют; в скобках указано число фракций карбоксиэстераз.

Самцы 2004 и 2005 годов, которые были взяты из разных поселений, исследовались при несколько различающихся условиях, поэтому сравнивать данные можем только по коэффициенту относительной электрофоретической подвижности и тканевому спектру эстераз. Во всех полученных электрофоретических спектрах самцов 2005 года были обнаружены только вторая и третья группы *Rf*, тогда как из соответствующих органов самцов 2004 года она отсутствует только в придатках семенников. Вторая группа *Rf*, обнаруженная в сердце самцов 2005 года, отсутствует в сердце самцов 2004 года.

В сердце самцов 2005 года выявлены вторая и третья группы *Rf*, а в сердце самцов 2004 года только вторая группа. Вторая группа *Rf* у самцов 2005 года более разнообразна по спектрам эстеразы представлена в печени и желудке, а у самцов 2004 года – в кишечнике и придатках семенников.

Во многом сходен у самок и самцов и электрофоретический спектр фракций во второй и третьей группах, выделяемых по коэффициенту подвижности. В этих группах у самок установлено присутствие от 1 до 3-х фракций во второй и 1–4 – в третьей. Третья группа — электрофоретически самая подвижная – представлена несколько меньшим числом фракций (1–4) по сравнению с таковым у самцов (3–5). В то же время величина коэффициента *Rf* фракций, входящих в эту группу, имеет более высокие значения параметра, чем у самцов (табл. 1).

У половозрелых самок в крови, печени, сердечной мышце и яичнике присутствуют обе группы карбоксиэстераз – α - и β -фильные. Желудок, кишечник, поджелудочная железа богаты α -фильной группой ферментов и содержат следовые количества β -фильных эстераз. В щитовидной железе и головном мозге обнаруживаются лишь α -фильные карбоксиэстеразы.

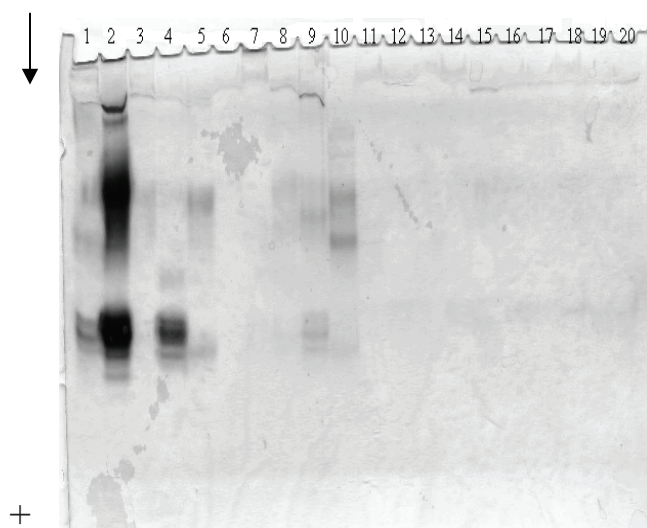


Рис. 3. Электрофоретический спектр карбоксиэстераз органов и тканей самки (2004 год) суслика крапчатого: Субстраты: α -нафтилацетат + β -нафтилацетат. Треки: 1 – кровь; 2 – печень; 3 – сердце; 4 – желудок; 5 – кишечник; 6 – щитовидная железа; 7 – головной мозг; 8 – яичник; 9 – плацента; 10 – поджелудочная железа.

Таблица 2

Характеристика молекулярных форм карбоксиэстераз у половозрелых самцов и самок суслика крапчатого по экспрессии относительно данных оптической плотности

Ткани, органы	Группы по Rf	Самцы (n = 10)		Самки (n = 12)	
		2004 год (min – max)	2005 год (min – max)	2004 год (min – max)	2005 год (min – max)
Кровь	1	0,216 – 0,797 (3)		0,545 – 0,840 (3)	
	2	0,321 – 0,452 (3)	–	0,371 – 0,561 (3)	–
	3	0,215 – 0,611 (4)		0,416 – 0,470 (1)	
Печень	1	0,395 – 1,860 (3)	–	0,554 – 4,010 (3)	–
	2	0,416 – 0,657 (2)	0,329 – 1,700 (3)	1,050 – 4,050 (1)	0,311 – 1,570 (5)
	3	0,427 – 2,110 (4)	0,256 – 1,900 (4)	0,436 – 1,810 (2)	0,245 – 1,890 (4)
Сердце	1	0,165 – 0,342 (3)	–	0,448 (1)	
	2	–	0,251 – 0,352 (2)	0,382 (1)	–
	3	0,234 – 0,406 (3)	0,272 – 0,758 (3)	0,232 – 0,307 (2)	
Желудок	1	0,263 – 0,819 (3)	–	0,713 – 1,810 (4)	–
	2	0,378 (1)	0,260 – 0,627 (4)	0,241 – 0,292 (2)	0,249 – 1,520 (4)
	3	0,199 – 0,315 (2)	0,218 – 0,308 (1)	0,233 – 0,420 (1)	0,233 – 0,377 (2)
Тонкий кишечник	1	0,270 – 1,910 (3)	–	0,412 – 1,900 (1)	0,552 – 0,582 (1)
	2	0,223 – 0,571 (3)	0,246 – 0,690 (2)	0,464 (1)	0,225 – 1,040 (3)
	3	0,181 – 0,207 (1)	0,198 – 0,285 (3)	0,253 – 0,410 (2)	0,222 – 0,261 (2)
Щитовидная железа	1	–		–	
	2	–	–	–	–
	3	0,205 – 0,401 (2)		0,246 – 0,338 (1)	
Головной мозг	1	–		–	
	2	–	–	–	–
	3	0,239 – 0,254 (1)		0,271 – 0,350 (1)	
Половые железы	1	0,199 – 0,359 (5)		0,236 (1)	–
	2	0,824 (1)	–	0,279 – 0,313 (2)	0,299 (1)
	3	0,322 – 1,910 (2)		0,266 – 0,341 (2)	0,246 – 0,382 (1)

продолжение таблицы 2

Ткани, органы	Группы по R_f	Самцы ($n = 10$)		Самки ($n = 12$)	
		2004 год ($min - max$)	2005 год ($min - max$)	2004 год ($min - max$)	2005 год ($min - max$)
Придаток семенника	1	–	–		
	2	0,791 – 3,720 (4)	0,212 – 0,418 (3)	–	–
	3	–	0,247 – 0,379 (3)		
Поджелудочная железа	1	–		0,286 (1)	
	2	0,265 – 0,266 (2)	–	0,428 – 0,543 (3)	–
	3	0,216 – 0,234 (2)		0,269 – 0,335 (2)	

Примечание: оптическая плотность эстераз выражена в относительных единицах в диапазоне минимальных (min) и максимальных (max) значений; обозначения те же, что и к таблице 1.

У взрослых самок электрофоретический спектр эстераз по их подвижности представлен практически такими же фракциями, как и у самцов. Лишь только в поджелудочной железе самок, в отличие от самцов, имеющих фракции № 2 и № 3, отмечены самые подвижные фракции (№ 1) с $R_f = 0,630$.

Сходен у самок и самцов спектр фракций и в исследованных нами органах и отделах пищеварительной системы: печень (по 9 фракций), желудок (соответственно 7 и 6) и кишечник (6 и 7 фракций). В поджелудочной железе самок установлена не только большая величина коэффициента подвижности (R_f) отдельных фракций, но и в 1,5 раза большее их число (6 против 4). В остальных полученных нами энзимограммах органов и тканей число фракций у самок оказалось меньше, чем у самцов. В кровеносной системе число фракций, выявленных нами у самок в крови и в сердце примерно в 1,5 раза меньше, чем у самцов. Также меньшее число (примерно в 1,5 раза) электроморф эстераз у самок по сравнению с самцами установлено и в половых железах (табл. 1). На электрофореграммах щитовидной железы и головного мозга самок, также как и самцов, установлено наименьшее по сравнению с другими исследованными органами и тканями число фракций карбоксиэстераз (1 – самки и 2 – самцы).

Судя по показателям относительной оптической плотности, характер экспрессии эстеролитических ферментов в органах и тканях у самок соответствует такому самцов. Наибольшие величины экспрессии у самок характерны для крови (до 0,840), печени (4,050), желудка (до 1,810) и кишечника (до 1,900) (рис. 3, 4; табл. 2).

При разведении экстракта (в 2 раза) экспрессия относительно оптической плотности фракций, также как и у самцов, несколько уменьшается, но соотношение их величин остаётся неизменным. Наибольшие изменения экспрессии наблюдаются у самок в печени (от 4,500 до 1,890). Судя по величине относительной оптической плотности фракций, также как и у самцов, практически неизменной остаётся экспрессия карбоксиэстераз в половых органах (яичниках), где она составляет до 0,382 единицы (рис. 4; табл. 2).

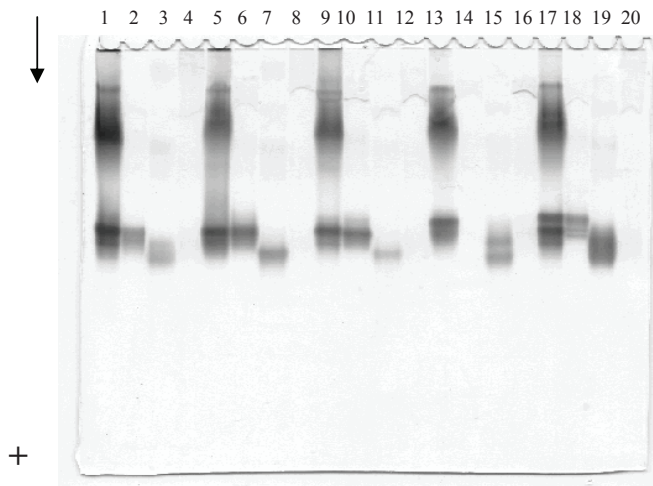


Рис. 4. Электрофоретический спектр карбоксиэстераз органов и тканей самок (2005 год) суслика крапчатого: Субстраты: α -нафтилацетат + β -нафтилацетат. Треки: 1, 5, 9, 13, 17 – печень; 2, 6, 10, 14, 18 – желудок; 3, 7, 11, 15, 19 – кишечник; 4, 8, 12, 16, 20 – яичник.

Проанализировав данные о характере распределения и экспрессии карбоксиэстераз у самцов и самок суслика, следует отметить отсутствие существенных различий по числу электрофоретически подвижных групп, их диапазонов. В то же время нами установлены различия в экспрессии эстераз половых желез (семенники, яичники).

В семенниках самцов экспрессия карбоксиэстераз имеет более высокие значения, чем в яичниках самок. У самцов в весенний период ещё сохраняется высокая двигательная активность, связанная с поиском самок и участием в процессе размножения. У самок оплодотворение происходит в первые сутки после пробуждения, после чего у них наблюдается перестройка в функционировании половых желез, что, видимо, и приводит к уменьшению активности карбоксиэстераз яичников. В период гона (активного поиска и преследования самок) самцы едят немного, сильно худеют [6], что, несомненно, отражается на активности эстераз в пищеварительной системе: величины экспрессии этих ферментов у самцов существенно уступают таковым самок.

Таким образом, результаты проведённых нами исследований указывают на то, что при изучении динамических процессов в популяциях крапчатого суслика целесообразно использовать данные экспрессивности отдельных эстеролитических ферментов пищеварительной системы, которые наиболее ярко отражают онтогенетические адаптации в постэмбриональный период развития данного вида.

Выводы

У половозрелых особей установлено наличие карбоксиэстераз во всех исследуемых органах и тканях. Наибольшим разнообразием и экспрессивностью обладают эстеразы крови, печени, желудка, кишечника и поджелудочной железы.

Карбоксиестеразы у суслика крапчатого представлені α -фільною і β -фільною групами.

По коефіцієнту відносної електрофоретическої подвижності встановлено 3 групи карбоксиестераз. Найбільше різноманітність карбоксиестераз представлено в «середньоподвижній» і «медленноподвижній» групах цих ферментів.

Список используемой литературы

1. Андрієвський О. М. Фізико-хімічні методи дослідження білків / О. М. Андрієвський. — Одеса: Вознесенська друкарня, 2003. — 39 с.
2. Андрієвський А. М. Половой диморфізм по експресії гідролаз ефіров карбонових кислот в популяціях *Drosophila melanogaster* / А. М. Андрієвський // Вісник ОНУ. — 2006. — Т. 11. — Вип. 9. — С. 7–17.
3. Андрієвський А. М. Система карбоксиестераз *Drosophila melanogaster* в онтогенезі / А. М. Андрієвський, В. А. Кучеров, В. Н. Тоцький // Вісник ОНУ. — 2007. — Т. 12. — Вип. 5. — С. 7–18.
4. Воронцов Н. Н. Цитогенетическі доказательства существования Закавказско-Сонорских дизъюнкций ареалов некоторых млекопитающих / Н. Н. Воронцов, Е. А. Ляпунова // Зоол. журн. — 1972. — Т. LI. — Вип. 11. — С. 1697–1703.
5. Грант В. Эволюция организмов / В. Грант. — М.: Мир, 1980. — 407 с.
6. Лобков В. А. Крапчатый суслик северо-западного Причерноморья: биология, функционирование популяций / В. А. Лобков. — Одесса: Астропринт, 1999. — 272 с.
7. Межжерин С. В. О систематическом статусе серого хомячка *Cricetulus migratorius isabellinus* из Копетдага: анализ аллозимной изменчивости / С. В. Межжерин // Вестник зоологии. — 2001. — С. 91–94.
8. Межжерин С. В. Генетические связи и дифференциация наземных беличьих Палеоарктики / С. В. Межжерин, О. В. Брандлер, Е. А. Ляпунова, С. Ю. Морозов-Леонов, Н. Н. Воронцов // Генетика. — 1999. — Т. 35 — № 6. — С. 756–764.
9. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие) / Л. А. Остерман. — М.: Наука, 1981. — 288 с.
10. Яблоков А. В. Популяционная морфология – пути развития и очередные задачи // В кн.: Проблемы развития морфологии животных / А. В. Яблоков. — М.: Наука, 1982. — С. 90–112.

Статья поступила в редакцию 1.06.2012

О. М. Андрієвський¹, Ю. М. Олійник², Г. С. Асманська²

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,

¹ кафедра генетики і молекулярної біології,

² кафедра зоології;

вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: andriev_scar@mail.ru

МОЛЕКУЛЯРНІ ФОРМИ КАРБОКСИЕСТЕРАЗ ОРГАНІВ І ТКАНИН ХОВРАХА КРАПЧАТОГО *SPERMOPHILUS SUSLICUS* (GULD.) В ПІЗНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ

Резюме

Отримано дані про розподіл карбоксиестераз в органах і тканинах ховраха крапчатого. Досліджували кров, серце, головний мозок, відділи шлунково-кишкового

тракту, статеві залози самців і самок, а також щитовидну й підшлункову залози, печінку. Встановлено локалізацію і характер прояву карбоксиестераз в окремих органах статевозрілих особин крапчастого ховраха в пізньому постнатальному розвитку.

Ключові слова: естерази, постнатальний розвиток, *Spermophilus suslicus*.

O. M. Andrievskii, Y. M. Oleinik², A. S. Asmanska²

Odesa Mechnykov National University,

¹ Department of Genetics and Molecular Biology,

² Department of Zoology;

2, Dvoryanskaya str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail: andriev_scar@mail.ru

MOLECULAR FORMS OF CARBOXYLESTERASES OF THE ORGANS AND TISSUE OF GROUND SQUIRREL *SPERMOPHILUS SUSLICUS* (GULD.) IN A LATE POSTNATAL PERIOD OF ONTOGENESIS

Summary

There were obtained the information about distributing of carboxylesterases of the organs and tissue of ground squirrel. Blood, heart, cerebrum, different departments of gastrointestinal tract and reproductive system, and also in thyroid, pancreatic glands, liver were studied. Localization, character of display and species-specificity of carboxylesterases, is found out in the separate organs of pubertal individuals of the ground squirrel in the late postnatal development.

Key words: esterases, postnatal development, *Spermophilus suslicus*.