

# МУТАЦИЯ SNOW И ПОВЕДЕНИЕ ПЧЕЛ

Н. Г. ЛОПАТИНА, В. В. ПОНОМАРЕНКО,  
Е. Г. ЧЕСНОКОВА,  
Е. ВОЙКЕ

Медоносная пчела служит объектом многих научных исследований. В этой статье мы расскажем о новой ее роли в науке, в которой она служит моделью для изучения влияния на поведение и нервную систему животных некоторых форм врожденной патологии обмена веществ, часто встречающейся у человека.

В последние годы в Институте физиологии им. И. П. Павлова совместно с польскими учеными проводятся исследования на пчелах, у которых наследственно обусловленный избыток или недостаток определенных нейроактивных веществ — производных аминокислоты триптофана. Триптофан, как известно, служит источником образования нейромедиатора серотонина. По другой ветви его обмена — кинурениновой, также образуются нейроактивные вещества — кинуренины, пока еще мало изученные. Интерес к ним непрерывно растет, поскольку нарушения их обмена часто сопровождают, наряду с изменением содержания серотонина, наследственно обусловленные нервно-психические заболевания. Однако выяснение первичного наследственно обусловленного биохимического поражения, приводящего к заболеваниям нервной системы человека, крайне затруднено. Для моделирования же сходной нервной патологии у животных и выяснения первично-следственных отношений при ее формировании требуются линии животных с известными первичными биохимическими нарушениями, различающиеся при этом лишь одним из генов, детерминирующих последовательные стадии обмена триптофана. Такие линии имеются только у насекомых и, в частности, у медоносной пчелы. Это линии пчел с мутациями, нарушающими определенные этапы

кинурениновой ветви обмена триптофана.

Мутации эти были выделены благодаря уникальной особенности биохимии насекомых: одна из ветвей кинуренинового пути обмена триптофана служит источником образования оммохромов — экраняющих пигментов глаз. Блокирование любой стадии этого пути изменяет цвет глаз. Такой морфологический маркер биохимических нарушений очень удобен для генетической работы. Его использование способствовало выделению отдельных мутаций и развитию исследований по биохимической генетике (Эфрусси, Биддл, 1935). Сейчас уже установлено, какую именно стадию обмена блокирует та или иная мутация, синтез какого фермента она нарушает, какие метаболиты триптофана накапливаются у мутантных пчел в избытке и какие отсутствуют.

Как видно из схемы, где представлены некоторые мутации пчел, нарушению каждой стадии обмена соответствует специфический цвет глаз насекомого. Коллекция таких мутантных пчел имеется в Польской Народной Республике. Эти мутанты и были использованы в наших исследованиях в качестве генетических моделей наследственно обусловленных нарушений обмена триптофана для выяснения специфики их воздействия на поведение и деятельность нервной системы медоносной пчелы.

Пчела, как известно, хорошо обучается и обладает сложными формами общественного поведения (Лобашев и др.,

1961). Хорошо изучена физиология таких особенностей поведения, как «язык» или «танец» медоносной пчелы, так же как способность к выработке условных рефлексов различной сложности. Они служили для наших исследований по генетике поведения (Лопатина, Пономаренко, 1971 и др.). Выделены также и признаки, отражающие особенности функциональной активности некоторых отделов нервной системы, участвующих в реализации этих форм поведения. Это возбудимость нервно-мышечного аппарата, обратимая инактивация синапсов, передающих нервные импульсы на органы движения, биоэлектрическая активность второго торакального ганглия, являющегося сегментарным центром локомоции. Благодаря этому можно выяснять влияние отдельных мутаций на широкий спектр особенностей поведения и деятельности нервной системы. Кроме того, важным преимуществом пчелы по сравнению с позвоночными животными является отсутствие гемато-энцефалического барьера и возможность исследования деятельности нервной системы на изолированных ганглиях. Это облегчает проведение фармакологических воздействий на целом организме и на отдельных частях нервной системы при анализе биохимических путей действия мутаций.

Из всего сказанного очевидно, что пчела — исключительно благоприятный объект, позволяющий благодаря уникальному сочетанию особенностей ее биохимии, генетики, поведения и нервной деятельности использовать комплексные подходы для анализа механизмов нервной патологии.

Для выяснения специфики отклонений в деятельности нервной системы и поведения при наследственно обусловленном блокировании каждой отдельной стадии этого пути мы составили большую программу последовательного изучения поведенческих и нейробиологических эффектов ряда мутаций, характер биохимического действия которых представ-

Мутации медоносной пчелы

snow  
ivory amber  
chartreuse<sup>red</sup>, brick

ТРИПТОФАН  
↓  
кинуренин  
↓  
3-оксикинуренин  
↓  
ОММОХРОМЫ

Биохимическое проявление      Окраска глаз

много триптофана нет кинуре-      белая  
нина  
избыток кинуренина нет 3-ок-      розовая  
сикинуренина  
избыток 3-оксикинуренина      темно-крас-  
ная

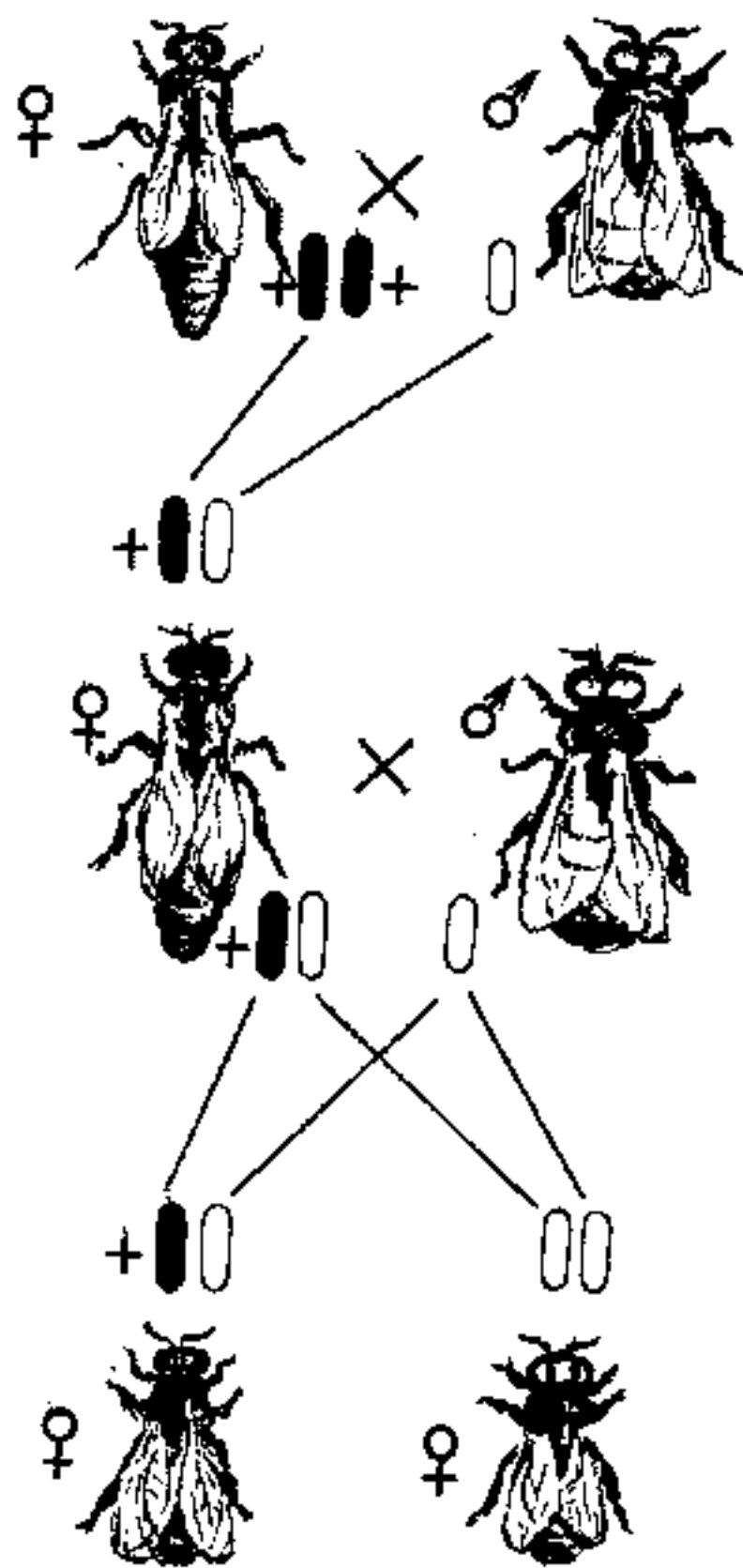


Рис. 1. Схема получения мутантных особей у медоносных пчел: ♀ — самка (матка, рабочие пчелы); ♂ — трутень;

+ — нормальная хромосома;  
 ○ — хромосома, несущая мутантный ген

лен на схеме. Осуществление части этой программы позволяет сказать, что все исследованные нами мутации нарушали поведение и деятельность нервной системы медоносной пчелы. При этом мутации, блокирующие разные этапы обмена триптофана, имели и различный характер своего нейробиологического действия, обусловленного накоплением или дефицитом отдельных его метаболитов.

Рис. 2. Действие мутации *slow* на поведение и нейробиологические признаки медоносной пчелы.

А — ритм танца. По вертикали — число циклов за 15 с.

Б — возбудимость кожно-мышечного мешка личинок при раздражении одиночными электрическими импульсами длительностью от 50 мс до 0,01 мс. По вертикали — пороги возбудимости в вольтах.

В — время наркотизации при действии 0,1%-ных паров эфира. По вертикали — время наркотизации в минутах. Условные обозначения генотипов: +/+ — нормальные пчелы, s/+ — гетерозиготные, s/s — гомозиготные.

Г — биоэлектрическая активность второго торакального ганглия медоносной пчелы. По вертикали — частота импульсов (имп./с).

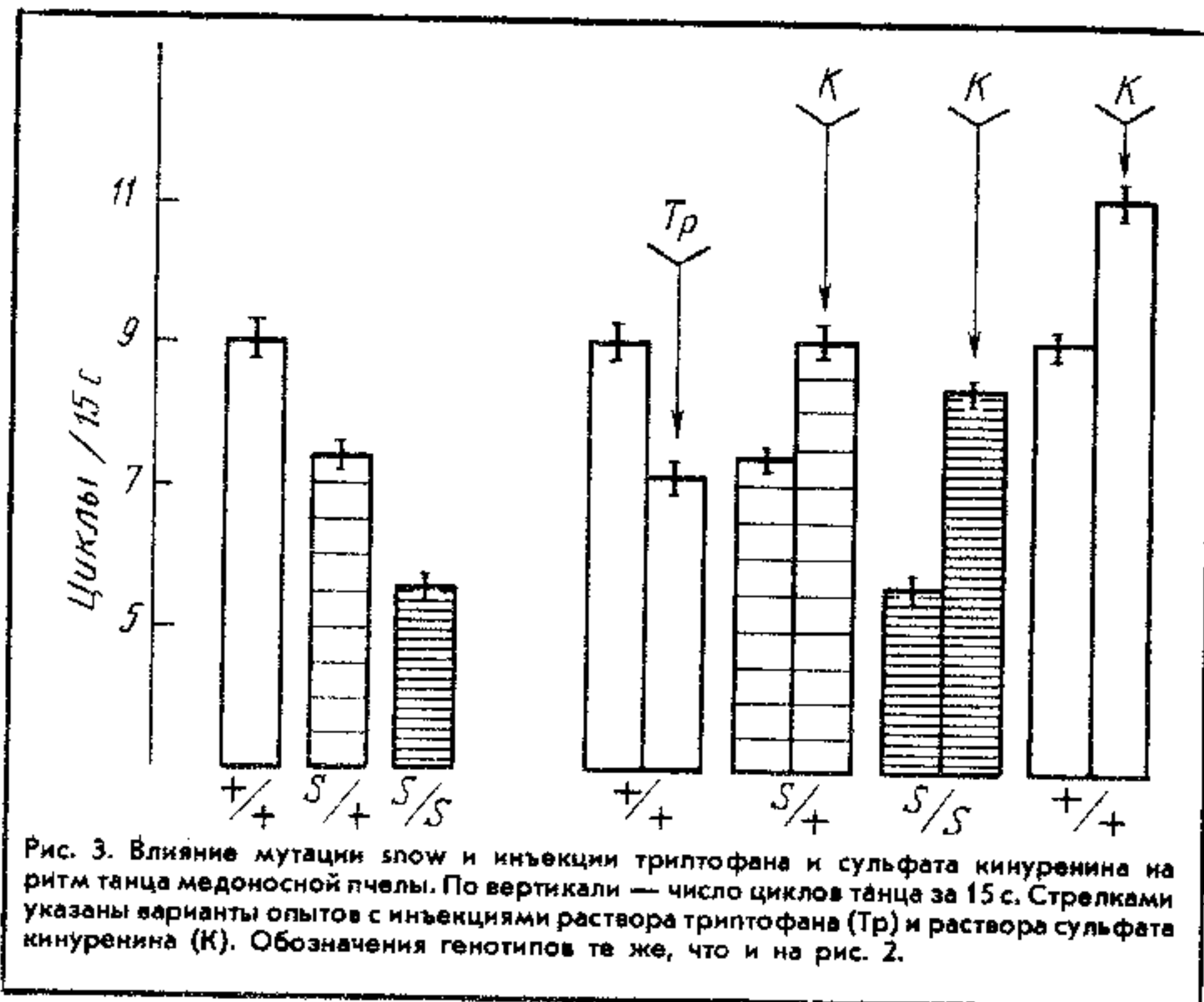


Рис. 3. Влияние мутации *slow* и инъекции триптофана и сульфата кинуренина на ритм танца медоносной пчелы. По вертикали — число циклов танца за 15 с. Стрелками указаны варианты опытов с инъекциями раствора триптофана (Tr) и раствора сульфата кинуренина (K). Обозначения генотипов те же, что и на рис. 2.

Наиболее сильные отклонения вызывала мутация *slow* (белые глаза), блокирующая начальное звено по пути превращения триптофана в оммохромы и изменяющая таким образом весь кинурениновый путь обмена (Пономаренко и др., 1975). Эта мутация благодаря наследственно обусловленной инактивации фермента триптофанпирролазы приводит к накоплению в организме мутантных пчел избытка триптофана и полному отсутствию кинуренина и его производных (Дустман, 1975).

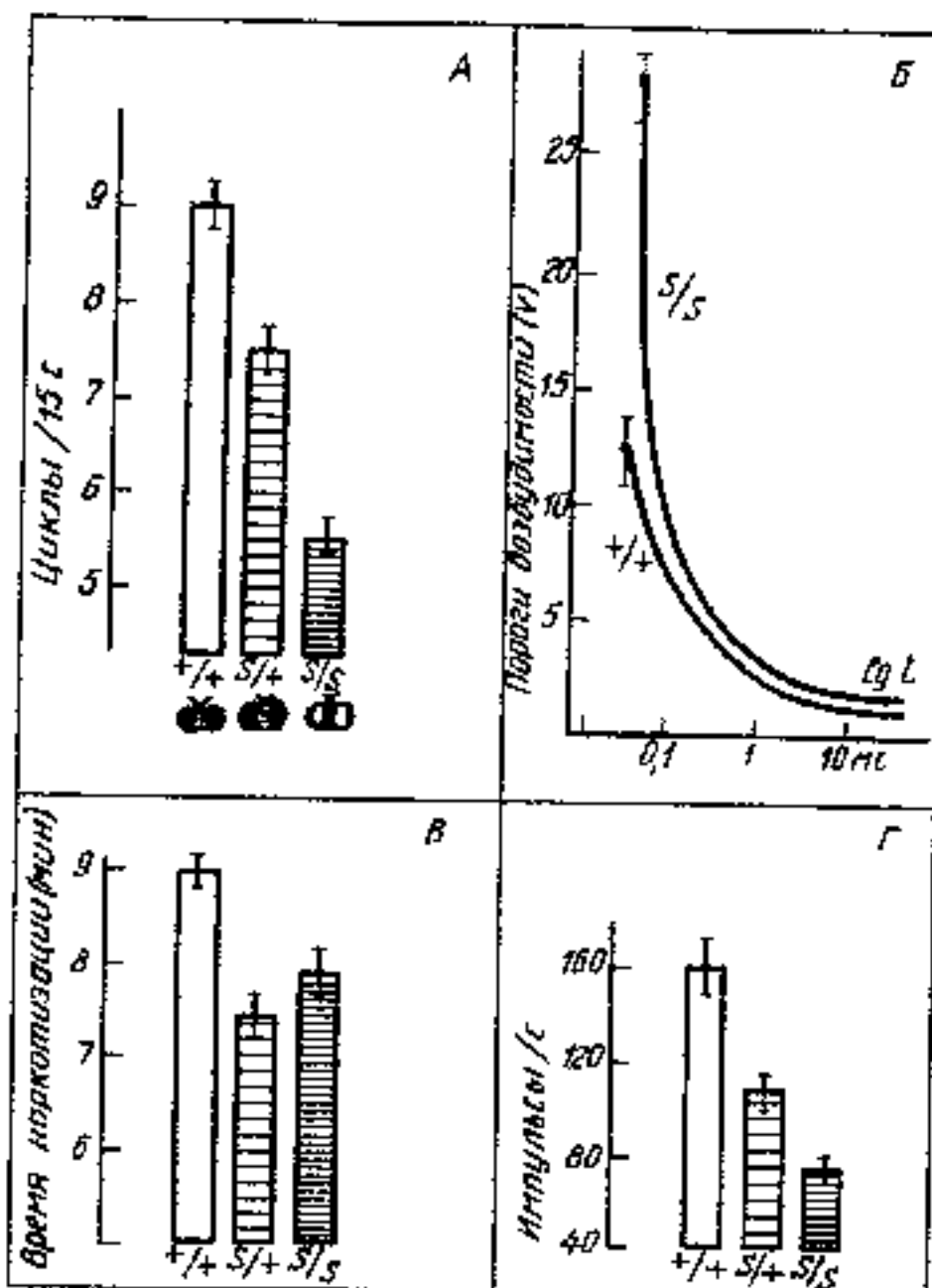
Исследование влияния этой мутации представляет особый интерес, поскольку сходное наследственно обусловленное нарушение обмена триптофана, приводящее к его избытку в организме человека, — триптофанурия, вызывает и умственную отсталость.

Анализируя действие этой мутации

на поведение и деятельность нервной системы, мы должны были исключить или вычленить то влияние, которое обусловлено дефектом зрения пчел из-за отсутствия глазных пигментов. И мы добились этого, используя генетические методы и применяя определенную систему скрещиваний (рис. 1). Мутация *slow* рецессивна, таким образом, белые глаза будут лишь у тех пчел, у которых обе хромосомы, полученные от матери и отца, несут мутантные гены (гомозиготные особи). Если же скрестить мутантного трутня с нормальной маткой (все их потомство будет гетерозиготным), каждая особь получит только один мутантный ген от отца и будет иметь пигментированные глаза. Одного нормального гена, кодирующего триптофанпирролазу, достаточно для образования такого количества этого фермента, которое обеспечит синтез глазных пигментов.

В наших опытах гетерозиготную матку осеменяли спермой мутантного трутня и исследовали их потомство. Половина рабочих пчел, полученных от такого скрещивания, получилась гомозиготной — их глаза были белыми; половина потомства — гетерозиготной. Глаза последних имели экранирующие пигменты и ничем не отличались от глаз нормальных, не мутантных пчел дикого типа. Поэтому отклонения, которые наблюдались в поведении и деятельности нервной системы таких гетерозиготных пчел, у которых отсутствует сенсорный дефект, можно было целиком отнести к влиянию на нервную систему тех биологических нарушений, которые вызывает мутация благодаря недостаточному количеству активного фермента триптофанпирролазы.

Исходя из этого сопоставляли поведение и нейрофизиологические признаки у трех групп пчел: у нормальных пчел итальянской породы (+/+), служившей генетическим фоном для мутации, и двух групп мутантных пчел — гомозиготных (s/s) и гетерозиготных (s/+). Пчелы двух последних групп, будучи потом-





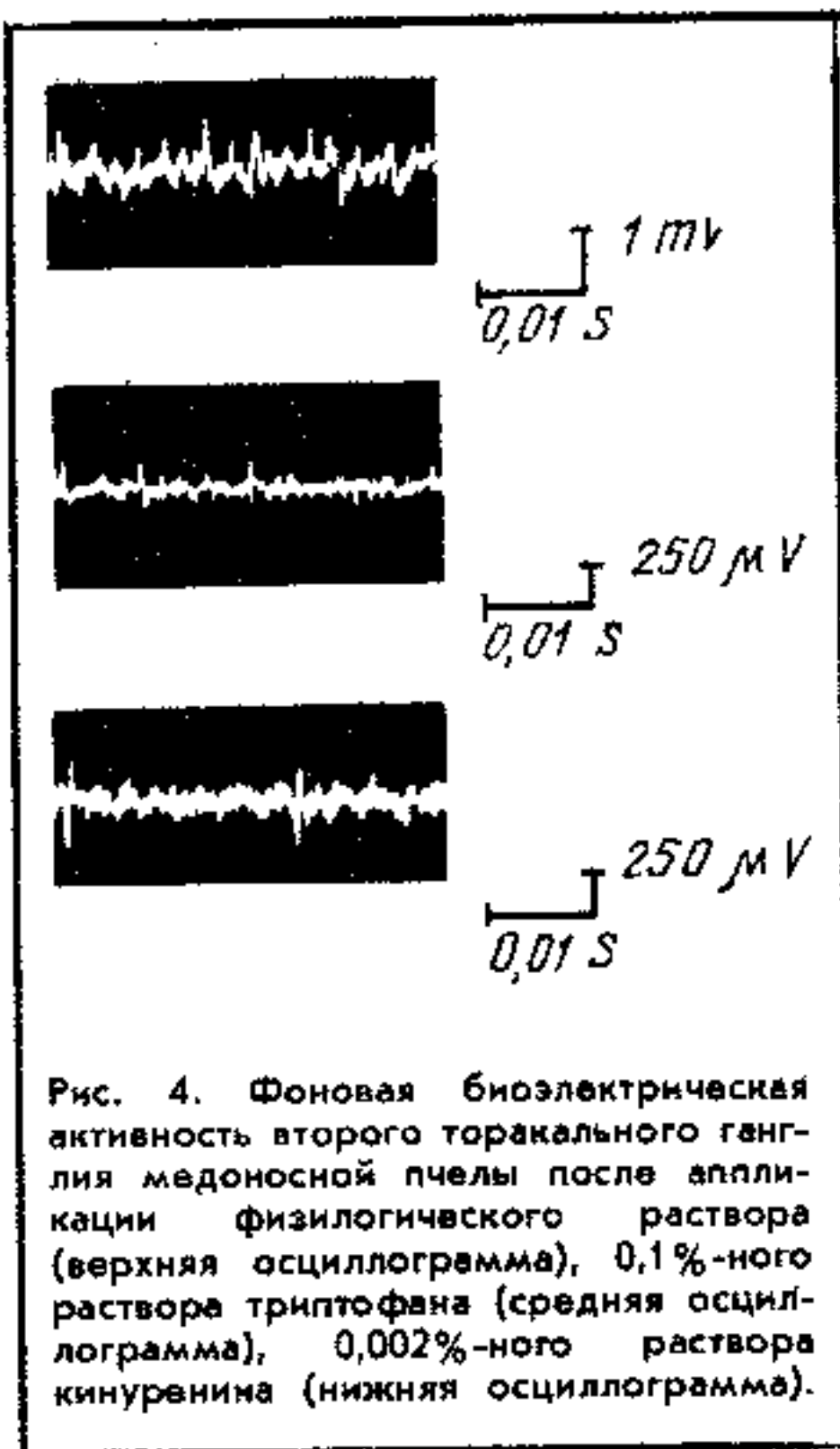


Рис. 4. Фоновая биоэлектрическая активность второго торакального ганглия медоносной пчелы после аппликации физиологического раствора (верхняя осциллограмма), 0,1%-ного раствора триптофана (средняя осциллограмма), 0,002%-ного раствора кинуренина (нижняя осциллограмма).

ством гетерозиготной матки, осемененной спермой мутантных трутней, являлись сестрами. Это позволяло выявлять эффекты мутации в максимально выравненных условиях одной пчелиной семьи.

Для исследования были выбраны легко тестируемые особенности поведения и нейробиологические признаки, отражающие функциональную активность нервной системы на разных ее уровнях (Пономаренко и др., 1975; Лопатина и др., 1976).

К настоящему времени наиболее изученной нами формой поведения является сигнальное поведение — танец пчел, посредством которого они передают информацию о месте расположения источника пищи. Рассмотрим одну из характеристик танца — скорость осуществления сигнальных движений, или ритм (число циклов танца, проделываемых пчелой за 15 с).

На рисунке 2А представлена диаграмма ритма танца всех трех групп пчел: нормальных (+/+), гомозиготных (s/s), у которых оба гена, кодирующие триптофанпирролазу, мутантны и гетерозиготных (s/+), несущих только один мутантный ген. Как видно на графике, мутация снижает ритм танца, и, что самое важное, ритм его замедляется и у гетерозиготных особей, глаза которых нормальны. Таким образом, действие мутации на эту форму поведения не связано с сенсорным дефектом. Из диаграммы ясно видна зависимость степени угнетающего влияния от числа мутантных генов (от дозы гена). Каждый мутантный ген независимо от сенсорных различий снижает ритм танца на одну и ту же величину — у гомозиготных особей, несущих два дефектных гена, угнетающее влияние мутации вдвое сильнее. Эта зависимость силы влияния мутации от дозы гена свидетельствует о том, что ее эффект связан с биохимическими отклонениями в организме. На какие же элементы нервной системы, участвующие в

реализации этой формы поведения, они действуют?

Рассмотрим влияние мутации на возбудимость нервно-мышечного аппарата. Мы определяли возбудимость нервно-мышечного аппарата к электрическим стимулам различной длительности (кривая напряжения-времени) от 0,01 до 50 мс. Последние подавались к электродам, смонтированным в плексигласовую ванночку, куда помещался объект (личинка или изолированное брюшко взрослой пчелы). Из графика кривой напряжения времени видно, что мутация повышает пороги возбудимости, следовательно, понижает саму возбудимость нервно-мышечного аппарата. Возбудимость оказывается пониженной как на имагинальной, так и на личиночной стадии развития насекомого. Следовательно, действие мутации проявляется уже на ранних стадиях онтогенеза. Как видно на графике, где представлены данные, полученные на личинках, в области действия коротких стимулов влияние мутации наиболее сильно.

Мутация затрагивает и свойства синапсов, передающих нервные импульсы на локомоторные органы. О них судили на основании скорости обратимой инактивации синапсов в процессе эфирной наркотизации (определяли время до полного обездвиживания насекомого в плексигласовом приборчике при действии 0,1%-ных паров эфира). У мутантных пчел уменьшено время эфирной наркотизации. Влияние мутации и в этом случае не связано с сенсорным дефектом (рис. 2, Б и В) (Кузьмина и др., 1977).

Угнетающее действие мутации сказывается и на биоэлектрической активности нервной системы. Изучали фоновую биоэлектрическую активность сегментарного центра локомоции медоносной пчелы — второго торакального ганглия, отводя при помощи микроэлектродов потенциалы действия в месте выхода нервов, иннервирующих заднюю пару ног и крылья. Частота потенциалов действия понижена не только у гомозиготных, но и у гетерозиготных особей (рис. 2 г). При этом, как и в случае с ритмом танца, угнетающее влияние мутации не связано с сенсорным дефектом, а четко зависит от дозы гена. Такая одинаковая зависимость от числа мутантных генов ритма танца и уровня нейрональной активности второго торакального ганглия позволяет предполагать, что изменение его деятельности под влиянием биохимических сдвигов, вызываемых мутацией, причастно к ее угнетающему влиянию на сигнальное поведение. Какие же биохимические отклонения, обусловленные мутацией, вызывают столь сильный угнетающий поведенческий и нейробиологический эффект — накопление триптофана или недостаток кинуренина? На какие особенности каких нейрональных элементов они действуют? Для выяснения этих вопросов мы использовали фармакологические воздействия, имитирующие или компенсирующие два основных компонента биохимического проявления мутации.

Пчелам разных генотипов инъецировали растворы триптофана и кинуренина. После инъекции триптофана (DL-триптофан) ритм танца замедляется, однако не так, как у гомозиготных по мутации slow пчел, а лишь до уровня гетерозиготных (рис. 3). Это обстоятельство позволяло сразу предположить, что эффект мутации

вызван не только избытком триптофана, но и недостатком кинуренина, обладающего противоположным триптофану возбуждающим действием. Это положение подтвердилось в опытах с инъекцией кинуренина. Пчелам, несущим мутацию в гомо- и гетерозиготном состоянии, вводили сульфат кинуренина (L-kinurenine sulfate). Инъекцией кинуренина удается повысить ритм танца до нормы (рис. 3). Гомозиготным особям для этого требуется удвоенная его доза.

Избыток триптофана оказывает аналогичное действию мутации влияние на все исследованные нами нейробиологические признаки, в то время как инъекция кинуренина пчелам компенсирует эффект мутации — нервно-мышечная возбудимость возрастает, время наркотизации нормализуется. Следовательно, избыточное количество триптофана и дефицит кинуренина причастны к биохимическому влиянию мутации на нервную систему (Кузьмина и др., 1979). О том, что триптофан и кинуренин обладают противоположным нейротропным действием, свидетельствуют опыты, в которых изучали влияние растворов этих веществ при аппликации их непосредственно на открытую поверхность второго торакального ганглия. После аппликации раствора триптофана (0,1%) частота потенциалов действия понижалась, в то время как аппликация раствора кинуренина 0,002% увеличивала фоновую ритмику (рис. 4).

Таким образом, в опытах на медоносной пчеле была впервые показана возбуждающая роль кинуренина и необходимость определенного содержания этого вещества для осуществления нормальной работы нервной системы и адекватных поведенческих актов. Результаты этих опытов способствовали выяснению особенностей нейротропного действия кинуренина у млекопитающих. Сходное с обнаруженным нами возбуждающее влияние кинуренина было выявлено у крыс при введении его растворов в полость мозговых желудочков (Лапин, 1978).

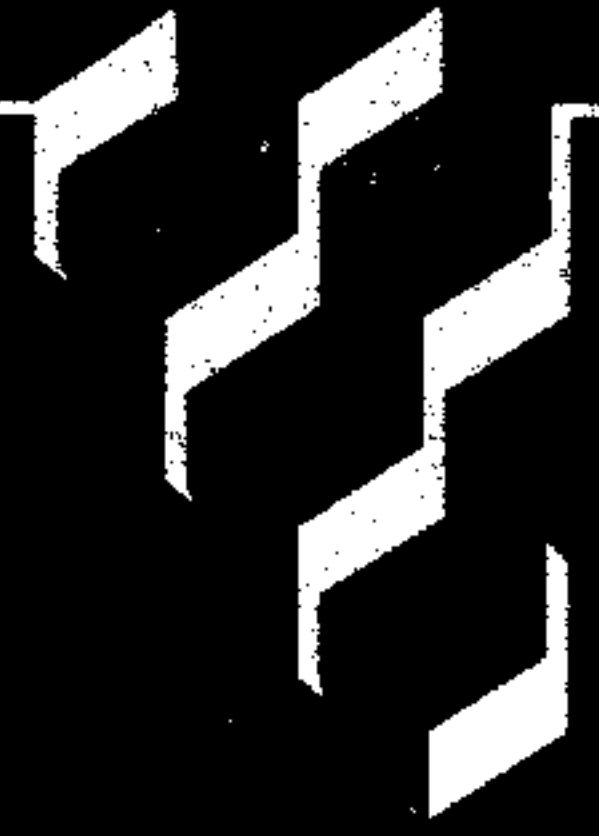
Вполне вероятно, что кинуренин обладает подобным действием и в организме человека. Как мы уже отмечали, сходный с мутацией slow наследственно обусловленный биохимический дефект встречается у людей и известен как заболевание триптофанурия. Вероятно, исследованная нами мутация slow медоносной пчелы — модель триптофанурии, а само наследственно обусловленное заболевание вызвано мутацией гена, кодирующего триптофанпирролазу. В таком случае анализ механизмов действия мутаций, затрагивающих активность этого фермента, представляет интерес не только для генетики поведения, но и для патологии нервной системы.

Это обстоятельство делает важным дальнейшее выяснение конкретных механизмов влияния мутации, блокирующей активность триптофанпирролазы, на деятельность нервной системы.

Мы надеемся, что исследования этой и других мутаций пчел, изменяющих баланс метаболитов кинуренинового пути обмена триптофана, помогут выяснить их нейротропную роль и механизмы тех специфических изменений в деятельности нервной системы, которые приводят к наследственно обусловленной ее патологии.

Институт Физиологии им. И. П. Павлова  
АН СССР, Ленинград  
Польская сельскохозяйственная академия,  
Варшава, ПНР

# ПЧЕЛОВОДСТВО



Ежемесячный  
научно-  
производственный  
журнал  
Министерства  
сельского хозяйства  
СССР

Основан  
в 1921 году

Москва,  
издательство  
"Колос"



1980