

VÉRKATALÁZ AKTIVÁLÁSI ENERGIAÉRTÉKEK A VAD ÜREGINYÚL, HÁZINYÚL ÉS EZEK F₁ HIBRIDJEINÉL

FÁBIÁN GYULA

(Érkezett: 1954. június 30-án)

Egy előző közleményben (FÁBIÁN—SZÉKY, 1954) a nyulak vérkataláz vizsgálataival kapcsolatban már utaltunk arra, hogy a reakciósebességi állandók meghatározása mellett elvégeztünk több esetben aktiválási energiaérték számítást is. Ezek az értékek olyan irányban mutattak tendenciát, hogy a házi-nyulakkal azonos tartási viszonyok közt élő hibrideknél a kataláz enzim szempontjából aktiválási energia-csökkentő készség mutatkozik. Nem találtunk eddig irodalmi adatot, hogy akár növényi, akár állati generatív hibridizációkor valamilyen enzimmel kapcsolatban ez a szempont szóba került volna. Ezért a fenti vizsgálatokat 1954 telén jórészt ugyanazon példányokkal megismételtem és kiegészítettem hasonló állatanyagból még több kísérlettel. A téli vizsgálatok után április és május hónapban még sikerült frissen megfogott vad üreginyulakat is megvizsgálni. Ezekben a vizsgálatokban nemcsak az anyagot bővítettem ki, hanem a korábban alkalmazott módszerünkön is még a lehetőséghez képest javítottam.

Vizsgálati anyag: 3 ♂, 3 ♀ vad üreginyúl; 9 ♂, 6 ♀ házinyúl: magyar vadass fajta, beltenyésztett; 11 ♂, 4 ♀ magyar vadass/üregi hibrid. Vizsgálati módszer: BACH (1931) módszerének alapelvei szerint, az elsőrendű reakciókra érvényes képlet alapján és grafikus módszerrel sebességi állandók meghatározása történik 0 °C-on és 10 °C-on. BACH eredeti módszerétől eltérések a következők: 1. permanganometria helyett jodometria, 2. a minták vétele közvetlenül 20 ml mérőlombikba történik, melybe a reakciót megállító savat előzetesen pontosan bemérjük, 3. nincs külön vakpróba beállítva, hanem az inkubáció kezdetétől 1 perc múlva történik az első mintavétel, utána 4 percenként a többi, 4. az inkubációs elegy összetétele itt: 10 ml SÖRENSEN foszfát puffer, pH. 6,9 + 60 ml 0,01—0,008 n H₂O₂ oldat + 5 ml dest. vízben haemolysált defibrinált vér

1:2500 hígításban. Az aktiválási energia értéket $\mu = \ln Q \cdot R \frac{T_2 \cdot T_1}{T_2 - T_1}$ képletből

számítjuk. A $Q = \frac{k_2}{k_1}$ értéket (VAN'T HOFF hőkoefficiense) a jelen közleményben a gra-

fikus módszer alapján kiszámítva helyettesítettük a fenti képletbe. A grafikus módszerrel megvan a lehetőség, hogy az öt mintavétel egyikénél esetleg előforduló módszerbeli hibákat (pl. kissé több vagy kissé kevesebb ink. elegy leeresztése) a kiegyenlített görbével kiderítsük. (V. ö. ERDEY-GRÚZ, PROSZT, 1950 p. 28—33.)

Az elsőrendű reakciókra érvényes képlet alapján (mely LÜCK [1953] szerint nem felel meg teljesen a kataláz kinetikájának) számított sebességi állandókat behelyettesítve, mivel ezek szórása is nagyobb, az aktiválási energia képletbe általában magasabb értékekhez jutunk.

Mivel itt az egyes típusok összehasonlító vizsgálatán van a hangsúly, ez az általános kiértékelést nem befolyásolta, mert nem volt olyan irányú összefüggés, hogy az egyik vagy másik típusban a sebességi állandók fokozatos csökkenése az időben viszonylag erősebb lett volna.

1. táblázat

1.	2.	3.
Kísérlet	Aktiválási energia kcal	Megjegyzések
1.	2,17	48 napos 42 napos 50 napos 43 napos
2.	2,28	
3.	2,89	
4.	3,37	
M : 2,68		4. fiatal házinyulak 1953 nyarán
5.	3,62	4 éves (200 sz)* 1,5 éves (221 sz)* 1 éves (217 sz)* 1,5 éves (259 sz)*
6.	3,98	
7.	5,28	
8.	6,26	
M : 4,78		5. felnőtt házinyulak 1953 nyarán
9.	2,16	4 éves (204 sz) 2 éves (259 sz)* 3 éves (209 sz) 1,5 éves (217 sz)* 2,5 éves (211 sz) 2 éves (221 sz)* 4,5 éves (200 sz)* 2 éves (219 sz) 2,5 éves (222 sz) 3 éves (203 sz) 2,5 éves (210 sz)
10.	2,38	
11.	2,55	
12.	2,57	
13.	2,59	
14.	2,90	
15.	2,90	
16.	3,07	
17.	2,04	
18.	2,15	
19.	2,91	
M : 2,57		6. felnőtt házinyulak 1953—54 telén
20.	1,58	92 napos (263 sz) 90 napos (267 sz) 61 napos 89 napos (265 sz)
21.	2,37	
22.	2,44	
23.	2,51	
M : 2,23		7. fiatal hibridek 1953 nyarán
24.	2,47	1 éves (41 sz)* 1 éves (229 sz)* 1,5 éves (241 sz)* 1,5 éves (233 sz)*
25.	2,61	
26.	2,99	
27.	3,32	
M : 2,85		8. felnőtt hibridek 1953 nyarán
28.	1,35	3 éves (207 sz) 2 éves (233 sz)* 2 éves (241 sz)* 2 éves (39 sz) 1,5 éves (229 sz)* 1,5 éves (41 sz)* 3 éves (205 sz) 2 éves (38 sz) 1,5 éves (50 sz) 3 éves (216 sz) 2,5 éves (218 sz)
29.	1,95	
30.	2,10	
31.	2,36	
32.	2,42	
33.	2,53	
34.	2,63	
35.	1,79	
36.	1,97	
37.	2,11	
38.	2,45	
M : 2,15		9. felnőtt hibridek 1953—54 telén

1.	2.	3.
Kísérlet	Aktiválási energia kcal	Megjegyzések
39.	1,36	10. vad Kereki (Somogy)
40.	1,12	10. vad Ágasegyháza (Alföld)
41.	0,86	10. vad Ágasegyháza (Alföld)
42.	1,43	10. vad Kereki (Somogy)
43.	1,20	10. vad Ágasegyháza (Alföld)
44.	1,49	10. vad Ágasegyháza (Alföld)

M : 1,24

A vizsgálatokból kapott adatok

A vizsgálatok eredményeit az 1. sz. táblázat foglalja össze, ahol a csillaggal megjelölt kísérleti példányok mind a nyári, mind a téli vizsgálatokban szerepeinek.

A táblázat áttekintése után megállapítható, hogy a kapott értékek nagyságrendben megegyeznek az irodalmilag is közölt kisemlős (tengeri malac) adatokkal (BLAGOVESCESENSZKIJ, 1953). Az egyes csoportok között jellemző eltérések mutatkoznak a következőkben :

- a fiatal állatok aktiválási energiaértékei kisebbek ;
- a hibridek értékei kisebbek, mint a háziaké ;
- a frissen befogott vad üreginyulak aktív. energiaértékei az összes csoporttól eltérően kisebbek ;
- a téli kísérleti csoportok viszonylag kisebbek, mint a megfelelő nyáriak.

A fiatal állatok csökkent aktiválási energiaértékeiről már rendelkezünk irodalmi adatokkal is (BLAGOVESCESENSZKIJ, p. 155). Ez a munka megemlíti ezt a tengerimalacok izomproteolitikus fermentumai, tengeri malacok vérkataláza, patkányok katepszinje esetében. A tendencia a nyulak esetében is megvan mind a házi, mind a hibrideknél. Egészen fiatal vad üreginyulakat, amelyek tényleg adequat környezeti viszonyok között vannak, még nem sikerült megvizsgálni.

Az elsősorban felvetett kérdés az volt, hogy a hibridek valóban eltérnek-e a háziaktól az aktiválási energiaértékekben, annak ellenére, hogy a két csoport táplálkozása és tartási körülményei teljesen azonosak voltak. Ezek a vizsgálatok ezt megerősítik. A hibridek és háziak ilyen irányú statisztikai kiértékelése (t-statisztika ; PÄTAU, 1942, 1943) ugyanis a következőket eredményezte (2. sz. táblázat).

A három különböző kísérletben az egyirányú tendenciák a hibridek biztos eltéréseire mutatnak. ($\chi^2_6 = 18 \cdot 60$; $P = 0 \cdot 0050$)

A legalacsonyabb aktiválási energiaértékeket a vad üreginyulak csoportja mutatja. Ezek az állatok mind teljesen kifejlett példányok voltak és mivel a fogás tavasszal történt, magától értetődő, hogy legalább egyéveseknek kellett lenniük. Velük összehasonlítható csoportok a felnőtt háziak és felnőtt hibridek. Az állatok megvizsgálása a befogás után már másnap, vagy a megszszebbről hozottaknál 2–3 nappal később megtörtént. Egyetlen példány volt csak, amely az első vizsgálatnál, talán az utazás s befogás által megviselve,

2. táblázat

		1.	2.	3.				
		Exp.	Házi <i>y</i>	Hibrid <i>x</i>	$\bar{y} - \bar{x}$	t (m)	P	χ^2_2
4.	Fiatál nyáron	a	2,68	2,23	0,45	1,21 (6)	0,27	2,65
5.	Felnőtt nyáron	b	4,78	2,85	1,93	3,03 (6)	0,024	7,45
6.	Felnőtt télen	c	2,55	2,15	0,40	2,69 (20)	0,014	8,50

rendellenesen viselkedett (3,00 kcal), de ugyanez később kifutóban tartva, újra az üregi csoportra jellemző alacsony értéket mutatta. Az eltérések az üregi csoport és a hibrid és házi csoportok között biztosak, $P = 0,0002$ körüli tendenciával.

Azt, hogy az aktiválási energiaértékek télen valóban alacsonyabbak, igen valószínűvé teszi az a körülmény, hogy az azonos egyedek (egy kivételtől eltekintve, ahol az érték azonos maradt: 24. és 33. kísérlet) télen mind alacsonyabbak és a többi egyed is, amit még télen megvizsgáltam, hasonlóan viselkedett. Az irányzat mindkét csoportra akár tiszta házi, akár hibrid, megmutatkozik. A vizsgálatok abban az időben történtek (január–február), amikor hosszú ideig nagy hidegek voltak. A hőmérséklet Tihanyban e két hónapban éjjel átlag -10°C volt, sokszor -15° , -21° -ig lehűlt a levegő. A kísérleti anyag elhelyezése a szabadban van. Elhullás ebben az időben egyáltalán nem volt, így az állatok egy negyedév alatt a 20–30 fok hőkülönbséghez hozzászoktak.

Az eredmények kiértékelése

Az aktiválási energiaértékek biokémiai, de méginkább biológiai szempontból való kiértékelése ma még igen problematikus. A legnagyobb nehézséget az »in vivo« és »in vitro« viszonyok közti különbségek okozzák. Az aktiválási energiaértékek közti különbségek biológiai kiértékelésének egyéb objektív nehézségeit röviden összefoglalva NETTER (1950) munkájában találhatjuk meg. Ezek szerint arról nem lehet szó, hogy az »in vitro« vizsgálat a szervezetben valóban meglevő energetikai viszonyokról abszolút értékekben tájékoztatást adjon. Az eddigi vizsgálatok azonban olyan irányban már meggyőzőek, hogy a szövetek ferment apparátusa alkalmazkodni képes és itt nem szükséges idegi regulációt principálisan feltételezni, mert növények vagy élesztők is összehasonlítható viszonyokat mutatnak (NETTER). A fenti kísérletek, ha az adatokat csak mint viszonyszámokat tekintjük is, meglepő egyezést mutatnak néhány olyan megállapítással, amelyet BLAGOVESCESENSZKIJ a növények egyedi fejlődésével és alkalmazkodásával kapcsolatban tett. Az öregedéssel járó

aktiválási energiaemelkedés és a hidegtűréssel kapcsolatos aktiválási energia-csökkenés a legszembetűnőbb ilyen szempontból.

A hibridek viselkedése azonban új problémát vet fel. Ha elfogadjuk azt, hogy a vad üreginyúl erősebb igénybevétele miatt alacsonyabb aktiválási energián áll, azaz a külső hőmérséklet befolyása kisebb az itt vizsgált katalitikus folyamatára, a házi pedig ilyen szempontból gyengébb, akkor a hibridekben ez az alkalmazkodási bélyeg csak úgy jelentkezhett a háziaktól eltérően intermediérnek, ha ez az alkalmazkodási jelenség más környezetben is fennmarad, amikor a jobban alkalmazkodott típussal hibridizálunk. Ezt az alkalmazkodási jelenséget az örökletességtől nem választhatjuk szét. A pillanatnyi kataláztartalom viszont ezekben a kísérletekben is a hibridekben inkább alacsonyabb volt, mint a háziakban, ahogy azt előzőleg már megállapítottuk (FÁBIÁN—SZÉKY). A pillanatnyi kataláztartalom sokkal erősebben és függetlenebbül variál, mint az aktiválási energia *BLAGOVESCESENSZKI* botanikai kísérletei szerint is.

Lehetne még mint lehetséges magyarázatot az állatok testnagyság különbségeit is megemlíteni, mert a három testnagyságcsoport egymásután hasonló az aktiválási energia sorrendjéhez. Ennek azonban ellene szól az, hogy viszont a csoportokon belül, a testnagyság különbségei alapján nem lehetett összefüggést találni és a téli csökkenés beállása inkább alkalmazkodási jelenségre mutat.

Mind az előző közleményünkben tárgyalt kataláztartalom, mind a most közölt aktiválási energiaértékek a szervezet rendkívül változó, fuvallatszerűen átsuhanó és visszatérő jellegei. Hogy egyáltalán valami szabályszerűséget lehetett megállapítani, az a környezeti viszonyok és a várható anyagcseretípusok figyelembevétele mellett volt lehetséges. Ezek a jellegek, ismert okoknál fogva, mégis rendkívül fontosak az állat fennmaradása szempontjából.

További feladatoknak lehet tekinteni ugyanezen vizsgálatok folytatását, de más enzimmal, amely szintén jellemző a feltételezett anyagcseretípusokra. Továbbá meg kell vizsgálni, azonos anyagcseretípusok (házifajta — más házifajtával) közötti keresztezéskor beáll-e aktiválási energiacsökkenés, mint a magasabb vitalitás jele.

Összefoglalás

Vad üreginyúl, házinyúl és ezek hibridjeinél vérkataláz aktiválási energia-értékmeghatározások történtek.

A fiatal állatok aktiválási energiaértékei kisebbek, mint az idősebbekéi.

A hibrid állatok minden viszonylatban a megfelelő házi csoportnál kisebb értékeket mutatnak.

A frissen befogott vad üreginyulak az összes csoporttól eltérően kis aktiválási energiával rendelkeznek. Ezt a jelenséget jobb alkalmazkodásnak lehet tekinteni a vad életmódnak megfelelően.

Télen ugyanazon vizsgált egyedek aktiválási energiaértékei kisebbek, mint nyáron, ami szintén arra utal, hogy az aktiválási energiaértékcsökkenést alkalmazkodási folyamatnak tekinthetjük. A hibridek csökkent aktiválási energiaértékei, a házival azonos környezetben viszont arra mutatnak, hogy egy alkalmazkodási bélyeg bizonyos fokig öröklődhet.

IRODALOM

- BACH, I. (1931): A vér katalase tartalmának meghatározásáról. *Magyar Orvosi Archivum* 32, 242—248.
- BLAGOVESCHENSKIJ, A. V. (1953): A növények evolúciós folyamatának biokémiai alapjai. *Akadémiai Kiadó*. Budapest. 320.
- ERDEY-GRÚZ, T.—PROSZT, J. (1950): Fizikai-kémiai praktikum. *Tankönyvkiadó*. Budapest. 467.
- FÁBIÁN, GY.—SZÉKY, P. (1954): Examination of blood catalase in a hybridization experiment with rabbits. *Acta Biologica* 5, 119—130.
- LÜCK, H. (1953): Zur Reaktionskinetik der katalitischen H_2O_2 Spaltung. *Biochemische Zeitschrift*. 342, 351—363.
- NETTER, H. (1950): Biologische Physikochemie. *Akademische Verlagsgesellschaft Athenaion*, Potsdam. 325.
- PÁTAU, K. (1942): Eine neue α^2 -Tafel. *Zeitschrift f. Ind. Abstammungs und Vererbungslehre* 80, 558—564.
- PÁTAU, K. (1953): Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen (Eine neue t-Tafel). *Biologisches Zentralblatt* 63, 152—168.

ВЕЛИЧИНЫ ЭНЕРГИИ АКТИВИЗАЦИИ КРОВЯНОЙ КАТАЛАЗЫ
У ДИКИХ КРОЛИКОВ, У КРОЛИКОВ И ИХ ГИБРИДОВ F_1

Д-р. Фабиян

Резюме

Автор определил величины энергии активизации кровяной каталазы у диких кроликов, кроликов и их гибридов.

Величины энергии активизации молодых животных меньше величин старших животных.

Гибридные животные показывают во всех отношениях меньшие величины, чем соответствующая группа домашних животных.

Только что пойманные дикие кролики показывают, в отличие от всех остальных групп, малую энергию активизации. Это явление можно отнести к более подходящему приспособлению к дикому образу жизни.

Те же самые исследованные животные дают зимой меньших величин энергии активизации, чем летом. Это явление также указывает на то, что уменьшение энергии активизации можно рассматривать как процесс приспособления. С другой стороны, уменьшение величины энергии активизации у гибридов, при одинаковых с кроликами внешних условиях, указывает на то, что признак приспособления может передаваться, до известной степени, по наследству.

BLOOD CATALASE ACTIVATION ENERGY VALUES FOR WILD RABBITS
(*ORYCTOLAGUS CUNICULUS* L.), DOMESTICATED RABBITS
AND THEIR F_1 HYBRIDS

GYULA FÁBIÁN

Summary

In an earlier communication in connection with blood catalase in rabbits (FÁBIÁN—SZÉKY, 1954) we related that when determining reaction-velocity constants we also calculated in some cases, the activation energy values. The tendency towards which these values point is that in hybrids living under the same conditions as domesticated rabbits there appears to be a decreasing readiness in activation energy in respect to the catalase enzyme. So far we have found no literature wherein this question was taken up in connection with any enzyme, whether in vegetable or animal hybridization. For this reason I repeated the above-mentioned investigations during the winter of 1954, in large part on the same specimens, supplementing them with similar animal material

and still further experiments. Following the winter experiments, in April and May it was possible to examine newly caught wild rabbits. In these investigations I not only amplified the material but as far as possible also improved the methods employed earlier.

The results of the investigations are summarized in *Table I* where the stars indicate the specimens which figure in both summer and winter experiments. (Explanation of *Table I*: 1. Experiment. 2. Activation energy. 3. Remarks. 4. Young domesticated rabbits, summer 1953. 5. Adult domesticated rabbits, summer 1953. 6. Adult domesticated rabbits, winter 1953—54. 7. Young hybrids, summer 1953. 8. Adult hybrids, summer 1953. 9. Adult hybrids, winter 1953—54. 10. Adult wild rabbits, spring 1954.)

From a survey of the *Table* it can be seen that the values obtained agree in order of size with literary data given for small mammals (guinea pigs). (BLAGOVESHCHENSKY, 1953.) Significant divergences among the different groups are shown in the following:

- a) The activation energy values for young animals are lower.
- b) The values for the hybrids are lower than for the domesticated rabbits.
- c) The activation energy values for the newly caught wild rabbits were still lower than those of any of the other groups.
- d) The values were relatively lower for the winter experimental groups than for the same in summer.

We already have literary data (BLAGOVESHCHENSKY, p. 155) on the lower activation energy values in young animals. This work mentions it in the case of muscle proteolytic ferments and blood catalase in guinea pigs and of cathepsin in rats. The tendency also exists in rabbits, both in the domesticated ones and the hybrids. So far it has not been possible to examine very young wild rabbits living under truly adequate environmental conditions.

The question primarily raised was whether the hybrids really do differ from the domesticated rabbits in activation energy value, though the nutrition and maintenance conditions of the two groups were the same. That they do was confirmed by these investigations. The statistical evaluation (t-statistics, PATAU, 1942, 1953) for the hybrids and the domesticated rabbits in this respect resulted in the following. (See *Table II*.) (Explanation of *Table II*: 1. Experiment. 2. Domesticated. 3. Hybrid. 4. Young in summer. 5. Adult in summer. 6. Adult in winter.)

In the three different experiments there appears a unidirectional tendency towards distinct divergence in the hybrids.

The lowest activation energy values are shown by the group of wild rabbits. All these animals were fully adult specimens and as they were caught in the spring it is evident that they must be at least one year old. The adult domesticated and adult hybrids were groups similar to them. The wild animals were examined the day after capture or, at the latest 2 to 3 days later. The differences between them and the hybrid and domesticated groups are certain, with a tendency about $P = 0,0002$.

That the activation energy values were really lower in winter is rendered more probable by the circumstance that the same individuals (with one exception where the value remained the same: Experiments nos. 24 and 33) all had lower values in winter, and the other individuals which were investigated in winter behaved in the same way. The tendency appears in both groups, whether pure domesticated or hybrid. The investigation took place at a time (January—February) when there was a long cold spell. The night temperature at Tihany during those two months averaged -10°C and the air often cooled down to from -15 to -21°C . The experimental animals are kept out in the open. There was absolutely no mortality during this time, hence the animals adapted themselves to 20—30 degrees difference in temperature within a quarter of a year.

The biochemical and, still more, the biological assessment of activation energy values is today still highly problematical. The greatest difficulty is caused by the differences between the «in vivo» and «in vitro» conditions. Some of the objective difficulties in the biological evaluation of differences in activation energy values may be found summarized in the work of NETTER (1950). In his opinion there can be no question of the «in vitro» investigation providing information in absolute values on the energy conditions actually existing in the organism. The investigations so far made, however, are convincing inasmuch as they show the ferment system of the tissue to be capable of adaptation, and there is no need of assuming nervous regulation to be principally involved, for plants or yeasts also show comparable conditions (NETTER). The above experiments, even if the data are considered merely as comparative values, show a surprising uniformity with some findings made by BLAGOVESHCHENSKY in connection with the ontogenesis and adap-

tation of plants. The rise of activation energy which accompanies aging and the decrease in connection with endurance of cold are the most striking from this point of view.

The behaviour of the hybrids, however, raised new problems. If we admit that the wild rabbits, because of their more vigorous utilization have acquired lower activation energy (i. e. the external temperature had less effect on the catalytic process here investigated), the domesticated being weaker in this respect, then in the hybrids this adaptation could only have appeared as an intermediate, diverging from the domesticated, if the adaptation phenomenon is maintained when we hybridize with the better adapted types under domestic conditions. This adaptation characteristic cannot be separated from inheritability. The momentary catalase content, on the other hand, even in these experiments was lower in the hybrids than in the domesticated, as we had already pointed out (FÁBIÁN—SZÉKY). The momentary catalase content varies much more decidedly and independently than the activation energy, as BLAGOVESHCHENSKY also showed in his botanical experiments.

As a possible explanation the differences in the animals' body weights might also be mentioned; for the three body-size groups correspond in order of size to the activation energy groups. Against this is the argument, however, that no correlation can be found within the groups on the basis of differences in body size and the occurrence of the decrease in winter seems to be more of an adaptive character.

Both the catalase content discussed in our earlier paper and the activation energy values now dealt with are extraordinarily variable phenomena, flitting by and recurring in a whiff. To make possible the determination of any regularity at all, the environmental conditions and the metabolic types which could be expected had to be considered. These characteristics, however, are extremely important for the survival of the animal.

As further task it might be possible to undertake the same investigations but with other enzymes which are also characteristic of the metabolic types presumed. Furthermore it should be ascertained whether or not in crossings between the same metabolic types (domestic varieties with other domestic varieties) a decrease in activation energy occurs as sign of greater vitality.