

TOPOGRAPHICAL PECULIARITIES OF RABBIT ORGANISM'S "NUCLEUS" AND "CUTIS" ORGANS TEMPERATURE

R. A. HARUTUNIAN

It has been shown that the temperature set-point in anterior hypothalamus is lower than in posterior hypothalamus. Of peritoneum organs the temperature of the liver and kidneys is higher than that of the kidney. Correlating coefficient between the "cutis" organs and hypothalamic temperature is negative and higher ($r = -0,95$) than between the "nucleus" organs and peritoneum organs ($r = -0,75$).

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арутюнян Р. А. Журн. эксперим. и клинич. медицины, 18, 3, 24, 1978.
2. Арутюнян Р. А., Карапетян С. К. Биолог. ж. Армении, 32, 2, 95, 1979.
3. Бартон А., Эдхолд О. Человек в условиях холода, М., 1957.
4. Белянский Е. М. Автореф. канд. дисс., 25, Л., 1966.
5. Гехман Б. Н., Бебрэв Я. Н. Физиол. ж. СССР, 65, 11, 1678, 1970.
6. Дымникова Л. П. Автореф. канд. дисс., 26, Л., 1970.
7. Дымникова Л. П., Бахалина Н. М., Иванюк К. П. Физиол. ж. СССР, 54, 1365, 1968.
8. Иванюк К. П. Биоэнергетика и температурный гомеостазис, Л., 1972.
9. Лысенко В. Ф., Крицкова Л. Д. Сб. Физиол. механизмы адаптации крупного рогатого скота к термическому фактору, Краснодар, 1971.
10. Солдатенков Н. Н. Сб. Теплообразование в организме, Киев, 1964.
11. Graigie E. H. Res. Publ. Ass. nerv. a ment. Dis., 20, 510, 1940.
12. Goodall A. M., Jung S. H. J. Agric. Sci., 1, 44, 1954.
13. Ludwulgs W. Pflüg. Arch. ges. Physiol. Bd., 259, 35, 1954.
14. Motterman R. J. Physiol (London), 128, 263, 1955.
15. Sawyer C. K., Everett W. et al. J. of Comp. neurology, 101, 3, 301, 1954.

«Биолог. ж. Армения», т. XXXVII, № 4, 1984

ЗДК 576.85.5

МОРФОЛОГИЯ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ БАКТЕРИИ BACILLUS PORNILLIAE IN VITRO

С. Н. БАГДАСАРЯН, Э. К. АФРИКЯН

Изучались культуральные особенности и морфология свободных спор и вегетативных клеток типичной культуры--позбудителя молочных болезней японского жука бактерии *Bacillus porpiline*.

Электрооптическое исследование ультратонких срезов спорангия выявило сложную структуру спор со звездообразной конфигурацией многослойной оболочки. Параспоральное включение выявляется внутри спорангия и окружено общим со спорой плотным экзоспориумом. В процессе вегетативного роста на питательной среде СР-п отмечается массовое образование протомластов, характеризующихся высокой стабильностью.

Ключевые слова: бактерии *Bacillus popilliae*, электронная микроскопия, протопласты.

Бактерии *Bacillus popilliae*, вызывающие молочные болезни японского жука, представляют большой научно-практический интерес для создания новых инсектицидных препаратов в борьбе с особо вредоносными вредителями с/х культур [2, 3]. Однако до настоящего времени не выявлены условия выращивания этих бактерий на искусственных питательных средах, обеспечивающих спорообразование и продуцирование энтомоцидных токсинов. Рядом авторов были предложены питательные среды для культивирования вегетативных форм бактерий этого вида [16, 17], что позволило исследовать некоторые вопросы морфологии, физиологии, изменчивости культур *Bac. popilliae* и выявить ряд отличительных особенностей этих бактерий от других энтомопатогенных спорообразующих бактерий.

Нами предложена питательная среда, позволяющая эффективно выращивать культуры *Bac. popilliae* в лабораторных условиях [1]. В данной статье обобщены результаты изучения морфологии и физиологии культур *Bac. popilliae*.

Материал и методика. Объектом исследования служили 2 штамма *Bac. popilliae*, полученные из США (шт. Иллинойс—1883, 1884, 1885) и Франции (шт. Иллинойс—1886 и 1887). Культуры выращивались на разработанной нами среде (Ср-н следующего состава (%): гидролизат казеина панкреатический—1,5; K_2HPO_4 —0,784; дрожжевой экстракт—0,5; глюкоза—0,2, pH 7,4. Инкубация—при 30°.

Одновременно изучались морфологии спор из высушенных мазков гемолимфы личинок японского жука, пораженных молочной болезнью.

В работе применялись микроскопия с фазовым контрастом и электронная микроскопия ультратонких срезов. В последнем случае материал фиксировался по Ритер с соавт. [15] с применением 2,5%-ного глутаральдегида и 1%-ной осмиевой кислоты.

Обработка протопластов проводилась по принятой методике [7] и модификации Константиновой [4]. Протопласты фиксировались 2,5%-ным глутаральдегидом на ацетатно-пероксиловом буфере Келленбергер, содержащем 0,5 М сахаразы, 0,01 М $MgCl_2$, в течение 3—5 мин, а затем дополнительно фиксировались 0,1%-ным OsO_4 . Обезживление препаратов проводилось в спирте общепринятым способом. Заливку фиксированного материала проводили в аральдит. Срезы готовились на шведском микротоме LKB, помещались на сеточки с коллоидной пленкой и окрашивались по Рейнольдсу [14]. Препараты просматривались на чешском электронном микроскопе BS-611 при напряжении 80 В.

Результаты и обсуждение. По физиолого-биохимическим, культуральным признакам все изученные нами штаммы *Bac. popilliae* оказались близкородственными, характеризующимися следующими морфологическими особенностями: на агаризованной среде они образуют мелкие колонии (1—2 мм в диаметре), в агар не врастают, бесцветные, со временем слабо буреющие. На этой же среде с добавлением яичного желтка культуры *Bac. popilliae* образуют сравнительно крупные колонии с волнистыми краями (в диаметре 3—4 мм); по мере инкубации в центре колонии замечается побурение. На этой же жидкой среде культуры не образуют пленки, вызывают помутнение среды и образование хлопьевидного осадка.

Морфологию клеток и спор бактерий рассматриваемого вида изучали немногие авторы, ввиду трудности их культивирования на ис-

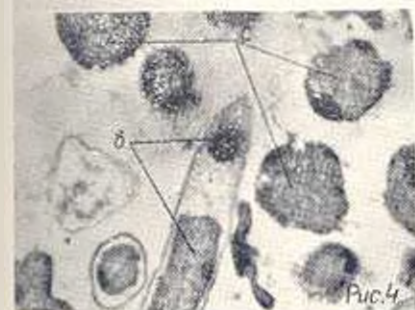
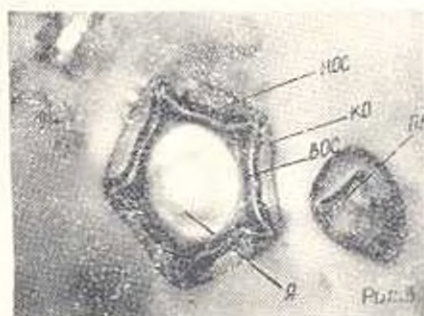
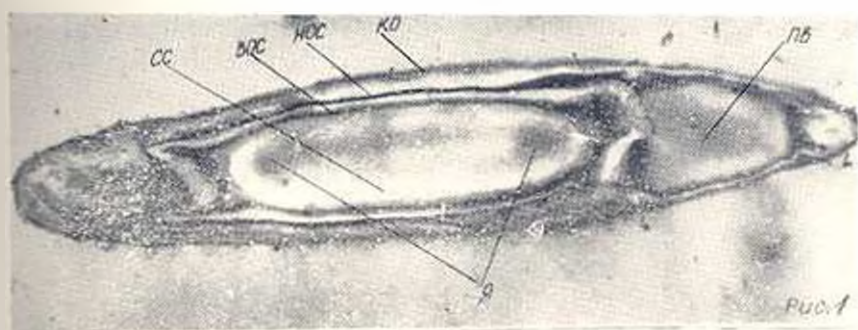


Таблица 1. Продольный ультратонкий срез споры с параспоральным включением *Baccharis*. Препарат мазка гемолимфы личинки японского жука: ПВ — параспоральное включение, ВОС — внутренняя оболочка споры, СС — серповидная споры, Я — ядерное вещество. Увел. $\times 58400$ (ориг.). 2. Электрооптическая микрофотография среза споры. Увел. $\times 74700$ (ориг.). 3. Электроннооптическая микрофотография поперечного среза споры *Baccharis* мазка гемолимфы (обозначения те же, что на рис. 1). Справа — срез части спорангия с параспоральным включением. Увел. $\times 52560$ (ориг.). 4 и 5. Протопласты (С) клеток 18-часовой культуры *Baccharis* (ультратонкий срез). Видны включения (В) — тела Костилоу у пелимировавшихся клеток. Увел. $\times 26280$ (ориг.).

куственных питательных средах. Обстоятельно этот вопрос на энтомопатогенном материале был изучен Блэком с соавт. [5, 6].

На основании изучения имеющихся в нашем распоряжении 5 штаммов *Bac. popilliae* в препаратах из гемолимфы насекомых и в процессе вегетативного развития на среде Ср-п мы пришли к заключению, что вегетативные клетки при обычной микроскопии и в электроннооптических микрофотографиях ультратонких срезов имеют структуру, родственную структуре клеток известных бактериальных форм, в особенности аэробных спорообразующих бактерий. В молодых жизнеспособных клетках можно отметить лишь сравнительно высокую оптическую плотность цитоплазмы и более выраженную оболочку клетки.

Морфология вегетативных клеток резко различна при наблюдении их *in vivo* и *in vitro*, особенно в старых культурах. В гемолимфе больших насекомых обнаруживается сравнительно однородная картина: одиночные, гомотетные клетки, слабоподвижные, величиной $0,9-1,1 \times 4,6$ мк. При развитии в гемолимфе на 10—15-е сутки начинается споруляция, и образующаяся в середине клетки спора резко раздувает спорангий, который принимает форму веретена, одновременно на конце клетки образуется кристаллическое включение, преимущественно кубической формы.

Свободные споры имеют удлиненно-овальную форму величиной $1,6-2,3 \times 1,1-1,4$ мк. Как правило, в препаратах из гемолимфы личинок японского жука, пораженных молочной болезнью, каждая спора имеет прикрепленное к одному концу параспоральное кристаллоподобное тельце. Споры и параспоральное включение окружены довольно плотным экзоспориумом, что является типичным для всех спор *Bac. popilliae* и может явиться диагностическим критерием их дифференциации от спор других видов. Как известно, среди энтомопатогенных бацилл группы *Bac. huringiensis* описан вид *Bac. finitimus* (*Bac. fowleri*), также характеризующийся прикреплением образовавшегося параспорального включения к споре [9—11]. В ультратонких срезах отчетливо видны правильные очертания параспорального включения, выявляющие его кристаллоподобную структуру (рис. 1). Конфигурация оболочки спор не является гладкой (рис. 2), в поперечных срезах довольно четко выявляется ее нерегулярная звездчатая структура [3].

При вегетативном росте на лабораторных средах, по нашим наблюдениям, очень скоро, спустя 6—8 ч, отмечается развитие инволюционных полиморфных форм. Обнаруживается значительное количество раздутых, удлиненных и изогнутых форм с грубозернистым содержанием. При цитохимическом исследовании выявляются дегенеративные клетки и глубокие нарушения в структуре клеток, особенно нуклеотидов.

В препаратах, окрашенных методом Гимза-Романовского, отмечается скопление хроматинового вещества, обнаруживаются разрывы в оболочке, колбовидные утолщения и т. п.

При росте *Bac. popilliae* на лабораторных средах, особенно на среде Ср-п, во многих клетках отмечается образование оптически плотных телец, известных как тельца Костилоу [8]. В свое время эти образования были неправильно идентифицированы им как споры. По нашему мле-

цию, их можно трактовать как формы преспор, начальные этапы формирования спор, образование которых блокируется. Подобные включения не имеют характерных для спор оболочек и строения, их форма при большом увеличении — неправильная, размеры нерегулярные (рис. 4, 5). При окрашивании суданом черным нам удалось установить в этих клетках наличие жира, что подтверждает указание о высоком содержании в них поли- β -гидроксибутирата [13].

В процессе развития культур *Bac. popilliae* на лабораторных средах ряд авторов отмечали спонтанное образование протопластов [12, 18]. Какой-либо закономерной связи этого явления с определенными условиями выращивания или составом среды не было установлено.

Нами были исследованы также условия образования протопластов *Bac. popilliae* и проведено их электроннооптическое изучение (рис. 4, 5). Установлено, что образующиеся протопласты характеризуются высокой стабильностью в условиях обычных питательных сред без стабилизаторов и остаются жизнеспособными в течение продолжительного времени (1—2 недели). По-видимому, подобные протопласты не являются столь типичными для других форм бактерий, либо это указывает на сравнительно более высокую ригидность интоплазматической мембраны клеток *Bac. popilliae*.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 27.1 1984 г.

BACILLUS POPILLIAE ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՄԱՐՅՈՒՆԻԱՆ ԵՎ ՓՈՓՈԽԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆԸ IN VITRO ՊԱՅՄԱՆԱՆՈՒՄ

Ս. Ն. ԲԱԳԴԱՍԱՐԻԱՆ, Է. Կ. ԱՖՐԻԿԻԱՆ

Ուսումնասիրվել են ճապոնական բզեզի կաթնային հիվանդությունների հարուցիչների տիպիկ կուլտուրայի վեգետատիվ բջիջների և ազատ սպորների մորֆոլոգիան և կուլտուրայի առանձնահատկությունները:

Bac. popilliae-ի վեգետատիվ աճման ընթացքում որոշ սննդամիջավայրերի վրա նկատվում է պրոտոպլաստների մասսայական առաջացում, որոնք ընդհանրվում են բարձր կայունությամբ:

MORPHOLOGY AND VARIABILITY OF *BACILLUS* *POPILLIAE* IN VITRO

S. N. BAGDASARIAN, E. K. AFRIKIAN

Morphology of vegetative cells and spores, as well as cultural peculiarities of typical strains of *Bacillus popilliae* grown *in vitro* have been studied. A new nutritive medium and electron microscopy of ultra thin section of cells and spores have been used.

Mass production of protoplasts has been observed under some conditions of cultivation.

1. Автор. свид. СССР № 922139, Бюлл. изобрет. № 15, 1982.
2. Африкян Э. К. Успехи микробиологии, 10, 142, 1975.
3. Гилий В. В., Теплякова Г. В., Иванюк Г. М. Микроорганизмы, полезные для микробиохимии. Новосибирск, 1981.
4. Константинов И. Д. Автореф. канд. дисс., М., 1972.
5. Black S. H. J. Invertebr. Pathol., 12, 148—57, 1968.
6. Black S. H. ARREdondo M. I. Experientia, 22, 77—78, 1966.
7. Chosh B. I. S., Murray R. G. B. J. Bacteriol., 93, 1, 411—26, 1967.
8. Clstlow R. N., Sylvester Ch. J., Pepper R. E. Appl. Microbiol., 14, 161—69, 1966.
9. Fowler E. H., Harrison J. A. Bacteriol. Proc., 30, 1952.
10. Hanney C. L. J. Econom. Entomol., 9, 2, 285, 1961.
11. HEImpel A. M., Angus T. A. J. Insect Pathol., 2, 4, 311, 1960.
12. Luthy P. Untersuchungen an *Bacillus fribourgensis* Wille, Zentrabl. für Bakt. Parasitenk., Infektionskrankh. und Hyg., Bd. 122, 671—711, 1968.
13. Mitruka B. M., Costilow R. V., Black S. H., Pepper R. E. J. Bacteriol., 91, 759—65, 1967.
14. Reynolds E. S. J. Cell Biol., 17, 208—12, 1963.
15. Ryter A., Kettenberger E. Z. Naturforsch., 136, 597—605, 1958.
16. Steinkraus K. H., Tashiro H. Science, 121, 873—74, 1955.
17. Sylvester Ch. J. and Costilow R. N. J. Bacteriol., 87, 114—49, 1964.
18. Wyss Ch. Zentrabl. für Bacteriol. Parasitenk., Infektionskrankh. und Hyg. Abt. 11, 126, 461—92, 1971.

«Биолог. ж. Армении», г. XXXVII, № 4, 1981

УДК 577.112.382:579.253.4:579.222.3

БИОСИНТЕЗ АМИНОКИСЛОТ DL-4-АЗАЛЕЙЦИНУСТОЙЧИВЫМИ МУТАНТАМИ *SERRATIA MARCESCENS*

А. О. АРМАНДЖЯН, М. Г. ОГАНЕСЯН

Получено 100 нитрозогуанидининдуцированных DL-4-азалейцинустойчивых мутантов *Serratia marcescens*. Частота появления таких мутантов составляла 10^{-6} . Большинство аналогрезистентных мутантов синтезировало более 6 г/л L-валина. Приблизительно десятая часть мутантов синтезировала валин и лейцин одновременно, примерно в равных количествах. Полученные мутанты могут стать исходным материалом для селекции промышленных продуцентов L-валина и L-лейцина.

Ключевые слова: нитрозогуанидин, DL-4-азалейцин, аналогрезистентные мутанты, лейцин, валин.

Сложность и дороговизна химических методов синтеза оптически активных форм некоторых аминокислот диктуют необходимость разработки дешевых методов их биосинтеза с использованием активных штаммов-продуцентов. Наиболее эффективным способом селекции активных продуцентов является получение регуляторных мутантов с применением аналогов аминокислот [3, 6, 7].

В настоящей работе изучалась способность DL-4-азалейцинустойчивых мутантов *S. marcescens* (АЗЛ-Р) синтезировать аминокислоты с разветвленной цепью биосинтеза.