

Անջատված են և որոշված ջերմասեր սնկերի մինչև 10 տեսակ շտամներ, այդ թվում՝ 8 օբլիգատ շտամներ: Պարզված են տարբեր սննդային միջավայրերի վրա նրանց աճի բնութագրիչ աստիճանները, միջավայրի օպտիմալ ռեակցիան և ջերմաստիճանը: Բերված են անջատված շտամների նկարագրությունները:

## THERMOPHILIC FUNGI FROM ARMENIAN SOILS

Z. S. SAFARIAN

10 thermophilic fungi strains have been isolated and identified and 8 of them have been obligative thermophiles.

Characteristics of their growth on different nutrient media, their optimum of pH and temperature growth have been determined. The descriptions of these isolated strains have been presented.

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Билай Т. Н. Термостабильные ферменты грибов. Киев, 1979.
2. Кашнер Д. Н. Жизнь микробов в экстремальных условиях. М., 1980.
3. Кириленко Т. С. Атлас родов почвенных грибов. Киев, 1977.
4. Barron G. L. The Genera of Hyphomycetes from soil. Baltimore, 1968.
5. Brock T. D. Thermophilic microorganisms and Life at High Temperatures. London, 1978.
6. Cooney D. G., Emerson R. Thermophilic Fungi. Francisco—London, 1964.
7. Gould G. W. and Corry Janet E. L. ed. Microbial growth and survival in extremes of environment, Academic Press, London, New-York, 1980.
8. Mills I., Eggins H. O. Int. Biodeterior. Bull., 1, 36—44, 1974.

УДК 577.062:576.851.12.095

## АСПАРТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИИ

А. А. ЭЛНАՅԻՆ

Изучалась способность фототрофных бактерий превращать фумарат аммония в аспаргиновую кислоту. Все культуры исследуемых бактерий проявляли аспартазную активность, в наибольшей степени *Rhodospseudomonas palustris*. Установлено, что наличие в среде культивирования бактерий пептона (2—3%) и дрожжевого экстракта (0,1%) стимулирует аспартазную активность клеток. Интенсивное образование аспартазы отмечено в начале лог-фазы роста. Выявлено влияние pH и продолжительности инкубирования на каталитическую активность клеток.

*Ключевые слова:* бактерии фототрофные, аспартазная активность.

Многие представители различных систематических групп микроорганизмов, благодаря наличию у них фермента аспартазы, обладают

способностью превращать фумарат в L-аспарагиновую кислоту путем последовательного аминирования. Известно, что наиболее активные продуценты аспартазы встречаются среди бактерий *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Enterobacteriaceae*. Слабой активностью или ее отсутствием характеризуются плесневые грибы, дрожжи и актиномицеты [1, 2, 4—6, 8, 9]. В доступной нам литературе нет сведений об аспартазной активности фототрофных бактерий.

Целью настоящей работы являлось изучение аспартазной активности фототрофных бактерий, влияния условий культивирования на образование фермента в биомассе и ферментативного превращения фумарата в L-аспарагиновую кислоту.

**Материал и методика.** Объектом исследования являлись *Rhodospseudomonas capsulata*, шт. H10, Louis — ATCC 23782, 3754 DSM; *Rh. palustris*, шт. 1, 1c5, Ф—255; *Rh. sphaeroides*, шт. 1, SN 93, яп. 8259; *Rhodospirillum rubrum*, шт. 1; *Chromatium vinosum*, шт. 1; *Chlorobium limicola forma sp. thioculfatophilum*, шт. 1c и *Escherichia coli*, ATCC 11303 — продуцент аспартазы. Культуры *Rh. palustris*, Ф—255 *Rh. sphaeroides*, SN 93 и *E. coli* получены из коллекции Института микробиологии АН АрмССР, остальные — из кафедры микробиологии МГУ.

Серные бактерии выращивали на среде Ормеруда [7] с млягом натрия и дрожжевым экстрактом, серные — на среде Ларсена [3] и лептона в анаэробных условиях на свету при 30°. Промытые клетки инкубировали в реакционной смеси, содержащей 1 мл клеточной суспензии, 1 мл 1 М раствора фумарата аммония, 0,05%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  или  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ . Смесь инкубировали в стационарных условиях в течение 24 ч при 30°, pH 7,0. Количественное определение L-аспарагиновой кислоты в реакционной смеси проводили методом бумажной хроматографии. О ферментативной активности судили по выходу образовавшейся аспарагиновой кислоты, рассчитанной на 100 мг сухих клеток; оценка роста культур проводилась по оптической плотности (OD).

**Результаты и обсуждение.** Исследования показали, что большая часть фототрофных бактерий проявляла среднюю активность, серные зеленые и серные пурпурные — очень слабую, и лишь все штаммы *Rh. palustris* — высокую. Наши исследования проводились с самым активным штаммом этой культуры — Ф-255.

Известно, что для биосинтеза аспартазы у микроорганизмов существенное значение имеют источники питания, наличие в питательной среде биологически активных соединений, фаза роста, прединкубирование клеток и др. [2, 4, 13]

Из табл. 1 видно, что наилучший рост наблюдался при содержании в среде 1—2% лептона и 0,1% дрожжевого экстракта.

Повышению аспартазной активности способствовало добавление в среду 0,1% дрожжевого экстракта при всех испытываемых концентрациях лептона.

Оптимальным соотношением лептона и дрожжевого экстракта для накопления биомассы и фермента можно считать 2—3% лептона и 0,1% дрожжевого экстракта, в этом случае превращение фумарата в L-аспарагиновую кислоту составляло 84—86%.

Нами проверялась возможность образования L-аспарагиновой кислоты из фумарата в условиях ферментации, для этого культуру *Rh.*

Влияние разных концентраций пептона и дрожжевого экстракта на рост и аспартазную активность *Bh. palustris*, шт. Ф-255

| Концентрация пептона, %       | Без дрожжевого экстракта |                                | 0,1% дрожжевого экстракта |                                | 1,0% дрожжевого экстракта |                                |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------------------|---------------------------|--------------------------------|---------------------------|--------------------------------|
|                               | ОП                       | Выход аспарагиновой кислоты, % | ОП                        | Выход аспарагиновой кислоты, % | ОП                        | Выход аспарагиновой кислоты, % |
| 1,0                           | 0,49                     | 60,8                           | 0,58                      | 62,6                           | 0,22                      | 46,6                           |
| 2,0                           | 0,52                     | 80,0                           | 0,63                      | 84,8                           | 0,25                      | 41,8                           |
| 3,0                           | 0,36                     | 82,4                           | 0,61                      | 86,2                           | 0,23                      | 36,1                           |
| 4,0                           | 0,23                     | 47,0                           | 0,54                      | 85,0                           | 0,22                      | 30,2                           |
| Среда Ормеруда с $(NH)_2SO_4$ | —                        | —                              | 0,56                      | 58,3                           | 0,43                      | 52,9                           |

*palustris* выращивали на питательной среде с 3% фумарата. В надосадочной жидкости при наблюдении в течение трех суток аспарагиновой кислоты не обнаруживалось, а биомассы накапливалось в два раза больше. В данном случае фумарат аммония является хорошим источником углеродного питания и интенсивно ассимилировался фототрофными бактериями.

Изучалось также влияние предынкубирования бактериальных клеток в растворе одного процента фумарата на аспартазную активность. Оказалось, что двухчасовая инкубация благоприятно действует на активность фермента, однако клетки, предынкубированные с фумаратом, а также клетки, культивированные при наличии фумарата, в реакционной смеси наряду с аспарагиновой кислотой в значительном количестве образуют глутаминовую, что свидетельствует о сопряженном действии аспартазы и аспартилглутаматтрансминазы. Подобные наблюдения известны в литературе [7].

Толуолизация и ультразвуковая обработка клеток на дезинтеграторе не увеличили аспартазную активность фототрофных бактерий. Эти, как и другие грамотрицательные бактерии, благодаря повышенной проницаемости клеточных мембран, по-видимому, не нуждаются в особой обработке для полного проявления ферментативной активности. Это свойство клеток дает возможность обойтись без их дополнительной обработки.

Нами выявлено, что интенсивное образование аспартазы наблюдается в начале лог-фазы роста, а в процессе накопления биомассы активность ее резко снижается (рис. 1). Как известно к факторам, воздействующим на степень превращения фумарата в L-аспарагиновую кислоту, относятся также концентрация фумарата и клеток в реакционной смеси, pH, длительность периода превращения, наличие металлов-активаторов. Нами экспериментально были установлены оптимальное значение pH, продолжительность инкубирования и влияние металлов.

Известно также, что диапазон pH активности 6—9, однако оптимальное значение pH, в зависимости от индивидуальных особенностей ферментов, различно. Как видно из рис. 2, зона действия фермента в данном случае имеет тенденцию к сдвигу в щелочную сторону, макси-

малый же выход аспарагиновой кислоты обнаруживается при pH 8.5.

Продолжительность инкубирования для эффективного превращения fumarата в аспарагиновую кислоту в стационарных условиях составляла 24 ч (табл. 2). Дальнейшее инкубирование ощутимых ре-

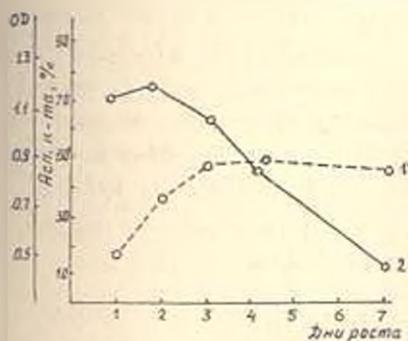


Рис. 1.

Рис. 1. Аспартазная активность *Rh. palustris*, шт. Ф-255 в зависимости от фазы роста.

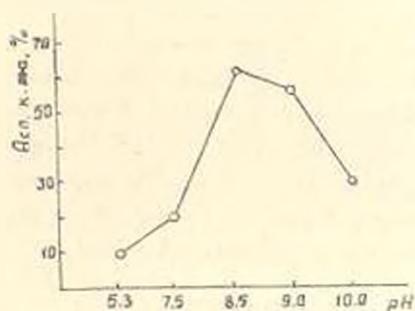


Рис. 2.

Рис. 2. Аспартазная активность *Rh. palustris*, шт. Ф-255, при разных значениях pH

зультатов не дало. Есть сведения, что в стационарных условиях продолжительности инкубирования активных продуцентов иногда достигает 48 ч [8].

По нашим предположениям, неполное превращение fumarата в аспарагиновую кислоту, даже при продолжительных сроках инкубирования (96 ч), обусловлено тем, что fumarат аммония является легкоусвояемым источником углерода для фототрофных бактерий, поэтому и происходит его частичное усвоение.

Таблица 2

Влияние длительности инкубирования на выход аспарагиновой кислоты *Rh. palustris*, шт. Ф-255

| Продолжительность, час | Выход аспарагиновой кислоты, % |
|------------------------|--------------------------------|
| 24                     | 78,6                           |
| 48                     | 79,0                           |
| 72                     | 80,0                           |
| 96                     | 80,2                           |

Не замечено существенного различия в действии на активность аспартазы ионов  $Mg^{2+}$  -  $Mn^{2+}$  (реакция активировалась одинаково).

Таким образом, несерные пурпурные бактерии впервые охарактеризованы нами как организмы, обладающие аспартазной активностью; среди них выявлены активные продуценты.

Ա. Ա. ԷԼԻԱԶՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է Փոստորոֆ բակտերիաների ամոնիումի ֆումարատը սասպրադիմաթիվի վերածելու հատկությունը: Ուսումնասիրված բակտերիաների բոլոր կուլտուրաները զույգաբերել են սասպարտազային ակտիվություն, ամենաբարձրը՝ *Rhodospseudomonas palustris*-ը: Բացահայտվել է, որ բակտերիաների կուլտիվացման միջավայրում պեկտոնի (2%—3%) և շաքարասրնկային կրատրակաի (0,1%) ներկայությունը խթանում է բջիջների սասպարտազային ակտիվությունը: Սասպարտազայի ինանների ստաջացումը նշվել է անձան լոգ-ֆազայի սկզբում: Պարզվել է pH-ի և ինկուբացման տևողության ազդեցությունը բջիջների կատալիտիկ ակտիվության վրա:

## ASPARTASE ACTIVITY OF PHOTOTROPHIC BACTERIA

A. A. ELIAZIAN

All the cultures investigated show aspartase activity, especially *Rhodospseudomonas palustris*. The influence of pH and the incubation time on the enzymatic activity of cells has been shown.

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ասկյան Յ. Գ., Բաղդասարյան Շ. Ս., *Биолог. ж. Армении*, 31, 9, 995, 1978.
2. Вестурыс З. А., Озолыш М. А., Кашис В. Э., Элстиня И. Т. В со.: Управление микробным синтезом, Рига, 1977.
3. Кондратьева Е. Н. Фотосинтезирующие бактерии, М., 1963.
4. Озолыш, Р. К. Прикл. биох. микробиол., 1, 707, 1965.
5. Рубин Е. Л. Биосинтез аминокислот микроорганизмами, М., 1968.
6. Яковлева В. И., Малофеева И. В., Зиева Н. Н., Андреева А. П., Губницкий Л. С., Щербакова В. Н., Березин И. В. Прикл. биох. микробиол., 15, 328, 1979.
7. Ormerod J. Arch. Bacteriol., 94, 449, 1961.
8. Pilschy J., Sikyla B. Folia microbiol., 22, 410, 1977.
9. Tosa G., Sato T., Mori T., Chibata J. Appl. microbiol., 27, 886, 1974.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVII, № 5, 1984

### КРАТКНЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.152.333 577.175.4

## ВЛИЯНИЕ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ НА АКТИВНОСТЬ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ КРЫС

Л. С. АРУТЮНЯН, А. В. АРУТЮНЯН, Г. Г. САРКИСЯН

Ключевые слова: гормоны тиреоидные, аргиназа печени.

Многочисленные литературные данные свидетельствуют о том, что аргиназа печени (AII) является индуцируемым ферментом. При стрессорных воздействиях различной природы (голодании, безбелковой диете, аллоксановом диабете, холоде и т. д.) установлен факт индукции AII [4]. Известно, что индукторами AII являются такие гормоны, как кортикостероиды, гормон роста, АКТГ, глюкагон и др. [4, 11, 13].