

գամ: Արածեցումը վատթարացնում է նաև բույսերի զենքրատիվ բազմացումը, որի հետևանքով փոխվում է համակեցության հասակային հարաբերակցությունը, որտեղ հիմնականում գերակշռում են ծեր անհասները:

QUANTITY AND AGE COMPOSITION OF ALPINE CARPET COMMUNITIES OF THE MOUNTAIN ARAGATS

A. N. ZIROYAN, S. A. BALOYAN

On the forbidden plot the amount of plants is 7920—8528 and on the grazing plot — 4400—5024 plants/s.m. As a result of intensive grazing the seed resumption gets worse and consequently decreases the amount of plants on a unit area, increases the number of old plants and the population, in general, becomes regressive.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ագաբաբյան Ս. Մ. Горные сенокосы и пастбища. 341, Մ., 1959
2. Ագաբաբյան Ս. Մ. Пробл. ботаники, 9, 212—218, 1967
3. Ագաբաբյան Ս. Մ., Վոլեյան Լ. Վ. Пробл. ботаники, 8, 273—281, 1966
4. Ասլանյան Ս. Դ. Изв. АН АрмССР, биол. и с.-х науки, 9, 12, 41—48, 1956
5. Магакелян А. К. Растительность Армянской ССР. 276, Մ.—Լ., 1941
6. Магакелян А. К. Тр. Ереванского зооветеринарного института, 8, 261—329, 1944
7. Ուրինյան Ս. Դ. Бот. журнал. 47, 5, 767—771, 1962
8. Ուրինյան Ս. Դ. Пробл. ботаники, 8, 231—245, 1966
9. Работнов Т. А. Пробл. ботаники, 1, 465—483, 1950
10. Միր-Багдасарյան Յ. Փ. Тр. Ин-та почвоведения и агрохимии, 2, 377—386, 1963
11. Միր-Багдасарյան Յ. Փ. Тр. Ин-та почвоведения и агрохимии, 4, 405—421, 1968
12. Միր-Багдасарյան Յ. Փ. Тр. Ин-та почвоведения и агрохимии (серия эрозия почв), 7, 109—159, 1973

«Биолог. ж. Армении», т. XXVII, № 6, 1964

УДК 579.222.3:579.253.44:577.112.382.6

БИОСИНТЕЗ L-ВАЛИНА АУКСОТРОФНЫМИ МУТАНТАМИ SERRATIA MARCESCENS A3.1-P28

А. О. АРМАНДЖЯН, М. Г. ОГАНЕСЯН

У DL-4-изолейцинопрезистентного мутанта *Serratia marcescens* A3.1-P28, продуцирующего аминокислоты L-валин и L-лейцин, под действием нитрозогуанидина были индуцированы различные мутации к ауксотрофности. Мутация к лейцин-зависимости приводит к снижению уровня биосинтеза валина, и наоборот, потребность в валине сопровождается утратой лейцинпродуцирующей активности. В то же время потребность в изолейцине приводила к более чем двухкратному увеличению уровня синтеза L-валина. В результате проделанной работы удалось отселекционировать активный продуцент L-валина.

Ключевые слова: DL-4-изолейцин, ауксотрофные мутанты, аналогорезистентные мутанты, валин, лейцин.

Микробиологический синтез свободных аминокислот (глутаминовой кислоты, лизина, валина, лейцина, пролина, орнитина и др.) в настоящее время представляет собой важную область микробиологической промышленности. Валин—одна из незаменимых аминокислот, входящая в состав почти всех белков. Этим обусловлена необходимость разработки промышленных методов ее получения, в том числе путем микробиологического синтеза [6, 7, 13].

В процессе роста и развития нормальных микробных клеток, как правило, не накапливается избытка метаболитов, в том числе и аминокислот. Благодаря гибким внутриклеточным механизмам регуляции синтез последних осуществляется координированно, лишь в количествах, необходимых для жизнеобеспечения микроорганизма. В противоположность нормальным, у мутантных штаммов микроорганизмов в результате генетических повреждений и обусловленных этим нарушений нормальных путей метаболизма синтезируется избыток аминокислот, который выделяется из клеток и накапливается в культуральной жидкости [1, 4, 10]. Ранее сообщалось, что регуляторные, аналогрезистентные мутанты *S. marcescens* накапливают в культуральной жидкости (КЖ) значительные количества валина и лейцина [2].

В настоящей работе изучалось влияние мутаций к ауксотрофности на способность регуляторных мутантов *S. marcescens* накапливать в культуральной жидкости L-валин и L-лейцин.

Материал и методика. Объектом исследования был штамм *S. marcescens* АЗЛ-Р28, синтезирующий одновременно значительные количества валина и лейцина. Штамм АЗЛ-Р28 получен как спонтанный, устойчивый к DL-4-азалаейцину мутант от дикого штамма *S. marcescens* ATCC 9986. Ауксотрофные мутанты получены обработкой N-метил-N'-нитро-N'-нитрозогланином в концентрации 100 мкг/мл, в питательном буфере (рН 5,5) в течение 30 минут. Отбор мутантов проводился по Федербергу [12]. Потребность в факторах роста определялась по Холдсону [9].

Способность к накоплению аминокислот определялась после ферментации в колбах Эрленмейера емкостью 250 мл в течение 72 ч при 30° на поступательных качалках (140 колебаний/мин) на модифицированной среде Кисуми [11] при объеме ферментационной жидкости 10 мл. Содержание аминокислот в КЖ определялось методом бумажной хроматографии в системе II-бутанол—вода—уксусная кислота (4:5:1). Проявителем служил ингибритин. Пятна элюировали в системе этанол—вода—хлористый калий. Количество аминокислот определялось колориметрически [5].

Питательными средами для выращивания бактерий служили мясо-пептонный бульон (МПБ), минимальная среда Девиса [8]. Основную минимальную среду (ОС) для идентификации ауксотрофных мутантов готовили на основе среды Деппел с добавлением необходимых факторов роста: DL-аминокислоты (40 мкг/мл), L-аминокислоты (20 мкг/мл), азотистые основания (5 мкг/мл), витамины (1 мкг/мл). Среда уплотнялась добавлением 1,2% агар-агара. В качестве ферментационной среды для определения аминокислоту продуцирующей активности мутантов служила среда Кисуми [11]. Значение pH всех сред 7,0—7,3.

Результаты и обсуждение. Дополнительная мутация к ауксотрофности нередко приводит к значительному повышению аминокислоту продуцирующей активности аналогрезистентных мутантов [3, 11]. С целью проверки влияния дополнительных мутаций к ауксотрофности на DL-4-азалаейцинустойчивый штамм *S. marcescens* АЗЛ-Р28 суспензия этой культуры в логарифмической фазе роста обрабатывалась нитрозогуанидином, и из ее рассева методом отпечатков выделялись мутанты.

В табл. 1 приведены частоты встречаемости этих мутантов в рассевах после обработки нитрозогуанидином.

Таблица 1

Частота встречаемости ауксотрофных мутантов при индуцированном нитрозогуанидином мутагенезе

Исходный штамм	Проверено бактериаль- ных клеток	Обнаружено ауксотрофов	Частота выхода ауксо- трофов на 10^{-4} клеток
АЗЛ-Р28 <i>S. marcescens</i>	7920	74	9,3

Таким способом было выделено и идентифицировано, по Холлидею, 40 ауксотрофных мутантов, классификация которых приведена в табл. 2.

Таблица 2

Классификация ауксотрофных мутантов штамма *S. marcescens* АЗЛ-Р28 по потребностям в факторах роста

Класс ауксотрофных мутантов	Количество мутантов	Число классов	Доля, %
Моноауксотрофы	17	9	42,5
Диауксотрофы	8	4	20,0
Полнауксотрофы	5	2	12,5
Неидентифицируемые	10	0	25,0
Всего	40	15	100,0

Число классов ауксотрофов определялось по количеству потребностей. Например, 17 моноауксотрофных мутантов нуждались для нормального роста в 9 различных соединениях. Из общего количества ауксотрофных мутантов отбирались те, которые нуждались в лейцине, изолейцине и валине.

Влияние ауксотрофных мутаций на биосинтетическую активность исходного штамма определялось в условиях колбочной ферментации. Усредненные результаты серийных ферментаций лейцин-, изолейцин- и валинзависимых мутантов по определению их способности накапливать в КЖ аминокислоты приведены в табл. 3.

Таблица 3

Влияние ауксотрофных мутаций на биосинтез L-валина и L-лейцина у штамма *S. marcescens* АЗЛ-Р28

Наименование культуры	Генотип	Накопление L-валина, %	Накопление L-лейцина, %
Исходный штамм АЗЛ-Р28	azi^R прототроф	100	100
Л-6	azi^R, leu^-	83	0
Л-10	azi^R, leu^-	56	0
Л-11	azi^R, leu^-	сл*	0
И-15	azi^R, ile^-	185	сл
И-19	azi^R, ile^-	212	сл
И-20	azi^R, ile^-	228	сл
В-114	azi^R, val^-	0	0

Сл*—следовые количества.

Было обнаружено, что потребность в лейцине приводит к снижению валинпродуцирующей активности исходной аналогрезистентной культуры АЗЛ-Р28. Ауксотрофность по изолейцину приводит практически к утрате лейцинпродуцирующей способности штамма АЗЛ-Р28 с одновременным двухкратным увеличением биосинтеза валина. Валинзависимый мутант утрачивает способность к биосинтезу валина и накоплению в КЖ лейцина.

Проведенная работа позволила отселекционировать продуценты L-валина, по уровню синтеза аминокислот более чем вдвое превосходящие исходную аналогрезистентную культуру *S. marcescens* АЗЛ-Р28.

Армянский филиал Всесоюзного научно-исследовательского института генетики и селекции промышленных микроорганизмов
(филиал ВНИИгенетики)

Поступило 15.II 1983 г.

L-ՎԱԼԻՆԻ ԿԵՆՍՍԵՍԻՆԹԵԶԸ *SERRATIA MARCESCENS* АЗЛ-Р 28-ի ԱՌԻՔՍՈՏՐՈՖ ՄՈՒՏԱՆՏՆԵՐԻ ՄՈՏ

Ա. Հ. ՀԱՐՄԱՆՅԱՆ, Մ. Գ. ՕԳԱՆԵՍՅԱՆ

L-վալին և L-լեյցին արտադրող *S. marcescens* АЗЛ-Р28 DL-4 ազալեյցինկայուն մուտանտի մոտ նիտրոզոգուանիդինի ազդեցությամբ մակաթվել են աուքսոտրոֆոթյան տարբեր մուտացիաներ: Լեյցինալին մուտացիան հանդեցում է վալինի կենսասինթեզի մակարդակի իջեցմանը և, ընդհակառակը, վալինալին մուտացիան ուղեկցվում է լեյցին արտադրելու ակտիվության կորստով: Միաժամանակ իզոլեյցինի նկատմամբ պահանջն առաջացնում է L-վալինի սինթեզման մակարդակի ավելի քան կրկնակի ավելացում: Կատարված աշխատանքի շնորհիվ հաջողվել է ստանալ L-վալինի ակտիվ պրոդուցենտ:

L-VALINE BIOSYNTHESIS BY *SERRATIA MARCESCENS* AZL-R28 AUXOTROPH MUTANTS

A. H. HARMANIAN, M. G. OGANESSIAN

Several auxotroph mutations have been induced in L-valine and L-leucine, producing DL-4-azaleucine-resistant *Serratia marcescens* AZL-R28 strain. After nitrosoguanidine treatment several auxotroph mutants have been isolated. Leucine auxotrophs decrease the level of valine biosynthesis, whereas valine-dependent mutants have no leucine producing activity. On the other hand, isoleucine auxotrophs have approximately 2fold higher level of L-valine biosynthetic activity. The active L-valine producing strain has been isolated.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арманджян А. О. Тез. докл. Юбилейная сессия, посвящ 60-летию установления Советской власти в Армении, 13, 1980
2. Арманджян А. О., Квачко Т. В., Оганесян Г. Г. Тез. докл VI съезда Всесоюз. микробиол. общ-ва, Рига, 4, 15, 1980

3. Степанов А. Н. Цитология и генетика, 1, 9, 365—371, 1975.
4. Зайцева З. М. В сб.: Успехи микробиологии, 11, 152—174. М., 1976.
5. Кара-Мурза С. Н., Тимохина Е. А., Жидинов Н. Н. Прикладная биохимия и микробиология, 17, 6, 813—819, 1981.
6. Патент Японии, 53 25034, 1978.
7. Chattopadhyay S. P., Banerjee A. K. Z. allg. microbiol. 18, 4, 243—254, 1978.
8. Davis B. D., Mingoll E. S. J. Bacteriol, 60, 17—18, 1950.
9. Holliday K. Nature, Lond., 1, 987, 1956.
10. Kishimi M., Komatsubara S., Chibata J. Amino Acid and Nucl. Acid., 20, 178, 1968.
11. Kishimi M. In: Genetics of Industrial microorganisms, Academia, Prague, 267—287, 1973.
12. Lederberg J., Lederberg Z. M. J. Bacteriol, 63, 399, 1952.
13. Takayasu T., Fumino J., Kubota K., Momose H. Amino Acid and Nucl. Acid., 32, 30—33, 1976.

«Биолог ж. Армения», т. XXXVII, № 6, 1984

УДК 613.63.546.77

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПО ОРГАНАМ МОЛИБДЕНА И НЕКОТОРЫЕ СТОРОНЫ ЕГО БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА КРЫС

А. А. ПЕТРОСЯН, Т. Г. КАРАПЕТЯН, Н. П. МАНУКЯН,
А. Г. ГАСПАРЯН, Л. О. ЧАЛКАДРЯН

Показано, что ингаляционный затравка крыс пылью молибдена в ранние сроки приводит к максимальному накоплению элемента в сердечной мышце, затем в почках и селезенке. С 10-х суток до конца затравок (1 месяца) максимальный уровень его обнаруживается в легких. Через месяц после прекращения затравок концентрация молибдена снижается во всех изученных органах, хотя и в этот срок в селезенке, легких и в сердечной мышце обнаружены высокие концентрации элемента. Это указывает на относительно прочную связь части молибдена с биоструктурами этих органов. Показано также достоверное снижение концентрации ДНК в печени и изменение молярного содержания азотистых оснований.

Ключевые слова: молибден, распределение по органам.

Вопросы, связанные с изучением распределения металлов по органам и тканям организма, механизмов связывания их с биоконпонентами клетки, степени их фиксации, а также изыскание средств, ускоряющих их выведение из организма, представляют определенный научно-практический интерес. Это в полной мере относится и к молибдену, о биологической активности которого при поступлении в организм в избыточных количествах имеются разные мнения [1, 2, 7, 8]. Ранее нами было изучено распределение и выведение молибдена при различных путях однократного поступления в организм разных видов животных. Однако, чтобы судить о депонировании элемента в том или ином органе, скорости выведения его, а также о прочности его фиксации в биосубстратах, необходимы данные о повторных и длительных поступлениях элемента в организм. В данном сообщении приводятся результаты изучения этих