

О СТИМУЛИРУЮЩЕМ ДЕЙСТВИИ ДВУХСПИРАЛЬНОЙ РНК НА СПОРООБРАЗОВАНИЕ *BACILLUS POPILLIAE*

С.Н. БАГДАСАРЯН

Республиканский центр депонирования микробов НАН и Министерства образования и науки Армении, 378510, г. Абовян

Bacillus popilliae - двухспиральная РНК - спорообразование бактерий

Изучению бактерий *Bacillus popilliae* (BP) и перспектив их использования в борьбе с японским жуком и другими особо опасными вредителями сельского хозяйства посвящены многочисленные исследования [5,6,9,]. В свое время эти энтомопатогенные бациллы интенсивно изучались с целью разработки условий и питательных сред для их культивирования и получения заспорованных препаратов [1,10-13]. Вегетативные клетки BP чрезвычайно чувствительны к неблагоприятным внешним воздействиям и не жизнеспособны, что является основным препятствием для выработки препаратов на основе этих культур.

В этой связи вопросам споруляции BP *in vitro* посвящены работы многих авторов. С использованием различных естественных субстратов, вытяжки из клеток BP, активированного угля и других добавок достигнута частичная споруляция культур. Но основная задача - разработка условий массовой споруляции на искусственных питательных средах - до настоящего времени осталась нерешенной.

Нами показана возможность стимулирования роста и спорообразования культур BP двухспиральной РНК (дсРНК), которая благодаря своим биологическим свойствам - интерферониндуцирующей и противовирусной активности, способности стимулировать процессы репарации и регенерации тканей, представляет значительный интерес для использования в различных биологических системах [4,7,8].

Материал и методика. Объектом исследований служил штамм BP ИНМИА-1883 из коллекции культур ИНМИА НАН Армении.

Для выращивания культуры использовали разработанную нами [1] питательную среду Ср-Па следующего состава (%): панкреатический гидролизат казеина - 1,5; K_2HPO_4 - 0,787; дрожжевой экстракт - 0,5; глюкоза - 0,2. Выделение дсРНК из BP проводили согласно описанной методике [2]. Питательную среду Ср-Па х 2 асептически разливали по 1 мл в стерильные пробирки, инокулировали 24-часовой культурой BP с конечным титром 50000 кл/мл среды и инкубировали в стационарных условиях при 30°. После 5-часовой инкубации в пробирки вносили дсРНК в конечных концентрациях 24 и 48 мкг/мл с добавлением Са и без него.

Учет роста и спорообразования производили спустя 24 ч инкубации при 30° измерением оптической плотности на ФЭКН-56 при длине волны светофильтра 560 нм с последующим определением титра клеток по стандартной кривой роста BP. Учет спорообразования проводили в динамике роста прямым микроскопированием живых препаратов методом фазового контраста.

Результаты и обсуждение. Как видно из данных, представленных в табл. 1, добавление 24 мкг/мл дсРНК в питательную среду Ср-Па увеличивает титр вегетативных клеток до 31,5 против 27 млн/мл в контрольном варианте К₁. Максимальный титр - 44 млн/мл клеток отмечается в варианте опыта с добавлением дсРНК в конечной концентрации 48 мкг/мл. Отмечена эффективность действия дсРНК в присутствии Са, что согласуется с данными других авторов о выраженной биологической активности дсРНК, используемой в виде кальциевого преципитата [3]. При наличии в среде дсРНК в концентрациях 24 и 48 мкг/мл титр клеток равнялся 29 и 42 млн/мл, а в присутствии Са - 31,5 и 44 млн/мл клеток соответственно.

Таблица 1. Влияние дсРНК на рост и спорообразование культуры *V.pophilae* шт. 1883

Варианты опыта	Титр клеток спустя 24ч, млн/мл	Микроскопия спустя 15 сут	
		споры, %	ТК**, %
Ср-Па+дсРНК 24 мкг/мл*	29,0	40-50	30-40
Ср-Па+дсРНК 24 мкг/мл+Са	31,5	45-55	30-40
Ср-Па+дсРНК 48 мкг/мл	42,0	50-55	40-45
Ср-Па+дсРНК 48 мкг/мл+Са	44,0	55-60	30-35
К ₁ - Ср-Па	27,0	10-15	15-20
К ₂ - Ср-Па+Са	23,0	10-15	20
К ₃ - Ср-Па x 2	24,0	5-10	10-20
К ₄ - Ср-Па x 2+Са	25,0	5-10	20

Примечание: * - конечные концентрации дсРНК; ТК** - тельца Костилоу (спорогенные включения)

При выращивании культур *BP* на среде Ср-Па достигается 10-15%-ная споруляция клеток и образование 15-20% телец Костилоу (ТК) - начальных этапов формирования спор, дальнейшее развитие которых блокировано. Вегетативные клетки укороченные, содержимое клеток грубо зернистое, обнаруживается множество лизированных и дегенеративных клеток. В вариантах опыта с добавлением дсРНК в концентрации 48 мкг/мл и в присутствии Са отмечена значительная стимуляция спорообразования - 55-60% спор и 30-35% ТК.

В результате проведенных исследований установлено, что дсРНК стимулирует рост и развитие культур *V.pophilae in vitro*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян З.Г., Багдасарян С.Н., Африкян Э.К. АС СССР N 922139, 1981.
2. Агабалян А.С., Захарян Р.С. и др. Журн. экспер. и клин. медицины, 6, 559-562, 1985.
3. Агабалян А.С., Захарян Р.С., Давтян О.Я. Биолог. журн. Армении, 49, 1-2, 26-29, 1996.
4. Агабалян А.С., Назаров Л.У. и др. ДАН Армении, 3, 173-178, 1993.
5. Алешина О.А. Журн. ВХО им Менделеева, 27, 6, 634-640, 1982.
6. Африкян Э.К. Успехи микробиологии, 10, 142-172, 1975.
7. Буката Л.А., Носик Н.Н. Изучение индуктора интерферона двухспи-

- ральной РНК в различных биологических системах. 7-17, Рига, 1989.
8. Ершов Ф.И., Носик Н.Н. Антибиотики, 6,444-448, 1979.
 9. Bulla L.A., Kennet G.A., Shotwell O.L. J. Bacteriol., 103, 3, 1246-1253, 1970.
 10. Dutky S.R. J. Insect. Pathol., 2, 75-115, 1963.
 11. Lüthy P. Zentrbl. für Bact., 122, 671-711, 1968.
 12. Sharp E.S. J. Biotechnol. Bioeng., 8, 247-258, 1966.
 13. Sylvester C.J., Costilow R.N. J. Bacteriol., 87, 114-119, 1964.

Поступила 10.XI.1998

Биолог. журн. Армении, 3 (51), 1998

УДК 581.9+581.553

О ВОЗОБНОВЛЕНИИ ВЫСОКОГОРНЫХ РАСТЕНИЙ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ПРОИЗРАСТАНИЯ НА г. АРАГАЦ

Р.К. СИМОНЯН

Институт ботаники НАН Армении, 375063, Ереван

Растения высокогорий - продуктивность - возобновление

Антропогенно-климатические факторы высокогорья оказывают существенное влияние на особенности развития и возобновление растений, что тесно связано с семенной продуктивностью и всхожестью семян. Это сказывается на составе и структуре, а также на ценопопуляции растений в фитоценозах.

Изучением этих вопросов в высокогорных сообществах занимались многие исследователи, которые возобновление растений рассматривали в основном на одной высотной отметке [1-5]. Между тем прослеживание этого явления на разных пунктах произрастания весьма важно для выявления оптимальных высот возобновления и устойчивости растений. Исходя из вышесказанного, нами изучались семенная продуктивность и возобновление некоторых растений, произрастающих на разных высотных поясах г. Арагац.

Материал и методика. Исследования проводили в период 1991-95 гг. Объектами исследования служили *Chamaescadium acaule* (Bieb. Boiss.), *Taraxacum stevenii* DC., *Campanula tridentata* Schreb., *Carex orbicularis* Boott, *Sibbaldia semiglabra* C.A. Mey., *Veronica gentianoides* Vahl, произрастающие на южном макросклоне г. Арагац на высотах 2500, 2700, 3000, 3200, 3500, 3700 м над ур.м.

Семенную продуктивность (среднее число семян на один генеративный побег или растение) изучали по методике Работнова [7]. Лабораторную всхожесть определяли путем высева 200-300 зрелых семян в чашки Петри на фильтровальной бумаге при температуре 18-20°. Наблюдения вели в течение 100-120 дней. При выделении возрастных групп ценопопуляций руководствовались в основном определениями Работнова [6] и принципом и методикой "Ценопопуляции растений" [9].

Результаты и обсуждение. Выявлено, что семенная продуктивность изучаемых видов значительно варьирует в связи с высотой местообитания (табл. 1), причем наиболее благоприятной является высота 3000-3500 м над