

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
Հ Ա Ն Դ Ե Ս

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
Ж У Р Н А Л
АРМЕНИИ

Издаётся с 1916 года
Айастані кенсабианакан андес

Խմբագրական կոլեկիա՝ Ս. Մ. Ավագյան, Վ. Ե. Ավետիսյան, Է. Գ. Աֆրիկյան (ղլխավոր խմբագիր), Հ. Կ. Բակլավաջյան, Հ. Կ. Բատիկյան, Ա. Շ. Գալստյան (ղլխ. խմբագրի տեղակալ), Ժ. Ի. Հակոբյան, Վ. Հ. Ղաղարյան, Կ. Ս. Մարջանյան (պատ. քարտուղար), Ս. Հ. Մովսիսյան:

Խմբագրական խորհուրդ՝ Ն. Ն. Ակրամովսկի, Վ. Շ. Աղաբաբյան, Հ. Ս. Ավետյան, Է. Գ. Աֆրիկյան (խորհրդի նախագահ), Գ. Ն. Բաբայան, Ս. Ա. Բակունց, Գ. Ս. Դավթյան, Ա. Լ. Թախտաջյան, Պ. Ա. Խուրշուդյան, Ս. Կ. Կարապետյան, Ս. Հ. Հասրաթյան, Մ. Գ. Հովհաննիսյան, Լ. Լ. Հովսեփյան, Լ. Ս. Ղամբարյան, Ա. Ա. Մաթևոսյան, Մ. Խ. Չալախյան, Ս. Հ. Պողոսյան, Մ. Ե. Տեր-Մինասյան:

ԽՍՀՄԳՐՈՒԹՅԱՆ ՀԱՍՑԵՆ՝

Երևան—19, Բարեկամության, 24դ, հեռ. 58-01-97

Редакционная коллегия: Ц. М. Авакян, В. Е. Аветисян, Ж. И. Акопян, Э. К. Африкян (главный редактор), О. Г. Баклаваджян, Г. Г. Батикян, А. Ш. Галстян (зам. главного редактора), В. О. Казарян, К. С. Марджанян (ответ. секретарь), С. О. Мовсесян.

Редакционный совет: А. С. Аветян, В. Ш. Агабабян, Н. Н. Акрамовский, Э. А. Асратян, Э. К. Африкян (пред. совета), Д. Н. Бабаян, С. А. Бакунц, Г. С. Давтян, Л. С. Гамбарян, С. К. Карапетян, А. А. Матевосян, М. Г. Оганесян, Л. Л. Осибян, С. А. Погосян, А. Л. Тахтаджян, М. Е. Тер-Минасян, П. А. Хуршудян, М. Х. Чайлахян.

© Издательство АН Армянской ССР, 1979 г.

АДРЕС РЕДАКЦИИ: 375019, Ереван-19, Барекамутян 24г, тел. 58-01-97.

ПРОБЛЕМЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Э. К. АФРИКЯН

Обобщены литературные и собственные данные в области разработки микробиологических средств борьбы с вредоносными насекомыми, грызунами, а также применения антибиотиков и микробов-антагонистов в растениеводстве. Рассматриваются перспективы актуальных научных исследований в этих областях.

Проблема получения микробиологических средств защиты сельскохозяйственных растений охватывает разработку широкого круга вопросов по изучению и применению микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности для борьбы с фитопатогенными микробами, сорняками, вредоносными насекомыми и грызунами. Микробиология достигла немалых успехов в отмеченных областях, в нашей и ряде других стран налажено промышленное производство различных микробных препаратов для борьбы с вредителями сельскохозяйственных растений.

Советские ученые имеют большие заслуги в разработке многих разделов проблемы микробиологических средств защиты растений. Принципы использования антибиотиков и микробов-антагонистов были разработаны Н. А. Красильниковым [12, 13], а наша страна явилась пионером во многих областях этой науки. Успехи советских ученых объясняются прежде всего тем, что явление микробного антагонизма, вся проблема антибиотиков и возможности практического их применения изучались в общепаразитическом разрезе, в тесной связи с исследованием в целом природы взаимоотношений микроорганизмов с высшими растениями.

В рассматриваемой области наметились два основных направления работ. Одно из них, развивающееся со времени зарождения почвенной микробиологии, посвящено изучению и использованию микробов-антагонистов и явления микробного антагонизма. Другое, сравнительно новое направление, относится к области использования антибиотиков.

В табл. 1 схематически представлены основные области применения антибиотиков в растениеводстве. Необходимо подчеркнуть, что при изыскании антибиотиков для использования в растениеводстве, наряду с изучением противомикробного действия, особое внимание уделяется выявлению характера их влияния на рост и развитие растений. В ряде случаев перспективными являются именно те препараты,

которые проявляют выраженное стимулирующее действие. С другой стороны, многие активные против различных фитопатогенов антибиотики обладают фитотоксическим действием, ограничивающим их применение в растениеводстве.

Одной из слабо изученных областей использования антибиотиков в растениеводстве является их применение в качестве мутагенных агентов. Известно, что они широко и успешно используются в этих целях в микробиологии, и имеются определенные предпосылки для перспективности подобных исследований в растениеводстве.

Т а б л и ц а 1

Применение антибиотиков в растениеводстве

Изыскание эффективных антибиотиков

а. по антимикробному спектру,

б. по стимуляции роста и повышению продуктивности растений.

Предпосевная обработка
антибиотиками семян

Обработка антибиотиками
растений в процессе веге-
тации

Использование антибиоти-
ков в селекционно-генети-
ческих целях

В борьбе с болезнями растений применяются антибиотики различного происхождения, состава и спектра действия [4, 21, 23]. Как правило, предпочтение оказывается антибиотикам, не применяемым в медицине. В нашей стране впервые использованы антибиотики растительного происхождения—аренария и иманин (В).

Применение антибиотиков для обработки семян является наиболее экономичным и эффективным способом борьбы с внутренней, передающейся с семенами инфекцией. Так, еще в ранних работах было показано, что обработка семян хлопчатника в растворах ряда антибиотиков позволяет практически ликвидировать развитие гоммоза [14].

Антибиотики не снижают всхожести семян; в отличие от химических фунгицидов они проникают в ткани семян и не повреждают зародыш. Важно отметить, что после кратковременного погружения семян в раствор антибиотика последний проникает в их ткани, сохраняясь в них в течение длительного времени. В наших опытах было показано, что в зародыше и оболочке семян овощных культур многие антибиотики сохраняют свою активность в течение 1—2-х и более лет, не оказывая неблагоприятного влияния на их всхожесть [4, 5]. В этой связи надо полагать, что антибиотики могут найти практическое применение для предотвращения поражаемости фитопатогенами семян при их хранении. Данная область представляет большой практический интерес, но, к сожалению, она пока слабо изучена.

В настоящее время в нашей и ряде других стран организовано производство специальных антибиотиков для растениеводства. Накоплен большой материал об успешном использовании ряда отечественных антибиотиков (фитобактериомицин, трихотецин, полиномицин, гризеофульвин и др.) в борьбе со многими грибными, бактериальными, а в некоторых случаях, и вирусными болезнями растений. Особенно большой

размах получило производство и применение антибиотиков в растениеводстве в Японии, где они выпускаются ежегодно на десятки млн. долларов. Использование касугамецина и бластицидина против пирикулярноза риса, полиоксина против фузариоза риса является в этой стране пока единственным эффективным средством борьбы с этими опасными болезнями растений.

Широко используются антибиотики для предупреждения и лечения растений, причем большинство их оказывает стимулирующее действие на развитие растений и их урожайность. Перспективно применение антибиотиков в виде обработки рассады овощных и технических культур при пикировке и переносе рассады в грунт. В наших опытах было показано, что подобная обработка является эффективным способом для повышения урожайности овощных культур, в частности увеличения содержания сухих веществ в плодах томата [5]. Важной, к сожалению, очень слабо изученной областью применения антибиотиков в растениеводстве является использование их для длительного сохранения плодов и овощей. В свое время было показано, что увлажнение раствором некоторых антибиотиков плодов нитрусовых предотвращает развитие у них бактериального некроза [15]. Перспективы использования антибиотиков для борьбы с инфекционными поражениями и порчей плодов и овощей сулят большие экономические выгоды, и на эту область работ необходимо обратить особое внимание.

Важнейшей задачей микробиологов в предстоящие годы является получение новых эффективных антибиотиков, специально предназначенных для использования в растениеводстве, причем особое внимание должно быть уделено организации производства дешевых препаратов, обладающих, наряду с противомикробным действием, и стимулирующим влиянием на рост и развитие растений. Вопросы стоимости антибиотиков, применяемых в растениеводстве, являются одним из главных факторов их конкурентоспособности с химическими веществами, и этот вопрос заслуживает первостепенного внимания. Широкое внедрение в сельское хозяйство Японии антибиотиков в борьбе с болезнями растений, нередко применяемых с полевой водой, объясняется прежде всего дешевизной препаратов. Целесообразно вести направленный поиск антибиотиков, предназначенных для обработки семян, рассады и растений, а также для хранения плодов и овощей. При этом необходимо иметь в виду необходимость рекомендации для целей консервирования и предотвращения порчи продуктов антибиотиков, обладающих непродолжительной стабильностью или разрушающихся при высокой температуре. Предстоит выполнить большой объем исследований по токсикологии рекомендуемых для использования в растениеводстве антибиотиков и продуктов их распада.

Следует подчеркнуть, что успехи в области использования антибиотиков в медицине в значительной мере затмили их применение в других областях, в частности в сельском хозяйстве. В известной мере подобное положение продолжается и в настоящее время, что никоим образом не

может быть оправдано, поскольку практическое применение антибиотиков в немедицинских целях имеет большие перспективы. Нет сомнения, что среди огромного числа выделенных и изученных антибиотиков можно выбрать препараты, которые могут оказаться эффективными средствами для борьбы с фитопатогенными микроорганизмами или в качестве ростовых веществ. Немало известных антибиотиков, не используемых в медицине, могут найти практическое применение как гербициды, инсектициды, а в ряде случаев и в качестве биоцидов—для предотвращения микробных обрастаний и повреждений материалов.

Все изложенное говорит о необходимости организации широкого комплекса исследовательских работ по изучению и применению антибиотиков в немедицинских целях. Учреждения, занимающиеся изысканием новых антибиотиков для медицины, должны представлять непригодные для терапевтического применения препараты специалистам сельского хозяйства для дальнейшего изучения их в качестве микробиологических средств защиты растений.

Изучение и применение явления микробного антагонизма имеет огромное значение не только для растениеводства, но и ряда других областей науки—эпидемиологии, физиологии питания и иммунитета растений и т. д. Установление закономерностей регулирования численности микробов-антагонистов в почве лежит в основе процессов оздоровления и самоочищения почвы от фитопатогенных и других нежелательных форм микроорганизмов. Уже в 30-х годах в нашей стране проводились широкие и успешные испытания метода предпосевной бактеризации семян различными культурами бактерий-антагонистов для борьбы с фузариозом пшеницы [22] и льна [9]. В последующем многие советские ученые показали высокую эффективность различных агротехнических и других методов, ведущих к накоплению антагонистов в почве, для борьбы со многими фитопатогенными микроорганизмами [17].

Особенно важным в данной области, на наш взгляд, явились проведенные в Средней Азии работы по борьбе с вертициллезным вилтом хлопчатника [23]. Наряду с искусственным внесением в почву микробов-антагонистов, культивирование некоторых растений, как, например, люцерны приводит к избирательному накоплению антагонистов к вертициллезу и резкому снижению пораженности им хлопчатника. В этой связи использование сидератов как удобрений, оздоравливающих почву, становится эффективным средством в борьбе с некоторыми фитопатогенными микроорганизмами.

Помимо бактеризации семян, микробы-антагонисты могут вноситься в почву непосредственно в форме различных землеудобрительных препаратов и компонентов. В этом плане открываются широкие возможности обогащения почвы полезной микрофлорой и органоминеральными удобрениями.

Не вызывает сомнений, что благотворное действие микробов-антагонистов не может определяться лишь их противомикробным эффектом по отношению к фитопатогенам. Как правило, при этом отмеча-

ется и прямое стимулирующее действие микробов-антагонистов на рост и развитие растений. С другой стороны, становится все более очевидным, что в механизме действия ряда земледобрильных бактериальных препаратов большую роль играет их антагонистическое влияние на фитопатогенные микроорганизмы. В этом отношении исключительно важным как в научном, так и в практическом отношении явились работы Мишустина с сотрудниками [16], установивших выраженное антагонистическое действие азотобактера на фитопатогенные грибы. Перед микробиологами встает заманчивая перспектива создания комплексных земледобрильных микробных препаратов, содержащих азотфиксирующие бактерии и микробы-антагонисты.

Известна выдающаяся роль советских микробиологов в разработке наиболее актуальных разделов проблемы взаимодействия микроорганизмов и высших растений, в создании и развитии учения о ризосфере растений и закономерностей экологии почвенных микроорганизмов. Исследования в этих направлениях, к сожалению, проводятся в недостаточном объеме и требуют всемерного усиления. Микробиологам предстоит выяснить специфику избирательного влияния растений и других агротехнических условий на развитие разнообразных форм микроорганизмов с целью регулирования динамикой полезных нам видов, в том числе антагонистов, обеспечивающих оздоровление почв от фитопатогенов. Многие из упомянутых выше вопросов в свое время были рассмотрены на Первой Всесоюзной конференции по изучению и применению антибиотиков в растениеводстве, состоявшейся в Ереване в 1953 году [21]. В резолюции этой конференции были приняты развернутые и достаточно конкретные решения по обеспечению всемерного развития в нашей стране исследований в области широкого применения антибиотиков, микробных метаболитов и микробов-антагонистов в растениеводстве и быстрого внедрения полученных результатов в сельское хозяйство.

Важной областью микробиологической защиты растений является борьба с грызунами. Используемые в настоящее время ядохимикаты, как фосфид цинка, мышьяковистые и другие соединения, представляют большую опасность как источник возможных отравлений человека и животных.

В настоящее время в нашей и ряде других стран широко применяется микробиологический метод борьбы с грызунами [11, 20], основанный на искусственном заражении через пищевую приманку болезнетворными бактериями тифа грызунов, вызывающими среди них эпизоотию. Из всех микроорганизмов в практике дератизации наиболее широкое применение получили бактерии тифа грызунов, относящихся к группе *Salmonella enteritidis* var. *issatchenko* и var. *prochorovi* № 5170— в СССР и бактерии Данича во Франции. Эти бактерии, по сравнению с другими, обладают более широким, хотя и избирательным, спектром патогенного действия к различным грызунам.

Самым восприимчивым к бактериям тифа среди грызунов оказа-

лись мыши, полевки, хомячки, невосприимчивыми — полевая и желтогорлая мыши, дагестанский и закавказский хомяки. В настоящее время у нас прошли государственные испытания две формы препарата бактороденцида — зерновая и амниокостная. Зерновой бактороденцид производится на зерне злаковых и применяется без приманочных продуктов. Амниокостный препарат готовится методом глубинного выращивания бактерий на жидких средах с последующей сепарацией и смешиванием с костными опилками, после чего к нему перед применением добавляется приманочный продукт (дёрть, распаренное зерно или крупа, хлебная крошка и др.).

Зерновой бактороденцид, являющийся наиболее распространенным и эффективным в технико-экономическом отношении препаратом, вырабатывается путем паразитирования бактерий тифа грызунов на зерне, причем существующая технология является весьма трудоемкой и сложной. Весь процесс длится 3-е суток и включает ряд водо-, энерго- и тепловых операций, практически исключающих возможности упрощения технологии и снижения себестоимости продукции.

В результате проведенных в нашем институте совместно с сотрудниками Института защиты растений МСХ АрмССР и Абовянским заводом биохимпрепаратов работ была значительно усовершенствована технология производства зернового бактороденцида [7]. В целях интенсификации процессов замочки и пелетирования зерна стадия подрастворивания бактерий на зерне заменена методом заражения с применением вакуум-перепада в определенном режиме обработки зернового материала суспензией культуры бактерий тифа грызунов. Кратковременность подобного процесса заражения зерна позволяет использовать для его стерилизации сухой жар, а в дальнейшем обеспечить сушку готовой продукции в более сжатые сроки. С учетом продолжительности отдельных стадий усовершенствованной технологии на базе Абовянского завода биохимпрепаратов был осуществлен монтаж оборудования, обеспечивающего непрерывность производственного цикла. Сравнительная характеристика продолжительности разработанного способа с существующим представлена в табл. 2.

По новой технологической схеме в 1975 г. было выработано около 50 т опытной партии зернового бактороденцида и установлена его эффективность в полевых условиях Апаранского района Армении.

Организация широкого промышленного производства бактороденцида и его внедрение в практику сельского хозяйства затрудняются по ряду причин. В первую очередь, это определяется фаголизмом, в ряде случаев срывающем производство. Важным является создание стабильных форм препарата, сохраняющих свою вирулентность в течение продолжительного времени. В этом отношении перспективны исследования по разработке инкапсулированных форм зернового бактороденцида, обладающих по сравнению с существующими более длительной вирулентностью. Следует отметить, что инкапсулированные препараты зернового бактороденцида имеют и то преимущество, что они позволяют

препятствовать диссеминации бактерий, которые будучи представителями рода салмонелл не могут считаться абсолютно безопасными для окружающей среды. В этой связи необходимо в ближайшее время согласовать и решить санитарно-эпидемиологические вопросы производства и применения препаратов бактороденцида.

Успехи микробиологии послужили основой создания новой отрасли промышленности по выработке микробных инсектицидов, применение которых является важным звеном в системе биологической и интегрированной борьбы с вредителями растений. По темпам развития и технико-экономической эффективности производство микробных инсектицидов является одной из важных и перспективных отраслей микробиологической промышленности.

Т а б л и ц а 2

Сравнительная характеристика основных циклов производства
зернового бактороденцида

Цикл производства	Продолжительность цикла, час.	
	по существующей технологии	по усовершенствованной технологии
Подготовка посевного материала	18	18
Рабочая ферментация	18	18
Всего на ферментацию	36	36
Промывка и замачивание зерна	18	—
Стерилизация и сушка зерна	4	1,0
Заражение зерна бактериями	24	1
Перегрузка зерна	1,5	0,5
Сушка зерна	6	1
Всего на подготовку, заражение зерна и сушку препарата	53,5	3,5

В настоящее время основу промышленности микробиологических средств борьбы с вредоносными насекомыми составляет производство бактериальных инсектицидных препаратов из культур *Bac. thuringiensis*, с использованием которых в нашей стране вырабатываются энтобактерин, дендробациллин, инсектин, БИП, алестин. Все эти препараты активны к чешуекрылым и успешно применяются в широких масштабах. В сравнительно малом количестве вырабатываются из культур указанного вида препараты (битоксибациллин, токсобактерин), содержащие, наряду с эндотоксином, и термостабильный экзотоксин. Подобные препараты оказались эффективными в борьбе против особо опасных вредителей, в частности колорадского жука. Вопросы изыскания и применения инсектицидных препаратов на основе использования культур *Bac. thuringiensis* широко освещены в нашей литературе [1, 3, 6]; мы рассмотрим лишь актуальные вопросы развития этой отрасли.

Безусловно, на данном этапе весьма важным является проблема фаголизиса, решение которой требует комплексного подхода, включающего глубокое изучение биологии организма и условий его выращива-

ния, равно как технологию производства препаратов и аппаратное оформление процесса. Нет необходимости доказывать, что проблема так называемого «спонтанного фага» является наиболее злободневной. Имеющийся фактический материал позволяет сделать заключение о наличии больших различий в развитии этого явления как у отдельных кристаллолитов, так и внутри их в понимании штаммовой вариационности. Напрашивается закономерный вывод о необходимости планомерной смены культур в процессе производства и острой потребности в создании коллекции производственных штаммов, не подверженных перекрестному фаголизису. На некоторых предприятиях с применением подобного подхода удалось достичь стабильной выработки бактериальных инсектицидов.

Снижение себестоимости производства бактериальных инсектицидов из культур *Bac. thuringiensis* — одна из главных задач по обеспечению конкурентоспособности этих препаратов с химическими средствами и перспектив развития данной отрасли в целом.

Можно считать установленным факт отсутствия коррелятивной связи между количеством кристаллолитных токсинов и их энтомоцидной активностью. Это указывает на возможность путем селекции высоковирулентных штаммов обеспечить при одном и том же титре спор и кристаллов значительное повышение инсектицидного действия. Так, с внедрением в США штамма НД-1 удалось фактически повысить выход инсектицидной активности препарата с одного и того же объема ферментации более чем в 100 раз. В этой связи необходимо особо подчеркнуть, что подобного снижения себестоимости препарата нельзя достигнуть, если стандартизация его выпуска и дозировка применения осуществляются по титру и валовому содержанию спор и кристаллов. Из сказанного следует, что давно надо перейти к исключительно биологической системе стандартизации препаратов с применением общепринятых международных тест-организмов либо их аналогов.

По-видимому, активность кристаллолитных токсинов подчиняется общей закономерности, установленной по отношению ко многим другим протоксинам микробного происхождения. Поэтому вполне обоснованными являются исследования по выяснению условий и механизма активирования инсектицидной активности кристаллолитных токсинов. Всестороннее изучение этого вопроса позволит решить очень важную задачу, имеющую большую практическую перспективу.

Группа спорообразующих бактерий — возбудителей так называемых молочных болезней является весьма перспективной основой для создания новых бактериальных инсектицидов против особо вредоносных видов насекомых, в борьбе с которыми практически нет эффективных средств защиты. К сожалению, несмотря на все попытки разработать методы, обеспечивающие споруляцию этих бактерий на искусственных питательных средах, в данном направлении ощутимых успехов не достигнуто. Тем не менее эта группа бацилл должна находиться в центре

внимания микробиологов, и фронт исследований их в предстоящей пятилетке должен быть резко расширен.

Особого внимания заслуживает вид *Bac. sphaericus*, культуры которого, как известно, обладают москитоцидным действием. Большой практический интерес к этому виду, вызванный сообщением американцев о выделении активного штамма SS II-1, значительно спал из-за невозможности регулировать процесс биосинтеза инсектицидного токсина. Однако на последнем Международном микробиологическом конгрессе группа авторов [24] сообщила о выделении нового вирулентного штамма 1593, проявляющего примерно в 1000 раз более высокую москитоцидную активность по сравнению с культурой SS II-1. Принципиально важно, что у штамма 1593 биосинтез энтомоцидного токсина тесно связан со споруляцией и локализован в оболочке. В этой связи бактерии *Bac. sphaericus* должны представить исключительный интерес для наших микробиологов в целях получения новых бактериальных инсектицидов для борьбы с комарами и москитами, в особенности гнуса.

Отрадно отметить успехи советских ученых в области создания инсектицидных препаратов с использованием грибов и вирусов. Как известно, в последнее время работы по созданию вирусных препаратов в некоторых странах (например, в США препарат «гипчик») получили государственное разрешение на широкое внедрение. В этом направлении следует ускорить их широкое практическое применение и в нашей стране.

Изыскание энтомопатогенных микробов для борьбы с вредоносными насекомыми следует вести с охватом всех групп микроорганизмов. Недооценка отдельных видов и односторонний подход в данном вопросе недопустимы. Очень слабо исследованы в этом отношении актиномицеты, хотя хорошо известно продуцирование ими достаточно активных веществ, могущих быть рекомендованными как инсектициды. Так, в 1977 г. в США запатентован антибиотик из *S. flaveolus*, обладающий выраженной инсектицидной активностью [18].

Неоправданно мало внимания обращается на изучение и применение неспороносных бактерий, хотя, как известно, именно эта группа микроорганизмов в одно время наиболее широко использовалась в борьбе со многими насекомыми.

В табл. 3 подытожены основные особенности энтомопатогенного действия микроорганизмов. В определении инсектицидного действия неспороносных бактерий наиболее важным является их способность к массовому развитию в кишечнике. Одним из ведущих факторов в энтопатогенезе бактериозов насекомых, вызванных неспороносными бактериями, является, по нашим данным, их аукогетеротрофность, специфическая потребность в отдельных витаминах, аминокислотах и других ростовых соединениях. Надо полагать, что потеря вирулентности культур обусловлена изменением именно их аукогетеротрофных свойств.

Важной, к сожалению, слабо проработанной областью является изучение и применение микроорганизмов и их метаболитов, обладающих

гербицидным действием. Большой практический интерес представляют данные о наличии у определенных видов микробов специфического угнетающего действия по отношению к некоторым особо вредоносным сорнякам.

Получение и применение микробиологических средств защиты растений выдвигает на разрешение ряд общих проблем и методических подходов. Исключая антибиотики, все используемые микробиологические средства борьбы с вредителями растениеводства являются препаратами жизнеспособных микроорганизмов. Обнадёживающие результаты их использования не должны отвлекать внимания микробиологов от того очевидного факта, что при этом нарушается экология и природные биоценозы. Поэтому, наряду с экологическими исследованиями последствий применения микробных препаратов, большую важность представляют работы, направленные на локализацию эффекта использования с паработкой инкапсулированных или иммобилизованных клеток инсектицидных форм микроорганизмов.

Таблица 3

Специфика и механизм энтомопатогенного действия микроорганизмов

Энтеробактерии, патогенные и облигатные энтомопатогены, <i>Bac. popilliae</i>	<i>Bac. thuringiensis</i> <i>Bac. sphaericus</i> Грибы-продуценты микотоксинов	Большинство сапрофитов и энтомопатогенов
Неспецифическая природа действия	Специфический характер и спектр действия	Неспецифический характер и спектр действия преимущественно ферментативной природы
Массовое развитие в кишечнике аукогетеротрофов	Энтомоцидные токсины, антибиотики и другие метаболиты	Проникновение и развитие в полости тела
Нарушения метаболизма (авитаминозы, нарушения обмена аминокислот, гормонов и другие дистрофии)	Токсикозы	Септицемии

Давно назрела необходимость организации всесторонних исследований по выяснению условий приживаемости применяемых микроорганизмов в природе. В этом случае возможно значительно продлить эффект используемых микробных пестицидов и повысить их преимущества по сравнению с химическими.

До настоящего времени основой создания микробных пестицидов являются природные, «дикие» культуры микроорганизмов. Успехи молекулярной генетики и геной инженерии дают надежду на конструирование новых форм микроорганизмов, значительно превосходящих по своей активности природные штаммы. Открываются необозримые перспективы для создания таких форм микроорганизмов, которые вместе с выраженными пестицидными свойствами будут наделены земледобрытельными и другими полезными особенностями для оздоровления природы и блага человека.

ԴՅՈՒՂԱՏՆՏԵՍԱԿԱՆ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ՎՆԱՍԱՏՈՒՆԵՐԻ ԴԵՄ
ՄԻԿՐՈԲԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՊԱՅՔԱՐԻ ՊՐՈԲԼԵՄՆԵՐԸ

Է. Գ. ԱՖՐԻԿՅԱՆ

Հողվածում ամփոփված են դրականության տվյալները և սևիական հետազոտությունների արդյունքները գյուղատնտեսության վնասատու միջատների և կրծողների դեմ պայքարի միկրոբիոլոգիական եղանակների մշակման բնագավառում, ինչպես նաև՝ բուսաբուծության մեջ անտիբիոտիկների և անտագոնիստ-միկրոբների կիրառման հնարավորությունների վերաբերյալ:

Քննվում են այս ասպարիկում հետագա աշխատանքների հեռանկարները:

MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF AGRICULTURAL PEST CONTROL

E. G. AFRIKIAN

Literature and own experimental data on microbiological production of insecticides, rodenticides and the use of antibiotics and microbial antagonism in plant breeding have been discussed. The perspectives of researches in these fields are emphasized.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алешина О. А., Ильичева С. Н., Капитанова Т. А., Любимый В. М. Энтомопатогенные грибы и их применение в сельском хозяйстве. 1978.
2. Алешина О. А., Залкина И. Н., Раковская Н. И. Бактериальные инсектициды. М., 1977.
3. Алешина О. А., Глушкова А. И., Залкина И. Н. Испытание и применение бактериальных энтомопатогенных препаратов. М., 1978.
4. Африкян Э. К., Туманян В. Г., Гобикян Р. А. Вопросы с/х микробиологии. 10, Ереван, 1958.
5. Африкян Э. К. Бактерии-антагонисты и их применение, Ереван, 1959.
6. Африкян Э. К. Энтомопатогенные бактерии и их значение, Ереван, 1973.
7. Африкян Э. К., Харагьян И. Г., Хичатрян Л. С., Татевосян П. Е., Серобян М. А., Симонянц Э. Г., Маркарян Р. Е. Авторское свидетельство СССР № 649754. Бюллетень Госкомизобретений, 8, 1979.
8. Бельтюкова К. И. и др. Аренарин и его применение в растениеводстве, Киев, 1963.
9. Березова Е. Ф. Микробиология, вып. 2, 186, 1939.
10. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках, М., 1964.
11. Кандыбин Н. В. Микробиологический метод борьбы с грызунами. М., 1974.
12. Красильников Н. А. Изв. АН СССР, 2, 49, 1953.
13. Красильников Н. А. Микроорганизмы и высшие растения. М., 1958.
14. Красильников Н. А., Мирзабекян Р. О., Аскарова С. А. ДАН СССР, 79, 8, 1951.
15. Мирзабекян Р. О. Изв. АН СССР, 2, 67, 1953.
16. Мишустин Е. Н., Наумова А. Н. Микробиология, 1, 87, 38, 1969.

17. Мишустин Е. Н., Перцовская М. И. Микроорганизмы и самоочищение почвы. М., 1954.
18. Патент США № 4048304, 1977.
19. Петрухина М. Т. Тр. ВНИИБакпрепарат, вып. 2, 94, 1973.
20. Прохоров М. И. Микробиологический метод борьбы с грызунами, Л., 1953.
21. Сб.: Применение антибиотиков в растениеводстве, Ереван, 1961.
22. Худяков Я. П., Разницына Е. А. Изв. АН СССР, 1, 117, 1939.
23. Шигаева М. Х., Туммисова К. А. Антибиотики в растениеводстве, Алма-Ата, 1977.
24. Myers P., Yousten A., Davidson E. Abstr. XII International Congress of Microbiol, Munich, 1978.

ОБ ЭКОЛОГИИ БЛОХИ CERATOPHYLLUS CASPIUS
В СВЯЗИ С ЕЕ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИМ ЗНАЧЕНИЕМ
В ЗАКАВКАЗСКОМ ГОРНОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ

Р. Б. КОСМИНСКИЙ, Г. А. АВЕТИСЯН, А. А. ГУСЕВА, А. И. ТАЛЫБОВ

В эксперименте изучены гонотрофическая активность, возрастные изменения, длительность жизни имаго и метаморфоз *C. caspius*. Наблюдениями в природе на Закавказском нагорье путем анализа сезонных изменений состава по физиологическому возрасту и численности имаго установлен годовой цикл этого вида, который играет важную роль в распространении чумы среди обыкновенных полевок на Закавказском нагорье, но не может в одиночку обеспечить поддержание очага. Свою роль он выполняет как сочлен «интегрального переносчика», которым является совокупность специфических блох полевок.

Ceratophyllis caspius Joff et Arg. (Siphonaptera) распространен в горных местностях Евразии от Балкан до Восточной Джунгарии, паразитирует на различных видах горных полевок. На Закавказском нагорье среди обыкновенных полевок были выявлены эпизоотии чумы, а самих блох этого вида неоднократно обнаруживали зараженными возбудителем чумы в природе [2].

Материал и методика. Для уточнения и получения более полных биологических и экологических данных об этом виде блохи, предпосылок его участия в поддержании чумного очага мы в 1962—1967 гг. проводили наблюдения над возрастным составом имаго непосредственно на энзоотичной территории Закавказского нагорья, подытожили архивные данные Армянской и Азербайджанской противочумных станций о численности блох, а также изучили метаморфоз, продолжительность жизни, гонотрофическую активность и возрастные изменения имаго в различных условиях. Опыты в лаборатории проводили в таких же условиях, как и при изучении *Frontopsylla elata caucasica* [10]. Для установления начала питания и размножения имаго, скорости накопления у них возрастных изменений путем микроскопирования и препаровки исследованы 452 самки. Частоту питания и яйцекладки прослеживали методом многократной повторной зарисовки одних и тех же особей, меченных индивидуально отрезанием апикальных члеников лапок [3]. В 12 турах опытов под наблюдением было 168 самок и 63 самца, с которых сделали более 1400 зарисовок. Развитие преимагинальных фаз и длительность жизни имаго изучали по общепринятой методике [1], при этом использовано 1211 яиц и 347 экз. имаго. Физиологическое состояние и возраст имаго, собранных в природе, определяли по известным биологическим показателям [4]. Всего было просмотрено 475 самцов и вскрыто 1198 самок. Подразделение на группы и анализ сезонных изменений состава популяции проводили так же, как в нашей работе о годовом цикле *Stenopthalmus teres* [9].

Результаты и обсуждение. В лаборатории при обоих вариантах (при температуре 20—25° и 2—5°) молодые блохи начинали питаться



ся сразу же после подсадки к прокормителю. При 20—25° через 2 суток большинство, а через 3 все самки имели развивающиеся яйца (табл. 1). При этой температуре они питались с частотой около 3-х раз в сутки, откладывать яйца начали через 45—58 час. (в среднем 50) после помещения молодых блох к хозяину, и самки делали около 3-х кладок за сутки. Все самки размножались до конца опыта (22 дня). В результате яйцекладки в яичниках размножавшихся самок накапливались желтые тела (видимые в световой микроскоп на отпрепарированных яичниках), которые появлялись у части особей после 8—11, у подавляющего большинства — 12—16 суток пребывания блох со зверьком, причем почти у всех они были малой величины. Средней величины они достигали у единичных самок через 12—16, у большинства — через 20—22 суток. Большие желтые тела накапливались у отдельных особей через 17—22 суток.

Таблица 1

Появление увеличенных ооцитов и желтых тел в яичниках самок
(влажность воздуха высокая)

Число суток пре- бывания блох со зверьком	Исследовано блох	В том числе группы по состоянию яичников, %		
		крупных ооцитов и желтых тел нет	крупные ооциты имеются	
			желтые тела	
			нет	есть
Температура 20—25°				
1	10	100	0	0
2	10	30	70	0
3—7	41	0	100	0
8—11	39	0	56	44
12—16	50	0	16	72—12—0*
17—19	21	0	5	48—38—9
20—22	24	0	0	21—67—12
Температура 2—5°				
1—2	24**	100	0	0
3—7	39	10	90	0
8—11	38	29	61	10
12—19	99	31	62	7
20—24	57	32	49	19

* Три цифры через черточку означают число самок с желтым телом малой, средней и большой величины. Во всех остальных случаях желтые тела малой величины.

** Из них одна самка без сперматозоидов в семеприемнике, все остальные самки осеменены.

При 2—5° через 3—7 дней почти все самки (90%) имели развивающиеся яйца. Однако в дальнейшем число «беременных» уменьшилось, вероятно, вследствие резорбции ооцитов у части самок. К концу опыта (20—24 дня) приблизительно 2/3 самок имели развивающиеся яйца, но за срок наблюдений прослежено появление лишь маленьких желтых

тел и то только у 7—19% самок, что говорит о меньшей интенсивности размножения блох при низкой температуре. При перемещении блох, пробывших со зверьком 7—8 дней при 20—25°, в холодильник (2—5°) привязанность их к телу хозяина снижалась (табл. 2). Гонагофическая активность также уменьшалась, но различно у отдельных особей. На 19-й день у единичных, а на 40-й—примерно у половины самок уже не было развивающихся яиц. Частота их питания уменьшилась примерно до 1 раза в сутки. Остальные самки, продолжавшие размножаться на протяжении всего срока пребывания на холоде, питались с частотой 2—3 раза и делали по 1—2 кладки в сутки. Снижение активности имаго на холоде происходило в обоих испытанных вариантах влажности. Число яиц в кладках колебалось от 3-х до 4-х (соответственно 65 и 24% из 218 зарегистрированных кладок), но иногда оно составляло 2 или 6.

Вскрытие самок, собранных в природе и взятых из лабораторной культуры, показало, что яйчники *C. caspius* состоят из 6—12 (чаще 8) яйцевых трубок. Следовательно, число яиц в кладках приблизительно равно половине числа яйцевых трубок. Сопоставление данных табл. 1 и 2 позволяет предположить, что желтые тела образуются после того, как самка сделала 18—27 кладок, то есть когда из каждой яйцевой трубки отложено не менее 9—14 яиц.

Перед очередным кровососанием пищевой комок в подавляющем большинстве случаев (79—100%) находился на III—V стадиях по шкале Иоффа [5].

Сравнительно хорошая выживаемость всех фаз и выход имаго (19—40% от числа взятых яиц) были при 18—23° и относительной влажности воздуха 60—100%. Развитие завершалось в среднем за 35—40 дней (минимум 21, максимум 72). При температуре 4—5° и влажности 75—100% эмбриональное развитие шло успешно, однако в дальнейшем наблюдалась очень высокая смертность личинок, так что в итоге лишь единичные особи (1—3%) завершили метаморфоз, но и их развитие затянулось на много месяцев (минимум 166, максимум 488 дней). При 0—2° и влажности 60—100% все взятые в опыт яйца погибли, не дав личинок.

Молодые блохи при температуре от 3—4° (ниже нуля) до 7—10° жили без питания 4—10 месяцев, при 18—23°—около 1—2 месяцев, а при 30°—только до 2 недель. Ранее питавшиеся имаго оставались живыми при 1—8° ниже нуля до 1—3 месяцев. Можно полагать, что и в природе эти блохи могут прожить без хозяина в холодное время года несколько месяцев, в теплое—несколько недель. Под наблюдением были 188♀ и 159♂. В природе, на Закавказском нагорье, имаго встречаются круглый год (табл. 3). Ранее мы показали [8], что на этой территории блохи данного вида обитают в поясе горных луго-степей и лугов выше 2000 м над ур. м. Здесь зимний снеговой покров начинает сходить в конце апреля—начале мая. Во второй половине апреля в обитаемых полевками гнездах и на зверьках половину самок *C. caspius* со-

Таблица 2

Активность нападения на хозяина, питания и размножения блох при разных условиях (до начала наблюдений блохи пробыли со зверьком при 20—25° 7—8 дней)

Температура, °С	Дни пребывания при 2—5°	С а м к и					С а м ц ы			
		всего особей	средняя частота (раз в сутки) для 1 самки		отметки о местонахождении		всего особей	средняя частота (раз в сутки) кровососаний 1 самца	отметки о местонахождении	
			кладок	кровососаний	всего регистраций	в т. ч. на зверьке, %			всего регистраций	в т. ч. на зверьке, %
Влажность низкая										
20—25	0	23	2,6	3,1	195	70	10	3,2	80	56
2—5	1	9	1,1	3,3	44	64	4	3,8	18	72
•	8; 10	20	1,8	2,3	100	48	7	2	34	50
•	19	8—3*	1,2—0	2,6—0,7	55	24	3	0,7	13	15
•	40	5—5	1,6—0	2,5—1,0	36	8	5	1,7	24	8
Влажность высокая										
20—25	0	21	2,9	2,7	170	47	5	2,8	54	46
2—5	1	12	2,2	2,7	58	47	4	3,8	18	50
•	8; 10	19	1,7	2,4	93	31	8	2,1	39	44
•	19	9—1	1,6—0	1,8—0	50	30	5	3,0	24	54
•	40	5—4	1,7—0	2,1—0,8	25	16	5	2,1	23	30

* Через черточку обозначено число «беременных» и «небеременных» самок и соответствующие им показатели частоты яйцекладки и кровососания.

Таблица 3

Физиологическое состояние и возраст собранных в природе имаго

Месяцы	Температура в гнезде, °C	С а м к и						С а м ц ы			
		всего особей	с меконием	из них, %				просмотрено семеприемников у 2-й возрастной группы		всего особей	из них с меконием, %
				п и т а в ш и е с я							
				желтых тел нет		желтые тела есть					
				ооциты не увеличены	ооциты увеличены	ооциты не увеличены	ооциты увеличены	всего	из них без спермы, %		

Блохи из обитаемых гнезд и со зверьков

Февраль-март	0—2	9	—	(8)*	—	(1)	—	8	(8)	3	—
I половина апреля	2—4	6	—	(1)	(1)	(4)	—	1	(1)	1	—
II " "	8—13	60	0	50	40	5	5	30	47	21	0
Май	7—19	152	3	14	56	1	26	19	16	59	0
Июнь	9—22	81	0	11	52	0	37	7	(3)	22	0
Июль	17—28	190	2	15	40	1	42	25	24	108	9
Август	13—21	75	4	12	43	0	41	6	(2)	34	6
Сентябрь	2—24	275	3	19	28	4	46	39	3	84	2
Октябрь	0—13	160	3	28	11	2	56	37	33	57	7
Декабрь	0—6	92	11	80	(1)	7	(1)	76	50	32	12

Блохи из необитаемых гнезд

Апрель—декабрь		93	33	54	5	8	0	46	54	54	26
----------------	--	----	----	----	---	---	---	----	----	----	----

* В скобках абсолютные количества.

ставляли физиологически молодые, не размножающиеся особи, значительная часть которых еще не была осеменена, а другую половину (45%) — размножающиеся самки, но из них только 5% имели желтые тела. Особи, прекратившие яйцекладку, встречались единично (с желтыми телами, но без развивающихся яиц).

В теплое время года (май—октябрь) подавляющее большинство самок размножалось—у 67—89% увеличенные ооциты, а у 26—56% также и желтые тела. К маю резко снизилось и далее до сентября держалось на низком уровне относительное количество физиологически молодых самок, среди которых неосемененные особи попадались редко. Это говорит о резком увеличении активности имаго весной. Прекратившие яйцекладку самки в мае—августе практически отсутствовали, но в сентябре—октябре стали появляться. Блохи с меконием в желудке имелись во все теплые месяцы (кроме июня), но в небольшом количестве.

С наступлением зимы состав имаго сильно изменился. В декабре подавляющее большинство самок составляли молодые неразмножающиеся особи, значительная часть которых еще не питалась, а из числа питавшихся половина еще не спаривалась. Размножающиеся самки стали единичными, а прекратившие яйцекладку встречались чаще, чем осенью. Среди самцов было значительное количество молодых. В остальные холодные месяцы нам удалось собрать и вскрыть только 15 самок, среди которых было 9 молодых неразмножающихся и неосемененных, 5 взрослых, прекративших яйцекладку и лишь одна—с увеличенными ооцитами. В целом из общего количества 107 самок, собранных из обитаемых гнезд полевых в наиболее холодное время года, только 3 особи были с развивающимися яйцами. Преобладали молодые самки, но встречалось довольно много и прекративших яйцекладку особей.

Почти за весь период наблюдений блохи с большим жировым телом встречались редко, лишь в октябре и декабре их доля достигала 30—37% среди самок и 26—52% среди самцов.

Встречающимся зимой в природе имаго *C. caspius* не свойственно сильное ожирение, и это позволяет считать, что их физиологическое состояние не тождественно тому состоянию глубокого генеративного покоя, которое характерно в холодное время года для других видов блох, также паразитирующих на обыкновенных полевках на этой территории—*Stenophthalmus wladimiri*, *Ct. teres*, *Frontopsylla elata caucasica* [6, 7, 9]. В пользу этого предположения говорят также результаты наших исследований водного баланса блох. Как известно, у многих насекомых при переходе в состояние зимнего покоя происходит уменьшение относительного количества воды в теле [11]. Дегидратация характерна и для зимующих малоактивных имаго перечисленных выше видов блох полевых (в теле активных, размножающихся особей содержание воды составляет в среднем 64,4—66,8%, в теле малоактивных неразмножающихся, с большим жировым телом, 58,6—59,4%). Что касается *C. caspius*, то в их теле содержание воды выше—68,0—68,5%, 71,1% соответственно.

Некоторые сведения о численности *C. caspius* на юго-востоке Закавказского нагорья мы уже сообщали [8]. Дополнительно к этому приведем суммарные результаты сбора блох с обыкновенных полевых, из их гнезд и входов в норы, проведенного Армянской и Азербайджанской противочумными станциями в 1957—1971 гг. (табл. 4). Численность этих блох на данной территории вообще низкая. Их обилие на зверьках в апреле—сентябре было выше, чем в остальные месяцы, что, вероятно, связано с усилением привязанности блох к хозяину в период яйцекладки. В гнездах полевых количество имаго этого вида мало изменялось по сезонам, индекс обилия был близок к единице. Некоторое количество этих блох встречалось также и во входах нор.

Таблица 4

Индексы обилия (п. о.) *C. caspius*

Месяцы	Зверьки		Гнезда		Входы нор	
	осмотрено	п. о. блох	осмотрено	п. о. блох	осмотрено	п. о. блох
Январь	—	—	5	1,20	—	—
Февраль	21	0	31	0,10	—	—
Март	21	0	18	0,88	—	—
Апрель	338	0,12	931	0,46	—	—
Май	7155	0,11	5506	0,77	853	0,26
Июнь	17337	0,12	10168	0,78	582	0,07
Июль	26943	0,11	13344	1,10	1678	0,10
Август	31291	0,11	12534	1,23	2981	0,02
Сентябрь	22729	0,09	858	1,11	1755	0,02
Октябрь	8404	0,03	4590	1,11	844	0,01
Ноябрь	732	0,02	1099	0,88	100	0,06
Декабрь	145	0,03	80	1,80	—	—
Всего	115166	0,10	57064	1,03	8793	0,06

Имаго *C. caspius* имеются в природе, нападают на зверьков и питаются круглый год. Развитие преимагинальных фаз и выплод имаго, по видимому, происходят круглогодично. Самки откладывают яйца преимущественно в теплое время года. Несмотря на наличие потенциальной возможности к размножению при низкой положительной температуре, в Закавказском горном очаге чумы в самые холодные месяцы оогенез угнетается, однако без резкого изменения жирового и водного баланса у блох. В это время большинство взрослых самок отмирает, оставшиеся перестают размножаться. Молодые самки не приступают к откладке яиц. Продолжительность жизни имаго в обитаемых зверьками гнездах невелика во все сезоны (обычно несколько недель), состав их все время постепенно обновляется, за год развивается несколько (возможно 4—6 и более) поколений. В необитаемых гнездах в холодное время года имаго могут жить по несколько месяцев. Индекс обилия в гнездах примерно в 8 раз ниже, чем у массовых блох рода *Ctenophthalmus*, но почти равен суммарному индексу обилия всех остальных блох обыкновенных полевых.

Приимая во внимание круглогодичное наличие имаго и преимущественное распространение *C. caspius* на Закавказском нагорье именно в тех высотных поясах, где среди их хозяев—полевков протекают эпизоотии чумы, а также доказанную в экспериментах способность этих блох хранить и с большой эффективностью передавать своими укусами возбудителя чумы здоровым зверькам, можно считать, что они играют важную роль в эпизоотологии чумы среди обыкновенных полевков на Закавказском нагорье. В то же время сравнительная редкость и нерегулярность встреч особей этого вида, зараженных чумным микробом в природе, низкая численность и сравнительно небольшая продолжительность жизни имаго при наличии хозяина, приводят к мысли, что, отдельно взятый, этот вид не может обеспечить поддержание эпизоотий чумы среди обыкновенных полевков в Закавказском горном очаге и поэтому его нельзя квалифицировать как основного переносчика. По всей вероятности, свою роль он может выполнять лишь в совокупности с другими видами блох полевков, как составная часть «интегрального переносчика» в этом поливекторном очаге чумы.

Научно-исследовательский противочумный институт
Кавказа и Закавказья, Армянская
противочумная станция

Поступило 26.II 1979 г.

CERATOPHYLLUS CASPIUS-ի ԷԿՈԼՈԳԻԱՆ ԿԱԳՎԱԾ ՆՐԱ ԷՊԻԶՈՈՏՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՆՇԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՀԵՏ ԱՆԻՐԿՈՎԿԱՍԻ ԼԵՈՆԱՅԻՆ ԺԱՆՏԱՆԵՏԻ ՕՋԱՆՈՒՄ

Ռ. Ռ. ԿՈՍՄԻՆՍԿԻ, Հ. Ա. ԱՎԵՏԻՍԻԱՆ, Ա. Ա. ԳՈՍՍԵՎԱ, Ա. Ն. ԹԱԼԻԲՈՎ

Պարզարանված է *C. caspius*-ի գոնոտրոֆիկ ակտիվությունը, իմացոյի հասակային փոփոխությունները, կյանքի տևողությունը և մետամորֆոզը լաբորատոր պայմաններում: Իմացոյի ֆիզիոլոգիական հասակային կազմի և խտության սեղոնային փոփոխությունների անալիզի հիման վրա կենդանիների ընկերակալի կազմներում բացահայտվել է այդ տեսակի տարեկան ցիկլը: Կենդանիների ընկերակալի *C. caspius*-ը կարևոր դեր է խաղում սովորական դաշտամկների պոպուլյացիաներում ժանտախտի միկրոբների տարածման գործում, սակայն միայնակ չի կարող ապահովել ռախի պահպանումը: Այն իրադրծվում է դաշտամկների (պապանոզի) վրա համատեղ պարադիտող մյուս տեսակ սպեցիֆիկ լվերի միջոցով:

ECOLOGY OF CERATOPHYLLUS CASPIUS CONNECTED WITH ITS EPIZOOLOGICAL IMPORTANCE IN THE MOUNTAIN PLAGUE BREEDING GROUND OF TRANSCAUCASICA

R. B. KOSMINSKI, H. A. AVETISIAN, A. A. GUSSEVA, A. N. TALIBOV

The gonotrophic activity of *C. caspius*, the age alterations of the imago, duration of life and metamorphosis have been cleared up in la-

boratory conditions. The yearly cycle has been exposed in the natural conditions of mountainous Transcaucasia on the basis of the imago's physiological age make-up and analysis of changes in seasonal density. In the mountains of Transcaucasia *C. caspius* plays an important part in spreading plague microbes among populations of common field mice, but it cannot alone safeguard the preservation of the focus. It is realized on other specific flies that are coincidental parasites on field mice.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алексеев А. Н. Зоологический журнал, 40, 6, 840, 1961.
2. Вартамян А. А., Сукиасян М. Л., Давтян Г. Г., Косминский Р. Б., Аветисян Г. А., Оганесян В. В., Адамян А. О., Шахримян В. О., Голубев П. Д., Петров П. А., Сакарян А. Б., Агабабян А. А., Асрян Г. А. Тр. Армянской противочумной станции, Ереван, 3, 17, 1964.
3. Дарская Н. Ф., Брюханова Л. В., Куницкая Н. Т. Сб.: Работа по паразитофауне юго-запада СССР. 43, Кишинев, 1965.
4. Дарская Н. Ф. Сб.: Паразиты и паразитозы человека и животных. 363, Киев, 1965.
5. Иоффе И. Г. Сб.: Эктопаразиты. 1, 1, 1949.
6. Косминский Р. Б., Аветисян Г. А., Талыбов А. Н. В кн.: Работы по паразитофауне юго-запада СССР. 73, Кишинев, 1965.
7. Косминский Р. Б., Аветисян Г. А., Талыбов А. Н. Сб.: Особо опасные инфекции на Кавказе. 94, Ставрополь, 1966.
8. Косминский Р. Б., Аветисян Г. А. Сб.: Краевая паразитология и природная очаговость трансмиссивных болезней. 71, Киев, 1966.
9. Косминский Р. Б., Аветисян Г. А., Нерсисян О. А., Цихистази Ш. Г., Алания И. И., Соловьева А. В. Зоологический журнал, 49, 8, 1167, 1970.
10. Косминский Р. Б., Гусева А. А., Талыбов А. Н., Аветисян Г. А. Зоологический журнал, 54, 3, 384, 1975.
11. Ушатинская Р. С. Основы холодостойкости насекомых. М., 1957.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОБНЫХ АЦИЛАЗ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ОПТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ФОРМ АМИНОКИСЛОТ

Е. И. МАКАРОВА

Рассматриваются литературные и собственные экспериментальные материалы, касающиеся микробных ацилаз, представленных как в виде ферментных препаратов, так и интактных клеток продуцентов этих ферментов.

Приводятся данные о кинетических параметрах и некоторых физико-химических свойствах, оптической, субстратной специфичности и других характеристик микробных ацилаз.

Обсуждаются результаты использования иммобилизованных клеток дрожжей рода *Candida*, продуцентов аланинацилазы, для получения L- α -аланина.

Исследования в области микробных ацилаз, проявляющих гидролитическую активность по отношению к ацилпроизводным аминокислот, выявили их широкое распространение у различных микроорганизмов — бактерий [1, 4, 6, 12], грибов [18, 24], актиномицетов [9] и дрожжей [16]. Ацилазы микробного происхождения привлекают внимание исследователей в связи с растущими перспективами их применения для разделения рацемических смесей аминокислот. Организовано промышленное производство некоторых оптически активных форм аминокислот [5, 25, 32].

Наиболее хорошо изучены бактериальные и грибные ацилазы, менее — актиномицеты и дрожжи, особенно аспорогенные формы последних.

Ведущее положение в области изучения и применения микробных ацилаз занимают японские ученые. Их исследования проведены в основном на ферментных препаратах, полученных различными методами извлечения ацилазы из бактериальных (*E. coli*, *Achr. pestifer*, *Pseudomonas*) и дрожжевых (*S. cerevisiae*, *S. carlsbergensis*) клеток [16, 17, 22, 33, 34] или выделения из культуральной жидкости экзогенного фермента грибов *Aspergillus oryzae* [18, 27].

Полученные ферментные препараты, частично очищенные методом осаждения аммонием сульфата и представляющие собой фракцию белка, выпадающую в осадок при насыщении от 0,4 до 0,7, в лиофилизированном состоянии сохраняют активность в течение нескольких месяцев.

Один из первых вопросов, подвергшихся детальному изучению, — это динамика ацилазной активности в процессе роста продуцентов и ее связь с другими функциями последних: накоплением биомассы, из-

менением рН культуральной среды и др. Оказалось, что активность ацилазы у различных микроорганизмов не всегда коррелирует с интенсивностью их роста [6, 18, 22]. У *A. pestifer*, например, активность резко возрастает, достигая максимума в начале и удерживаясь до середины логарифмической фазы роста, затем резко снижается [22]. У *A. огузае* при 15-дневном культивировании активность достигает максимума на шестые сутки, что также соответствует началу логарифмической фазы роста. Дальнейшее инкубирование приводит к снижению активности [18]. У *Azotobacter chroococcum* ацилазная активность возрастает параллельно интенсивности роста и достигает максимума к 30-му часу, т. е. в стационарную фазу роста [6]. Именно в этот период происходит интенсивный гидролиз блокированных аминокислот, необходимых для включения их в обмен веществ.

Учитывая, что ферментативная активность определяется не только генотипом продуцента, но зависит также от условий культивирования, состава питательной среды и других факторов внешней среды, большое внимание при изучении микробных ацилаз уделяется составу питательной среды [11, 12], в частности азотсодержащим компонентам. Установлено, что у *A. pestifer*—продуцента ϵ -лизинаяцилазы—источник азота оказывает существенное влияние на ацилазную активность. Пептон и NZ-амин обуславливают наивысшую активность, достигающую 430 и 350 мкМ лизина/час/мг белка, тогда как при наличии простых органических (мочевина), а также неорганических источников азота активность снижается и составляет лишь 40—120 и 10—20 мкМ лизина/час/мг белка соответственно [22].

На структуру активных центров микробных ацилаз в значительной степени проливают свет результаты исследований по влиянию ионов металлов и ферментных ингибиторов на их активность. Установлено, что ЕДТК (этилендиаминтетрауксусная кислота) и ПХМБ (пара-хлоромеркурийбензоат) ингибируют полученные из грибов и дрожжей ферменты [16, 18]. Это указывает на то, что ионы металлов и сульфгидрильная группа играют большую роль в действии ацилаз микробного происхождения. Оказалось, что ацилаза, выделенная из гриба *A. огузае*, после инактивирования ингибитором ЕДТК реактивировалась добавлением Zn^{++} лишь частично, реактивирование же посредством Co^{++} было более полным. У дрожжевой ацилазы заметного стимулирования активности не наблюдалось при добавлении двувалентных ионов металлов, включая Co^{++} . Эти факты позволяют говорить о необратимости денатурирования дрожжевой ацилазы ферментными ингибиторами.

Энзиматические свойства микробной ацилазы изучали по влиянию на реакцию деацилирования субстрата рН, температуры, концентрации субстрата и др. На полноту протекания реакции существенное влияние оказывает обратимость реакции гидролиза амидной связи. Для выяснения роли обратимости проведено детальное кинетико-термодинамическое изучение модельной реакции гидролиза N-фенилацетил-L-аланина, катализируемой пенициллинамидазой. Определено значение кон-

станты равновесия реакции при pH 6,8 и 25°, равное $0,5 \pm 0,1$. В оптимальных условиях проведения ферментативной реакции оно будет достигнуто уже при концентрациях продуктов около 0,2М [13].

Для реакции деацилирования оптимальным считается pH инкубационной смеси 6,5—7,2, но последний может изменяться в зависимости от характера субстрата [16, 31]. Гидролиз некоторых ацетилпроизводных лейцина, аспарагиновой кислоты и триптофана протекает при более высоком значении pH, чем у тех же хлорацетилпроизводных. Скорость реакции зависит также от природы буфера и температуры. Из 3-х испытанных буферных растворов — фосфатного, цитратного и вероналового, последний оказался более благоприятным для всех испытанных субстратов. Оптимальной температурой для проявления активности этого фермента является 42°. Более высокая температура оказывает ингибирующее влияние: 52° через 2 часа, а 47° через 3 часа инкубирования [16].

В настоящее время к числу важнейших проблем, связанных с исследованием микробных ацилаз, относятся, во-первых, более широкий охват различных физиологических и систематических групп микроорганизмов для характеристики ацилазной активности в целях выявления биологического значения последней для продуцентов и ее направленно-го регулирования; во-вторых, изыскание эффективных продуцентов ацилаз и создание непрерывно действующих стабильных процессов без затрат на выделение и очистку ферментов для промышленного производства природных аминокислот. Научное и практическое значение этих проблем трудно переоценить.

Решение второй проблемы связано с использованием методов иммобилизации ферментов и клеток, позволяющих стабилизировать ферментативную активность, расширить pH- и температурный оптимумы, удлинить срок действия ферментов и клеток.

Первые работы по иммобилизации грибных ацилаз были выполнены в Японии. Из множества испытанных носителей наиболее удачным для фермента оказалась ДЕАЕ-целлюлоза [5, 25, 27, 28]. Изучение свойств нерастворимой грибной ацилазы, ковалентно связанной с иодоацетилцеллюлозой, и нативной ацилазы показало, что константа Михаэлиса первой равна $6,7 \cdot 10^{-3}$ М, а последней — $5,7 \cdot 10^{-3}$ М. Однако максимальная скорость нерастворимой ацилазы была почти в 3 раза выше, чем нативной.

Кривые pH-активности нерастворимой аминокислотной ацилазы с ацетил-DL-метионином в качестве субстрата показали расширение зоны активности по направлению к более щелочному pH. Значительные различия имеются между двумя ферментными препаратами во влиянии температуры и энергии активации. Эти результаты позволяют авторам работы предполагать, что структура нерастворимой аминокислотной ацилазы подвергается некоторым конформационным изменениям при ковалентном связывании с носителем [27].

В качестве носителя для иммобилизации фермента и интактных клеток используют и полиакриламидный гель [19, 25]. Разработан спо-

соб получения его гранул, преимущество которого заключается в том, что в последнем микробные клетки равномерно располагаются по всему объему [26]. Для этого полимеризационную смесь сразу же после добавления надсерникислого аммония эмульгируют в атмосфере азота при 4° в смеси толуола, хлороформа, тетраметиленамина и твина. Полимеризация заканчивается через 15 мин. Полученные гранулы имеют четкую сферическую форму. Размер гранул 0,1—0,6 мм, его можно варьировать, меняя скорость мешалки и концентрацию твина.

Все эти и другие исследования явились теоретической основой для организации в Японии производства ряда аминокислот промышленным способом, с использованием метода оптически направленного гидролиза ацилпроизводных рацематов этих аминокислот, полученных химическим синтезом [5, 25, 32]. Процесс проходит по схеме, приведенной в одной из ранних обзорных статей по микробным ацилазам [2]. Согласно схеме, рацемат ацетил-DL-аминокислота асимметрично гидролизуется на L-аминокислоту и ацетил-D-аминокислоту, которая вновь подвергается рацемизации.

Поиск более дешевых и эффективных способов иммобилизации ацилазы привел к использованию акриловых полимеров, а также неорганических носителей—пористых керамик и стекол [21, 23]. Меньше работ об иммобилизации самих продуцентов ацилаз, хотя уже в 1968 г. в ФРГ был оформлен патент на метод иммобилизации интактного мицелля *A. oryzae*—продуцента ацилазы в нитрат целлюлозы [10], клеток микобактерий—в полиакриламидный гель [3].

Материал и методика. Объектом исследования служили культура бактерий из рода *Mycobacterium*, полученная из лаборатории спороносных бактерий Института микробиологии АН АрмССР, а также культуры дрожжей рода *Candida* и *Saccharomyces*, полученные из Всесоюзной коллекции микроорганизмов.

Для микобактерий использовали сахарозо-лентонную питательную среду следующего состава (%): сахароза—1; пептон—2; $MgSO_4$ —0,5; K_2HPO_4 —0,2; дрожжевой экстракт—0,5; pH среды—7,0—7,2. Продолжительность периода культивирования 48—72 часа.

Для дрожжей использовали глюкозо-минеральную среду следующего состава (%): глюкоза—1, $(NH_4)_2SO_4$ —0,31; KH_2PO_4 —0,121; $MgSO_4$ —0,0625; NaCl—0,0125; $CaCl_2$ —0,0125; биотин 2 мкг/л или дрожжевой экстракт—0,5; pH среды 5,2—5,5. Продолжительность периода культивирования 18—24 часа.

Выращивание всех культур проводили в условиях интенсивной аэрации на качалках 250 об/мин в колбах Эрленмейера объемом 250 мл с 30 мл среды. Температура выращивания 28—30°.

Аминоацилазную активность определяли по реакции деацилирования субстрата в инкубационной смеси: 50 мг стыгой биомассы, 1 мл 0,01 М фосфатного буфера, pH 7,0; 1 мл 0,2 М раствора N-ацетил-DL-метионина. Продолжительность инкубирования 2 часа при 37°. Освободившийся L-метионин определяли общепринятым методом хроматографирования в тонком слое целлюлозы с последующим элюированием 60%-ным этанолом с хлористым кадмием 0,1% и колориметрированием. Активность выражали в мкМ аминокислоты на г клеток/час (удельная активность).

Выделение аминокислот из реакционной смеси в кристаллической форме проводили по методу Гринштейн [20].

Оптическую активность аминокислот определяли инкубированием аминокислоты с D-оксидазой гомогената печени крыс по методу, применяемому на кафедре биохимии Ереванского университета.

Результаты и обсуждение. Изыскание продуцентов ацилаз. С этой целью было проверено 11 культур дрожжей на их способность к оптическому гидролизу ацетил-DL-метионина по сравнению с таковой 4-х культур микобактерий, уже известных продуцентов метионинацилазы [11]. Данные табл. 1 показывают, что все испытанные нами культуры дрожжей, хотя и в разной степени, проявляют активность в отношении заданного субстрата.

Одна группа культур дрожжей обладает активностью, сравнимой с таковой микобактерий (*S. cerevisiae*, *C. chevalieri*, *C. tropicalis* и 2 штамма *S. carlsbergensis*), остальные — уступают микобактериям. Эти результаты согласуются с данными литературы о широком распространении ацилаз в живой природе, что, в свою очередь, является свидетельством необходимости этих ферментов для нормальной жизнедеятельности организмов. Например, известно, что аминокислоты орнитинового цикла Кребса — аргинин и орнитин синтезируются в микроорганизмах из глутаминовой кислоты через ряд ацетилированных промежуточных веществ при помощи ацетилорнитазы и трансацетилирующего фермента [30], т. е. в микроорганизмах постоянно имеется широкий набор различных ацилаз, катализирующих реакции ацилирования, деацилирования и трансацелирования, тем самым участвуя в синтезе и распаде азотсодержащих соединений.

Т а б л и ц а 1

Удельная ацилазная активность у микобактерий и дрожжей
(классификация штаммов по ВКМ)

Культуры микроорганизмов	Активность, мкМ метионина/г клеток час
<i>C. pulcherrima</i> 64	16,5
<i>C. utilis</i>	17,6
<i>C. guilliermondii</i> НП-4	18,4
<i>C. guilliermondii</i> 42	18,8
<i>C. tropicalis</i> 959	26,4
<i>C. arborea</i> 33	27,6
<i>C. tropicalis</i> КЗ-10	35,2
<i>S. carlsbergensis</i> 1173	37,0
<i>S. carlsbergensis</i> 108	37,0
<i>C. chevalieri</i> 37	66,0
<i>S. cerevisiae</i> 12	76,0
<i>M. salivarium</i> 638	45,2
<i>M. perrugosum</i> 647	45,5
<i>M. perrugosum</i> 628	60,0
<i>M. coeliacum</i> 615	70,0

Ацилазная активность в динамике роста микроорганизмов. В первые часы роста биомасса дрожжей и микобактерий обедняется ацилазой по сравнению с посевным материалом на 27 и 18%, но все же активность достаточно высока — 44,0 и 40,6 мкМ соответственно (табл. 2).

У *C. chevalieri* активность постепенно возрастает и ближе к концу логарифмической фазы (8 час.) фактически стабилизируется. После 24-х час., когда из среды исчерпаны все питательные вещества, наблюдается снижение ацилазной активности, а к 72-м час. она исчезает полностью.

У *M. coeliacum*, характеризующейся более растянутым периодом роста и развития, резкое увеличение активности происходит к 18 час. и достигает максимума к 36 часам. Через двое суток активность достаточно высокая; дальнейшее культивирование приводит к ее резкому снижению в клетках.

Таким образом, у обеих культур ацилазная активность резко возрастает в период интенсивного роста биомассы, т. е. наблюдается коррелятивная связь между этими процессами. Такая же закономерность отмечается для *A. chgoosocum* [6].

Таблица 2

Динамика ацилазной активности у микроорганизмов
(Биомасса, мг а. с. в./100 мл; удельная активность, мкМ аланина/г клеток/час)

Продолжительность, час	<i>C. chevalieri</i>		<i>M. coeliacum</i>	
	прирост биомассы	удельная активность	прирост биомассы	удельная активность
0	45,2	60,0	60,0	65,8
2	96,0	44,0	59,0	60,0
4	136,6	36,0	66,0	40,6
6	240,0	48,4	95,5	30,0
8	305,5	60,0	106,2	30,9
14	370,0	66,0	165,0	36,8
18	500,8	68,6	200,5	55,4
24	480,0	68,5	250,0	62,0
36	476,0	32,0	360,0	68,0
48	480,0	10,0	380,0	54,8
72	483,0	0	388,0	26,0

Оптимизация аланинацилазной активности у микроорганизмов проводилась обогащением питательной среды одним из следующих соединений (%): этаноламин 0,1, этаноламинфосфат 0,1, глицерофосфат 0,1, бета-хлорэтиловый эфир стеариновой кислоты 0,5, бета-оксиэтиламид 0,5, дрожжевой экстракт 0,5. Оптимальная концентрация добавок была установлена предварительными исследованиями. Учитывалось влияние на урожай биомассы и аланинацилазную активность клеток (табл. 3).

Самым эффективным стимулятором роста оказался бета-хлорэтиловый эфир стеариновой кислоты, при этом ацилазная активность резко снижается у дрожжей, но остается без заметного изменения у микобактерий. Этанолминфосфат стимулирует оба процесса у обеих культур, а этаноламин стимулирует активность фермента лишь у микобактерий. Наблюдается отсутствие корреляции в стимулировании активности фермента и накоплении биомассы одним и тем же соединением. Ацилаланин не оказывает заметного влияния на активность аланинаци-

лазы у микобактерий и ингибирует у дрожжей. Это говорит о том, что этот фермент у изученных микроорганизмов является конститутивным, как лизинацилаза у *A. pestifer* [22]; у гриба *A. oryzae* последняя является индуцируемым ферментом [18].

Дрожжевой экстракт стимулировал рост и ферментативную активность у микроорганизмов. Это дало возможность предположить, что индивидуальные аминокислоты также могут выполнять эту функцию. Нами были испытаны аминокислоты семейства глутаминовой кислоты и мочевины; все они были использованы в качестве единственных источников азота для дрожжей и как добавки — для микобактерий, т. е. питательная среда в этом случае содержит органическую форму азота.

Таблица 3

Влияние добавок на рост и ацилазную активность микроорганизмов, % от контроля

Д о б а в к и	M. coeliacum		C. chevalieri	
	биомас- са	активность	биомасса	активность
Контроль	100	100	100	100
Этаноламин	157,4	205,1	140,0	82,4
Этаноламинфосфат*	100	203,0	150,5	220,0
Глицерофосфат*	146,0	130,5	110,6	10,0
Бета-хлорэтиловый эфир стеарино- вой кислоты*	241,0	60,0	220,4	51,6
Бета-оксиэтиламин*	124,2	292,2	100,5	275,0
Дрожжевой экстракт	100	100	145,8	120,4
N-ацетил-DL-аланин	120,1	10,5	100,0	0,2

* Синтезированы в Ереванском филиале ИРЕА Амирханяном М.

Таблица 4

Влияние источников азота на аланинацилазную активность микроорганизмов, % от контроля

Источники азота	C. tropicalis	S. carlsbergensis	M. coeliacum
Аммоний сульфат	100	100	
Глутаминовая кислота	100	99,2	100
Глутамин	198,0	130,4	110,2
Пролин	55,8	67,3	34,0
Аргинин	105,6	98,5	100,0
Орнитин	100,0	98,4	80,0
Цитруллин	115,5	115,0	100,0
Мочевина	100,0	104,6	86,6
Аммоний сульфат и n-гексадекан	170,4		

Данные табл. 4 показывают, что стимуляторами аланинацилазной активности у дрожжей являются глутамин и цитруллин, то есть соединения, которые способствуют накоплению в клетках общего азота, а значит и белка [7]. Стимулирование ацилазной активности у *C. tropicalis* КЗ-10 n-гексадеканом подтверждает то же самое. Таким образом, ацилазная активность возрастает вместе с возрастанием в клетках об-

щего количества белка и наоборот, о чем свидетельствует вариант с пролином—бедным источником азота. На фоне дрожжевого экстракта, как это имеет место у *M. coeliacum*, стимулирование активности фермента выражено менее ярко.

Итак, возможна регуляция аланинацилазной активности у дрожжей соединениями, влияющими на общий белковый обмен.

Субстратная и оптическая специфичность микробных ацилаз. Данные табл. 5 свидетельствуют о том, что все представленные здесь культуры обладают широкой субстратной специфичностью. Об этом же утверждают научные публикации относительно ацилаз, выделенных из других микроорганизмов [11, 16—19, 22]. Нельзя не заметить, что дрожжи более активны по отношению к аминокислотам лейциновой группы, а микобактерии—к метионину, валину и аланину.

Таблица 5

Субстратная и оптическая специфичность ацилазы дрожжей и микобактерий, (удельная активность, мкМ аминокислоты/г клеток/час)

Субстрат деацилирования	<i>C. chevalieri</i>	<i>S. carlsbergensis</i> 1173	<i>M. coeliacum</i>
Ацетил-DL-метионин	64,4	50,5	69,9
Ацетил-D-триптофан	0	12,0	0
Ацетил-DL-триптофан	9,0	32,0	21,2
Ацетил-D-фенилаланин	0	15,4	0
Ацетил-DL-фенилаланин	19,6	40,4	40,0
Ацетил-DL-валин	24,4	49,5	77,0
Ацетил-L-лейцин	72,0	51,6	следы
Ацетил-DL-норлейцин	56,0	60,2	6,6
Ацетил-DL-α-аланин	55,0	48,0	60,5
Бензоил-L-гистидин	0	30,2	18,5
Паранитробензоил-L-глутаминовая кислота	10,4	32,0	22,4

Дрожжи *Saccharomyces* отличаются от двух других культур менее строгой оптической специфичностью: они подвергают гидролизу ацил-D-аминокислоты. Можно предположить, что эта культура имеет несколько ацилаз, в том числе отдельные D- и L-, которые близки по свойствам и оказывают каталитическое действие при близком или одном и том же режиме. Во всяком случае эту культуру нельзя использовать для получения L-триптофана и L-фенилаланина.

Аланинацилазная активность иммобилизованных дрожжевых клеток. При помощи одного из продуцентов аланинацилазы из рода *Candida* нами были наработаны и получены в кристаллическом виде аминокислоты: метионин, аланин, валин, норлейцин. Все они были со 100% -ым содержанием L-формы.

В целях более эффективного использования каталитических свойств дрожжей были проведены исследования по возможности иммобилизации клеток дрожжей.

Первый способ, который мы применили для иммобилизации дрожжей, это включение в полиакриламидный гель. Процесс иммобилизации по методу Чибаты [19] представлен в табл. 6, которая приобрела свой окончательный вариант после исследований по изысканию опти-

мального количества биомассы, концентрации акриламида, величины гранул и др.

Второй метод, который мы применили для иммобилизации дрожжей, это инкапсулирование в полиамидные мембраны по методу Чанга [15].

В иммобилизованном состоянии клетки дрожжей сохраняют ацилазную активность продолжительное время. Так, в непрерывной системе с подачей субстрата через колодку, заполненную клетками, иммобилизованными в полиакриламидный гель, активность сохраняется 70, а в полиамидные капсулы—50 суток.

Т а б л и ц а 6

Схема процесса иммобилизации клеток микроорганизмов включением в полиакриламидный гель

Последовательность этапов	Компоненты	Концентрация	Количество, мл
I	Бактериальные или дрожжевые клетки в виде пасты N-ацетил-DL-α-аланин Фосфатный буфер, pH 7,0 Акриламид N,N'-метиленбисакриламид Тетраметилэтилендиамин Надсернокислый аммоний (строго соблюдать очередность компонентов)	0.2 М 0.01 М 38% 2,5% 5,0% 5,0%	1 г 0,1 1,0 2,8 0,5 0,5 0,5
II	Полимеризация в течение 30 мин при 37°		
III	Измельчение и продавливание блока геля через сито с размером отверстий 0,5 мм		
IV	Промывание полученных гранул полиакриламидного геля с включенными клетками декантацией водой до исчезновения мути		

На основании вышеприведенных данных можно рекомендовать иммобилизованные одним из испытанных методов клетки дрожжей в качестве продуцентов аланинацилазы и клетки микобактерий в качестве продуцентов метионинацилазы для получения соответственно L-аланина и L-метионина непрерывным деацилированием N-ацетил-DL-α-аланина и N-ацетил-DL-метионина.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 13.VII 1979 г.

ՄԻԿՐՈԲԱՅԻՆ ԱՅԻԼԱԶՆԵՐԻ ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄԸ ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ՕՊՏԻԿԱԿԱՆ ԱԿՏԻՎ ԶԵՎԻ ՍՏԱՑՄԱՆ ՀԱՄԱՐ

Ե. Ն. ՄԱԿԱՐՈՎՍ

Քննվում են ամինաթթուների ստացման համար միկրոբային աջիլազների կիրառման վերաբերյալ որոշ գրականության տվյալներ և սեփական փորձերի արդյունքները:

Ներկայացվում են իմոբիլիզացված շաքարասնկային բջիջների օգտագործման արդյունքները՝ DL-ալանինի օպտիկական հիդրոլիզի համար:

USE OF MICROBIAL ACYLASES FOR PRODUCTION OF OPTICALLY ACTIVE FORMS OF AMINOACIDS

E. N. MAKAROVA

Recent data and the results of own experimental investigations on the microbial acylases and their use for preparation of aminoacids have been discussed.

The results on the application of the immobilized yeast cells gel for the optical resolution of acetyl-DL- α -alanine have been reported.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аболинь Т. К. Управление микробным синтезом, 76, Рига, 1977.
2. Африкян Э. К. Микробиолог. синтез, 1, 1, 1967.
3. Африкян Э. К., Макарова Е. Н., Маршавина З. В., Асисян С. Г. Тез. 2-го Всесоюзного симпозиума. «Получение и применение иммобилизованных ферментов», 158, Абовян, 1977.
4. Кимура Ю., Африкян Э. К. Докл. АН СССР, 173, 4, 945, 1967.
5. Котова Г. А., Безбородов А. М. Получение аминокислот с использованием иммобилизованных ферментов. Обзор. серия 5, 33, М., 1978.
6. Лидере А. Ф., Зильбер А. М. Управление микробным синтезом. 66, Рига, 1977.
7. Макарова Е. Н. Микробиология, 42, 2, 260, 1973.
8. Макарова Е. Н., Мелконян А. Б., Балаян А. М., Маршавина З. В. Тез. 2-го Всесоюзного симпозиума. Получение и применение иммобилизованных ферментов, 102, 1977.
9. Орешина М. Г. Тез. 7-й конф. молодых ученых «Проблемы микробиологии и вирусологии», 107, Рига, 1977.
10. Патент ФРГ, № 1227855, 1968.
11. Хачатурян А. А. Тез. 5-го съезда ВМО, секция: Физиология микробов и техн. микробиология, 217, Абовян, 1975.
12. Хачатурян А. А., Африкян Э. Г. Биол. ж. Армении, 31, 8, 806, 1978.
13. Шаядас В. Ю., Галаев И. Ю. Тез. 2-го Всесоюзного симпозиума. «Получение и применение иммобилизованных ферментов», 119, Абовян, 1977.
14. Яковлева В. Н., Малофеева И. В., Купитская М. Б. Иммобилизованные клетки микроорганизмов, АН СССР, НЦБИ, ИБФМ, 118, Пущино, 1978.
15. Chang T. M., MacIntosh F. C., Mason S. G. Canadian J. Phys. a. pharm., 44, 1, 115, 1966.
16. Chibata I., Ishikawa T. Bull. Agric. chem. Soc. (Japan), 22, 4, 360, 1958.
17. Chibata I., Ktsumi M., Yamada Sh. Bull. Agric. chem. Soc., 22, 1, 25, 1958.
18. Chibata I., Ishikawa T., Tosa T. Bull. Agric. chem. Soc., (Japan), 24, 1, 37, 1960.
19. Chibata I., Tosa T., Sato T. Appl. microbiol., 27, 5, 878, 1974.
20. Greenstein J. P., Winitz M. Chemistry of the amino acids, 3, N. Y.—L. John Wiley a. sons inc, 1961.
21. Howard W. H., Clarence D. C. Biotechn. and Bioeng., 16, 11, 1537, 1974.
22. Ishikawa T., Tosa T., Chibata I. Agric. Biol. chem. (Japan), 26, 3, 194, 1962.
23. Jokote J. Agric. Biol. chem. (Japan), 39, 8, 1545, 1975.
24. Kato J., Ktsumi M., Chibata I. Appl. Microbiol., 23, 4, 758, 1972.
25. Mori T., Sato T., Tosa T., Chibata I. Enzymologia, 43, 4, 1972.
26. Ohmija K., Terao C., Shimizu S., Kobayashi T. Agric. Biol. chem. (Japan), 39, 2, 491, 1975.
27. Sato T., Tosa T., Chibata I. Arch. Biochem. a. Biophys., 147, 2, 1971.
28. Tosa T., Mori T., Fuse T., Chibata I. Agric. Biol. chem., (Japan), 33, 1947, 1969.
29. Tosa T., Mori T., Chibata I. Enzymologia, 40, 49, 1971.
30. Vogel R., McLellan W., Hirvonen A., Vogel H. Metabolic regulation. Acad. press. N. V.—L., 1971.
31. Werner K., Friedhelm S. Z. Physiol. chem., 356, 6, 915, 1975.
32. Yamamoto K., Tosa T., Jamashita K., Chibata I. Eur. J. Appl. Microbiol., 3, 169, 1976.
33. Jukio K., Tetsu H., Shoichi K., Juko K. Chem. a. pharm. Bull., 26, 9, 2698, 1978.
34. Jukio K., Tetsu H., Shoichi K., Juko K. Chem. a. pharm. Bull., 26, 9, 2705, 1978.

АЛАНИНАЦИЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ

Е. Н. МАКАРОВА, А. Б. МЕЛКОНЯН, Л. С. МАРКОСЯН

Дрожжевые клетки—продуценты аланинацилазы иммобилизованы инкапсулированием в полиамидные мембраны. Изучено влияние количества и физиологического состояния клеток, pH, концентрации и соотношения компонентов в полимеризационной смеси на активность, а также стабильность и механическую прочность полученных капсул. По аланинацилазной активности инкапсулированные дрожжевые клетки при температуре 37°, pH 7,0 и подаче субстрата 0,2 М как в периодическом, так и непрерывном процессах инкубирования не отличаются от нативных.

Метод иммобилизации ферментов микрокапсулированием в настоящее время широко применяется в производстве ароматических веществ, в бумажной и химической промышленности, в медицине. Известно несколько общих методов включения ферментов в полупроницаемые водонерастворимые оболочки: межфазной полимеризации и поликонденсации [7], двойного эмульгирования [3], разделения фаз испарением легколетучего растворителя [3]. В качестве пленкообразующего материала можно использовать целый ряд полимеров: поликарбонаты [4], 1,6-гексаметилендиамин [2, 9], триацетатцеллюлозу [8], фоточувствительную смолу [6] и др.

Среди большого количества публикаций, посвященных этому вопросу, очень мало работ по инкапсулированию интактных микробных клеток, особенно дрожжевых. Известно, что у микробных клеток в иммобилизованном состоянии ферментативная активность сохраняется, стабилизируется и проявляется в более широких пределах температуры и pH, что очень ценно при их практическом использовании. В связи с этим мы изучили возможность инкапсулирования дрожжевых клеток—продуцентов аланинацилазы и применения их в таком виде для непрерывного оптически направленного гидролиза N-ацетил-DL-аланина [1].

Материал и методика. В качестве продуцента аланинацилазы была использована культура дрожжей рода *Candida*, выращенная в синтетической глюкозосодержащей среде; состав питательной среды и условия выращивания опубликованы ранее [5].

Для инкапсулирования клеток дрожжей за основу был взят метод микрокапсулирования ферментов [7]. В результате проведенных нами предварительных исследований по изысканию оптимальных условий применения метода и его модификации отработана схема инкапсулирования интактных клеток дрожжей (табл. 1).

Количество включившихся в капсулы клеток определялось по разнице их исходного и оставшегося в реакционной смеси и в промывных водах после промывки капсул количества.

Таблица 1

Схема процесса инкапсулирования дрожжевых клеток

Этап	Компоненты	Концентрация	Количество, мл
1	Дрожжевые клетки (паста)	0,3 г/мл	5
	Полиэтиленполиамин	1,5 ⁰ / ₀	5
	Хлороформ—циклогексан	1:1	5
	Дихлорангидрид себацнновой кислоты	2 ⁰ / ₀	5
2	Встряхивание при максимальной скорости на магнитной мешалке в течение 4—5 мин		
3	Прекращение реакции поликонденсации добавлением избыточного количества смешанного раствора и предотвращение слипания капсул приливанием равного объема 50 ⁰ / ₀ -го раствора твин-20		
4	Центрифугирование при 10000 об/мин 5 мин и промывание капсул попеременно водой и этанолом		

Аланинацилазную активность проверяли по реакции деацилирования N-ацетил-DL-аланина свободными или иммобилизованными клетками дрожжей. Инкубационная смесь: 100 мг клеток, 2 мл 0,2 М раствора субстрата в 0,1 М фосфатном буфере, рН 7,0. Инкубирование при 37°, 2 часа. Активность выражали в мкМ образовавшегося L-α-аланина/г клеток/час.

Результаты и обсуждение. С целью подбора оптимального количества клеток, необходимого для инкапсулирования, было испытано 5 концентраций клеток: 10, 20, 30, 50 и 100 мг/мл. При низкой концентрации их (табл. 2) в реакционной смеси происходит моментальное скле-

Таблица 2

Включение клеток в капсулы и их аланинацилазная активность

Количество биомассы, мг сырого веса/мл	% включения клеток в капсулы	Активность, мкМ L-α-аланина/мл/час
10	90—95	капсулы не образовались
20	90—92	
30	80—84	66,2
50	80	69,0
100	75—84	77,5

ивание капсул в один комок; при концентрации, превышающей 20 мг/мл, образуются хорошо оформленные капсулы. Ацилазная активность последних достаточно высока, однако отсутствует ярко выраженная корреляция между активностью и количеством инкапсулированных клеток. Это говорит о том, что ферментативная активность капсул определяется лишь клетками, находящимися в пристенном слое мембран.

Из табл. 2 видно также, что в капсулы включается в среднем 80% клеток, а 20%—остается в промывных водах; чем ниже концентрация клеток, тем полнее включение.

Изучено влияние рН субстрата от 4,0 до 9,0 на деацилирование ацилаланина инкапсулированными клетками дрожжей. Данные табл. 3 свидетельствуют о том, что реакция активно протекает в широком интервале рН 5,0—8,0, но оптимальным является рН 7,0.

Таблица 3

Влияние значения рН реакционной смеси на ацилазную активность инкапсулированных клеток дрожжей (18 час.)

Значение рН	Активность, мкМ L-α-аланина/г клеток/час
4,0	3,7
4,5	18,6
5,0	22,0
6,0	26,2
7,0	29,5
8,0	27,0
8,5	12,3
9,0	2,0

Таблица 4

Влияние температуры инкубирования на ацилазную активность инкапсулированных клеток дрожжей

Температура, °С	Активность, L-α-аланин, мг/мл		
	2 час.	5 час.	18 час.
32	0,25	1,2	2,8
37	0,77	2,8	5,5
41	1,00	1,7	3,9
50	1,60	2,0	3,0

Зависимость активности инкапсулированных клеток дрожжей от температуры определялась в условиях периодического инкубирования при 32, 37, 41 и 50°. Данные табл. 4 показывают, что оптимальной температурой через 2 часа инкубирования является 50°, но уже через 5 час. наблюдается ингибирование реакции деацилирования повышенной температурой и оптимальной является 37°. При 32° активность клеток дрожжей заметно понижена.

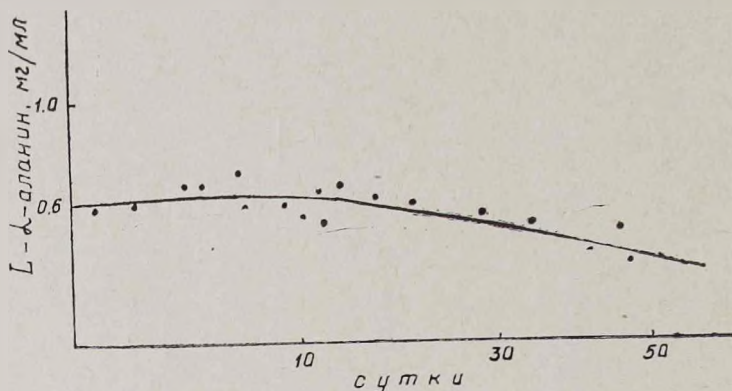


Рис. Активность колонки с инкапсулированными клетками дрожжей при непрерывном деацилировании ацилаланина.

В условиях непрерывного деацилирования субстрата был проведен длительный опыт в колонке размером 12×1,5 см при 37° с 5 г инкапсулированных клеток дрожжей. Через колонку пропускали 0,02 М раствор ацилаланина, рН 7,0, со скоростью 5—6 мл/час. Активность колонки измеряли периодически по объему проходившего раствора и содержанию в нем L-аланина. В этих условиях активность сохранялась

продолжительное время. Разброс точек на кривой (рис.) свидетельствует о том, что скорость протекания субстрата на протяжении опыта не была постоянной. При общей продолжительности опыта 50 суток активность колонки снизилась почти на 50%.

Из рис. также видно, что отсутствует индукционный период, который при использовании дрожжей, иммобилизованных в полиакриламидный гель, продолжается 4—5 суток. Это говорит о том, что инкапсулированные в полиамидные мембраны клетки ведут себя как свободные. Об этом свидетельствует и одинаковая активность свободных и инкапсулированных клеток—в среднем 100 мкМ/г клеток/час.

Следовательно, иммобилизация дрожжевых клеток инкапсулированием в полиамидные мембраны позволяет получать капсулы размером 0,1—1 мм, которые обладают прочностью и стабильностью. При периодическом инкубировании они сохраняют первоначальную активность при многократном повторном использовании после промывки, а при непрерывном—она сохраняется в течение 50-ти суток.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 12.VII 1979 г.

ՆԵՐԱԳՊՈՒԼԱՅՎԱԾ ՇԱՔԱՐԱՍՆԿԱՅԻՆ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԱՄԻՆԱՑԻԼԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ե. Ն. ՄԱԿԱՐՈՎԱ, Ա. Բ. ՄԵԼԵՈՆԻԱՆ, Լ. Ս. ՄԱՐԿՈՍԻԱՆ

Ալանինացիլազի պրոդուցենտ շաքարասնկերի բջիջները ներառվել են պոլիամիդային կապսուլների մեջ, Հետադոսովել են բջիջների քանակի, ֆիզիոլոգիական վիճակի, pH-ի և պոլիմերիզացիոն խառնուրդի բաղադրիչների կոնցենտրացիայի փոխհարաբերության ազդեցությունը ներկապսուլացված բջիջների ալանինացիլազային ակտիվության վրա: Ուսումնասիրվել են նաև ստացված կապսուլների կայունությունը, մեխանիկական ամրությունը:

Հաստատված է, որ ներկապսուլացված և նատիվ շաքարասնկային բջիջների ացիլազային ակտիվությունը չի տարբերվում ինկուբացիայի հետևյալ պայմաններում: ջերմաստիճանը՝ 37, pH-ը 6,0—8,0, սուբստրատի քանակը՝ 0,05—0,2M: Սուբստրատի տրանսֆորմացիայի անընդհատ պրոցեսը տե-վում է 50 օր:

ALANINEACYLASE ACTIVITY OF THE INCAPSULATED YEASTS

E. N. MAKAROVA, A. B. MELKONIAN, L. S. MARKOSIAN

The incapsulation of yeast cell producing alanineacylase has been achieved by the use of polyamides. Immobilized and incapsulated yeast cells maintain their alanineacylase activity during 50 days under pH 6,0—8,0, 37° in continuous as well as periodic flow of substrate at concentrations of 0,05—0,2 M.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Африкан Э. К. Микробиол. синтез, 1, 1, 1967.
2. Айсина Р. Б., Казанская Н. Ф., Лукашева Е. В., Березин И. В. Биохимия, 41, 9, 1656, 1976.
3. Донцова Г. И., Гнутова Н. М. Перспективы микрокапсулирования ферментов для медицинских целей. 7, М., 1977.
4. Лукашева Е. В., Айсина Р. Б., Грачева И. И., Казанская Н. Ф., Березин И. В. Биохимия, 42, 11, 2013, 1977.
5. Макарова Е. Н. Микробиология, 42, 2, 260, 1973.
6. Патент Японии. № 52-143279, 1977.
7. Chang T. M. S., MacIntosh F. C., Mason S. G. Canadian j. physiol. a. pharm., 44, 1, 115, 1966.
8. Charles M., Collighlin R. W., Tedman R., Beard K. W. Biotechnol. a. Bioeng., 16, 11, 1549, 1974.
9. Mori T., Sato T., Matuo Y., Tosa T., Chibata I. Biotechnol. a. Bioeng., 14, 663 1972.

СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ
ДВИГАТЕЛЬНОГО АКТА В ЦЕЛЕНАПРАВЛЕННОМ ПОВЕДЕНИИ
(Методологические и экспериментальные аспекты)

Г. Е. ГРИГОРЯН

Теоретическое и экспериментальное исследование структурных основ условных рефлексов и узловых этапов функциональных систем двигательного акта в целенаправленном поведении различного характера и сложности решения двигательных и логических задач показало, что системный подход с позиции мультипараметрического анализа поведения и среды является более адекватным и перспективным.

Приступая к экспериментальной разработке естественно-научных основ «душевной деятельности» высших животных, И. П. Павлов отмечал: «...в сущности интересует нас в жизни только одно: наше психическое содержание» [12]. Для решения этой задачи необходимо было найти такое «элементарное психическое явление» организма, которое целиком, с полным правом могло бы считаться вместе с тем «чистым физиологическим явлением». И, изучая строго объективно условия его возникновения и развития, получить объективную физиологическую картину всей высшей нервной деятельности (ВНД) животного. Это явление, как известно, было найдено и обозначено термином условный рефлекс (УР) или временная нервная связь. По представлению И. П. Павлова, временная связь как универсальнейшее физиологическое явление вместе с тем и психическое, то, что психологи называют ассоциацией. «Здесь,—считал он,—имеется полное слитие, полное поглощение одного другим, отождествление» [12].

Рефлекторный принцип, лежащий в основе павловской концепции ВНД, учитывает прежде всего зависимость этой деятельности от внешней среды, обусловленность ее внешней причиной (аналитический каузаллизм). И в этом смысле рефлекторная теория является фундаментальным достижением в материалистическом понимании психической деятельности человека. Однако на этой основе невозможно, к сожалению, удовлетворительно объяснить сложные самоуправляемые формы поведения [2, 6, 13]. Такие категории активно-приспособительной деятельности, как «цель», «принятие решения», «поиск», направляемый внутренней потребностью (мотивацией) организма, «целесоуществление», «оценка» результатов совершенных действий и т. д., которые определяют все наше разумное поведение, не имеют своих эквивален-

тов в схеме УР. Эти моменты, по крайней мере, не входят непосредственно в понятие рефлекса и не нашли своего отображения в самой логике рефлекторной теории [2, 13].

Отмеченные выше психологические феномены отражают процессы, относящиеся не только к центральной нервной системе и к поведенческому акту, но и к организму в целом. А такие нейрофизиологические процессы, как условное возбуждение и торможение, двусторонность временных связей, доминанта, конвергенция возбуждений и многое другое представляют собой частные процессы. Последние характеризуют общее функциональное состояние клеточных популяций различных центров или отделов мозга, являясь средствами достижения интеграции, но не объясняют самую интеграцию в масштабе целого организма, ибо она как принцип должна получить четкую физиологическую архитектуру со всеми ее узловыми механизмами, присущими только ей и не присущими ее частям [2, 6]. Следовательно, естественный ход развития научного мышления, стратегии привел к тому, что при аналитическом подходе к изучению поведения глобальные психические процессы сопоставлялись с частными нейрофизиологическими процессами. Иначе говоря, ученые о ВНД в трактовке физиологических механизмов психики исходило из традиционного представления о тождестве УР и поведения. Предполагается, что «...именно в этом пункте появилась возможность исключить психическое из анализа поведения, так как психика— это нечто «сверх» суммы чисто нервных функций, а потому, казалось, и «сверх» поведения» [15].

При дальнейшем исследовании проблемы локализации УР многие ученые [1, 3, 14], рассматривая замыкательные, анализаторные и пусковые механизмы различных отделов мозга (подвергаемых удалению или разрушению) и ограничиваясь описанием состояния условно- и безусловно-рефлекторной регуляции собственно двигательной активности животного, оставили, к сожалению, без должного внимания вопрос о возможной роли изучаемых ими структур мозга в психической функции.

Таким образом, несоответствие между сложностью объекта исследования и средствами классического анализа привело к необходимости принципиально нового—системного подхода к исследованию поведения, нашедшего свое воплощение в теории функциональных систем [2]. Большая эвристическая сила этой теории заключается в том, что она преодолевает недостаточность рефлекторного принципа, исходя в своих концептуальных построениях из единства внутренней активности организма и целенаправленности его поведения и вместе с тем обусловленности его внешней средой [13].

Следует, однако, заметить, что сама теория функциональных систем (ФС) возникла не на голом месте. Она выросла из самой рефлекторной теории, являясь дальнейшим ее развитием—синтетическим этапом исследования ВНД.

Как новый логический уровень познания законов формирования поведения, концепция ФС объединяет в себе каузально-аналитический и системный (вероятностный) подходы в изучении как УР, так и поведения различных характера и сложности. В этом и универсальность теории ФС и «внутренней операциональной архитектоники» самой ФС как единицы интеграции функций целостного организма, по принципам которой формируются любые поведенческие акты, заканчивающиеся полезным приспособительным результатом. С этой точки зрения для системного анализа поведения (в отличие от аналитического) адекватна постановка вопроса: почему и как выполняет животное заученное движение, вместо что может, а что не может, при дефиците сенсорной информации, т. е. насколько эффективно удовлетворяется конкретная потребность животного в данной ситуации при тех или иных структурных недостатках мозга; иначе говоря, встает вопрос об оценке качества достигнутого результата действия. Этот важнейший аспект поведения, к сожалению, не учитывался многими исследователями до последнего времени при разработке проблемы структурных основ поведения. Это и естественно, поскольку понятие УР классического типа не предполагает результат—главный организующий фактор ФС поведенческого акта.

Изучение структурных основ приобретенных форм индивидуального поведения с позиции теории ФС и «мультипараметрического анализа поведения и информационной среды» [4, 6] позволило вскрыть ряд новых сторон в функции спинального, таламического и коркового отделов двигательного анализатора, неспецифической системы таламуса, неостриатума, адreno- и холинореактивных структур и других образований мозга. Показано, что принципы организации ФС поведенческого акта являются основой интегративной деятельности указанных структур. Но вместе с тем различная степень локализации предполагаемых морфо-функциональных предпосылок построения УР и ФС поведения в разных звеньях систем анализаторов, мотивации и конечных путей позволяет предполагать неодинаковую ответственность мозговых структур в решении двигательных и логических задач. В этой связи кажется не случайной превалирующая роль именно ассоциативных структур коры (собственно лобные поля, моторные области, вторая соматосенсорная зона и др.), таламической неспецифической системы, стриарных ядер и других образований в выполнении логических программ: «принятие решения» к целенаправленному поведению и «оценка» результатов совершенных действий. Большая емкость гетеросенсорной и сенсорно-биологической конвергенции нейронов этих структур мозга является, вероятно, одной из возможных предпосылок, определяющих их значимость в процессах построения собственно логических программ поведения.

У собак без моторных областей неокортекса или с разрушенными неспецифическими ядрами таламуса (вентральное переднее, парафасцикулярное, ретикулярное и др.) формирование структур временных

связей в двигательном УР «простой побежки» происходит практически в те же сроки тренировки, что и у интактных животных (в первом же опыте после 3—5-ти подкреплений). Однако значительно затрудняется процесс становления ФС поведенческого акта с активным выбором стороны пищевого подкрепления (опыты с двумя кормушками), осуществляемого в условиях неопределенности появления соответствующих сигналов. Медленно протекают также процессы коррекции ошибок и дифференцирования положительных условных раздражителей, особенно у животных с двусторонним удалением медиальных таламических ядер. Эти данные свидетельствуют о недостатках в механизме афферентного синтеза, сличения опережающего комплекса возбуждений с информацией о реально полученных результатах, а также нарушений процессов «принятия решения» к целенаправленному действию. Опыты с отсроченным выбором показали, что у таламотомированных животных ослабевает и функция аппарата краткосрочной условнорефлекторной памяти—сокращается время отсрочки. На основе сравнительного исследования роли специфических и неспецифических ядер таламуса было установлено, что неспецифические структуры более ответственны за построение и реализацию собственно логических программ ФС целенаправленного поведения, чем специфические релейные ядра таламического отдела двигательного анализатора. Складывается впечатление, что одновременное функционирование обеих моторных областей неокортекса и медиальных ядер зрительных бугров является важным условием, обеспечивающим пространственное различение и синтез гетеромодальных пусковых и обстановочных сигнальных возбуждений, а также выбор направления действия.

Аналогичные данные были получены в опытах с аминазиновой и атропиновой блокадой адreno- и холинореактивных структур ретикулярной формации и десимпатизацией мозга. При максимуме действия препаратов (1—1,5 и 0,05—0,1 мг на кг соответственно через 45 и 15 мин после введения) УР локального избегания болевого раздражения оказались полностью утраченными. В свободной обстановке простая ориентированная побежка к кормушке осуществлялась так же успешно, как и в контрольных опытах. Однако пробы с активным выбором показали явные нарушения в ВНД—снижение на 35—40% точности выполнения заученной ранее программы—выбора адекватно сигнализируемой стороны подкрепления (рис.). Таким образом, адreno- и холинореактивные структуры ретикулярной формации мозга, по всей вероятности, также участвуют в формировании логических процессов ФС пищевого целенаправленного поведения.

Об определенном градиенте чувствительности разных функциональных параметров двигательных УР и психической деятельности свидетельствуют также эксперименты с удалением стриарных образований мозга. Односторонняя каудатэктомия у собак избирательно блокировала временную связь в локальных УР избегания и пищедобывания контралатеральной конечности. В то же время общедвигательно-пищедо-

бывательные УР (побежка к кормушке), выработанные на те же сигнальные стимулы, продолжали реализовываться без заметных изменений. Предъявление более сложной программы действия (опыты с двумя кормушками) выявило, однако, существенный дефицит в правильности выбора стороны пищевого подкрепления. Значительно увеличилось число ошибочных реакций (до 70%), хотя двигательные УР к одной и другой кормушке сохранились полностью. После выравнивания отмеченных недостатков пробы с отсроченным выбором продолжали еще

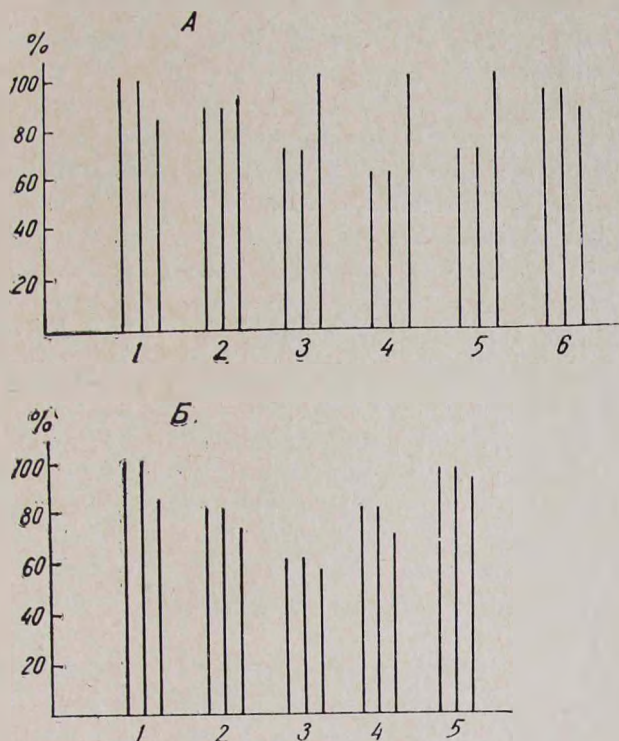


Рис. Влияние адрено- и холиноблокаторов на активный выбор стороны подкрепления. А—опыт с аминазином (1 мг на кг внутримышечно). По оси ординат—величина правильных ответов. В каждой тройке столбиков: левый—выбор левой кормушки на тон 400 гц, средний—выбор правой кормушки на тон 1000 гц, правый—дифференцирование положительных сигналов. 1—контроль, 2—через 15 мин, 3—30 мин, 4—45 мин, 5—3 час, 6—на следующий день после введения аминазина. Б—опыт с атропином (0,05 мг на кг подкожно). 1—контроль, 2—через 15 мин, 3—25 мин, 4—3 час., 5—на следующий день после введения атропина. Остальные обозначения те же.

выявлять серьезные нарушения в функции аппарата памяти, выражающиеся в сокращении времени отсрочки по сравнению с контрольными данными.

Таким образом, полученные факты позволяют заключить, что роль подкорковых образований мозга в организации двигательного акта в целенаправленном поведении нельзя свести лишь к механизму поддержания бодрого состояния коры мозга посредством активирующего влия-

нения, как это нередко постулируется в литературе. Такое представление соответствует классической концепции локализации временной связи, согласно которой замыкательная способность является прерогативой лишь неокортекса. Если стать на эту точку зрения, то следует признать, что в коре (и только в коре) существуют специальные, анатомически обособленные аппараты интеграции произвольной деятельности самого различного характера и сложности. Однако такая трактовка вопроса противоречит, прежде всего, фундаментальным закономерностям эволюции замыкательной и интегративной функции центральной нервной системы [10, 11]. Она, кроме того, не укладывается в представление об организации и деятельности мозга как системы в построении целенаправленного поведения [4—9]. Если даже признать за подкорковыми структурами мозга только «энергизирующую» функцию, то сразу же возникнут трудности в понимании механизмов нарушений ФС поведения при отмеченных поражениях мозга. В самом деле, почему центрально деафферентированная кора у одной и той же особи после таламо- или каудотомии либо выключения адрено- и холиноэргических структур мозга, а также после рассечения таламо-кортикальных систем связей двигательного анализатора по одним параметрам УР или ФС практически оказывается полноценной, а по другим — менее полноценной или же вовсе недеятельной?

Вышеприведенные данные и теоретические положения позволяют допустить, что причины временных, но столь разнообразных нарушений узловых механизмов ФС целенаправленного поведения связаны, очевидно, не только и не столько со снижением общей функциональной активности коры, сколько с дезорганизацией выработанных межцентральных координаций структурных элементов «внутренней операционной архитектуры» данной ФС.

Сравнительный мультипараметрический анализ структурных основ УР и ФС поведенческого акта позволил выявить, так сказать, многопрофильность специализации и в то же время некоторую общность организации интегративной функции изученных нами структур мозга. Они проявляются как в условнорефлекторной регуляции собственно двигательной активности животного, так и в формировании и выполнении некоторых элементарных форм рассудочной деятельности. Но для выявления причастности мозговых структур к решению логических задач контроль за состоянием только условнорефлекторной двигательной реакции животного не достаточен. Иными словами, методы выработки классических и простых оперантных форм УР не в состоянии выявить в полной мере психические функции мозга и организма в целом, поэтому они малорезультативны в решении подобных задач.

Сравнительный мультипараметрический анализ поведения показал неодинаковое структурное и нейрохимическое обеспечение механизмов центральной интеграции УР и ФС поведенческого акта различного моторного, мотивационного проявления и решения логических задач разной сложности; УР является, действительно, частным случаем опе-

рациональной архитектоники ФС поведения, которая является универсальной закономерностью как для сложных функций мозга, так и элементарных жизненных процессов организма.

Экспериментальный и теоретический анализ УР и ФС поведенческого акта подтверждает справедливость концепции [4, 9] о мультипараметризации поведения и информационной среды как о фундаментальном и перспективном тактическом средстве адекватной оценки структурных, функциональных и нейрохимических основ приобретенных форм поведения.

Институт зоологии АН АрмССР

Поступило 17.I 1979 г.

ՆՊԱՏԱԿԱՍԼԱՑ ՇԱՐԺՈՒՄՆԵՐԻ ՍՏՐՈՒԿՏՈՐԱՅԻՆ ԿԱԶՄՈՒԹՅԱՆ ՍԻՍՏԵՄԱՅԻՆ ԱՆԱԼԻԶԸ

Գ. Ե. ԳՐԻԳՐԻԱՆ

Կատարված փորձերը հիմք են տալիս եզրակացնելու, որ զլխուղեղի ենթակեղևային մի շարք գոյացութայիններ մասնակցում են ինչպես ժամանակավոր ներվային կապերի մշակման, այնպես էլ «ֆունկցիոնալ սիստեմների» հանգուցային մեխանիզմների կազմավորման գործում: Մասնավորապես ցույց է տրված, որ կեղևի շարժողական կենտրոնները, թալամուսի ոչ սպեցիֆիկ ներվային զանգվածները, ստրիատումը մասնակցում են ոչ միայն մկանային շարժումների կարգավորման գործում, այլև որոշակի դեր են կատարում բարձրագույն կենդանիների տրամաբանական պրոցեսներում:

SYSTEM ANALYSIS OF STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE MOTOR ACTS IN SINGLE-MINDED BEHAVIOUR

G. E. GRIGORIAN

The comparative investigations of structural principles of conditioned reflexes and main stages of functional system has been carried out. It has been established that some cortical and subcortical structures of the brain participate as in organization of motor activity as well as in some elementary „logical functions“ of higher animals.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Адрианов О. С. Физиология высшей нервной деятельности. 40, М., 1970.
2. Анохин П. К. Очерки по физиологии функциональных систем. М., 1975.
3. Асратян Э. А. Физиология центральной нервной системы. М., 1953.
4. Григорян Г. Е. Биолог. ж. Армении, 26, 40, 1973.
5. Григорян Г. Е. Биолог. ж. Армении, 28, 21, 1975.
6. Григорян Г. Е. Журн. exper. и клинич. медицины, 17, 5, 1977.
7. Григорян Г. Е. XXV совещ. по пробл. высш. нервн. деят., 2, 37, Л., 1977.

8. Григорян Г. Е. Физиологические механизмы движений. 101, Ереван, 1978.
9. Григорян Г. Е. Мат-лы Междунар. симп. по пробл. локализации и организации церебральных функций, 51. М., 1978.
10. Карамян А. И. Функциональная эволюция мозга позвоночных. Л., 1970.
11. Орбели Л. А. Избр. тр. 1, Л., 1961.
12. Павлов И. П. Полное собр. трудов, 3, стр. 56 и 561. М.—Л., 1949.
13. Сержантов В. Ф. Успехи физиол. наук, 4, 3, 1973.
14. Суворов Н. Ф. Стриопаллидарная система. 3, Л., 1973.
15. Швырков В. Б. Теория функциональных систем в физиологии и психологии. 14, М., 1978.

ОСОБЕННОСТИ ИОННОГО ОБМЕНА У *ESCHERICHIA COLI*

С. С. ДУРГАРЬЯН

Показано влияние температуры гипертонического отмывочного раствора на последующее перемещение ионов калия через мембраны *E. coli*. Скорость пассивного выхода ионов калия прямо пропорциональна возрастанию его концентрации во внешней среде. Скорость глюкозозависимого поглощения ионов калия почти в три раза превышает максимальную скорость пассивного истечения. Длительная припикубация бактерий в среде без глюкозы ведет к слиянию первой и второй фаз поглощения ионов калия. В щелочных средах с рН, превышающих 9,0, наблюдается секреция протонов, поглощение катионов тетрафенилфосфония и удержание ионов калия клетками *E. coli* в отсутствие источников энергии. Результаты позволяют предположить, что процессы ионного обмена у *E. coli* связаны не только с деятельностью протонно-калиевого насоса.

Экспериментально показано, что от осмотического давления внешней среды зависят как скорость поглощения ионов калия бактериями *E. coli*, так и их внутриклеточное содержание [10, 15]. Поглощение ионов калия клетками *E. coli* в щелочных средах происходит в две фазы [1]. Первая фаза энергозависимого поглощения осмочувствительна: ее длительность, а также количество поглощенного в этот период калия прямо пропорциональны величине положительного осмотического шока [7]. При отрицательном осмотическом шоке первая фаза поглощения сменяется фазой выхода ионов калия, несмотря на наличие глюкозы в экспериментальной среде, а количество вышедшего калия тем больше, чем сильнее отрицательный осмотический шок [3, 7]. В то же время поглощения ионов калия у *E. coli* при положительном осмотическом шоке не наблюдается, а наоборот, имеет место истечение калия из клеток, если в инокулированной среде нет источника энергии [4]. В предыдущих работах изучалось влияние внешних факторов на характер поглощения ионов калия у *E. coli* [4, 8]. Определялось количественное соотношение потоков ионов водорода и калия, чувствительных к N,N'-дициклогексилкарбодиимиду. На основе этих данных была предложена модель осморегулируемого электрогенного протонно-калиевого насоса [5, 9]. В настоящую статью вошли результаты экспериментов, полученные нами в процессе изучения ионного обмена у *E. coli*. Некоторые из них еще не нашли полного объяснения и именно поэтому представляют самостоятельный интерес.

Материал и методика. Методика выращивания клеток *E. coli* K-12 (Δ), подготовки их к опыту, измерения активности H^+ и K^+ катионселективными электродами и величины мембранного потенциала по распределению тетрафенилфосфония (ТФФ $^{+}$) описана ранее [2, 3, 5, 7].

Результаты и обсуждение. Колебание температуры ростовой среды для *E. coli* в пределах от 22° до 30° не оказывает влияния на катионное содержание клеток [10]. Однако быстрое охлаждение бактерий может вызвать сильное изменение внутриклеточного состава. Предполагается, что при изоосмотическом холодном шоке происходит кристаллизация растворимых липидов внутри мембраны, что способствует всплыванию гидрофильных каналов, облегчающих истечение накопленных субстратов из клеток [14].

Изучение проницаемости мембран у *E. coli* на основе анализа содержания ионов калия в клетках проводилось в широком диапазоне температур от 0° до 45°. Показано, что чувствительность бактерий к изменению температуры окружающей среды более вариабельна при переходе от штамма к штамму и от культуры к культуре, чем осмочувствительность [10, 12, 13]. Ледер исследовал одновременное воздействие температурного и осмотического шоков на клетки *E. coli* и установил, что гиперосмотическая отмывка бактерий предохраняет их от холодного шока, т. е. отмывка бактерий при низких температурах растворами высокой тоничности способствует удержанию накопленных клеткой субстратов [14].

Воздействие холодной отмывки бактерий на выходящий поток калия проявляется при сопоставлении результатов, приведенных на рис. 1.

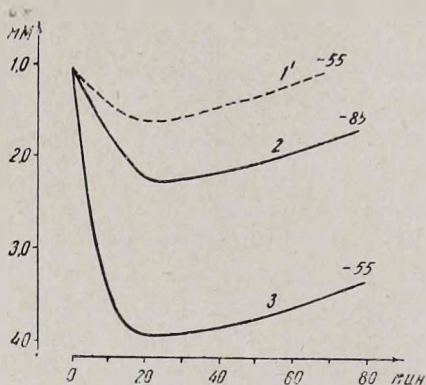


Рис. 1. Влияние охлаждения бактериальной суспензии на выходящий поток калия. 3—бактерии отмывались 400 мМ раствором сахарозы при 3—5°. 2—бактерии отмывались в 430 мМ растворе сахарозы при комнатной температуре. 1'—отмывка бактерий в 400 мМ растворе сахарозы при комнатной температуре. Активность калия в экспериментальной среде 1 мМ, рН 8,2, содержание глюкозы 50 мМ.

В первом случае (кривая 3) клетки *E. coli* в процессе отмывки в гипертоническом растворе сахарозы осаждались центрифугированием при низкой температуре (3—5°). После перенесения бактерий в экспериментальную среду с меньшей тоничностью (345 мосМ) при 37°, т. е. при одновременном создании температурного и отрицательного осмотического (—55 мосМ) шоков, в течение первых 10—15 мин ионы калия с очень высокой скоростью покидают клетки. Во втором случае (кривая 2) клетки подвергались большему отрицательному осмотическому шоку

(—85 мосМ), но вся процедура подготовки бактерий велась при комнатной температуре.

При положительном осмотическом шоке, но в отсутствие источника энергии наблюдается замедляющийся со временем выход ионов калия из клеток (рис. 2). Уменьшение скорости истечения ионов калия прямо пропорционально возрастанию его концентрации во внешней среде. Такая линейная зависимость свидетельствует о пассивном характере наблюдаемого процесса. Очевидно, выход ионов калия является след

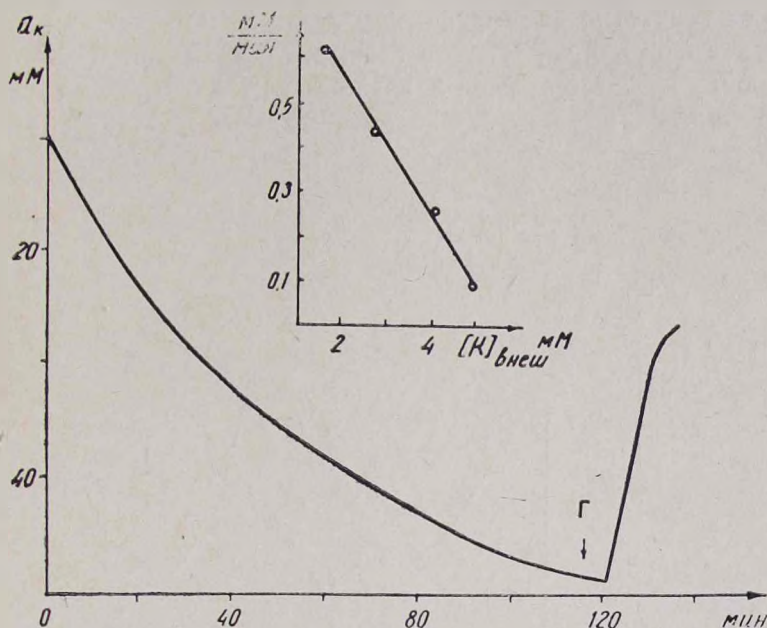


Рис. 2. Сравнение скоростей пассивного и глюкозозависимого переносов ионов калия. Г—добавка глюкозы, рН среды 7,95.

ствием большого концентрационного градиента и приблизительно к сотовой минуте почти полностью прекращается, что обусловлено, вероятно, выравниванием концентраций свободного калия внутри и снаружи клетки (5 мМ). Расчетная величина внутриклеточной концентрации калия в нулевой момент времени по количеству вышедшего калия равна 1250 мМ. Эта цифра в несколько раз превышает встречающиеся в литературе данные, равные ~250 мМ [6, 10].

Причины такого расхождения, вероятнее всего, связаны с самим способом определения $[K]_{\text{внутр}}$. В наших расчетах использовалась концентрация бактерий, определяемая методом высева на твердые питательные среды с последующим подсчетом колоний [4]. Известно, что не все клетки в популяции жизнеспособны, т. е. могут образовывать колонии на питательной среде. В общее число клеток входят также мертвые или поврежденные клетки (сферопласты), не поддающиеся учету при применении этого метода.

Как видно из рис. 2, добавка глюкозы вызывает поглощение калия, составляющее в пике около 2 мМ, при этом внутриклеточное содержание калия возрастает, по нашим оценкам, до 700 мМ. Скорость энергозависимого поглощения ионов калия на участке кривой в интервале 120—130 мин почти в три раза превышает максимальную скорость пассивного выхода.

Уместно напомнить, что после введения глюкозы перемещение ионов калия с такой высокой скоростью происходит против концентрационного градиента, что подтверждает гипотезу активного переноса K^+ через бактериальную мембрану [5, 9, 11].

При сравнении характера поглощения ионов калия бактериями, получившими глюкозу через 25 и 125 мин после инокуляции среды, обнаруживается сглаживание перехода первой фазы во вторую (рис. 3).

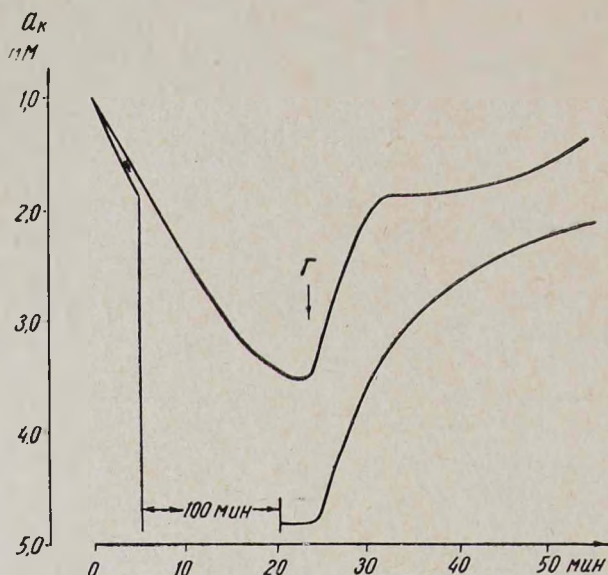


Рис. 3. Изменение характера перехода первой фазы поглощения ионов калия во вторую. Положительный осмотический шок 420 мосМ, рН 7,8, активность калия 1 мМ, Г—добавка глюкозы.

В серии опытов, в которых глюкоза вводилась через 20—80 мин, аппликация ее вызывает немедленную секрецию протонов, тогда как начало поглощения ионов калия несколько запаздывает. Время задержки, определенное по семи опытам, в среднем равно 1 мин (рис. 4а). В контрольных измерениях установлено, что в тех же условиях добавка разбавленной соляной кислоты вызывает одновременное изменение показаний электродов, исключающее приборную ошибку (рис. 4б).

При истощении запаса энергии во внешней среде секреция кислоты у *E. coli* прекращается и ионы калия начинают покидать клетки. В ще-

лочных средах (рН 7,2—8,0) после завершения гликолиза рН раствора не меняется. Если же в момент истощения запаса глюкозы рН окружающей среды лежит в области 6,0—6,5, то наблюдается защелачивание экспериментального раствора, т. е. имеет место перенос ионов водорода через бактериальную мембрану внутрь клетки. При повторной аппликации глюкозы можно опять наблюдать закисление среды.

Считается, что у *E. coli* внутриклеточное значение рН поддерживается на уровне 7,6—7,8 [16]. Таким образом, в кислых средах создается трансмембранный градиент рН порядка 1,0—2,0 единиц рН, и ка-

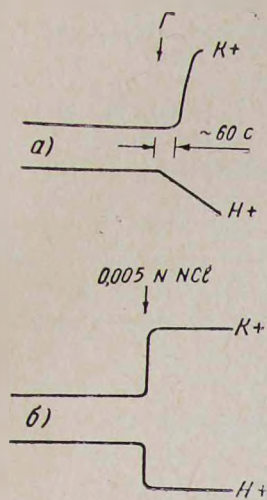


Рис. 4.

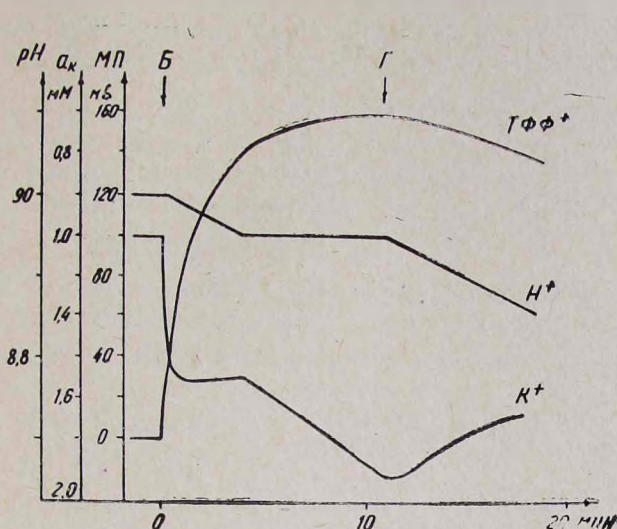


Рис. 5.

Рис. 4. Задержка начала поглощения ионов калия относительно секреции протонов после введения глюкозы (Г): а. эффект запаздывания. б. контроль.

Рис. 5. Кинетика ионного обмена у *E. coli* в щелочной среде (рН 9,0). Активность калия 1 мМ, Б—добавка бактерий, Г—добавка 20 мМ глюкозы.

жется вполне естественным пассивный вход протонов в клетку по концентрационному градиенту. Интересно, что этот процесс нами ни разу не наблюдался в начале опыта. Сравнение потоков ионов входящего водорода и выходящего калия не дает устойчивого количественного соотношения, но обычно $\bar{J}_{H^+} \gg \bar{J}_{K^+}$. А скорость защелачивания среды приблизительно в 2—3 раза меньше скорости секреции протонов при гликолизе.

Когда начальное значение рН наружной среды близко к 9,0, то ионы водорода могут секретироваться клеткой в окружающую среду и при отсутствии в ней глюкозы (рис. 5). Несмотря на отсутствие в экспериментальном растворе источника энергии, в течение первых четырех минут после инокуляции наблюдается закисление внешней среды. После резкого начального скачка, связанного с внесением

дополнительного количества калия с отмывочным раствором бактерий, концентрация калия сохраняется на одном уровне. Иными словами, перемещение этих ионов через мембрану обнаруживает тесную временную связь: в период секреции протонов ионы калия удерживаются клетками.

Одновременно зарегистрировано значительное поглощение ТФФ⁺, приписываемое наличию в этот период разности электрических потенциалов (отрицательной внутри) на мембране *E. coli* порядка [—160] мВ. Как только прекращается закисление среды, ионы калия начинают покидать клетку. Аппликация глюкозы вызывает секрецию протонов и поглощение ионов калия; судя по выходу ТФФ⁺ из клеток, мембранный потенциал при этом несколько снижается.

Ереванский физический институт

Поступило 31.II.1979 г.

ESCHERICHIA COLI ՅՈՆԱՅԻՆ ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՅՈՒՐԱՀԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ս. Ս. ԴՈՒՐԳԱՐՅԱՆ

Հետազոտման տվյալները հանգեցնում են այն եզրակացության, որ յոնային փոխանակության պրոցեսները աղիքային ցուպիկի մոտ կապված են ոչ միայն պրոտոն կալիումի պոմպի գործունեության հետ:

PECULIARITIES OF ION EXCHANGE IN ESCHERICHIA COLI

S. S. DURGARYAN

Presented experimental data have indicated that the ion exchange processes in *E. coli* may be connected not only with proton potassium pump action.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алиханян М. А., Мартиросов С. М., Петросян Л. С. ДАН АрмССР, 57, 94, 1973.
2. Алиханян М. А., Мартиросов С. М., Петросян Л. С. Биолог. ж. Армении, 26, 27, 1973.
3. Дургарьян С. С., Мартиросов С. М., Петросян Л. С. Биолог. ж. Армении, 31, 697, 1978.
4. Дургарьян С. С., Мартиросов С. М. Биофизика, (в печати).
5. Дургарьян С. С., Мартиросов С. М. Биофизика, (в печати).
6. Damadian R. J. Bacteriol., 95, 113, 1968.
7. Durgaryan S. S., Martirosou S. M., Bioelectrochem. and Bioenergetics, 5, 554, 1978.
8. Durgaryan S. S., Martirosou S. M. Bioelectrochem. and Bioenergetics, 5, 561, 1978.
9. Durgaryan S. S., Martirosou S. M. Bioelectrochem. and Bioenergetics, 5, 567, 1978.
10. Epstein W., Schultz S. G. J. Gen. Physiol., 49, 221, 1965.
11. Epstein W., Schultz S. G. In: Microbial protoplasts, spheroplasts and L—forms. ed. Guze L. B. p. 186, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1968.
12. Kaback H. R. In: Current Topics in Membranes and Transport (Bronner F. and Kleizeller A., ed) 1, 68, 1970, New York.
13. Leder I., Perry J. Fed. Proc. 26, 394, 1967.
14. Leder I. J. Bacteriol. 111, 211, 1972.
15. Orskov S. L. Acta Path. Microb. Scand. 25, 277, 1948.
16. Padan E., Zilberstein D., Rotenberg H. Eur. J. Biochem. 63, 533, 1976.

ФЕНОЛУСТОЙЧИВЫЕ МОЛОЧНОКИСЛЫЕ АЦИДОФИЛЬНЫЕ СТРЕПТОКОККИ

Л. А. ЕРЗНИКЯН, М. Ш. ПАХЛЕВАНЯН, Л. М. ЧАРЯН,
 Л. Г. АКОПЯН, Р. А. МАДОЯН

Получены фенолустойчивые формы молочнокислых стрептококков, которые развиваются в молоке, содержащем 0,4% фенола, что имеет важное значение и является основным признаком их приживаемости в желудочно-кишечном тракте человека и животных. Выделенные ацидофильные молочнокислые стрептококки по фенолустойчивости не уступают ацидофильной молочнокислой палочке Моро. Приводится морфо-физиологическая характеристика выделенных штаммов.

В 1900 г. Моро [7], изучая микрофлору фекалий новорожденных детей, впервые обнаружил палочковидные формы молочнокислых бактерий. Однако при высеве их на обычные питательные среды он не смог добиться роста этих бактерий. Ему удалось вырастить их на кислых питательных средах. Учитывая это свойство, он назвал их кислотолюбивыми бактериями, дав им название *Bacillus acidophilus*. С тех пор под названием ацидофильных молочнокислых бактерий подразумевают только палочковидные формы бактерий, которые, как правило, являются фенолустойчивыми.

Ацидофильные молочнокислые стрептококки представляют большой практический интерес. Они обладают высокой активностью кислотообразования и устойчивостью к высоким концентрациям фенола, что является одним из признаков выживаемости их в желудочно-кишечном тракте человека и животных.

Фенолустойчивые молочнокислые бактерии проявляют выраженную устойчивость к антибиотикам и химиотерапевтическим препаратам и обладают широким антимикробным спектром действия.

В результате многолетних исследований большого числа штаммов и на основании изучения морфо-физиологических свойств молочнокислых стрептококков нами обнаружены фенолустойчивые формы, которые выгодно отличаются от обычных молочнокислых стрептококков, объединяемых в вид *Str. lactis*.

Материал и методика. Работа проводилась с 5 штаммами фенолустойчивых форм молочнокислых стрептококков, полученных из кисломолочных продуктов и силоса. Из них два штамма молочнокислых стрептококков были идентифицированы по определителям Берге [6] и Красильникова [3] как представители *Str. thermophilus* n. var *acidophilus*.

Кислотообразование определялось в градусах Тернера, летучие кислоты—микрометодом по Гаммеру, устойчивость к антибиотическим, химиотерапевтическим препара-

там и фенолу—по Ерзинкяну [1], поваренной соли—по Квасникову [2], антимикробная активность—редуктазным и чашечным методами [5]. Биосинтез витаминов группы В и аскорбиновой кислоты в сквашенном молоке определяли методами, разработанными на кафедре молочного дела Сельскохозяйственной академии им. К. А. Тимирязева [4] (биотин—микробиологическим, а рибофлавин, холин, фолиевая и аскорбиновая кислоты—химическими методами).

Результаты и обсуждение. На основании результатов наших исследований морфо-физиологическая характеристика исследованных штаммов может быть представлена в следующем виде.

Молочнокислые ацидофильные стрептококки являются неподвижными, грамположительными, факультативно анаэробными клетками, расположенными в короткие и длинные цепочки. Встречаются единичные кокки и диплококки. Растут на жидких и агаризованных средах на основе гидролизованного молока, молочной сыворотки и капустного экстракта, а также на МПА с добавлением 2% сахарозы, глюкозы, лактозы. При поверхностном посеве на агаризованных средах колонии мелкие, округлые, с диаметром от 63 до 210 мк. Цвет их от светло-молочного до матового. При глубинном посеве колонии очень мелкие, невидимые невооруженным глазом, овальные, с выростами величиной от 21×21 до 63×42 мк.

Таблица 1

Образование летучих кислот молочнокислыми ацидофильными стрептококками (инкубация при 37°)

№№ штаммов	Источник выделения	Количество летучих кислот в ДЧ* на	
		2-е сутки	7-е сутки
26	Кисломолочные продукты	2,13	2,35
27	"	2,52	2,60
305	"	2,01	2,22
307	"	2,22	2,82
14/20	Силос	2,23	2,25

* ДЧ—дистилляционное число или количество децинормальной щелочи в мл, расходуемой на титрование 100 мл дистиллата.

Минимальная температура роста культур—21—25°, оптимальная—36—38°, максимальная—50—58°, летальная—72°. Молоко створаживают со дна, образуя плотный однородный сгусток с максимальной кислотностью до 134°Т. Время сквашивания молока 9—12 час.

По своим биохимическим свойствам принадлежат к гомоферментативным молочнокислым бактериям.

На 7-е сутки развития дистилляционное число (ДЧ) летучих кислот составляет 2,82 (табл. 1). Выделенные и изученные нами штаммы молочнокислых ацидофильных стрептококков являются активными образователями витаминов группы В и аскорбиновой кислоты. Как видно из табл. 2, большинство штаммов активно обогащает молоко рибофла-

вином, фолиевой кислотой, холином и биотином, а аскорбиновой кислотой—более чем в 2 раза (табл. 3).

Как известно, одним из главных показателей приживаемости ацидофильных стрептококков в желудочно-кишечном тракте человека и животных считается их фенолустойчивость. В этой связи получение фенолустойчивых штаммов молочнокислых ацидофильных стрептококков имеет важное практическое и теоретическое значение. Исследования показали, что изученные нами штаммы выдерживают концентрацию фенола в молоке 0,4 % (табл. 4).

Таблица 2

Влияние молочнокислых ацидофильных стрептококков на накопление витаминов в молоке

№ № штаммов	Рибофлавин, мкг/г			Фолиевая кислота, мкг/л			Холин, мг/л		
	контроль (стерильное молоко)	свашенное молоко	сравнительно с контролем, %	контроль (стерильное молоко)	свашенное молоко	сравнительно с контролем, %	контроль	свашенное молоко	сравнительно с контролем, %
26	712	2160	303	912	1270	127	240	720	300
27	712	2160	303	912	980	107	240	405	168
305	788	975	123	1349	1270	94	240	320	133
307	516	1097	212	912	1111	121	240	400	166

Таблица 3

Накопление аскорбиновой кислоты в молоке, сквашенном ацидофильными стрептококками
(данные анализов на вторые сутки инкубации при 37°)

№ № штаммов	Аскорбиновая кислота, мг/кг		
	контроль (стерильное молоко)	свашенное молоко	сравнительно с контролем, %
26	12,25	22,6	176,3
27	"	21,4	123,2
305	10,0	23,2	232,2
307	"	24,8	248,3
14/20	14,05	24,5	174,3

Были изучены осмотические свойства, влияние различных концентраций поваренной соли на развитие молочнокислых ацидофильных стрептококков. Испытуемые штаммы выдерживают концентрацию поваренной соли от 2,5 до 3 %.

Полученные нами штаммы молочнокислых ацидофильных стрептококков устойчивы к фталазолу—0,5 %, пенициллину—0,1 ед/мл, стрептомицину—0,1 ед/мл и хлортетрациклину—0,003 %.

Из выделенных нами молочнокислых ацидофильных стрептококков относительно высокой антибактериальной активностью к *E. coli*, шт. 113, и *St. aureus*, шт. 209, обладали культуры 27, 14/20, 305 и 307. Эти

Т а б л и ц а 4

Влияние фенола на энергию кислотообразования ацидофильных стрептококков
(кислотность в ° Тернера)

№№ штаммов	Контроль (кислотность культур в молоке без фенола)	Содержание фенола в молоке, ‰	
		0,3	0,4
26	122	73	не свернулось
27	134	70	"
305	133	124	90
307	134	124	95
14/20	130	78	не свернулось

штаммы могут быть успешно использованы в молочной промышленности, в частности при производстве диетических кисломолочных продуктов и творога.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 12.VII 1979 г.

ՖԵՆՈԼԱԴԻՄԱՑԿՈՒՆ ԿԱԹՆԱԹՔՎԱՅԻՆ ԱՑԻԴՖԻԼԱՅԻՆ ՍՏՐԵՊՏՈԿՈԿԵՐ

Լ. Հ. ԵՐԶՆԿՅԱՆ, Մ. Շ. ՓԱՀԼԵՎԱՆՅԱՆ, Լ. Մ. ՉԱՐՅԱՆ,
Լ. Հ. ՀԱԿՈԲՅԱՆ, Թ. Ա. ՄԱԴՈՅԱՆ

Կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների մորֆո-ֆիզիոլոգիական և բիոքիմիական հատկությունների ուսումնասիրության ժամանակ հայտնաբերվեցին ստրեպտոկոկեր, որոնք աչքի են ընկնում բարձր ֆենոլադիմացկունությամբ (0,4 ‰)։

Ստրեպտոկոկերը կաթը հարստացնում են ասկորրինաթթվով և B խմբի վիտամիններով։

Ուսումնասիրվող շտամներն օժտված են անտագոնիստական հատկություներով՝ աղիքային ցուպիկի և ստաֆիլոկոկի նկատմամբ։

Ստացված կաթնաթթվային ացիդոֆիլային ստրեպտոկոկերը կարող են հաջողությամբ կիրառվել թթու կաթնամթերքների և կաթնաշոռի արտադրության մեջ։

ACIDOPHILIC LACTIC STREPTOCOCCI RESISTANT TO PHENOL

L. H. ERZINKIAN, M. SH. PAHLEVANIAN, L. M. CHARIAN,
L. G. HAKOBIAN, R. A. MADOIAN

New phenolstable cultures lactic streptococci have been obtained, they resist up to 0,4 per cent of phenol in the milk. The role of phenol stability of these bacterial strains for their activity in the intestine has been discussed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Ерзинян Л. А.* Биологические особенности некоторых рас молочнокислых бактерий. Ереван, 1971.
2. *Квасников Е. И.* Биология молочнокислых бактерий. Ташкент, 1960.
3. *Красильников Н. А.* Определитель бактерий и актиномицетов. М., 1949.
4. Методы постановки опытов и исследований по молочному хозяйству. М., 1973.
5. *Скородумова А. М.* Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов. М., 1963.
6. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* The Williams a. Wilkins Company, 8-th Ed., 1974.
7. *Moro E.* Jahrb. f. Kinderheilk, 52, 1900.

ԷԹԻԼԵՆԻՄԻՆԻ ԵՎ ՈՒԼՏՐԱՉԱՅՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱԶՈՏՈՐԱԿՏԵՐԻ ՎՐԱ

Վ. Գ. ՆԻԿՈՂՈՍՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է էթիլենիմինի (էԻ) և ուլտրաձայնի (ՈԻՁ) ազդեցությունը *Az. chroococcum*-ի կենսոնակության վրա: Ստացվել են էԻ-ով ինդուցված ազոտորակտերի անտի-րիոտիկադիմացկուն մուտանտներ:

Պարզվել է, որ էԻ-ի ներգործումից մեծ քանակով անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտներ ստացվել են *Az. chroococcum*-ի զարգացման վաղ լողարիթմական ֆազայում: Նման մուտանտների ստացումը ՈԻՁ-ի ներգործումից չի հանդիմարում:

Հայտնի են մի շարք աշխատանքներ, որոնք նվիրված են ֆիզիկական տարրեր ազենտների և տրանսֆորմացիայի օգնությամբ ազոտորակտերի դանդաղ մուտանտների ստացմանը [1, 8, 9, 11, 16]:

Քիմիական մուտագենների ազդեցությունն ազոտորակտերի վրա անհամեմատ քիչ է ուսումնասիրվել [10, 12, 14]: Ազոտորակտերի վրա էԻ-ի ներգործության վերաբերյալ ուսումնասիրություններ գրականությանից մեզ հայտնի չեն, չնայած քիմիական ալդ մուտագենի գենետիկական էֆեկտիվությունը հայտնի է հիշյալ օբյեկտների վրա կատարված շատ ուսումնասիրություններից [3, 7, 13, 15]:

Որոշ հեղինակներ գտնում են, որ ՈԻՁ-ը կենդանի բջջի վրա կարող է ունենալ մահացու ներգործություն կամ առաջացնել բջջի կառուցվածքի ֆունկցիոնալ խանգարումներ [4]:

Ներկա աշխատանքում մեր նպատակն է եղել պարզել էԻ-ի և ՈԻՁ-ի ազդեցությունը *Az. chroococcum*-ի կենսոնակության վրա ու անտիբիոտիկների նկատմամբ կայուն մուտանտների ստացման հնարավորությունները:

Ազոտորակտերի մուտագենիզի հետ կապված հարցերի պարզաբանումը ու նրա կտրիվ տեսակների ստացումը տեսական և գործնական մեծ հետաքրքրություն է ներկայացնում ազոտորակտերի նոր արդյունավետ շտամների ստացման առումով:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրությունների համար օգտագործվել է *Az. chroococcum* 53 (Գյուլգ. միկրոբ. համաժիթ. գիտահետ. ինստիտուտ) շտամը, որն աճեցվել է էջրի հեղուկ (առանց կալիճի) սննդամիջավայրում՝ թափահարիչի վրա: Զարգացման լողարիթմական ֆազայի տարրեր ժամանակներում (12, 24, 48 ժամ) կուլտուրալ հեղուկն անց է կացվել հոմոգենիզատորով (բազմաշաբաղներից մաքրելու և բջիջների նստեցումը հեշտացնելու նպատակով), ապա ցենտրիֆուգվել էԻ-ի ներգործության դեպքում, բջիջների լվացման ու սուսպենզիաների ստացման համար, օգտագործվել է ֆոսֆատային բուֆեր (0,05M, pH-7,1), իսկ ՈԻՁ-ի դեպքում՝ ֆիզիոլոգիական լուծույթ:

Փորձարկման են էի-ի 0,1, 0,02, 0,01% խտությունները, 15, 30, 60, 120 րոպե տևողության ընթացքում: Մուտանտների ստացման համար օգտագործվել է Ադելբերգի եղանակը [11]: Ուլտրաձայնային ալիքի ազդեցության ուսումնասիրությունների համար օգտագործվել է ցածր հաճախականության ուլտրաձայնային դիսպերգատորը (ՈՒԶԴ-1), որի ճառագայթման ակուստիկական հզորությունը կազմել է 50 վտ/սմ², իսկ տատանման հաճախականությունը՝ 22 և 44 կ՝ց:

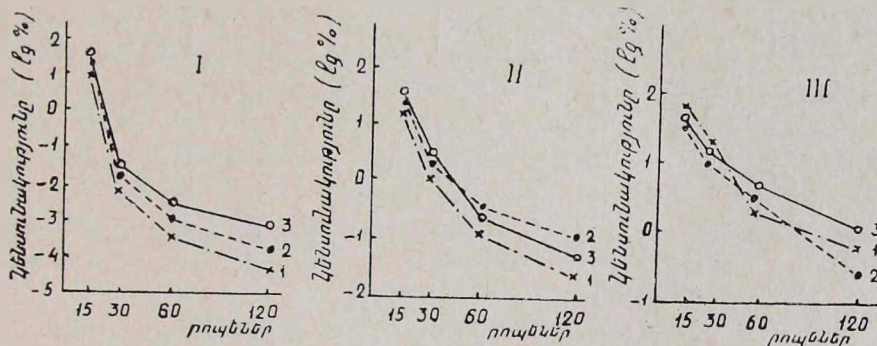
ՈՒԶ-ի ներգործությանը է ենթարկվել ապակյա փորձանոթներում *Az. chroococcum*-ի 4 մլ, 2,2 · 10⁸ խտության բակտերիալ սուսպենզիաները՝ 1, 3, 6, 10, 15 և 25 րոպե տևողությամբ, սառը պայմաններում:

էի-ի և ՈՒԶ-ի ներգործությունից հետո, *Az. chroococcum*-ի առանձին զաղութների ստացման ու կենսոճանկի բնութագրի հաշվառման համար, կատարվել է ցանքս էշրի-ի ագարային սննդամիջավայրում: Կուլտուրաների ընտրությունն ու մեկուսացումը կատարվել է զխա-վորակալն 1%-ից ցածր կենսոճանկության տարբերակներից, հիմնականում հաշվի առնելով նրանց կուլտուրալ առանձնահատկությունները:

Մեկուսացված կուլտուրաները հետազոտվել են որոշակի քանակի անտիբիոտիկ պարունակող էշրի-ի հեղուկ և ագարային սննդամիջավայրերում ու ստուգվել նրանց տարբեր անտիբիոտիկների նկատմամբ ձեռք բերած կայունությունը: Անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտների ստացման համար օգտագործվել է նաև ագարային սննդամիջավայրում (անտի-բիոտիկի զրադիկնալային խտությամբ) մուտանտների սելեկցիայի մեթոդը [2]:

Անտիբիոտիկներից փորձարկվել են սարեպտոմիցինը, պեհիցիլինը (բենզիլպենիցիլինի կալիումական աղը) և տետրացիկլինը (տետրացիկլինի հիդրոքլորիդը):

Արդյունքներ և բնագրություն: Նկարում բերված աղյալներից հետևում է, որ 12, 24 և 48 ժամ աճեցված *Az. chroococcum*-ի բնիշների դիմացկունությունը, էի-ի փորձարկված խտությունների 15 և 30 րոպե ներգործության դեպքում, միայնացից մեծ չափերով չեն տարբերվել: Որոշ տարբերություն



Նկ. էի-ի տարբեր խտությունների ազդեցությունը *Az. chroococcum*-ի կենսունակության վրա: I—էի—0,1%, II—էի—0,02%, III—էի—0,01%: 1. 12 ժամ աճեցված կուլտուրա, 2. 24 ժամ աճեցված կուլտուրա, 3. 48 ժամ աճեցված կուլտուրա:

Նկատվել է միայն մուտագենի ներգործության տևողությունը երկարացնելիս (60—120 րոպե), ըստ որում՝ 0,1 և 0,01% խտության դեպքում, համեմատաբար ավելի մեծ կայունություն են ցուցաբերել *Az. chroococcum*-ի 48 ժամ աճեցված բնիշները:

Az. chroococcum-ի զարգացման լոգարիթմական ֆազայում էի-ի լետալ խտությունը կազմել է 0,2 ու 0,1%, համապատասխանաբար 1 և 3 ժամ ներգործելիս:

Ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ ՈՒՁ-ը ևս որոշակի լետալ ներգործություն է ցուցաբերում *Az. chroococcum*-ի հանդեպ, որն առանձնապես ուժեղ է արտահայտվում 44 կՏց հաճախականության ալիքի տատանումներին դեպքում: Եթե 25 րուպե 22 կՏց հաճախականության ներգործումից ազդող բակտերի կենսունակությունը կազմել է 0,0004%, ապա նույն տեղությունամբ 44 կՏց հաճախականության ներգործումից ազդող բակտերի կենսունակ բջիջներ շեն հայտնաբերվել:

Ինչ վերաբերում է հիշյալ ազենտների ներգործության գենետիկական էֆեկտիվությանը, ապա անհրաժեշտ է նշել, որ էՒ-ի ներգործությանը ենթարկված ազդող բակտերի կուլտուրաների մի մասը, ելային կուլտուրայի համեմատ, որոշ անտիբիոտիկների հանդեպ ձեռք է բերել նկատելի կայունություն, որը պահպանվել է հաջորդ գեներացիաներում: ԷՒ-ի մուտագենային ազդեցությունն ավելի մեծ է *Az. chroococcum*-ի զարգացման վաղ լողարիթմական ֆազայում, որը պարզ նկատվում է աղյուսակում բերված տվյալներից: Նույն տվյալներից կարելի է հետևել նաև, որ էՒ-ով ինդուկցված *Az. chroococcum*-ի մուտանտների դիմացկունությունը հիշյալ անտիբիոտիկների նկատմամբ ավելացել է 20—200 անգամ:

Աղյուսակ

ԷՒ-ով ինդուկցված *Az. chroococcum*-ի անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտների ստացումը լողարիթմական ֆազայի տարբեր ժամանակամիջոցներում:

Աձեցման տեղություն	Ինդուկցված կուլտուրաների թիվը	Ստրպտոմիցինի (20 մկգ/մլ) նկատմամբ կայուն կուլտուրաների		Պենիցիլինի (100 կգ/մլ) նկատմամբ կայուն կուլտուրաների		Տետրացիկլինի (15 կգ/մլ) նկատմամբ կայուն կուլտուրաների	
		թիվը	տոկոսը	թիվը	տոկոսը	թիվը	տոկոսը
12	136	12	8,8	27	19,8	9	6,6
24	244	10	4,1	8	3,2	4	1,6
48	106	5	4,7	10	9,4	4	3,8

Մանիֆեստություն. — *Az. chroococcum*-ի ելային կուլտուրայի բակտերիոստատիկ խտությունը ստրպտոմիցինի, տետրացիկլինի և պենիցիլինի դեպքում համապատասխանաբար կազմել է 0,1, 0,5 և 5 մկգ/մլ:

Մաքսիմալ քանակի դրական մուտացիաներ ստացվել են 0,1% մուտագենի — 30—60 րուպե ներգործումից, որի ժամանակ կենսունակությունը կազմել է 0,1—0,01%: Կուլտուրալ ու մորֆոլոգիական առանձնահատկություններով ելային կուլտուրայից գրեթե շտաբբերվող *Az. chroococcum*-ի որոշ անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտներ հրեմն ստացվել են ավելի բարձր կենսունակության տարբերակներից:

ԷՒ-ով ինդուկցված *Az. chroococcum*-ի անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտները հետազայում (անտիբիոտիկի քանակությունն աստիճանաբար ավելացնելով) բազմիցս ցանվել են անտիբիոտիկի գրադիենտային խտություն պարունակող էջերի ազարային սննդամիջավայրի վրա ու ստացվել են ազդող բակտերի առավել անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտներ: Օրինակ՝ *Az. chroococcum*-ը, որը փորձարկված անտիբիոտիկներից անհամեմատ

դրացյուն է ստրեպտոմիցինի հանդեպ (աղյուսակ), նշված մեթոդի օգտագործման միջոցով հաջողվեց ստանալ մուտանտներ (Մ—31, Մ—34, Մ—17, Մ—29), որոնք դարգանում են 100—200 մկգ/մլ ստրեպտոմիցին պարունակող սննդամիջավայրերում:

Ստրեպտոմիցինի նկատմամբ իրենց ունեցած մեծ կայունությամբ նշված մուտանտները նմանվում են նախկինում մեր ուսումնասիրած մի շարք օլիգոնիսրոֆիլ միկրոօրգանիզմներին [7]:

Ջարգանալով մեծ քանակությամբ ստրեպտոմիցին պարունակող սննդամիջավայրերում, այդ մուտանտների բջիջները վերածվում են տարբեր հաստության երկար ձողերի, որոնք տարբեր մասերում, հաճախ, սպորանման դոչացումներ են առաջացնում, իսկ գաղութները՝ S և M տիպի լորձնային են, վարգաքսման ուշ շրջանում դարչնագույն պիգմենտավորում չեն առաջացնում, այլ միայն դեղնում են:

Կուլտուրալ առանձնահատկությունների որոշ փոփոխություններ նկատվել են նաև *Az. chroococcum*-ի վրա ՈՒՁ-ի ներգործումից, սակայն այդ ճանապարհով անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտների ստացում չի հաջողվել:

ՀՍՍՀ ԳԱ մանրէաբանության
ինստիտուտ

Ստացված է 12. VII. 1979 թ.

ДЕЙСТВИЕ ЭТИЛЕНИМИНА И УЛЬТРАЗВУКА НА АЗОТОБАКТЕР

В. Г. НИКОГОСЯН

Изучены выживаемость и образование антибиотикоустойчивых мутантов *Az. chroococcum* при воздействии этиленимином (ЭИ) и ультразвуком (УЗ).

Под воздействием ЭИ получены мутанты, устойчивые к стрептомицину, пенициллину и тетрациклину. Подобных мутантов азотобактера под воздействием УЗ получить не удалось.

ACTION OF ETHYLENEIMINE AND ULTRASONICS ON AZOTOBACTER

V. G. NIKOGHOSSIAN

Mutants of *Az. chroococcum* resistant to penicillin, streptomycin and tetracyclin have been received by the use of ethylene imine. The use of ultrasonics didn't give mutants.

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Батикян Г. Г., Варданян К. А. Биолог. ж. Армении, 26, 4, 1973
2. Браун В. Генетика бактерий. М., 1968.

3. Губанова Л. Л. Сб. Микробиол. исслед. в Зап. Сибири, 26, Новосибирск, 1976.
4. Зименка Т. Г., Гарнак Н. М., Ковалева М. К. Изв. АН БССР, сер. биол. н., 4, 65, 1966.
5. Имшенецкий А. А., Парийская А. Н. и Эррайс Лопес Л. Микробиология, 39, 2, 343, 1970.
6. Наседкина Г. А. Бюлл. ВНИИ защиты раст., 18, 44, 1971.
7. Никогосян В. Г. Биолог. ж. Армении, 31, 1, 1978.
8. Романова Н. Б., Широкова Н. И. Сб. Успехи в обл. изуч. и производства антибиотиков, 1, 68, М., 1976.
9. Фадеева Н. П., Эльпинер И. Е. Микробиология, 28, 4, 1959.
10. Шилова М. А., Носикова Т. А. Сб. Селекция и генетика микробов, 22, Новосибирск, 1971.
11. Adelberg E. A., Mandel M. a. Chen C. C. Biochem. Biophys. Res. Comms, 18, 788, 1965.
12. Kashyap L. R., Chopra V. L. Use Radiat. and Radioisot. Stud. plant prod. 775, Bombay, 1974.
13. Khurana A. S., Venkataraman G. S. Indian J. Exp. Biol., 10, 2, 136, 1972.
14. Müller H. P. Ann. Microbiol. et Enzymol., 24, 2, 181, 1974.
15. Sen Mitra, Pal T. K., Sen S. P. A. Leeuwenhoek J. Microbiol. a. Serol., 35, 4, 533, 1969.
16. Sorger G. J., Trofimenkoff D. Proc. Nat. Acad. Sci., USA. 65, 1, 74. 1970.

О МИКРОФЛОРЕ ЧЕРНОЗЕМОВ АРМЕНИИ

Л. А. ХАЧИКЯН

Приведена микробиологическая характеристика черноземов Армении. Установлена определенная зависимость между составом почвенной микрофлоры и подтипами черноземов

Горные черноземы Армении занимают значительные площади в зоне вертикальных почвенных структур. Они развивались на различных породах: базальтах, андезито-базальтах и на карбонатных продуктах выветривания. Черноземы формировались в своеобразных биоклиматических условиях под горно-степной широколиственной разнотравно-злаковой растительностью, на высоте 1300—2400 м над ур. м. [3, 11]. Эти условия и определили основные свойства подтипов черноземов, в том числе и биологические.

В зависимости от гидротермического режима, рельефа, материнской породы и других условий почвообразования в пределах Армении выделяются три подтипа чернозема: выщелоченные, типичные, обыкновенные (преимущественно карбонатные) [15].

Климат этих почв характеризуется сравнительно большой сухостью. Высокая температура воздуха в летний период способствует испарению и высыханию почвы, и поэтому остатки растений минерализуются не полностью, а накапливаются в почве в виде устойчивых гумусовых соединений. У типичных черноземов карбонатность наблюдается в гумусово-переходном горизонте «В», в то время как гумусовые горизонты выщелоченных черноземов лишены карбонатов. Характерной особенностью выщелоченных черноземов являются морфологически растянутые гумусо-аккумулятивные горизонты. В результате отсутствия влаги в обыкновенных черноземах карбонаты кальция и магния в основном не выщелачиваются, а задерживаются в пределах гумусового горизонта или непосредственно по всему профилю почвы. Одним из характерных свойств черноземов является высокое содержание перегноя, чем и обуславливается темная окраска почвы, благодаря которой они получили свое название. Целинные черноземы содержат в среднем 4,9—12,8% перегноя [15].

Микрофлора черноземных почв северной и средней части СССР изучена достаточно хорошо [9, 13, 16]. Микрофлора в подтипах чернозема Армении систематически не изучена, имеются только работы от-

носителем распространения некоторых групп бактерий и актиномицетов [1, 2, 6, 14]. Очень мало сведений о характерной микрофлоре этих черноземов, в особенности в различных экологических условиях развития.

Целью настоящей работы являлось выявление количественного и родового состава основных физиологических групп микроорганизмов, характеризующих биологическую активность этих почв.

Материал и методика. Объектом исследований служили образцы горных черноземов Армении, собранные в течение 1976—78 гг. Исследования проводились на 3-х подтипах чернозема различных угодий (пастбища, посевы озимой пшеницы, эспарцета и почвы, занятые под овощными культурами) Севанского, Разданского, Гугаркского районов, на почвенных разрезах отдела биохимии, генезиса и географии почв Института почвоведения и агрохимии МСХ АрмССР.

В основу микробиологических исследований положен метод почвенных разведений с высевом на плотные и жидкие питательные среды. Посевы проводились из развонок свежих почвенных образцов глубинным способом. Учитывались следующие группы микроорганизмов: бактерии, усваивающие минеральный азот, и актиномицеты—на крахмало-аммиачном агаре; бактерии, усваивающие органические формы азота—на мясо-пептонном агаре; грибы (численность и групповой состав)—на сусло-агаре с молочной кислотой; олигонитрофилы и азотобактер—на агаре Эшби. Для изучения спороносных бактерий применяли смесь равных объемов мясо-пептонного агара и сусло-агара по Мишустину. Для аммонификаторов—пептонную воду, для нитрификаторов—жидкую среду Виноградского с мелом. Видоизмененная среда Гетчинсона использовалась для учета целлюлозоразрушающих аэробных микроорганизмов. Идентификация выделенных и изученных нами культур микроорганизмов проводилась с помощью известных определителей бактерий, грибов и актиномицетов [7, 8, 20—22].

Результаты и обсуждение. Сводные данные исследований, подытоженные в табл. 1 и 2, показывают, что свойства черноземных почв, питательный режим, содержание органических веществ и другие особенности в значительной степени определяют состав почвенной микрофлоры, формирование ее ценозов и растительности. Мощность гумусового горизонта и постепенное уменьшение содержания перегноя с глубиной четко выявляются на микробиологическом профиле черноземов.

Горные выщелоченные черноземы распространены в условиях повышенного увлажнения, значительная часть этих почв принадлежит к многогумусным, что отличает их от типичных и обыкновенных черноземов выраженной микробиологической активностью. При этом в целинных черноземах общая численность микроорганизмов больше, чем в пахотных почвах. Это зависит от биоклиматических условий, содержания органического вещества, плотности корневой системы растений. Пахотные черноземы обладают более слабой биологической активностью. Во всех микробных сообществах в изучаемых почвах преобладают бактерии, актиномицеты, грибы.

В подавляющем большинстве случаев независимо от подтипов чернозема и характера растительного покрова проявляется одинаково выраженная закономерность—постепенное уменьшение содержания всех групп микроорганизмов в соответствии с глубиной почвенного разреза

и с уменьшением перегноя. В черноземе относительное содержание актиномицетов иногда возрастает в более глубоких горизонтах почвы. Несмотря на то, что общий фон микроорганизмов в пахотных черноземах падает, относительное содержание бактерий в значительной степени повышается (табл. 2).

Таблица 1

Численность и относительное содержание микроорганизмов в целинных подтипах чернозема

Подтипы, № и место разреза	Горизонт, глубина, см	Кол-во микроорганизмов, млн/г			Относительное содержание основных групп, %		
		бактерии	актиномицеты	грибы	бактерии	актиномицеты	грибы
31 Обыкновенный, р-он Гугаркский, с. Жданово	A _д 0—10	14,57	5,42	0*	72,85	27,15	
	A 10—29	13,69	1,39	0	90,75	9,25	
	B ₁ 29—49	12,66	0,72	0	94,61	5,39	
	B ₂ 49—64	11,35	0,47	0	96,02	9,38	
	C 64—90	9,78	0,21	0	97,89	2,11	
564 Типичный, р-он Разданский, с. Налбандян	A _д 0—17	27,68	4,76	0,19	84,85	14,61	0,54
	A 17—39	22,95	1,34	0,18	93,78	5,48	0,74
	B ₁ 39—61	17,62	0,46	0,14	96,70	2,53	0,77
	B ₂ 61—72	11,87	0,54	0,07	95,11	4,33	0,53
	C ₁ 72—97	6,44	0,10	0,02	98,15	1,52	0,33
	C ₂ 97—256	3,76	0,01	0,01	99,48	0,26	0,26
426 Выщелоченный, р-он Севанский, с. Лчашен	A _д 0—12	34,30	2,89	0,24	91,64	7,72	0,64
	A 12—27	27,68	0,58	0,02	97,87	2,09	0,04
	B ₁ 27—47	18,59	0,79	0,03	95,98	3,87	0,15
	B ₂ 47—70	11,40	0,64	0,01	94,60	5,31	0,09
	B ₃ 70—90	9,40	0,38	0	96,07	3,93	
	C 90—150	8,31	0	0	100,00		

* Нулевой показатель в этой и последующих таблицах указывает на обнаружение данной группы микроорганизмов в количестве менее 1 тыс. зародышей на г почвы.

Определенные грибные и бактериальные группировки, разнообразие микроорганизмов, характер растительного покрова оказывают большое влияние на количественный и качественный состав микроорганизмов в черноземных почвах.

Горные типичные черноземы распространены в условиях умеренного увлажнения, характеризуются нейтральной реакцией, отличаются средним содержанием органического вещества и микрофлоры.

В табл. 3 приведены характерные результаты исследования микробиологического профиля почв, свидетельствующие о том, что в выщело-

ценных черноземах азотобактер отсутствует. В обыкновенном черноземе (аккумулятивно-гумусовый горизонт) он развивается довольно активно в зависимости от карбонатности (0,50 млн/г) и окультуренности. Карбонатность почвы является одним из факторов, повышающих жизнедеятельность азотобактера [4, 5, 17].

Таблица 2

Численность и относительное содержание микроорганизмов в пахотных подтипах чернозема

Подтипы, № и место разреза*	Горизонт, глубина, см	Кол-во микроорганизмов, млн/г			Относительное содержание основных групп, %		
		бактерии	актиномицеты	грибы	бактерии	актиномицеты	грибы
33 Обыкновенный, р-он Гугаркский, с. Жданово	A _n 0—25	23,60	3,61	0	86,74	13,26	
	B ₁ 25—43	14,38	1,75	0	89,15	10,85	
	B ₂ 43—62	6,89	1,71	0	80,12	19,88	
	C 62—80	5,56	0,80	0	87,42	12,58	
7 Типичный, р-он Разданский, с. Налбандян	A _n 0—21	23,99	1,82	0,11	92,55	7,02	0,43
	B ₁ 21—43	17,01	1,54	0,01	91,65	8,29	0,06
	B ₂ 43—62	10,48	1,62	0	86,61	13,39	
	C 62—90	7,60	0	0	100,00		
2 Выщелоченный, р-он Севанский, с. Лчашен	A _n 0—21	31,23	0,06	0,50	98,24	0,23	1,58
	B 21—48	19,49	0,07	0,02	99,56	0,36	0,08
	C ₁ 48—75	14,51	0	0,01	99,93		0,07
	C ₂ 75—100	12,34	0,04	0,01	99,60	0,32	0,08

* Почвенные разрезы Л. Т. Егиазаряна.

Горные обыкновенные черноземы расположены главным образом в степной зоне в условиях несколько пониженного увлажнения, они маломощные, отличаются аэрацией, значительной водопроницаемостью [15]. Численность актиномицетов в них больше, чем в выщелоченном. Как известно, актиномицеты энергично развиваются в летние месяцы, что, вероятно, свидетельствует об их большой чувствительности к повышению температуры. Максимальное количество их, по нашим данным, обнаруживается в обыкновенных, преимущественно карбонатных черноземах, в которых годовая температура достигает 32° [19], что способствует активизации этих микроорганизмов (разр. 31), и их количество достигает 5,4 млн/г почвы (табл. 1).

По нашим данным, олигонитрофильные микроорганизмы широко распространены в подтипах чернозема, часто их количество приближается к числу бактерий, растущих на МПА. Нами установлено, что большое количество олигонитрофилов представлено бактериями, принадлежащими к родам *Bacillus*, *Bacterium*, *Pseudomonas*, *Mycobacte-*

gium. В черноземах Армении из олигонитрофильных актиномицетов обычно встречаются *Act. albus*, *Act. globisporus*, *Act. griseus*, *Act. rectus*, которые участвуют в разложении целлюлозы в исследуемых почвах [7]. Можно отметить также, что как в целинных, так и в пахотных черноземах большинство непороносных бактерий представлено родом *Pseudomonas*, в частности *Ps. herbicola*, *Bact. prodigiosum* [20].

Для характеристики типа почвы более показателен видовой состав микроорганизмов, присутствие которых в почве отличается боль-

Таблица 3

Численность отдельных физиологических групп микроорганизмов
в подтипах чернозема, млн/г почвы

№ разреза, подтипы	Горизонт, глубина, см	Бактерии, усваиваю- щие		Олигонитрофилы	Бациллы	Целлюлозоразру- шающие	Азотобактер	Аммонификаторы	Нитрификаторы
		минераль- ный азот	органиче- ский азот						
31 Обыкновенный	A _д 0—10	22,88	5,96	12,75	0,24	1,32	0,50	1,32	1,32
	A 10—29	13,37	4,30	10,62	0,10	0,73	0,60	1,28	1,28
	B ₁ 29—49	12,65	4,19	9,19	0	0,58	0	1,32	1,32
	B ₂ 49—64	2,14	3,85	7,95	0,02	0,50	0	1,31	1,31
	C 64—90	1,05	3,21	6,74	0,04	0,24	0	1,20	1,20
564 Типичный	A _д 0—17	26,14	18,87	13,50	1,07	0,32	0	1,55	1,49
	A 17—39	14,17	10,93	12,30	1,06	0,09	0	1,47	1,37
	B ₁ 39—61	12,24	8,50	8,37	0,83	0,07	0	1,47	0,93
	B ₂ 61—72	7,10	4,96	6,80	0,07	0,09	0	1,47	1,43
	C ₁ 72—97	6,48	3,75	2,72	0,07	0,01	0	1,47	1,43
	C ₂ 97—256	1,15	2,26	1,44	0,07	0,01	0	1,47	1,40
426 Выщелоченный	A _д 0—12	27,40	18,36	22,36	1,53	0,37	0	1,46	1,46
	A 12—27	16,53	9,09	18,14	1,09	0,23	0	0,93	1,46
	B ₁ 27—47	8,35	6,08	12,68	1,02	0,16	0	0,87	1,24
	B ₂ 47—70	6,67	3,12	8,18	0,74	0,11	0	0,31	1,26
	B ₃ 70—90	5,33	2,86	6,15	0,67	0,07	0	0,08	0,28
	C 90—100	5,12	2,53	5,44	0,34	0,03	0	0,03	0,29

шим постоянством. Согласно нашим наблюдениям, по родовому составу микроорганизмов выщелоченные и типичные подтипы чернозема не различаются. Наиболее показателен состав бацилл, среди которых преобладают *Bac. megaterium*, *Bac. mesentericus*. Окультивирование приводит к изменению видового состава бактерий и грибов, повышению удельного веса *Bac. megaterium* [10, 12, 18]. В горных черноземах вид *Bac. mycoides* встречается в незначительном количестве.

Наиболее распространены в целинных и пахотных черноземах грибы рода *Penicillium* [22]. Из других грибов наиболее широко представлены *Mucor*, *Trichoderma*. В значительном количестве в пахотных черноземах развиваются грибы рода *Aspergillus* [8]. В черноземах встречаются темнокрашенные и дрожжеподобные грибы — *Pullularia*.

В горных черноземах в разложении целлюлозы участвуют не только грибы и актиномицеты, но и аэробные целлюлозоразрушающие бактерии из родов *Cytophaga*, *Polyangium* (в выщелоченных и типичных), *Sorangium*, *Cellvibrio* (во всех изучаемых черноземах). В грибном це, нозе возрастает количество грибов из родов *Stachybotrys*, *Gliocladium*, *Cladosporium*, в пахотных черноземах выявляется также *Chaetomium*, участвующий в разрушении целлюлозы и превращении органических остатков [21].

С глубиной почвы происходит перегруппировка и видового состава микроорганизмов. *Bac. megaterium*, *Bac. mycoides* тяготеют к верхнему слою почвы. Грибы рода *Penicillium* являются основными представителями микрофлоры более глубоких слоев чернозема.

Полученные нами результаты позволяют дать микробиологическую характеристику исследуемых почв, выражающуюся в установлении определенной зависимости между составом почвенной микрофлоры и подтипами чернозема. Распределение микрофлоры по профилю чернозема независимо от подтипа характеризуется постепенным снижением содержания микроорганизмов, что обуславливается основным свойством почвенного профиля чернозема — мощностью перегнойного слоя.

Выявлено, что выщелоченные черноземы отличаются высокой микробиологической активностью по сравнению с типичными и обыкновенными подтипами. Специфичность группового состава почвенной микрофлоры обыкновенного подтипа в отличие от выщелоченных и типичных черноземов заключается в повышении численности актиномицетов, споровых бактерий, а также развитии азотобактера. В составе микрофлоры наиболее распространены грибы рода *Penicillium*, являющиеся основными представителями более глубоких слоев подтипов чернозема.

В целинных, как и пахотных, черноземах качественный состав бактерий характеризуется присутствием большого числа представителей родов *Bacterium*, *Pseudomonas*. Здесь довольно распространены микобактерии.

Преобладающими видами бацилл в черноземах являются *Bac. megaterium*, *Bac. mesentericus*.

Разложение целлюлозы в черноземах осуществляется грибами, актиномицетами и бактериями. Разложение клетчатки грибами протекает в основном с участием темноцветных родов *Stachybotrys*, *Phoma*, *Chaetomium*. Бактериальная флора представлена главным образом миксобактериями и *Cellvibrio*.

Տրվում է լեռնային սևահողերի ենթատիպերի մանրէաբանական բնութագիրը:

Պարզվում է, որ լվացված սևահողերը օժտված են մանրէաբանական բարձր ակտիվությամբ, քան տիպիկ և սովորական սևահողերի ենթատիպերը: Սովորական սևահողերի ենթատիպը տարբերվում է միկրոֆլորայի խմբակային կազմի յուրահատկությամբ՝ ճառագայթասնեների, սպորավոր բակտերիաների քանակությամբ և աղոտորակտերիաների առկայությամբ:

ON THE MIKROFLORA OF CHERNOZIOM SOILS IN ARMENIA

L. A. KHACHIKIAN

The microbiological characteristics of armenian chernozioms has been presented. It was shown the presence of certain relationships between the composition of soil microflora and chernoziom subtypes.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Африкян Э. К. Вопр. с.-х. и пром. микробиологии. I, вып. 7, Ереван, 1953.
2. Африкян Э. К. Вопр. с.-х. и пром. микробиологии. I, вып. II, Ереван, 1961.
3. Завалишин А. А., Афанасьева Е. А. Почвенный очерк окрестности озера Севан. ССР Армении. Бассейн оз. Севан (Гокчи), 3, вып. 3, Л., 1933.
4. Галстян А. Ш., Хачикян Л. А. ДАН АрмССР, 46, 4, 1968.
5. Киракосян А. В., Зубетян П. А., Каримян Р. С. Вопр. с.-х. и пром. микробиологии, 11, вып. 8, Ереван, 1955.
6. Киракосян А. М. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1966.
7. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. М.—Л., 1949.
8. Литвинов М. А. Определитель микроскопических почвенных грибов. Л., 1967.
9. Мехтиев С. Я. Тр. почвенного ин-та, Молд. ФАН СССР, вып. 3, 1959.
10. Мехтиев С. Я. В кн.: Микрофлора почв северной и средней части СССР. М., 1966.
11. Мириманян Х. П. Черноземы Армении. М.—Л., 1940.
12. Мишустин Е. Н. Тр. юбилейной сессии, посвященной столетию со дня рождения В. В. Докучаева. М., 1949.
13. Мишустин Е. Н., Мирзоева В. А., Громыко Е. П. В кн.: Микрофлора почв северной и средней части СССР. М., 1966.
14. Паносян А. К., Туманян В. Г., Тараян Ш. С., Арутюнян Р. III. Вопр. с.-х. и пром. микробиологии, I/VII, Ереван, 1953.
15. Почвы Армянской ССР. Ереван, 1976.
16. Самцевич С. А. В кн.: Микрофлора почв северной и средней части СССР, М., 1966.
17. Сабельникова В. И. Изв. Молд. филиала АН СССР, 6, 72, 1960.
18. Хачикян Л. А. В кн.: Микрофлора почв южной части СССР. М., 1966.
19. Хтрян Н. К. Горные черноземы. Отчет за 1977 г. (рукопись, Ин-т почвоведения МСХ АрмССР).
20. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed., Baltimore, 1974.
21. Gilman J. G. A manual of soil fungi. The Lowe State College Press, 1945.
22. Raper K., Thom Ch. A manual of the Penicillia. Baltimore, 1949.

МОРФОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
НОВЫХ КУЛЬТУР ДРОЖЖЕЙ ИЗ ВИН АРМЕНИИ

Л. Г. ДАНИЕЛЯН, Б. П. АВАКЯН

Из дрожжевой флоры различных типов вин выделено 17 рас активных культур дрожжей. На основании изучения комплекса морфолого-физиологических особенностей и спорообразующей способности все выделенные штаммы отнесены к виду *Sacch. vini*.

Экологическое различие винодельческих районов республики, безусловно, влияет на состав дрожжевой флоры вина и на особенности культур дрожжей. В этой связи весьма актуальны исследования с целью выделения и отбора активных штаммов дрожжей, обладающих производственно ценными свойствами (кислото- сульфитовыносливостью, высокой энергией брожения, высокой спиртообразующей способностью и т. д.). Подобные работы проведены в различных винодельческих республиках Союза (Крым, Грузия, Средняя Азия и т. д.), в результате чего получены местные активные штаммы дрожжей, применяющиеся в винодельческих районах нашей страны.

В Армении исследования дрожжевой флоры были начаты Просто-сердовым [6] и продолжены Африкян [4], Саруханян [7], Авакян [1, 2] и др. Но эти работы не носили систематического характера, что и послужило основанием для наших исследований.

Материал и методика. Объектом изучения были свежееотжатый и спонтанно забродивший сок разных сортов винограда (Боскеат, Ркаштели, Кахет, Арени), а также осадки вин из различных районов виноделия Армении.

Первичный отбор культуры в производственных условиях проводился на основании морфологических показателей, т. е. крупноклетности, гомогенности, размера и формы клеток, ибо полиморфизм в ряде случаев указывает на возможное расщепление, что нежелательно при выведении перспективной для производства культуры.

Родовая и видовая принадлежность определялась по определителю дрожжей Кудрявцева [5]. Родовая принадлежность дрожжей устанавливалась по форме спор, способу их образования и прорастания, а также по морфологическим показателям клетки, образованию осадка, пленки или кольца на поверхности жидкой среды. Видовая идентификация проводилась на основании сбраживания сахаров и декстринов.

Результаты и обсуждение. Для изучения нами были отобраны 17 рас активных дрожжей для получения сухих столовых, натурально-крепких, красных и полусладких вин.

Таблица 1

Форма и размер клеток дрожжей, выделенных из осадков столовых вин

Наименование культур	Размеры клеток при развитии, мкм						Форма клеток
	в виноградном сусле			на солодовом сусло-агаре			
	максимальный	минимальный	средний	максимальный	минимальный	средний	
Котайк II—6	7,5×6,0	5,4×5,0	6,45×5,5	8,0×7,75	6,0×5,25	7,0×6,5	эллипсоидная
Котайк VI—4	8,2×7,2	6,8×6,0	7,5×6,5	9,0×8,5	7,0×6,25	8,5×7,62	эллипсоидная
Котайк 212	8,0×7,5	6,9×6,5	7,45×7,0	9,25×8,25	7,75×6,9	8,5×7,57	округлая
Лалвари III—8	7,0×5,75	5,5×4,75	6,25×5,25	9,0×8,0	7,0×5,75	8,0×6,67	эллипсоидная
Лалвари 100	7,5×6,0	5,9×4,5	6,7×5,25	9,5×8,75	6,0×5,2	7,75×6,5	эллипсоидная
Лалвари 129	6,25×5,75	5,0×4,75	5,62×5,25	9,0×8,5	6,75×6,0	8,37×7,25	округлая
Арагац 220	7,9×6,5	4,2×3,9	6,65×5,2	8,5×7,25	5,5×5,0	7,0×6,12	эллипсоидная
Арагац 226	6,9×5,0	5,5×4,0	6,2×4,5	8,0×7,0	6,0×5,25	7,0×6,12	эллипсоидная
Арагц 227	8,2×7,4	7,2×6,75	7,7×7,07	10,0×8,0	9,0×7,5	9,5×7,75	эллипсоидная

Таблица 2

Форма и размер клеток дрожжей, выделенных из осадков полусладких, натурально-крепких и красных вин

Наименование культур	Размеры клеток при развитии, мкм						Форма клеток
	в виноградном сусле			на солодовом сусло-агаре			
	максимальный	минимальный	средний	максимальный	минимальный	средний	
Двин 7	6,9×5,5	6,0×4,9	6,5×5,2	7,0×5,8	6,25×5,0	6,62×5,4	эллипсоидная
Двин 1--2	6,6×6,3	4,9×4,5	5,75×5,4	6,9×5,5	5,3×4,9	6,1×5,2	эллипсоидная
Двин 62/2	7,5×6,8	6,8×6,2	7,1×6,5	8,5×8,0	6,0×6,0	7,25×7,15	округлая
Айгешат 218	6,75×5,25	5,0×4,5	5,87×4,87	8,0×7,5	5,25×4,75	6,67×6,12	эллипсоидная
Айгешат 219	7,5×6,25	6,25×5,5	6,87×5,87	7,75×7,0	5,0×4,7	6,37×7,3	эллипсоидная
Арени 22	6,75×5,75	6,0×4,8	6,37×5,27	7,5×6,25	6,2×4,7	6,85×5,49	округлая
Арени 214	7,0×6,0	5,8×5,0	6,9×6,5	8,25×7,75	6,75×5,0	7,25×6,37	эллипсоидная
Арени 221	8,0×7,65	6,25×6,0	7,12×6,87	9,0×8,5	7,0×6,0	8,0×7,25	эллипсоидная

В табл. 1 и 2 приведены данные о размере и форме дрожжевых клеток. Особенно крупные клетки наблюдались у культур Котайк VI-4 (7,45×6,5 мкм с виноградарского сусла), Арагац 227 (7,45×7,0 мкм). Двин 62/2 (7,1×6,5 мкм). Наиболее мелкие—у Лалвари 129 (5,62×5,25 мкм), Двин 1-2 (5,75×5,4), Айгешат 218 (5,87×4,87). Из 17-ти штаммов три—Двин 1-2, Котайк VI-4 и Арени 221—образуют зернистый осадок, а остальные—пылевидный. Культурально у этих штаммов также выявляются различия (рис.).

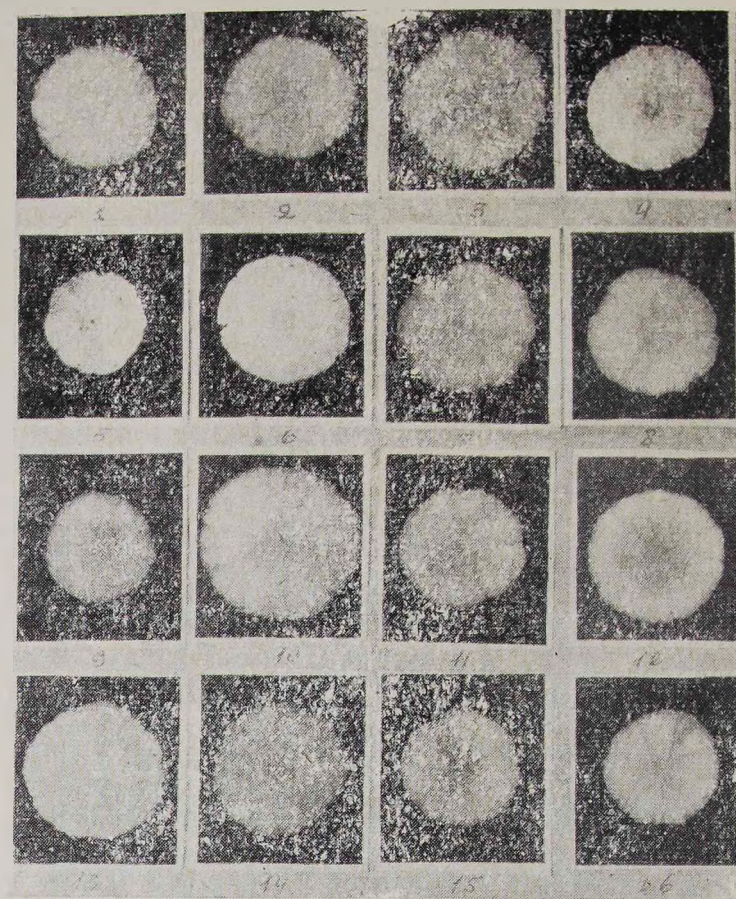


Рис. Гигантские колонии штаммов дрожжей на сусло-агаре: 1—Котайк II-6, 2—Котайк VI-4, 3—Котайк 212, 4—Лалвари III-8, 5—Лалвари 100, 6—Лалвари 129, 7—Арагац 220, 8—Арагац 226, 9—Арагац 227, 10—Двин 7, 11—Двин 1-2, 12—Двин 62/2, 13—Айгешат 218, 14—Айгешат 219, 15—Арени 22, 16—Арени 214 (штамм 17 Арени 221 культурально идентичен штамму 1).

Важным моментом является споробразующая способность дрожжевых культур, которая способствует хранению культур в музее, а также сохранению их свойств.

Нами определялась спорообразующая способность выделенных нами культур на гипсовых блоках. Выяснилось, что все штаммы образуют споры с некоторой разницей в количестве асков (табл. 3). При этом двухспоровых асков встречалось больше всего у штаммов Арени 214 (60,6%), Айгешат 219 (58,6%), Котайк 212, Двин—7 (57% и более), а трехспоровых—у штаммов Двин 62/2 (75%), Котайк VI-4. Лалвари 129, Арагац 220, 226 (более 60%), меньше всего их было у штаммов Котайк II-6 (19,7%), у которого больше оказалось четырехспоровых асков (80,3%). Несколько меньше (55%) их было у штамма Айгешат 218.

Таблица 3

Количество спор в аске отобранных штаммов дрожжей

Наименование штаммов	Количество спор в аске, ‰			
	по 1	по 2	по 3	по 4
Котайк II—6	—	—	19,7	80,3
Котайк VI—4	—	29,1	60,6	10,3
Котайк 212	—	57,4	36,1	6,5
Лалвари III—8	6,1	53,8	29,4	10,7
Лалвари 100	4,0	37,5	45,0	13,5
Лалвари 129	1,7	32,1	66,2	—
Арагац 220	—	29,6	62,9	7,5
Арагац 226	—	24,1	63,7	12,0
Арагац 227	3,5	32,1	39,2	25,2
Двин 7	—	57,2	38,1	4,7
Двин I—2	—	20,0	50,0	30,0
Двин 62/2	—	22,2	75,0	2,8
Айгешат 218	—	10,0	35,0	55,0
Айгешат 219	—	58,6	37,9	3,5
Арени 22	25,9	45,5	28,6	—
Арени 214	—	60,6	27,3	12,1
Арени 221	2,7	27,9	47,2	22,2

Для идентификации выделенных культур были изучены их физиолого-биохимические особенности. Опыты показали, что все 17 штаммов сбраживали глюкозу, галактозу, сахарозу, раффинозу, усваивали этиловый спирт, глицерин, уксусную и молочную кислоты. Они не усваивали маннит, дульцит, сорбит, янтарную, винную и лимонную кислоты. По сбраживанию декстринов (по количеству выделившегося углекислого газа в г) наименее активными были штаммы Котайк VI-4 (1,1), Арагац 226 (2,0); большинство других культур обладали активностью в пределах 2,5—2,6 CO₂/г.

В процессе микробиологических исследований нами получен новый штамм дрожжей ШП-1 для шампанизации виноматериалов в резервуарах периодическим или непрерывным способом, характеристика которого дана в авторском свидетельстве Госкомизобретений [3].

НИИ виноградарства, виноделия и плодоводства
МСХ АрмССР

Поступило 18.V 1979 г.

ՀԱՅԿԱԿԱՆ ԳԻՆԻՆԵՐԻ ՆՈՐ ՇԱՔԱՐԱՍՆԿԱՅԻՆ ԿՈՒՆՏՐԱՆԵՐԻ
ՄՈՐՖՈ-ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Լ. Գ. ԴԱՆԻԵԼՅԱՆ, Բ. Պ. ԱՎԱԿՅԱՆ

Տարբեր տիպի գինիների շաքարասեկային ֆլորայի ուսումնասիրության հետևանքով մեր կողմից անջատվել են 17 շտամներ, որոնք մորֆո-ֆիզիոլոգիական հատկությունների ուսումնասիրության հիման վրա դասվել են Sacch. vini տեսակին:

MORPHO-PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF NEW
YEAST CULTURES FROM ARMENIA

L. G. DANIELIAN, B. P. AVAKIAN

As a result of study of different wine types 17 races of active yeast cultures have been selected. Morpho-physiological characteristics of selected cultures have been determined and all of them have been identified as Sacch. vini.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Авакян Б. П., Даниелян Л. Г. Промышленность Армении, №2, 1966.
2. Авакян Б. П. Вопросы виноградарства, виноделия. Сб. рефератов научных работ Всесоюзного НИИ ВВ «Магарач», 1971.
3. Авакян С. П., Авокян Б. П., Даниелян Л. Г. Авт. свид. СССР № 488856, 1974.
4. Африкян Р. Л. Бюл. вин. зон. станции АрмССР, 1, 1934.
5. Кудрявцев В. И. Систематика дрожжей. М., 1954.
6. Простосердов Н. Н. Вестник виноделия и виноградарства СССР, 8—9, 1931.
7. Саруханян Ф. Г. Микрофлора основных бродильных производств Армянской ССР, Ереван, 1960.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ИНГИБИТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ПЕРЕАМИНИРОВАНИЯ РАЗВЕТВЛЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ CANDIDA GUILLIERMONDII

И. В. ГОГИНЯН

Показан тиоловый характер трансаминазы разветвленных аминокислот (Ф I) и лейцинспецифичной трансаминазы (Ф II). Действие классических ингибиторов трансаминаз (циклосерина и гидроксилamina) на исследуемые ферменты по характеру отличается от такового на ферменты другого происхождения. Моно- и дикарбоновые кислоты конкурентно ингибируют активность Ф I и Ф II.

В предыдущих наших исследованиях было показано наличие двух ферментных систем переаминирования разветвленных аминокислот (Ф I и Ф II) у дрожжей *C. guilliermondii* ВКМ У-42. Было изучено поведение этих ферментативных активностей при гельфильтрации и ионообменной хроматографии, а также влияние ионной силы среды и низких температур на активность трансаминарования разветвленных аминокислот [4]. На основании выявленных свойств ферментов был разработан метод их очистки и изучены некоторые кинетические свойства (оптимум pH, K_m , молекулярный вес) очищенных ферментных препаратов [5].

В настоящей работе приведены результаты изучения влияния различных ингибиторов на активность Ф I и Ф II с целью более глубокой характеристики последних.

Материал и методика. Выращивание дрожжей и определение ферментативной активности проводились по ранее описанным методам [4]. Ингибиторы добавлялись в инкубационную смесь без предварительной предынкубации с ферментом. Моно- и дикарбоновые кислоты добавлялись в количестве 20 мкМ.

Результаты и обсуждение. В первой серии экспериментов изучалось влияние парахлормеркурийбензоата (ПХМБ), блокирующего SH-группы с образованием меркаптидов, на трансаминазную активность разветвленных аминокислот (Ф I и Ф II).

Как видно из данных табл. I, при низких концентрациях ПХМБ ($0,063 \times 10^{-5}$ М) активность Ф I и Ф II уменьшается незначительно (на 10 и 8% соответственно). При увеличении его концентрации процент ингибирования повышается, причем несколько быстрее у Ф I. Полное ингибирование обоих ферментов достигается при концентрации ПХМБ 5×10^{-5} М.

Следует отметить, что Ф II печени крыс менее чувствителен к действию ПХМБ, так как полное ингибирование его наступает при более высоких концентрациях ингибитора— 1×10^{-3} М [6]. Еще менее чувствительными к действию ПХМБ оказались ферменты переаминирования разветвленных аминокислот бактериального происхождения. Так, фермент, выделенный из *Acetobacter suboxydans*, при концентрации ПХМБ 1×10^{-3} М ингибируется на 51% [4], а из *Neurospora crassa*—на 79% при концентрации 1×10^{-1} М [5].

Таким образом, SH-группы изучаемых нами ферментов (Ф I и Ф II) подобно Ф II печени крысы и трансаминазе разветвленных аминокислот, выделенных из *Acetobacter suboxydans* и *Neurospora crassa*, ответственны за ферментативную активность.

Таблица 1

Влияние различных концентраций ПХМБ на активность Ф I и Ф II

Концентрация ПХМБ, М	% ингибирования	
	Ф I	Ф II
5×10^{-5}	100	100
2×10^{-5}	85	71
$0,5 \times 10^{-5}$	73	61
$0,25 \times 10^{-5}$	61	48
$0,063 \times 10^{-5}$	10	8

Таблица 2

Влияние различных концентраций гидроксилamina на активность Ф I и Ф II

Концентрация гидроксилamina, М	% ингибирования	
	Ф I	Ф II
$2,5 \times 10^{-2}$	100	100
$1,25 \times 10^{-2}$	38	52
$0,625 \times 10^{-2}$	20	35
$0,310 \times 10^{-2}$	11	27

С другой стороны, по другим данным, трансаминаза В, выделенная из *Salmonella typhimurium*, не реагирует ни на р-гидроксимеркурийбензоат, ни на ионы тяжелых металлов, в том числе Hg^{2+} . Авторы заключают, что активность выделенного ими фермента не зависит от наличия сульфгидрильных групп [7].

Из карбонильных реагентов, блокирующих альдегидную группу пиридоксальфосфата, нами испытывался гидроксилamin. Полученные данные (табл. 2) свидетельствуют о большей чувствительности Ф II ко всем испытанным концентрациям ингибитора, по сравнению с Ф I; полное ингибирование обоих ферментов достигается при концентрации гидроксилamina $2,5 \times 10^{-2}$ М.

Приблизительно при той же концентрации циклосерина ($2,8 \times 10^{-2}$ М) наблюдается 100%-ное ингибирование Ф I и Ф II (табл. 3). Однако, в отличие от гидроксилamina, различные концентрации циклосерина примерно одинаково ингибирует активность обоих ферментов, за исключением самой низкой из испытанных— $0,35 \times 10^{-2}$ М, при которой Ф I ингибируется на 43, а Ф II—на 60%.

Следует отметить, что трансаминаза разветвленных аминокислот (Ф I), выделенная из *Acetobacter suboxydans*, ингибируется гидрокси-

ламинои и циклосеринои на 50 и 74% соотвѣтственно при концентрации последних 1×10^{-3} М [4].

Еще болѣе чувствительна к действию гидроксиламина трансминаза разветвленных аминокислот (Ф I) сердечной мышцы свиньи: при концентрации ингибитора 1×10^{-6} М этот фермент ингибируется на 82% [6].

Исследования, проведенные на животных трансминазах, показали, что синтетический DL-циклосерин в концентрациях порядка 10^{-4} М действует как мощный ингибитор аланин-трансминазы печени крыс [3].

Ряд других трансминаз животного происхождения тормозились при концентрациях на 2—3 порядка болѣе высоких, а аспартат-трансминаза различного происхождения (печень, сердечная мышца, *Bacillus subtilis*) оказалась весьма резистентной к действию DL-циклосерина.

Таблица 3
Влияние различных концентраций циклосерина на активность Ф I и Ф II

Концентрация циклосерина, М	% ингибирования	
	Ф I	Ф II
$2,8 \times 10^{-2}$	100	100
$1,4 \times 10^{-2}$	75	78
$0,7 \times 10^{-2}$	68	73
$0,35 \times 10^{-2}$	43	60

Таблица 4
Влияние моно- и дикарбоновых кислот на активность Ф I и Ф II

Кислоты	% ингибирования	
	Ф I	Ф II
Муравьиная	17	29
Уксусная	19	39
Пропионовая	22	22
Масляная	25	27
Валериановая	39	25
Капроновая	48	64
Щавелевая	6	32
Малоновая	12	23
Янтарная	37	37
Фумаровая	22	25
Глутаровая	7	30

В следующей серии экспериментов нами испытывалось влияние моно- и дикарбоновых кислот, являющихся аналогами субстратов разветвленных аминокислот, на трансминазную активность Ф I и Ф II.

Как видно из полученных данных (табл. 4), ингибирующее влияние монокарбоновых кислот на активность Ф I увеличивается с удлинением их углеродной цепочки. Для Ф II такая закономерность не наблюдается. Наибольшая степень ингибирования обоих ферментов достигается в вариантах с капроновой кислотой, причем Ф II болѣе чувствителен к ее действию (64%), чем Ф I (48%).

Дикарбоновые кислоты ингибируют Ф I в значительно меньшей степени, а Ф II—приблизительно в той же степени, что и монокарбоновые. Наиболее сильным ингибитором из дикарбоновых кислот оказалась янтарная кислота.

Степень ингибирования трансминаз карбоновыми кислотами зависит от pH инкубационной среды. Так, Ф I из сердечной мышцы свиньи сильно ингибируется моно- и дикарбоновыми кислотами при pH 8,3,

а при более высоких его значениях—лишь монокарбоновыми кислотами [11]. Подобные результаты были получены при исследовании торможения активности мозговой трансаминазы ГАМК карбоновыми кислотами в диапазоне рН 7,7—8,6. При сдвиге рН в более кислую сторону ингибирующее действие дикарбоновых кислот (глутаровая, адипиновая и янтарная) заметно усиливается, а монокарбоновых—остается без изменения [2].

Таким образом, примененные ингибиторы трансаминаз, а также ПХМБ оказывают ингибирующее влияние на изоферменты трансаминазы разветвленных аминокислот дрожжей *Candida guilliermondii* ВКМ У-42, по характеру отличающиеся от влияния их на некоторые ферменты другого происхождения. При этом раскрываются и существенные различия между изученными двумя изоферментами Ф I и Ф II.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии и проблемная лаборатория
сравнительной и эволюционной биохимии

Поступило 13.III 1979 г.

ՏԱՐԲԵՐ ԻՆՀԻԲԻՏՈՐՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ CANDIDA GUILLIERMONDII
ԽՄՐՈՐԱՍՆԿԵՐԻ ՀՅՈՒՂԱՎՈՐՎԱՍ ՍՄԻՆԱԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ՏՐԱՆՍԱՄԻՆԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ի. Վ. ԳՈԴԻՆՅԱՆ

Ցույց է տրված ճյուղավորված ամինաթթուների տրանսամինազայի (Ф I) և լեյցինին սպեցիֆիկ տրանսամինազայի (Ф II) թրջության բնույթը:

Տրանսամինազների կլասիկ ինհիբիտորների՝ ցիկլոսերինի և հիդրօքսիլամինի ազդեցությունը հետազոտվող ֆերմենտների վրա իր բնույթով տարբերվում է այլ ֆերմենտների վրա նրանց ունեցած ազդեցությունից: Մոնո- և դիկարբոնաթթուները Ф I և Ф II ենթարկվում են կոնկուրենտային արգելակման:

INFLUENCE OF DIFFERENT INHIBITORS ON THE ACTIVITY OF
BRANCHED CHAIN AMINO ACID TRANSAMINATION ENZYMES
OF CANDIDA GUILLIERMONDII

I. V. GOGINIAN

It was shown, that transaminase of branched chain aminoacids (Ф I) and leucine-specific transaminase (Ф II) were inhibited by typical inhibitors of thiol-enzymes.

The character of action of classic inhibitors (cicloserine and hydroxylamine) of transaminases on the activity of Ф-I and Ф-II is different from effect on other enzymes. Ф-I and Ф-II are competitively inhibited by mono and dicarbonic acids.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Браунштейн А. Е. Докл. на VIII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии. Секция химии природных соединений и биохимии, март, 1958.
2. Васильев В. Ю., Автореф. канд. дисс., Л., 1969.
3. Вышепань Е. Д., Иванова К. И., Чернух А. М. Бюлл. экспер. биологии и медицины, 47, 52, 1959.
4. Гогинян И. В., Багдасарян Е. Г., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 29, 9, 1976.
5. Давтян М. А., Гогинян И. В., Багдасарян Е. Г. Биолог. ж. Армении, 30, 1, 1977.
6. Aki K., Ogawa K., Ichihara A. Biochim., Biophys. Acta, 159, 2, 1968.
7. Coleman M. S., Armstrong F. B. Biochim., Biophys. Acta, 227, 1971.
8. Collins M., Wagner R. Arch. Biochem., Biophys., 155, 184, 1973.
9. Tachiki T., Tochikura T. Agr. a. Biol. Chem. (Japan), 40, 11, 1976.
10. Taylor R., Jenkins T. J. Biol. Chem., 241, 19, 1966.
11. Taylor R., Shakespeare V., Jenkins W. T. J. Biol. Chem., 245, 19, 1970.

ОЧИСТКА АРГИНАЗЫ ДРОЖЖЕЙ CANDIDA GUILLIERMONDII VAR. MEMBRANAEFACIENS

М. А. ДАВТЯН, С. В. ЧУБАРЯН, Л. Р. ТУМАНЯН

Осуществлена частичная очистка индуцированной аргиназы дрожжей *Candida guilliermondii* var. *membranaefaciens* ВКМ У-43, являющихся наиболее активными из семи исследованных нами представителей дрожжей рода *Candida*. Очистка проводилась в несколько этапов: экстракция, обработка марганцем и пропанолом, холодовая обработка, гельфильтрация, высаливание сульфатом аммония.

В то время как в литературе довольно широко освещены вопросы, касающиеся очистки, структуры и изоферментов животной аргиназы различного происхождения, аргиназа микроорганизмов мало изучена. Микробальная аргиназа, найденная в *S. cerevisiae* [8, 9], *N. crassa* [11] и *Bacillus* [5, 6], является катаболическим ферментом, снабжающим клетки азотом. По молекулярному весу аргиназы микроорганизмов можно отнести к легким (около 130 000 дальтон), к которым относится печеночная аргиназа млекопитающих и других уреотелических организмов, а также фермент *S. cerevisiae*, оказавшийся тримером [13], и тяжелым (около 300 000 дальтон), включающим аргиназы некоторых урикотелических организмов и аргиназу *Neurospora* и *Bacillus*, являющиеся, вероятно, гексамерами [14].

Аргиназа микроорганизмов проявляет некоторые свойства, общие с аргиназой животных и растений (рН оптимум, активирование двухвалентными ионами, Км) [4, 15].

Очистка бактериальной аргиназы до кристаллического состояния осуществлена Накамура и др. [12] из *B. subtilis*. Очищена также и установлено количество субъединиц аргиназы *S. cerevisiae* [13], наиболее изученной среди дрожжевых аргиназ. Что касается исследований этого фермента у кормовых дрожжей, соответствующих данных в литературе нет. У изученных нами дрожжей рода *Candida* обнаружены два изофермента аргиназы, выделенные при гельфильтрации бесклеточного экстракта [1].

Перед нами была поставлена задача исследовать аргиназную активность у разных представителей этого рода, а также разработать метод очистки фермента с целью дальнейшего изучения его свойств на очищенном препарате.

Материал и методика. Выращивание дрожжей проводилось как описано ранее [2]. Гомогенизация осуществлялась в гомогенизаторе типа Элведжема-Поттера или

прессом. В первом случае разрушение проводилось в присутствии Al_2O_3 в буферной среде в пять приемов по 1 мин в ледяной бане. При гомогенизировании прессом (пресс охлаждался до $-18-20^\circ$) разрушению подвергался дрожжевой осадок, предварительно замороженный в течение 18—24 час. при $-18-20^\circ$. С целью определения активности проводилось инкубирование ферментного препарата при 37° в течение 30 мин. Инкубационная среда содержала 50 мкМ аргинина в 0,04 М глициновом буфере и 0,5 мл ферментного препарата, объем смеси 2,5 мл. В сосудики с препаратами, не содержащими марганца, добавлялось 5 мкМ $MnCl_2$. Реакция останавливалась добавлением 1 мл 20%-ного ТХУ. Об аргиназной активности судили по образованию мочевины, которая определялась методом Арчибалда [3]. Активность фермента выражали в мкМ мочевины. Белок определялся спектрофотометрически на СФ-4А при длине волны 280 нм и методом Лоури и др. [7].

Результаты и обсуждение. С целью выбора наиболее активной культуры для очистки дрожжевой аргиназы аргиназная активность определялась в бесклеточных экстрактах 7 представителей дрожжей рода *Candida* (табл. 1). Разрушение дрожжей проводилось в 0,1 М трис-буфере, pH 8,0, гомогенизатором типа Элведжсма-Поттера. Бесклеточный экстракт получался центрифугированием гомогената при 10 000 g 20 мин. Данные табл. 1 свидетельствуют о том, что *C. guilliermondii* var. *membranaefaciens* ВКМ У-43 обладает высокой активностью, превышающей активность фермента других культур более 8 раз, поэтому она была отобрана нами для дальнейших исследований.

Таблица 1

Аргиназная активность бесклеточных экстрактов различных представителей дрожжей рода *Candida*

Культура	Белок, мг	Общая активность, мкМ мочевины	Удельная активность, мкМ мочевины/мг белка
<i>C. tropicalis</i> Кз-10	10,2	6,3	0,61
<i>C. utilis</i> ВКМ У-74	23,0	14,8	0,64
<i>C. chevalieri</i> ВКМ У-37	45,0	17,4	0,38
<i>C. arborea</i> ВКМ У-33	15,0	11,8	0,78
<i>C. guilliermondii</i> ВКМ У-42	25,2	15,8	0,62
<i>C. guilliermondii</i> var. <i>membranaefaciens</i> ВКМ У-43	27,2	114,6	4,21
<i>C. tropicalis</i> ВКМ У-595	14,0	11,8	0,84

Для очистки аргиназы нами использовалась индуцированная культура, выросшая в синтетической среде с аргинином в качестве единственного источника азота. С этой целью было установлено минимальное количество аргинина, вызывающее оптимальную индукцию фермента (табл. 2). В качестве контроля служила культура, выросшая в среде с сульфатом аммония. Чтобы иметь количество азота, соответствующее таковому в используемой нами синтетической среде с сульфатом аммония, необходимо брать 717 мг аргинина на 100 мл среды. Однако данные табл. 2 показывают, что количество аргинина более 200 мг почти не влияет на индукцию аргиназы, поэтому в последующих экспериментах нами использовалось 200 мг аргинина на 100 мл синтетической среды.

Ниже представлена разработанная нами схема очистки аргиназы. В предыдущих экспериментах экстракция фермента осуществлялась в воде и трис-буфере. Но поскольку в схеме, разработанной Накамура и др. [12] для очистки аргиназы *B. subtilis*, полученной авторами в кристаллическом состоянии, для экстракции фермента использовался концентрированный фосфатный буфер (0,5 М), а Мидельховеном [10] было показано ингибирование фосфатом аргиназы *S. cerevisiae*, мы исследовали влияние различных концентраций ионов фосфора на аргиназную активность. С этой целью гомогенизацию дрожжей и последующую экстракцию фермента проводили в воде, трис-буфере и фосфатном буфере различной молярности (табл. 3).

Таблица 2

Влияние количества аргинина в среде роста на индукцию аргиназы
C. guilliermondii var. *membranaefaciens* ВКМ У—43

Источник азота, мг/100 мл среды	Белок, мг	Общая актив- ность, мкМ мочевины	Удельная актив- ность, мкМ моче- вины/мг белка
(NH ₄) ₂ SO ₄ , 310	24,5	90,6	3,7
Аргинин	100	343,5	15,0
	200	629,9	24,9
	300	688,8	28,0
	700	607,7	29,5

Таблица 3

Влияние среды гомогенизации и среды экстракции
на аргиназную активность *C. guilliermondii*
var. *membranaefaciens* ВКМ У—43

Среда гомогенизации и экстракции	Удельная актив- ность, мкМ мочеви- ны/мг белка
Вода	34,5
Трис-буфер, 0,1 М	40,0
Фосфатный буфер, 0,1 М	53,2
Фосфатный буфер, 0,5 М	50,3

Данные табл. 3 показывают, что фосфатный буфер не влияет отрицательно на аргиназную активность, даже имеет некоторые преимущества по сравнению с водой и трис-буфером. Более концентрированный фосфатный буфер (0,5 М), как оказалось в процессе работы, способствует лучшему сохранению активности аргиназы в процессе очистки.

Очистка осуществлялась следующими этапами при температуре 0—5°.

1 этап. Экстракция фермента. Промытые дрожжевые клетки (около 2 г сухого веса) замораживались при —20° в течение 18—20 час., разрушались прессом и суспендировались в 7—8 мл 0,5 М фосфатного буфера, рН 8,0. Экстракция проводилась в течение 1 часа с магнитной

мешалкой. Бесклеточный экстракт получали удалением неразрушенных клеток и клеточных осколков центрифугированием при 10 000 g 20 мин. Объем надосадочной жидкости составлял 12 мл.

2 этап. Обработка марганцем. К бесклеточному экстракту по каплям добавлялось 1,13 мл 1 М раствора $MnCl_2$ при постоянном перемешивании. pH приводился к 8,0 добавлением по каплям 5 N раствора KOH. После 30-минутного перемешивания образовавшийся неактивный осадок удалялся центрифугированием при 10 000 g 20 минут.

Нами была предпринята попытка термической обработки надосадочной жидкости, полученной на втором этапе очистки, тем более что она увеличивает приблизительно в 3 раза удельную активность фермента у *Bacillus* [12, 14]. Однако для нашей культуры эта обработка оказалась неэффективной.

Таблица 4

Этапы очистки аргиназы дрожжей
S. gutthiermondii var. *membranaefaciens* ВКМ Y-43

Этап	Общий белок, мг	Общая активность, мкМ мочевины	Удельная активность, мкМ моч/мгм белка	Выход, %	Степень очистки
Гомогенат	195,7	2062	10,5	100	—
Бесклеточный экстракт	62,4	1555	24,9	75,4	2,4
Обработка марганцем	40,0	1604	40,1	77,8	3,8
Обработка пропанолом	17,2	1404	81,8	68,1	7,8
Холодовая обработка	10,8	1390	128,0	67,4	12,2
Гельфильтрация	5,5	1461	255,6	70,8	25,3
Высаливание $(NH_4)_2SO_4$	1,7	1426	833,9	69,1	79,4

3 этап. Обработка н-пропанолом. К 12,5 мл надосадочной жидкости при постоянном перемешивании добавлялся н-пропиловый спирт до 20%-ного насыщения. Смесь охлаждалась льдом с солью. Через 10 мин образовавшийся осадок удалялся центрифугированием при 10 000 g 20 мин. Попытка дальнейшего насыщения до 50%, согласно Накамура и др. [12], приводящего к выпадению активного осадка, в наших экспериментах оказалась неэффективной.

4 этап. Холодовая обработка. Надосадочная жидкость (13 мл) оставлялась на ночь при -15° . Осевший белковый осадок удалялся центрифугированием при 25 000 g 30 мин. Для удаления пропанола надосадочная жидкость пропускалась через колонку с сефадексом G-50 (1,8×51), уравновешенным 0,01 М трис-ацетатным буфером, содержащим 5 мМ L-треонина и 1 мМ $MnCl_2$, pH 8,0. Элюирование проводилось тем же буфером, объем фракций 5 мл. Наиболее выраженная аргиназная активность обнаружена во фракциях 15—19.

5 этап. Высаливание сульфатом аммония. Активные фракции (15—19), полученные при гельфильтрации, объединялись и подвергались вы-

саливанию в присутствии аргинина (20 мкМ в 1 мл). Неактивный белковый осадок, полученный при насыщении сульфатом аммония до 40%, удалялся центрифугированием при 25 000 g 30 мин. Последующее 70%-ное насыщение приводило к выпадению активного осадка, который собирался центрифугированием при 25 000 g 30 мин. Осадок суспендировался в 3,5 мл трис-ацетатного буфера, содержащего треоин и марганец. Аммоний сульфат удалялся гельфильтрацией полученной суспензии через колонку с сефадексом G-50 (1,8×30), уравновешенным указанным буфером с аргинином (20 мкМ в 1 мл). Элюирование проводилось тем же буфером, объем фракций 5 мл. Аргиназная активность выходила с фракциями 8 и 9.

В результате разработан метод очистки аргиназы (степень очистки 79,4), с выходом 69,1%, позволяющий получать высокоактивный препарат с удельной активностью 833,9.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии и проблемная лаборатория
сравнительной и эволюционной биохимии

Поступило 20.VII 1979 г.

CANDIDA GUILLIERMONDII VAR. MEMBRANAEFACIENS BKM Y-43 ԽՄՈՐԱՍՆԿԵՐԻ ԱՐԳԻՆԱԶԱՅԻ ՄԱՔՐՈՒՄԸ

Մ. Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ, Ս. Վ. ՉՈՒԲԱՐՅԱՆ, Լ. Ռ. ԹՈՒՄԱՆՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է արգինազային ակտիվության առկայությունը *Candida* ցեղի խմորասնկերի յոթ ներկայացուցիչների մոտ: Իրականացվել է ինդուկցիայի ենթարկված ֆերմենտի մասնակի մաքրումը *Candida guilliermondii* var. *membranaefaciens* BKM Y-43 մոտ: Մաքրումը կատարվել է մի քանի էտապներով՝ էքստրակցիա, մշակում մանգանով և պրոպանոլով, գելֆիլտրացիա, աղայնացում $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -ով:

PURIFICATION OF ARGINASE FROM CANDIDA GUILLIERMONDII VAR. MEMBRANAEFACIENS

M. A. DAVTIAN, S. V. CHUBARIAN, L. R. TUMANIAN

The arginase of *C. guilliermondii* var *membranaefaciens* VKM Y-43 has been purified. The purification has been carried out by several stages: the extraction, manganese treatment, sephadex G-50 chromatography and ammonium sulfate treatment.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Габриелян Г. А., Акопян Б. А., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 30, 8, 1977.
2. Чубарян С. В., Тер-Карапетян М. А., Туманян Л. Р. Биолог. ж. Армении, 24, 8, 1971.

3. *Archibald R. M.* J. Biol. Chem., 156, 121, 1944.
4. *Chan P. Y., Cosins E. A.* Plan Cell Phystol, 14, 641, 1973.
5. *De Haaver G., Lavallo R., Wiame J. M.* Biochim. Biophys. Acta, 81, 257, 1964.
6. *Lalshley E. J., Bernlohr R. W.* J. Bacteriol, 96, 322, 1968.
7. *Lowry O. H., Rosebrough N. Y., Farr A. L., Randall R. Y.* J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
8. *Middelhoven W. J.* Biochim. Biophys. Acta, 93, 650, 1964.
9. *Middelhoven W. J.* Biochim. Biophys. Acta, 191, 110, 1969.
10. *Middelhoven W. J.* Antonie van Leeuwenhoek. J. Serol. Microbiol., 35, 215, 1969.
11. *Mora J., Tarrab R., Martuscelli J., Soberon G.* Blochim. J., 96, 588, 1965.
12. *Nakamura N., Fujita M., Klmura K.* Agr. Biol. Chem., 37, 2827, 1973.
13. *Penninckx M., Simon J. P., Wiame J. M.* Eur. J. Biochem., 49, 429, 1974.
14. *Simon J. P., Stalon V.* Biochimie, 58, 1419, 1976.
15. *Yamanaka K., Gino M. J.* Ferment. Technol., 838, 1976.

КЛЕТОЧНАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ОТБОРА И ИЗУЧЕНИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ С АСПАРАГИНАЗНОЙ И ГЛУТАМИНАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Ж. К. АСЛАНЯНЦ, Я. В. ДОБРЫНИН

Клеточные линии рака человека СаРа (карцинома поджелудочной железы) и лимфома Бёркитта—Р₃НЕНР чувствительны к аспарагину и глутамину; клеточная линия СаОv (карцинома яичника) не чувствительна к этим аминокислотам.

Тест-система, состоящая из чувствительных к аспарагину и глутамину—СаРа и Р₃НЕНР—и нечувствительной—СаОv—клеточных линий может использоваться для отбора и изучения специфической биологической L-аспарагиназной-глутаминазной активности и неспецифической цитотоксичности испытуемых ферментных препаратов.

Одним из ферментов, проявляющих специфический противоопухолевый эффект, является L-аспарагиназа [2—5, 8—10].

Для определения первичной оценки биологической активности препаратов используется метод монослойных и суспензионных клеточных культур [5—9]. Для проведения подобных испытаний необходимо создание тестирующей системы, состоящей из чувствительных и нечувствительных к специфическому действию препаратов клеток.

В статье приводятся результаты исследований по созданию тест-системы, чувствительной к специфической аспарагиназной и глутаминазной активности и неспецифическому цитотоксическому эффекту ферментных препаратов с аспарагиназной и глутаминазной активностью.

Материал и методика. Использовались две монослойные клеточные культуры—СаОv (карцинома яичников человека) и СаРа (карцинома поджелудочной железы человека) и одна стационарная взвешенная культура—лимфома Бёркитта (штамм Р₃НЕНР), взятая из лаборатории иммунологии СНЦ.

Критерием цитотоксического эффекта мы избрали действие препарата на уровень синтеза нуклеиновых кислот (в частности ДНК), так как цитостатики тормозят синтез нуклеиновых кислот независимо от того, действуют они непосредственно на этапы синтеза ДНК или опосредованно, через иные клеточные системы. Данный критерий отражает жизнедеятельность популяции клеток в целом. Цитотоксический эффект оценивали радиометрическим методом, определяя уровень включения клетками меченого тритием Н³-тимидина [1, 6]. Измерение радиоактивности производили с помощью сцинтилляционного счетчика «Интертекник». Гидролиз и экстракцию нуклеиновых кислот осуществляли по модифицированному методу [11]. Детали метода описаны ранее Добрыниным и соавт. [1].

В опытах с монослойными клеточными культурами СаОv и СаРа мы использовали синтетическую питательную среду № 199 с добавлением 10% от объема среды сыворотки крупного рогатого скота с антибиотиком канамидином (100 ед./мл). Инкубационная взвесь содержала 100 тыс. клеток/мл.

В опытах с суспензионной клеточной культурой лимфомы Бёркитта (штамм Р₃НЕНР) использовалась синтетическая среда RPMY-1629 с добавлением 10% от объема среды телячьей эмбриональной сыворотки с антибиотиком мономицином (100 ед/мл). Инкубационная взвесь содержала около 500 тыс. клеток в 1 мл среды.

Приготовленные клеточные взвеси инкубировали с аспарагином, глутамином и α -аспарагиназой фирмы Байер (ФРГ) при 37° в течение 24 час. (в случае с культурами СаОv и СаРа) и в течение 6 час. (в случае с культурой лимфомы Бёркитта). α -аспарагиназа добавлялась к клеткам в концентрации 0,2; 0,5; 1,0; 5,0 и 50 МЕ/мл.

Глутамин и аспарагин добавлялись в инкубационную взвесь в равноэквивалентных дозах—0,2 мг/мл. Кроме того, были проведены опыты с добавлением в инкубационную взвесь избытка аспарагина в дозе 0,5 мг/мл. Препараты добавлялись в среду Игла после отмыва клеточных культур.

Результаты и обсуждение. Результаты опытов с добавлением аспарагина и глутаминна в равноэквивалентных дозах к культуре клеток СаОv показали, что включение метки клетками практически не менялось (табл. 1).

Таблица 1

Чувствительности культур клеток к аспарагину и глутамину

Условия опыта	Время инкубации, час.	Включение НЗ-тимидина		Достоверность, Р
		расп./мин	% от контроля	
Среда Игла + клетки СаОv	24	19137±41	100	P<0,001
Среда Игла+глутамин+клетки СаОv	24	19102±22	99	P<0,005
Среда Игла+аспарагин+клетки СаОv	24	16601±38	84	P<0,001
Среда Игла+аспарагин+глутамин+клетки СаОv	24	23177±33	122	P<0,001

Добавление избытка аспарагина также существенно не влияло на этот показатель. Можно думать, что клетки культуры СаОv являются резистентными к дефициту аспарагина и глутаминна.

Добавление глутаминна и аспарагина в равноэквивалентных дозах к клеточным культурам СаРа и лимфоме Бёркитта выявило тенденцию к увеличению включения метки указанными клетками (табл. 2 и 3).

Из результатов, представленных в табл. 2 и 3, можно заключить, что клеточные культуры СаРа и лимфома Бёркитта чувствительны к дефициту аспарагина и глутаминна. При этом клетки культуры СаРа в большей степени аспарагинзависимы, а клетки культуры Р₃НЕНР-глутаминзависимы.

Таким образом, клеточные культуры СаРа и Р₃НЕНР, по-видимому, аспарагин- и глутаминзависимы и могут служить тестом для определения специфической биологической активности ферментных препаратов с аспарагин-глутаминазной активностью.

Наши данные о резистентности клеточной культуры СаОv к дефициту аспарагина и глутаминна, а также о чувствительности клеточной культуры клеток СаРа, полученной из карциномы поджелудочной железы человека, полностью совпадают с данными других авторов [3, 4].

Испытания ферментного препарата L-аспарагиназы из E. coli в до-

зах 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 5,0 и 50 МЕ/мл доказали, что краснитин в малых дозах (до 5,0 МЕ/мл) не оказывает существенного влияния на включение метки ни у культуры клеток СаОv, ни у культуры клеток СаРа. Однако в дозах 5,0 и 50 МЕ/мл он снижает уровень включения метки указанными культурами до 50%.

Результаты опытов, проведенных с препаратом L-аспарагиназы, показали, что выбор тест-системы, состоящей из чувствительной к аспарагиназе клеточной культуры СаРа, подтверждает наличие специфической биологической активности в препарате, а испытания на нечувствительной к дефициту аспарагина клеточной линии СаОv показали относительную степень очистки указанного фермента, что проявляется в неспецифической цитотоксичности препарата.

Таблица 2

Чувствительность культур клеток СаРа к аспарагину и глутамину

Условия опыта	Время инкубации, час.	Включение Н ³ -тидина		Достоверность, Р
		расп./мин	% от контроля	
Среда Игла+клетки СаРа	24	1389±700	100	Р>0,1
Среда Игла+глутамин+клетки СаРа	24	1920±390	138	Р<0,01
Среда Игла+аспарагин+клетки СаРа	24	1847±576	133	Р=0,05
Среда Игла+глутамин+аспарагин+клетки СаРа	24	2189±547	157	Р<0,05

Таблица 3

Чувствительность клеток Р₃НЕНР к аспарагину и глутамину

Условия опыта	Время инкубации, час.	Включение Н ³ -тидина		Достоверность, Р
		расп./мин	% от контроля	
Среда Игла+клетки Р ₃ НЕНР	6	783±62	100	Р=0,05
Среда Игла+глутамин+клетки Р ₃ НЕНР	6	1021±97	130	Р=0,005
Среда Игла+аспарагин+клетки Р ₃ НЕНР	6	932±602	118	Р>0,1
Среда Игла+аспарагин+глутамин+клетки Р ₃ НЕНР	6	1231±759	157	Р=0,1

Таким образом, клеточные системы, состоящие из аспарагин- и глутаминзависимых (клеток поджелудочной железы человека—СаРа и лимфомы Беркитта—Р₃НЕНР) и аспарагин- и глутаминнезависимых (клеток культуры СаОv) клеточных линий могут быть использованы как тестирующие системы для дифференцировки специфической L-аспарагиназной и глутаминазной биологической активности от неспецифической цитотоксичности ферментных препаратов.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии

Поступило 9.IV 1979 г.

ԲԶՁԱՅԻՆ ՏԵՍՏ-ՍԻՍՏԵՄ ԱՍԳԱՐԱԴԻՆԱԶԱՅԻՆ ԵՎ ԳԼՈՒՏԱ-
ՄԻՆԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՄԲ ՕԺՏՎԱԾ ՖԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ
ՊՐԵՊԱՐԱՏՆԵՐԻ ԸՆՏՐՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՄԱՆ ՀԱՄԱՐ

Ժ. Բ. ԱՍԼԱՆՅԱՆՑ, Յ. Վ. ԴՈԲՐԻՆԻՆ

Մարդու բաղցկեղային բջիջները CaPa (ենթաստամոքսային գեղձի կար-
ցիոնոմա) և Բերկիտտի լիմֆոման -P₃HEHR զգայուն են ասպարագինի
և գլուտամինի նկատմամբ: CaOv (ծվարանի կարցիոնոմա) բջիջները զգա-
յուն չեն այդ ամինաթթուների նկատմամբ:

Տեստ-սիստեման՝ բաղկացած ասպարագինի և գլուտամինի նկատմամբ
զգայուն CaPa և P₃HEHR բջիջներից և ոչ զգայուն բջիջներից կարող են ծա-
ռայել կենսաբանական յուրահատուկ ակտիվությամբ օժտված L-ասպարա-
գինազայի և L-գլուտամինազայի ընտրության և ուսումնասիրման, ինչպես
նաև այդ ֆերմենտների ոչ յուրահատուկ ցիտոտոքսիկ ազդեցության ուսում-
նասիրման համար:

CELL TEST-SYSTEM FOR SCREENING AND STUDY OF
FERMENTATIVE PREPARATIONS WITH ASPARAGINASE
AND GLUTAMINASE ACTIVITY

G. K. ASLANIANTS, J. V. DOBRYNIN

Cell lines of human cancer CaPa (pancreas carcinoma) and Berkitt
lymphoma P₃HEHR are sensitive to asparagine and glutamine, while the
cell line CaOv (ovary carcinoma) is not sensitive.

Test- system consisting of sensitive to asparagine and glutamine cell
lines CaPa and P₃HEHR and not sensitive cell line CaOv may be used
for screening and study of specific biological L-asparaginase-glutaminase
activity and nonspecific cytotoxicity of tested preparations.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Добрынин Я. В., Монатова Т. И., Кондратьева Н. А. Лабор. дело, 3, 143, 1974.
2. Кондратьева Н. А. Канд. дисс. М., 1974.
3. Кондратьева Н. А., Добрынин Я. В., Меркулов М. Ф. Антибиотики, 11, 994, 1977.
4. Кондратьева Н. А., Добрынин Я. В., Меркулов М. Ф. Антибиотики, 2, 122, 1978.
5. Смирнов А. Н. Проблемы гематологии и переливания крови, 8, 62, 1970.
6. Стеняева (Монатова) Т. И. Канд. дисс., М., 1973.
7. Adel A. Yunis, Grace K. Arimura and David J. Russin. Internat. J. of Cancer 19, 1, 128, 1977.
8. Broome J. D. Nature. 191, 1114, 1961.
9. Broome J. D. J. Nat. Cancer Inst. 35, 967, 1965.
10. Burchenal J. H. Cancer Res., 29, 12262, 1969.
11. Ogur M., Rosen G. Arch. Biochem, 25, 262, 1950.

ФЕРМЕНТЫ БИОСИНТЕЗА L-ЦИТРУЛЛИНА
У ЛАКТОБАЦИЛЛ И СРЕПТОКОККОВ

Л. Г. АНАНЯН, М. О. АСАТРЯН

В наших предыдущих работах были представлены данные о наличии четырех ферментов мочевинообразования у молочнокислых палочек и стрептококков и предполагалось присутствие одного из первых ферментов этого цикла—карбаматкиназы [1, 2].

Наша цель заключалась в определении активности карбаматкиназы (АТФ: карбамат фосфотранс-фераза, ЕС 2.7.2.2.) через биосинтез цитруллина при участии орнитинтранскарбамилазы исследуемых бактерий.

Материал и методика. Объектом исследований служили молочнокислые бактерии *L. lactis* 1694, *L. casei* 2528 и стрептококки *Str. faecalis* 2453, штаммы которых были получены из музея сектора микробиологии проблемной лаборатории кафедры молочного дела Ереванского зооветинститута. Бактерии выращивались при 40° на среде: гидролизат молока—100 мл, лактоза—1,2 г, NaCl—0,3 г, дрожжевой автолизат—3 мл, рН 6,4. Дезинтеграция выращенной биомассы проводилась в стеклянном дезинтеграторе типа Поттера—Эльвейгейма в присутствии Al_2O_3 в отношении 1:1 в течение 20 мин. Дезинтеграт центрифугировался при 5000 g в течение 20 мин при $4 \pm 1^\circ$. Активность карбаматкиназы и орнитинтранскарбамилазы определялась по методу Книвета [7] в нашей модификации путем инкубирования ферментного препарата в анаэробных и факультативно-анаэробных условиях в течение 70 мин при 37°. Реакционная среда содержала (в мл): 0,2—L-орнитина, HCl (0,4 M); 0,1—АТФ (0,06 M); 0,1— NH_4Cl (0,36 M); 0,6— $KHCO_3$ (0,5 M), 0,1— $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (0,24 M); 0,7—1,0 ферментного препарата; 0,4— H_2O . Общий объем 2,2 мл. Опыты проводились в трех вариантах. Вариант 1: в реакционную среду с ферментным препаратом вводилась смесь газов в сосудики Варбурга приблизительно в соотношении 5% CO_2 и 95% N_2 . Вариант 2: проводился только в присутствии N_2 ; вариант 3—в присутствии газов. Реакция останавливалась прибавлением 70% ТХУ. Активность ферментов определялась по количеству синтезированного L-цитруллина в мкмольях активности фермента на мг белка по методу Арчибалда [4].

Результаты и обсуждение. В наших ранних исследованиях активность орнитинтранскарбамилазы определялась через фосфорилиз и арсенолиз L-цитруллина [1, 2].

В настоящей работе представлены данные о биосинтезе L-цитруллина из экзогенного L-орнитина и эндогенного карбамилфосфата под

действием орнитинтранскарбамилазы (карбамил-фосфат: L-орнитин-карбоксилтрансфераза, ЕС 2.1.3.3). Синтез карбамилфосфата у исследуемых бактерий проходит в присутствии АТФ, CO_2 , NH_3 под действием карбаматкиназы, что впервые было установлено у стрептококков Джонс [6].

Ряд авторов нашли, что пути биосинтеза карбамилфосфата в животных и бактериальных препаратах идентичны [5, 8]. Однако у микроорганизмов биосинтез проходит в отсутствие N-ацетилглутамата, носит обратимый характер и катализируется ферментом карбаматкиназой, за исключением *E. coli*, в то время как у животных—карбамилфосфатсинтетазой. Реакция биосинтеза цитруллина обратима, и в этом аспекте она представляет второй механизм для использования карбамильной группы цитруллина в биосинтезе пиримидинов.

Т а б л и ц а

Активность карбаматкиназы и орнитинтранскарбамилазы бактерий родов *Lactobacillus* и *Streptococcus*, мкМ/г сухой биомассы

Варианты опытов	Strept. faecalis 2453	
	5% CO_2 + 95% N_2	$M \pm m = 27,04 \pm 9,34$
	N_2	$M \pm m = 27,10 \pm 8,31$
	Газы отсутствуют	$M \pm m = 62,90 \pm 17,00$
	L. casei 2528	
	5% CO_2 + 95% N_2	$M \pm m = 3,71 \pm 0,300$
	N_2	$M \pm m = 3,32 \pm 0,700$
	Газы отсутствуют	$M \pm m = 4,44 \pm 0,200$
	L. lactis 1694	
	5% CO_2 95% N_2	$M \pm m = 3,21 \pm 0,800$
	N_2	$M \pm m = 2,95 \pm 0,104$
	Газы отсутствуют	$M \pm m = 3,33 \pm 0,700$

Как показывают данные табл. 1, выраженная активность ферментов у стрептококков проявляется во всех трех вариантах, т. е. в строго анаэробных и факультативно-анаэробных условиях. Книвет изучал биосинтез цитруллина только в присутствии $\text{N}_2 + \text{CO}_2$. Однако в наших опытах этот процесс фиксирован также в присутствии только азота и в его отсутствие. В последнем случае количество синтезированного цитруллина было вдвое больше, что, очевидно, можно объяснить тем, что для стрептококков, которые являются факультативными анаэробами, строгий анаэриоз менее благоприятен для проявления активности фермента. Лактобациллы по сравнению со стрептококками синтезируют цитруллин в минимальном количестве.

Данные опытов подтверждают факт присутствия первого фермента орнитинового цикла мочевинообразования карбаматкиназы у исследуемых бактерий, что позволяет нам, основываясь на ранее опубликованных данных об остальных ферментах этого цикла, заключить, что изучаемые бактерии обладают комплексом ферментов цикла мочевинообразования.

Наши исследования показали также, что у изучаемых лактобацилл и стрептококков карбаматкиназа и орнитинтранскарбамилаза работают одновременно в двух системах—аргининдигидролазной, т. е. на пути катаболизма аргинина, и биосинтеза L-аргинина в цикле мочевинообразования.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии и проблемная лаборатория
сравнительной и эволюционной биохимии

Поступило 3.III 1979 г.

Լ-ՑԻՏՐՈՒԼԻՆԻ ԲԻՈՍԻՆԹԵԶԻ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԸ ԼԱԿՏՈՐԵԱՑԻԼՆԵՐԻ ԵՎ ՍՏՐԵՊՏՈԿՈԿՆԵՐԻ ՄՈՏ

Լ. Գ. ԱՆԱՆՅԱՆ, Մ. Հ. ԱՍԱՏՐՅԱՆ

Ըստմանասիրվել է կարբամատկինազայի ակտիվությունը կաթնաթթվային ձողիկների և ստրեպտոկոկների մոտ: Յիտրուլինի բիոսինթեզը ընթացիկ է անաերոբ և ֆակուլտատիվ անաերոբ պայմաններում: Ստրեպտոկոկների մոտ, ֆակուլտատիվ անաերոբ պայմաններում, սինթեզված ցիտրուլինի քանակությունը կրկնակի անգամ բարձր է: Լակտոբալիլների մոտ ֆերմենտի ակտիվությունը համեմատաբար ցածր է:

Ստացված տվյալները վկայում են, որ ուսումնասիրված լակտոբացիլներում և ստրեպտոկոկներում առկա են միջանյութի բիոսինթեզի օրնիթինային ցիկլի ֆերմենտներ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ананян Л. Г., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 27, 4, 23, 1974.
2. Ананян Л. Г., Асатрян М. О., Давтян М. О. Биолог. ж. Армении, 30, 10, 76, 1977.
3. Арутюнян Т. Г., Агаджанян А. Х., Ананян Л. Г., Семерджян Г. А., Геворкян А. С., Заробян Т. Я., Хачатрян М. А. III Всесоюзный биохим. съезд, реф. научн. общ., 1, Рига, 1974.
4. Archibald R. M. J. Biol. Chem., 156, 1, 121, 1944.
5. Caravaga J., Insolia S. J. Biol. Chem., 253, 3, 684, 1960.
6. Jones M. E., Spector L., Lipman F. J. Am. Chem. Soc., 77, 3, 819, 1955.
7. Knivett V. A. Biochem. J., 58, 480, 1954.
8. Reichard P. Acta Chem. Scand., 11, 1, 523, 1957.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.152:576.831

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ГЛЮКОЗОИЗОМЕРАЗЫ У РАЗНЫХ ВИДОВ
 СПОРООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

З. Г. АВАКЯН, С. Н. БАГДАСАРЯН, Л. С. МАРКОСЯН, Э. К. АФРИКЯН

Наиболее перспективным способом получения фруктозы, представляющей большой практический интерес для производства сахаристых продуктов, является ферментативная изомеризация ее из глюкозы с применением глюкозоизомеразы (Гл), или Д-ксилозо-кетол-изомеразы (КФ 5.3.1.5). Источником промышленного получения Гл являются микроорганизмы, среди которых выраженная ферментативная активность установлена у различных видов актиномицетов, проактиномицетов, молочнокислых и уксуснокислых бактерий [2, 3]. Для конверсии глюкозы во фруктозу применяются как клетки микроорганизмов—продуцентов Гл, так и полученные из них ферментные препараты. Высокоэффективным оказалось использование иммобилизованных форм клеток микроорганизмов и фермента в производстве фруктозного сиропа в проточной системе [1, 2].

Аэробные спорообразующие бактерии как источники получения Гл изучены слабо, хотя в данной группе установлено наличие высокопродуктивных штаммов этого фермента [2]. Особый интерес представили штаммы *Bac. coagulans*, с применением которых ряд фирм разработал с высоким технико-экономическим эффектом микробиологический метод получения фруктозного сиропа [4, 5].

Цель данного сообщения—систематическое изучение Гл-активности разных видов спорообразующих бактерий.

Материал и методика. Объектами исследований служили культуры аэробных спорообразующих бактерий, выделенные и изученные нами в Институте микробиологии АН АрмССР. В число изученных штаммов были включены культуры бацилл, полученные из разных коллекций нашей и других стран. Культуры выращивались при 28° на среде, содержащей (г/л): кукурузный экстракт—20,0, пептон—10,0, дрожжевой экстракт—2,0, ксилозу—3,0, глюкозу—7,0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ —0,5, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ —0,05, $NaCl$ —5,0, агар—20,0. Спустя 24 и 48 час. готовилась суспензия культур бактерий в реакционной смеси на 0,1 М фосфатном буфере с содержанием (г/л): $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ —0,476; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ —4,92; глюкозы—0,36; ксилозы—0,01. Растворы глюкозы и ксилозы стерилизовались пропусканием через фильтр Зейтца. В реакционную смесь вносилась суспензия испытуемого штамма с расчетом получения конечного титра около 0,5 млрд/мл, и пробирки помещались в водяную баню на 2 часа при 60°.

Активность Гл определялась по образовавшейся фруктозе с использованием цистеин-карбазольного метода [6]. Достоверность образования фруктозы устанавливалась ее хроматографическим определением с применением тиобарбитуровой кислоты [7].

Результаты и обсуждение. Сводные данные результатов исследования Гл активности односуточных культур разных видов спорообразующих бактерий подытожены в таблице. Степень ферментативной активности испытанных штаммов выражалась по сравнению с 0,15%-ным раствором фруктозы.

Таблица

Глюкозоизомеразная активность различных видов спорообразующих бактерий

Виды и группы бацилл	Кол-во испытанных штаммов	Кол-во штаммов с глюкозоизомеразной активностью	
		слабой	сильной
<i>Bac. subtilis-mesentericus</i>	118	3	40
<i>Bac. licheniformis</i>	9	1	8
<i>Bac. biotini</i>	4	0	0
<i>Bac. pumilus</i>	9	1	1
<i>Bac. mycoides</i>	40	1	1
<i>Bac. cereus-thuringiensis</i>	8	2	0
<i>Bac. brevis</i>	11	0	8
<i>Bac. megaterium</i>	42	1	10
<i>Bac. polymyxa</i>	18	0	15
<i>Bac. sphaericus</i>	5	0	2
<i>Bac. idosus-agglomeratus</i>	30	2	12
<i>Bac. albidus</i>	5	1	1
<i>Bac. circulans</i>	4	2	1
<i>Bac. coagulans</i>	2	1	1
<i>Bac. laterosporus</i>	4	0	2
<i>Bac. badius</i>	2	1	0
<i>Bac. alvei</i>	4	2	1
<i>Bac. popilliae</i>	5	0	0
Итого	320	18	103

Представленный материал указывает на широкое распространение Гл у культур разных видов спорообразующих бактерий. Важно подчеркнуть, что подобная активность на достаточно высоком уровне является у весьма распространенных в природе видов, в частности, *Bac. subtilis-mesentericus*, *Bac. idosus-agglomeratus*, *Bac. polymyxa*. Так, у культур группы сенового и картофельного бацилла более трети из изученных 118 штаммов проявляли высокую Гл-активность. Подобное отмечается почти у половины изученных культур *Bac. idosus-agglomeratus*, а в группе *Bac. polymyxa* число активных продуцентов Гл составляет 80%. Большинство изученных культур *Bac. mycoides*, *Bac. cereus*, характеризовалось либо слабой Гл-активностью, либо было лишено ее. Культуры вида *Bac. brevis* и отчасти *Bac. laterosporus*, *Bac. sphaericus* по нашим данным, следует отнести к перспективным источникам получения Гл. Использованные в опытах штаммы *Bac. biotini*, близко родственного к картофельному бацилле биотиндефицитного вида, оказались лишенными Гл. У культур других видов, представленных ма-

лым числом штаммов, продуценты Гл отмечались редко. Все испытанные штаммы *Bac. popilliae*—возбудителей молочных болезней японского жука не обладали Гл-активностью. Следует отметить, что эти штаммы, полученные из коллекции культур микроорганизмов США и Франции, в условиях выращивания на искусственных питательных средах были лишены спорогенной способности. Среди других энтомопатогенных видов (*Bac. alvei*, *Bac. thuringiensis*) продуценты Гл более часто обнаруживаются у культур *Bac. alvei*.

Результаты проведенных исследований не дают оснований сделать заключение о систематической приуроченности Гл активности у разных видов и групп спорообразующих бактерий, хотя в отдельных случаях это выявляется (*Bac. polymyxa*, *Bac. brevis*). Помимо испытанных штаммов бацилл, были изучены и некоторые другие энтомогенные микроорганизмы, в частности дрожжи и энтерококки, у которых Гл выявлялась редко и в слабой степени.

Группа *Bac. subtilis-mesentericus*, представленная наибольшим числом изученных штаммов, включала большое число разновидностей. Среди исследованных 70 штаммов, идентифицированных как *Bac. subtilis*, было выявлено 45 культур со слабой и одна — с сильной Гл-активностью. Изучено 48 культур различных разновидностей *Bac. mesentericus*, из которых у 8 штаммов выявлена Гл, в том числе у 7 со слабой и одного—с сильной активностью. Из 5 культур *Bac. mesentericus niger* Гл со слабой активностью выявлена у 2-х штаммов, у 4-х штаммов *Bac. mesentericus fuscus* и 2-х *Bac. mesentericus vulgatus* Гл не выявлена. Среди 40 штаммов *Bac. mycoides* имелось 8 инверсивных форм. Наиболее активный продуцент Гл был обнаружен лишь у одного штамма именно этой разновидности.

Результаты изучения Гл у культур спорообразующих бактерий, после их инкубации в течение 48 час. оказались аналогичными подытоженным в табл., но, как правило, у них ферментативная активность устанавливалась на более низком уровне, либо не обнаруживалась. Изучение этого явления показало, что оно связано с интенсивностью спорообразования. Культуры бактерий на стадии завершения спорообразования или свободных спор обладали слабой активностью Гл, либо полностью теряли ее.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 12.VII 1979 г.

ԳԼՅՈՒՆԴԻԶՈՄԵՐԱԶԱՅԻ ՏԱՐԱԾՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ՍՊՈՐԱՎՈՐ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՄՈՏ

Չ. Գ. ԱՎԱԴՅԱՆ, Ս. Մ. ԲԱՂԴԱՍԱՐՅԱՆ, Է. Ս. ՄԱՐԿՈՍՅԱՆ,
Է. Գ. ԱՅԴԻՅԱՆ

Ուսումնասիրվել են սպորավոր բակտերիաների 320 կուլտուրաների գլյուկոզիդոմերազային ակտիվությունը: Պարզվել է, որ այդ խմբին պատ-

կանոդ, բնության մեջ լայն տարածված բակտերիաների որոշ տեսակներ
օժտված են զլյուկոլիզոմերազային բարձր ակտիվությամբ: Ստացված ար-
դյունքները հնարավորություն չեն տալիս եզրակացնելու հիշյալ ֆերմենտի
տեսակային պատկանելիության մասին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ананичев А. В., Улезло И. В., Резников А. А., Безбородов А. М., Березин И. В.
Биохимия, 43, 7, 1234, 1978.
2. Грачева И. М., Мосичев М. С., Гавристов А. В., Филиппов С. А. Глюкозоизмера-
за, СОИПН Главмикробиопрома, М., 1976.
3. Окунев О. И., Ананьин В. М., Головлев Е. Л., Виноградова К. А., Скрыбин Г. К.
Прикладная биохимия и микробиология, 14, 1, 44, 1978.
4. Патент США № 3.979.261.
5. Патент США № 4.042.460.
6. Dische L., Borenfreund E. J. Biol. Chem., 192, 583, 1951.
7. Percheron F. Bull. Soc. Chim. Biol., 44, 1161, 1962.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 575.24:576.851.48

МУТАНТЫ *ESCHERICHIA COLI* K-12, ДЕФЕКТНЫЕ ПО СПОСОБНОСТИ К УСВОЕНИЮ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ

Ш. М. КОЧАРЯН, М. А. МЕЛКУМЯН

Начальный этап катаболизма пуриновых нуклеозидов клетками *E. coli* связан с фосфоролитическим расщеплением N-глюкозидной связи молекулы нуклеозида и образованием свободных оснований и пентозо-1-фосфата (рибозо- или дезоксирибозо-1-фосфата) в реакции, катализируемой пуриннуклеозидфосфорилазой (ген *pur*). Мутанты *pur* теряют способность усваивать пуриновые нуклеозиды в качестве единственных источников углерода и энергии для роста [5—7]. Кроме того, усвоение пуриновых, а также пиримидиновых нуклеозидов нарушает мутации по генам *dgm* и *dga*, ответственным за катаболизм пентозо-1-фосфата [5—7]. Вторая активность, также способная расщеплять пуриновые нуклеозиды, у штаммов *E. coli* дикого типа отсутствует, однако может быть индуцирована в результате мутаций, обозначенных *pnd* [2].

Целью настоящей работы было получение мутаций, которые нарушают у штаммов генотипа *pur pnd* усвоение пуриновых нуклеозидов, но не затрагивают известные гены катаболизма нуклеозидов.

Материал и методика. Состав сред, условия культивирования бактерий, методики конъюгационных и трансдукционных (фаг P1) скрещиваний и определения гуанозиндеградирующей активности в бесклеточных экстрактах бактерий описаны ранее [1, 2]. В качестве исходного штамма для выделения мутантов использовали штамм *E. coli* K-12 SK 401 (генотип HfrH, *purD*, *pur* 8, *pnd* 1), который благодаря наличию в геноме мутации *pnd* 1 способен расщеплять все пуриновые нуклеозиды, несмотря на дефект по гену *pur* [2]. Культуру штамма SK 401 обрабатывали нитрозогуанидином [4], высевали на минимальную глюкозосолевою среду с гипоксантином как источником пуринов, а затем методом отпечатков выявляли среди выросших колоний мутанты, не способные к усвоению пуриновых нуклеозидов в качестве источников углерода и энергии или источников пуринов.

Результаты и обсуждение. Два из отобранных нами мутантов (представитель обозначен МК 466) штамма SK 401 были не способны к усвоению ксантозина, гуанозина, дезоксигуанозина, а также ксантина и гуанина в качестве источников пуринов, но сохранили способность к

усвоению нуклеозидов ксантина и гуанина в качестве источников углерода и энергии. Такой фенотип мог быть обусловлен мутацией в одном из двух генов—*gpt* (фермент гуанинфосфорибозилтрансфераза) или *guaC* (гуанозинмонофосфатредуктаза) [3]. Ген *gpt* располагается на генетической карте *E. coli* рядом с геном *proA*, а *guaC*—с геном *leu* [3]. Из данных табл. 1 следует, что мутация, нарушающая способность бактерий к усвоению производных гуанина и ксантина в качестве единственных источников пуринов, наследуется в конъюгационных скрещиваниях с большей частотой с маркером *leu* чем *proA*, а при трансдукции—только с маркером *leu*. Следовательно, мутация в штамме МК 466 затрагивает уже известный locus *guaC*.

Таблица 1
Наследование мутации, нарушающей усвоение производных ксантина и гуанина в качестве единственных источников пуринов, рекомбинантами от скрещиваний мутанта МК 466 с реципиентами SK 12*

Тип скрещивания	Селектируемые рекомбинанты	Проверено рекомбинантов	Не усваивают производные ксантина и гуанина	Частота наследования с селектируемым маркером, %
Конъюгация	<i>Leu</i> ⁺ <i>RpsL</i> [−]	71	71	100
	<i>ProA</i> ⁺ <i>RpsL</i> [−]	27	9	33
Трансдукция	<i>Leu</i> ⁺	95	27	28
	<i>ProA</i> ⁺	96	0	< 1

*—Генотип SK 12-F[−], *pur* 8, *leu*, *proA*, *rpsL*, *purD* [1].

Таблица 2
Способность штаммов SK 110, SK 401 и МК 462 к росту на средах с нуклеозидами как источниками углерода и энергии и дезоксигуанозиндеградирующая активность в бесклеточных экстрактах, ммкМ превращенного субстрата за мин/мг белка

Штамм*	Генотип	Способность к росту на среде с			Гуанозиндеградирующая активность
		пуриновыми нуклеозидами**	уридином	тимидином	
SK 110	<i>pur</i>	—	+	+	< 10
SK 401	<i>pur</i> , <i>pnd</i> 1	+	+	+	158
МК 462	<i>pur</i> , <i>pnd</i> , <i>supnd</i>	—	+	+	< 10
SK 111	дикий тип	+	+	+	91

*—Штамм SK 110 родительский по отношению к SK 401 [2].

**—Проверены аденозин, инозин, гуанозин, дезоксигуанозин, дезоксининозин и дезоксиаденозин.

В числе прочих было отобрано также два мутанта (представитель МК 462), которые были не способны к усвоению всех пуриновых нуклеозидов как источников углерода и энергии (соответствующий дефект пред-

варительно обозначали как *supnd*, (табл. 2). Мутант МК 462 сохранил способность к усвоению в качестве источников углерода и энергии пиримидиновых нуклеозидов—уридина и тимидина, что свидетельствует о том, что полученная мутация не затрагивает гены *drm* и *dga*, ответственные за катаболизм пентозо-1-фосфата. В конъюгационных скрещиваниях с множественно-маркированными штаммами F⁻ было обнаружено, что при использовании в качестве донора штамма МК 462 мутация *pnd* наследуется в потомстве рекомбинантов His⁺RpsL⁻, Trp⁺RpsL⁻ и Gal⁺RpsL⁻ с теми же частотами, что и при использовании в качестве донора штамма SK 401. Данные табл. 2 показывают, что мутация в штамме МК 462 не затрагивает локус *pnd*. Бесклеточные экстракты штамма МК 462 в отличие от экстрактов родительского штамма SK 401 не способны расщеплять дезоксигуанозин. Следовательно, фенотип штамма МК 462 не обусловлен дефектом по транспорту пуриновых нуклеозидов. В предположении, что ген *pnd* является структурным геном фермента, который в результате мутирования приобретает способность к фосфоролизу пуриновых нуклеозидов, мутация *supnd* является, по-видимому, мутацией по гену—регулятору, контролирующему активность структурного гена *pnd*.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 16.II 1979 г.

ՊՈՒՐԻՆԱՅԻՆ ՆՈՒԿԼԵՈԶԻԴՆԵՐԻ ՅՈՒՐԱՑՄԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԹԵՐԻ ESCHERICHIA COLI K-12-Ի ՄՈՒՏԱՆՏՆԵՐԸ

Շ. Մ. ՔՈՉԱՐՅԱՆ, Մ. Ա. ՄԵԼՔԻՄՅԱՆ

E. coli K-12-ի շտամները *pnd* մուտացիայի շնորհիվ ի վիճակի են քայքայել պուրինային նուկլեոզիդները և յուրացնել նրանց իբրև ածխածնի և էներգիայի աղբյուր: Այդպիսի շտամից ստացված է մուտանտ, որը անընդունակ է յուրացնել պուրինային բոլոր նուկլեոզիդները:

Հաշտնաբերված է, որ մուտանտի նուկլեոզիդների քայքայմանը պատասխանատու գեները վնասված չեն, սակայն *in vitro* փորձերում մուտանտը թերի է պուրինային նուկլեոզիդները քայքայող ակտիվությունից: Այսպիսով, ստացված է մուտացիա, որը կանխում է *pnd* գենի արտահայտությունը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кочарян Ш. М., Лившиц В. А., Суходолец В. В. Генетика, 11, 11, 79, 1975.
2. Кочарян Ш. М., Смирнов Ю. В. Генетика, 13, 8, 1405, 1977.
3. Лившиц В. А. Генетика, 9, 1, 134, 1973.
4. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике, М., 1976.
5. O'Donovan G. A., Neuhaud J. Bacteriol. Rev., 34, 278, 1970.
6. Gots J. S. Metabolic pathways, 5, 225, 1971.
7. Gots J. S., Benson C. E. Ann. Rev. Genet., 8, 79, 1974.

О ГРИБОСТОЙКОСТИ КЛЕЕВЫХ КОМПОЗИЦИЙ

К. А. КАРАПЕТЯН, Г. А. КАЗАРЯН, Дж. Г. АБРАМЯН, Р. Г. ГРИГОРЯН

В отличие от полимеров с высокой степенью полимеризации в поведении олигомеров исключительно важную роль играют природа и число концевых групп, молекулярно-массовое распределение (ММР) и распределение по типам функциональности (РТФ).

При получении линейных и трехмерных полимеров на основе олигомеров конечные свойства результирующих полимеров определяются как характеристиками исходных олигомеров, так и условиями формирования сшитых полимеров.

С этой точки зрения представляло большой интерес изучение влияния ММР и РТФ исходного олигомера на адгезионные свойства клеевых композиций, а также на стойкость к различным внешним воздействиям, в том числе на грибостойкость.

Материал и методика. Клеевые композиции на основе полиоксипропилендиола фенол-формальдегидной смолы (ФФС) и эпоксидной смолы ЭД-20 с различными молекулярно-массовыми распределениями и распределениями по типам функциональности были подвергнуты заспорению набором водно-споровых суспензий почвенных грибов. Опыты были проведены на полимерных клеях на основе вышеуказанных смол, где сшивающими агентами являлись толу-дип-дипизоцианат, уротропин и низкомолекулярный полнамид Л-20. В наборе были использованы водно-споровые суспензии *Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *A. niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Trichoderma lignorum*, *Scopulariopsis brevicaulis*. Опыты проводились при температуре 26—28° и относительной влажности воздуха 98—100%. Экспозиция 3 месяца.

Молекулярно-массовое распределение (ММР) определяли методом гелъпрофилюющей хроматографии на приборе «Waters Associates» (США) в Институте химической физики АН СССР, для чего использовали полиоксипропилендиол и ФФС с различными средне-массовыми распределениями.

Для пяти различных партий смолы ЭД-20 методом адсорбционной хроматографии на силикагеле марки «АСК» определяли полидисперсность по функциональности (I_w/I_n), вводили полимер в клеевую композицию и определяли прочность склеивания. Результаты сведены в табл. 1.

Данные о зависимости прочности склеивания от средневесового молекулярно-массового распределения полиоксипропилендиола и воздействия набора грибов сведены в табл. 2.

Результаты и обсуждение. Результаты опытов показали, что прочность клеевых соединений в основном сильно зависит от ММР и РТФ

исходных олигомеров. Наибольшая прочность склеивания и высокая грибостойкость получается при максимальной глубине полидисперсности по молекулярным массам и полидисперсности по функциональности.

Грибостойкость (Γ) определяли по зависимостям:

$$\Gamma = f(\overline{M}_w/\overline{M}_n) \text{ и } \Gamma = f(fw/in),$$

где $\overline{M}_w/\overline{M}_n$ —полидисперсность по молекулярным массам, $\overline{fw}/\overline{in}$ —полидисперсность по функциональности.

Таблица 1
Грибостойкость клеевых композиций с различным РТФ

Распределение по типам функциональности	Прочность, склеивания на сдвиг, кгс/см ²	
	до воздействия грибов	после воздействия грибов
$fw_1/in_1 = 1,07$	60	15
$fw_2/in_2 = 1,11$	72	20
$fw_3/in_3 = 1,13$	108	30
$fw_4/in_4 = 1,14$	122	45
$fw_5/in_5 = 1,15$	130	60

Таблица 2
Зависимость прочности склеивания от средневесового молекулярно-массового распределения полиоксипропилендиола

Клеевые соединения	$\frac{Li}{\Sigma Li}$	M_w	M_n	$\frac{M_w}{M_n}$	Прочность склеивания на сдвиг, кгс/см ²	
					до воздействия грибов	после воздействия грибов
1	0,125 0,212 0,375 0,175 0,100	895	772	1,15	34,8	6
2	0,22 0,26 0,33 0,11 0,06	1152	865	1,33	50,9	13
3	0,05 0,15 0,37 0,25 0,75	810	667	1,21	21,6	11,7

Таким образом, для определенного класса полимеров, один раз установив зависимость между грибостойкостью ММР и РТФ, можно в дальнейшем, не проводя измерения, определять ожидаемую грибостойкость, прочность и другие эксплуатационные показатели.

Ереванский государственный университет,
кафедра ботаники

Поступило 15.VI 1979 г.

ՍՈՍԻԱԼՆԵՐԻ ՄԵԿԱԿԱՅՈՒՆՈՒԹՅԱՆ ՎԵՐԱԲԵՐՅԱԼ

Կ. Ա. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Հ. Ա. ՂԱԶԱՐՅԱՆ, Զ. Հ. ԱԲՐԱՀԱՄՅԱՆ,
Ռ. Գ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է տարբեր քիմիական բաղադրությամբ սոսինձների սեկակալությունության կախվածությունը սոսնձի կազմության մեջ մտնող պոլիմերային խեժի մոլեկուլային-մասսային և ըստ ֆունկցիոնալ խմբերի բաշխվածություններից: Յույց է տրվում, որ սոսնձային միացությունների ամբողջությունը՝ սեկադիմացկունությունը, խիստ կերպով կախված է վերը նշված պարամետրերից:

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 597.03

ДВА НОВЫХ ВИДА ПАРАЗИТИЧЕСКИХ НЕМАТОД РЫБ
ДЛЯ ФАУНЫ АРМЕНИИ

Дж. А. ГРИГОРЯН, Л. К. ВАРТАНЯН

Фауна паразитических нематод рыб водоемов Армении изучена недостаточно. Пока известны 2 вида нематод—паразитов рыб. Это *Rhabdochona (Filochona) fortunatowi* Dinnik, 1933, впервые описанный из оз. Севан Динником [2]; в дальнейшем этот вид был отмечен в бассейне р. Куры [5, 8]; второй известный вид нематод—*Contracoecum squalii* Linstow, 1907, описанный Платоновой из оз. Севан [7].

Оба вида встречаются у севанской храмули. Что касается других водоемов Армении, то с паразитологической точки зрения они совершенно не исследованы. И только начиная с 1976 г. сотрудниками кафедры зоологии ЕГУ началось изучение паразитофауны рыб, обитающих в них, благодаря чему удалось обнаружить 2 новых вида паразитических нематод рыб для фауны Армении [6].

Сбор материала проводился в августе 1976 г. в верхнем течении р. Мармарик. Методом полного паразитологического вскрытия [1] исследованы 5 ручьевых форелей—2 ♀ и 3 ♂. В их кишечнике и в полости тела обнаружены нематоды, которые фиксировались в жидкости Барбагалло и просветлялись в молочной кислоте.

Нематоды принадлежали к следующим 2 видам:

Семейство *Rhabdochonidae* Skrjabin, 1946

Под *Rhabdochona* Railliet, 1916; *Rhabdochona (Filochona) filamentosa* Bychowska—Pawlowska, 1936. Обнаружены в кишечнике всех вскрытых нами форелей. Всего 7 паразитов. В литературе отмечается как паразит кишечника усачей, маринки, гольца, сома и др. рыб в бассейне Балтийского, Каспийского морей, водоемах Средней Азии и Казахстана. В Закавказье отмечен в верхнем течении Куры на территории Грузии [4] и в ее горных участках, в Азербайджане [5].

Семейство *Diectophymidae* Railliet, 1915. Под *Eustrongilides* Jägerskiöld, 1909. *Eustrongilides excisus* Jägerskiöld, 1909.

Нами обнаружены 2 экземпляра в полости тела двух самок вскрытых ручьевых форелей. Крупные личинки его (60—65 мм) паразитируют

в полости тела, мускулатуре, стенке кишечника рыб семейств осетровых, карповых, бычковых и др. Взрослые черви локализируются в кишечнике окончательного хозяина—водоплавающих птиц, чаще бакланов, реже пеликанов.

Распространен в реках Сибири, в бассейнах Черного и Каспийского морей [3]. В Закавказье встречается в бассейне р. Куры [8].

Таким образом, виды нематод *Rhabdochona filamentosa*, *Eustrongylides excisus* впервые нами отмечены не только для фауны Армении, но и для паразитофауны рыб сем. лососевых.

Ереванский государственный университет,
кафедра зоологии

Поступило 12.II 1979 г.

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՖԱՈՒՆԱՅԻ ՀԱՄԱՐ ԶԿՆԵՐԻ ՊԱՐԱԶԻՏ ՆԵՄԱՏՈՂՆԵՐԻ ԵՐԿՈՒ ՆՈՐ ՏԵՍԱԿ

Ջ. Ա. ԴՐԻԳՈՐՅԱՆ, Լ. Կ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ

Ն'արմարիկ գետի վերին հոսանքից որսված կարմրախայտ ձկան աղիկներում և որովայնի խոռոչում հայտնաբերվել է պարազիտ նեմատոդների երկու տեսակ՝ *Rhabdochona filamentosa* Bychowska-Pawlowska 1936 և *Eustrongylides excisus* Jägerskiöld 1909, որոնք Հայաստանի ֆաունայում նշվում են առաջին անգամ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Быховская-Павловская. Паразитологические исследования рыб. Л., 1969.
2. Динник Ю. А. Тр. Сев. гидробиол. ст. АН АрмССР, 1933.
3. Догель В. А., Быховский Б. Е. Тр. Комисс. по комплекс. изуч. Касп. моря, вып. 7, Л., 1939.
4. Коява Л. И. ДАН Груз. ССР, 1966.
5. Микаилов Т. К. Паразиты рыб водоемов Азербайджана. Баку, 1975.
6. Определитель паразитов пресноводных рыб СССР. М., 1962.
7. Платонова Т. А. Паразитологический сборник. Л., 1963.
8. Чибурашвили Е. А. Мат-лы 13 научн. конф., Тр. Зовет. ин-та, 1957.

ВСЕСОЮЗНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ПО КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ

3-я Всесоюзная конференция по культуре клеток растений, проходившая в Институте микробиологии АН АрмССР, г. Абовян, с 21 до 24 мая 1979 г., была организована Научным советом по проблемам физиологии и биохимии растений. Институтом физиологии растений им. К. А. Тимирязева АН СССР и Институтом микробиологии АН АрмССР.

На обсуждение конференции были вынесены вопросы, касающиеся физиологической и генетической регуляции роста, метаболизма и продуктивности изолированных клеток растений, а также возможности применения их для соматической гибридизации и клеточной инженерии.

Конференция привлекла большое внимание ведущих специалистов многих отраслей науки и производства Советского Союза и социалистических стран. Необходимо отметить, что в настоящее время культура изолированных тканей и клеток растений становится одной из центральных моделей в разработке фундаментальных биологических проблем физиологии растений, молекулярной генетики, цитологии, молекулярной биологии, микробиологии, биохимии и селекции. Интерес к ней усиливается также в связи с перспективами практического использования накопительной клеточной культуры для получения экономически важных соединений, представляющих собой продукты вторичного метаболизма, свойственные исключительно растительному организму.

Организационно заседания проходили в виде пленарных докладов, стендовых сообщений и дискуссий за круглым столом. На конференции было заслушано 11 пленарных лекций, выставлено 166 стендовых докладов и проведены 3 дискуссии за круглым столом.

Пленарные доклады представили направления, интенсивно развивающиеся в настоящее время. Это были доклады, посвященные регуляции основного (В. П. Холодова, Москва) и вторичного (М. Н. Запрометов, Москва) метаболизма в культуре клеток и тканей, а также синтезу экономически ценных соединений (З. В. Маршавина, Ереван).

Работы с изолированными протопластами как объектом и моделью для физиологических исследований были представлены Институтом физиологии растений им. К. А. Тимирязева (Р. Г. Бутенко).

Большой интерес вызвали доклады по проблемам гибридизации соматических клеток и использованию мутантов культивируемых клеток (Ю. Ю. Глеба, Киев, А. Мюллер, Готерслебен, ГДР) и вирусам как векторам для переноса генетической информации в культуру клеток (И. И. Фолор, Пушино).

В 166-ти стендовых сообщениях были представлены результаты оригинальных работ, отразивших названные в пленарных докладах направления. Стендовые сообщения вызвали оживленный обмен мнениями особенно в отношении работ по гибридизации соматических клеток и культивированию протопластов (Ю. Ю. Глеба, Р. Г. Бутенко, А. В. Мезенцов, Г. Коблиц и др.), биосинтезу вторичных метаболитов в суспензионных культурах (А. А. Липский и Н. Черняк, З. Б. Шамина, З. В. Маршавина и др., И. И. Залоскина), по аппаратуре и технологии выращивания суспензионных клеточных культур.

Значительный интерес вызвали также стенды, демонстрирующие успехи в области клонального размножения методами культуры тканей, получение гаплоидов и использование их в селекционной практике. Чрезвычайно плодотворной оказалась, в организационном плане, форма обмена мнениями при проведении дискуссий за круглым столом. Тема дискуссии объявлялась в программе, что позволяло в какой-то мере обдумать свое отношение к поставленным вопросам.

Темами дискуссионных обсуждений явились вопросы, связанные с практическими приемами и терминологическими обобщениями. Так, первая дискуссия касалась методов глубинного культивирования клеток растений. Были рассмотрены вопросы аппаратного оформления глубинного культивирования, критерии оценки суспензионной культуры, возможность использования микробиологической техники, сходство и различия при культивировании изолированных клеток растений и бактериальной клетки.

Состоялась также дискуссия по разбору вопросов клеточной инженерии. Следует сказать, что эта тема была обсуждена и пленарном сообщении, а также в ряде стендовых докладов. В дискуссии по этой теме приняло участие большое число делегатов, особенно ученых из социалистических стран, где ведутся интенсивные исследования по использованию метода изолированных клеток и протопластов для решения вопросов близкородственной и отдаленной гибридизации соматических клеток и получения на их основе гибридных растений.

Основными вопросами, волнующими генетиков, были вопросы трансмиссионной генетики гибридизации слиянием протопластов, судьба ядерных и внеядерных генетических детерминант в близкородственных скрещиваниях, отдаленная гибридизация слиянием протопластов, генетический анализ при соматической гибридизации клеток, морфогенез эпигенетической наследственности с помощью реконструированных клеточных систем.

Рассматривались также прикладные аспекты соматической гибридизации. Темой последней дискуссии явились особенности популяции культивируемых клеток. Состоялся обмен мнениями по стандартизации критериев характеристики популяции, что является важным при разработке условий синхронизации культуры в непрерывном процессе глубинного культивирования.

В конференции приняли участие 300 ученых и специалистов Советского Союза, представлявших 75 институтов и учреждений различного ведомственного подчинения из 32 городов страны, а из социалистических стран—29 человек.

З. В. МАРШАВИНА



ХРОНИКА

Годичная сессия Научных Советов АН СССР и АН АрмССР
 по проблеме «Биологические основы рационального использования,
 преобразования и охраны растительного мира»

Сессия, организованная Государственным комитетом лесного хозяйства, Обществом охраны природы и Институтом ботаники АН АрмССР, проходила с 3 по 7 июня с. г. в Ереване. В работе Сессии принимали участие видные ученые нашей страны, представители всех республик, а также президент Восточноевропейского комитета Международного союза охраны природы (МСОП) при ООН Я. Х. Эйларт.

Сессию вступительным словом открыл Председатель Совета академик АН СССР А. Л. Тахтаджян. Итоги научной и научно-организационной деятельности Совета по проблеме за 1978 г. и основные направления работ на будущую пятилетку были обобщены в докладе заместителя председателя Совета доктора биол. наук В. И. Василевич. Академик АН АрмССР В. О. Казарян выступил с докладом на тему «Деятельность ботанических учреждений Армении в области исследований и охраны флоры и растительности». С докладом «Задачи в области охраны растительного мира в связи с постановлением ЦК КПСС и Совета Министров СССР от 12.12.1978 г.» выступил член секции охраны растительного мира доктор биол. наук С. А. Дыренков. Большой интерес представляли доклады докторов биол. наук Л. Е. Родина «Экологические основы охраны растительности аридной зоны», В. А. Алексеева «Задачи и перспективы исследований влияния атмосферных загрязнений на растительный мир СССР», Э. В. Каара «Пути рекультивации породных отходов».

Все доклады, заслушанные на годичной сессии, вызвали горячие прения.

В докладах ботаников Армении Э. Ц. Габриелян, А. М. Барсегяна, Л. Л. Оспяян, П. А. Хуршудяна, А. А. Григоряна, П. А. Гандиляна, Ф. С. Марджаняна были освещены вопросы рационального использования и охраны редких и исчезающих дикорастущих травянистых и древесных видов, растительных формаций, а также полезных споровых растений республики.

Сессия единодушно приняла резолюцию, в которой особо подчеркнула, что охрана растительного покрова—долг и важнейшая задача современного поколения ботаников, работающих в различных организациях страны.

Особо были отмечены крупные достижения ботаников Армении в развитии проблем морфологии и систематики растений, флористики, геоботаники и лесоведения, в интродукции растений местной флоры.

Сессия постановила считать одной из основных ботанических проблем, стоящих перед Проблемным Советом и ведущими ботаническими учреждениями СССР, обоснование принципов сохранения генетического фонда, биосферы и экологического ландшафтного фонда, содержащегося в исторически сложившейся структуре естественных растительных сообществ и экосистем.

В целях развития фундаментальных исследований в области охраны растительного мира Сессия сочла необходимым осуществить следующие мероприятия:

1. Разработать совместно с Министерством юстиции СССР проект Закона об охране растительного покрова СССР.

2. Просить Совет Министров АрмССР расширить сеть заповедников и заказников в АрмССР (в том числе заказников диких сородичей культурных растений), взяв за основу предложения Госкомитета по лесному хозяйству при СМ АрмССР и ботанических учреждений республики.

Очередную выездную сессию Научных Советов решено созвать в Душанбе.

Н. Г. ГОХТУНИ, Е. Н. ЕРАМЯН

ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԵՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԳԵՄԻԱ
ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍՈՒՐԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆՐԱՅԻՆ

Հիմնադրվել է 1946 թ

Հրատարակվում է տարեկան 12 անգամ

Հասցե XXXII, V 9

ԵՐԵՎԱՆ

Սկզբնաժամ, 1979 թ.

ԲՈՎԱՆԻՏԻՆԻՆԻՆԵՐԻ

Փորձառական

Աֆրիկյան Է. Գ. Գյուղատնտեսական բույսերի վնասատուների դեմ միկրոբիոլոգիական պայքարի պրոբլեմները 829

Պոմմենկի Լ. Բ., Ավետիսյան Հ. Ա., Գալստյան Լ. Ա., Բալայան Լ. Ն. Ceratophyllus caspius-ի էկոլոգիան՝ կապված նրա էպիֆիտոլոգիական նշանակության հետ Անդրկովկասի լեռնային ժանտախտի օջախում 841

Մակարովա Բ. Ն. Միկրոբային ագիլացների օգտագործումը՝ ամինաթթուների ապոֆիզիկան ակտիվ ձեռք ստացման համար 850

Մակարովա Բ. Ն., Մելնիցյան Լ. Բ., Մարկոսյան Լ. Ս. Ներկայացված շաքարասնկային բջիջների ամինապրոպիլային ակտիվությունը 860

Դեբյուրյան Գ. Ե. Նպատակալաց շարժումների ստրուկտուրային կազմության սխեմային անալիզը 865

Դուրգարյան Ս. Ս. Escherichia coli յունային փոխանակության յուրահատկությունները 873

Երզնկյան Լ. Հ., Փանկեյան Մ. Շ., Չարյան Լ. Մ., Հակոբյան Լ. Հ., Մալոյան Լ. Ա. Ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային ագիլոֆիլային ստրիպտոկոկեր 879

Երկազյան Վ. Գ. էթիլենիմիդի ու ուլտրաձայնի ազդեցությունը ապոտորակների վրա 884

Խաչիկյան Լ. Ա. Հայաստանի սեռաձողերի միկրոֆլորայի մասին 889

Խանիկյան Լ. Գ. Ավագյան Բ. Պ. Հայկական գինիների նոր շաքարասնկային կոլտուրաների մորֆո-ֆիզիոլոգիական հատկությունները 890

Կոզմիցյան Լ. Վ. Տարբեր ինֆրատորների ազդեցությունը Candida guilliermondii խմորասնկերի ճյուղավորված ամինաթթուների օրանսամինազային ակտիվության վրա 901

Դավթյան Ս. Ա., Չուբարյան Ս. Վ., Խումանյան Լ. Ի. Candida guilliermondii var. membranaeclaciens BKM V-43 խմորասնկերի արգինազային մաքրումը, Ասլանյան Ժ. Ս., Խորբինի Յա. Վ. Բջջային տեստ-սխեման ասպարագինազային և գլուտամինազային ակտիվությամբ ստացված ֆերմենտային պրոպագանդների ընտրության և բուսականախման համար 912

Համառոտ հաղորդումներ

Անանյան Լ. Գ., Ասատրյան Մ. Հ. Լ-ցիտրուլինի բիոսինթեզի ֆերմենտները լակտոբացիլների և ստրեպտոկոկների մոտ 916

Ավագյան Զ. Գ., Բաղդասարյան Ս. Մ., Մարկոսյան Լ. Ս., Աֆրիկյան Է. Գ. Գյուլկոզիզմներազային տարածվածությունը սպորավոր բակտերիաների մոտ 919

Քաչարյան Շ. Ս., Մելնիցյան Մ. Ա. Պորինային նուկլեոզիդների յուրացման հատկությունից թերի Escherichia coli K-12-ի մուտանտները 923

Կարապետյան Կ. Ա., Ղազարյան Հ. Ա., Սերաբեյան Զ. Հ., Կրիզոյան Լ. Գ. Սոսինների սնկակայանության վերաբերյալ 926

Կրիզոյան Զ. Ա., Վարդանյան Լ. Կ. Հայաստանի ֆաունայի համար ձկների պարազիտ նեմատոդների երկու նոր տեսակ 929

ԽՐՈՆԻԿԱ

Մարչափինա Զ. Վ. Համաժողովրդական կոնֆերանս նվիրված բույսերի բջիջների կոլտուրաներին 931

Դալիստունի Ն. Գ., Երանյան Բ. Ն. ՍՍՀ-ի և Հայկական ՍՍՀ-ի ԳԱ գիտական խորհրդի տարեկան սեփական ըստ «Բուսական աշխարհի պահպանման և վերափոխման ուղիներ» օգտագործման կենսաբանական հիմունքները պրոբլեմի 933

«Հայաստանի կենսաբանական հանգես», 1979 825



СОДЕРЖАНИЕ

Экспериментальные

Африкян Э. К. Проблемы микробиологической борьбы с вредителями сельскохозяйственных растений	829
Косминский Р. Б. , Лавенсия Г. А., Гусева А. А., Талыбов А. П. Об экологии блохи <i>Ceratophyllus caspius</i> в связи с ее эпизоотологическим значением и закавказском горном очаге чумы	841
Макарови Е. Н. Использование микробных ацилаз для получения оптически активных форм аминокислот	850
Микарова Е. Н., Мелконян А. Б., Маркосян Л. С. Аланинацилазная активность инкапсулированных клеток дрожжей	860
Григорян Г. Е. Системный анализ структурной организации двигательного акта в целенаправленном поведении	865
Дургарьян С. С. Особенности पोшого обмена у <i>Escherichia coli</i>	873
Ерзинкян Л. А., Пахлевян М. Ш., Чарян Л. М., Акопян Л. Г., Мадоян Р. А. Фенолустойчивые молочнокислые ацидофильные стрептококки	879
Никогосян В. Г. Действие этиленмина и ультразвука на азотобактер	884
Хачикян Л. А. О микрофлоре черноземов Армении	889
Даниелян Л. Г., Авакян Б. П. Морфолого-физиологическая характеристика новых культур дрожжей из виш Армении	896
Гогинян И. В. Влияние различных ингибиторов на активность ферментов переминирования разветвленных аминокислот <i>Candida guilliermondii</i>	901
Давтян М. А., Чубарян С. В., Туманян Л. Р. Очистка аргиназы дрожжей <i>Candida guilliermondii</i> var. <i>membranaefaciens</i> ВКМ V-43	906
Асланянц Ж. К., Добрынин Я. В. Клеточная тест-система для отбора и изучения ферментных препаратов с аспарагиназной и глутаминазной активностью	912

Краткие сообщения

Ананян Л. Г., Асатрян М. О. Ферменты биосинтеза L-цитрулина у лактобацилл и стрептококков	916
Авакян З. Г., Багдасарян С. Н., Маркосян Л. С., Африкян Э. К. Распространение глюкозонизомеразы у разных видов споробразующих бактерий	919
Кочарян Ш. М., Мелкумян М. А. Мутанты <i>Escherichia coli</i> , дефектные к усвоению пуриновых нуклеозидов	923
Карпетян К. А., Казарян Г. А., Абрамян Дж. Г., Григорян Р. Г. О грибоустойкости клеевых композиций	926
Григорян Дж. А., Вартанян Л. К. Два новых вида паразитических нематод рыб для фауны Армении	929

Хроника

Миршавина З. В. Всесоюзная конференция по культуре клеток растений	931
Гохтунги Н. Г., Ерамян Е. Н. Годичная сессия Научных Советов АН СССР и АН АрмССР по проблеме «Биологические основы рационального использования, преобразования и охраны растительного мира»	933
«Биологический журнал Армении», 1979	826

ACADEMY OF SCIENCES OF THE ARMENIAN SSR BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

Founded in 1946

12 issues per year

Vol. XXXII, № 9

YEREVAN

September, 1979

C O N T E N T S

E x p e r i m e n t a l

<i>Afrikan E. G.</i> Microbiological aspects of agricultural pest control	829
<i>Kosminski R. B.</i> , <i>Avetisyan H. A.</i> , <i>Gusseva A. A.</i> , <i>Tallbov A. N.</i> Ecology of ceratophyllus caspius connected with its epizootological importance in the mountain plague breeding ground of transcaucasia	841
<i>Makarova E. N.</i> Use of microbial acylases for production of optically active forms of aminoacids	850
<i>Makarova E. N.</i> , <i>Melkonian A. B.</i> , <i>Markosian L. S.</i> Alanineacylase activity of the encapsulated yeasts	860
<i>Grigorian G. E.</i> System analysis of structural organization of the motor acts in single-minded behaviour	865
<i>Durgaryan S. S.</i> Peculiarities of ion exchange in <i>Escherichia coli</i>	873
<i>Erzinkian L. H.</i> , <i>Pahlevanian M. Sh.</i> , <i>Charian L. M.</i> , <i>Hakobian L. G.</i> , <i>Madolan R.</i> Acidophilic lactic streptococci resistant to phenol	879
<i>Nikoghossian V. G.</i> Action of ethyleneimine and ultrasonics on azotobacter	884
<i>Khachikian L. A.</i> On the microflora of chernoziom soils in Armenia	889
<i>Danielian L. G.</i> , <i>Avakian B. P.</i> Morpho-physiological characteristics of new yeast cultures from Armenia	896
<i>Goginian E. V.</i> Influence of different inhibitors on the activity of branched chain aminoacid transamination enzymes of <i>Candida guilliermondii</i>	901
<i>Davtian M. A.</i> , <i>Chubarian S. V.</i> , <i>Tumanian L. R.</i> Purification of arginase from <i>Candida guilliermondii</i> var. <i>membranaefaciens</i> VKM Y-43	906
<i>Aslanians G. K.</i> , <i>Dobrynin J. V.</i> Cell test-system for screening and study of fermentative preparations with asparaginase and glutaminase activity	912

Short Communications

<i>Ananian L. G.</i> , <i>Asatrian M. O.</i> Enzymes for L-citrulline biosynthesis in lactic bacteria and streptococci	916
<i>Avakian Z. G.</i> , <i>Bagdasarian S. N.</i> , <i>Markossian L. S.</i> , <i>Afrikan E. G.</i> Distribution of glucoseisomerase in various species of sporeforming bacteria	919
<i>Kocharian Sh. M.</i> , <i>Melkumian M. A.</i> Mutants of <i>Escherichia coli</i> defective to the use of purine nucleosides	923
<i>Karapetian K. A.</i> , <i>Abramian G. H.</i> , <i>Kasarian H. A.</i> , <i>Grigorian R. G.</i> On the fungal resistance of cement composition	926
<i>Grigorian J. A.</i> , <i>Vartanjan L. K.</i> Two new species of fish parasite nematodes for the Armenian fauna	929

C h r o n i c s

<i>Marshavina Z. V.</i> Allunion conference on cell plant culture	931
<i>Gokhtuni N. G.</i> , <i>Jeramian E. N.</i> Annual session of the USSR and Armenian SSR scientific councils of Academies of Sciences on the problem „Biological backgrounds of rational use, remaking and protection of plant kingdom.“	933
„Biological Journal of Armenia“, 1979	827