

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
Հ Ա Ն Դ Ե Ս

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
Ж У Р Н А Л
АРМЕНИИ

139/3

Издається с 1946 года
Այստանի քենսաբանակառ անդես,
выходит 12 раз в год
на армянском и русском языках

Խմբագրական կոլեգիա՝ Ս. Մ. Ալազյան, Վ. Ն. Ալևտիսյան, Է. Գ. Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Հ. Գ. Բակլավադյան, Հ. Գ. Բատիկյան, Ա. Շ. Գալստյան (գլխ. խմբագրի տեղակալ), Ժ. Ի. Հակոբյան, Վ. Հ. Ղազարյան, Կ. Ս. Մարչանյան (պատ. քարտուղար), Ս. Հ. Մովսիսյան:

Խմբագրական խորհուրդ՝ Ն. Ն. Ակրամովիչ, Վ. Շ. Աղաբաբյան, Հ. Ս. Ալևտյան, Է. Գ. Աֆրիկյան (խորհրդի նախագահ), Գ. Ն. Բաբայան, Ս. Ա. Բակունց, Ա. Լ. Թախտադյան, Պ. Ա. Խորշոզյան, Ս. Կ. Կարապետյան, Մ. Գ. Հովհաննիսյան, Լ. Լ. Հովսեփյան, Լ. Ս. Ղամբարյան, Ա. Ա. Մաթևոսյան, Մ. Խ. Չալախյան, Ս. Հ. Պողոսյան, Մ. Ն. Տեր-Մինասյան:

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. К. Африкян (пред. совета), Д. Н. Бабаян, С. А. Бакунц, Л. С. Гамбарян, С. К. Карапетян, А. А. Матевосян, М. Г. Оганесян, Л. Л. Осипян, С. А. Погосян, А. Л. Тахтаджян, М. Е. Тер-Минасян, П. А. Хуршудян, М. Х. Чайлахян.

ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՈՒԹԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ

Հիմնադրվել է 1946 թ.

Հրատարակվում է տարեկան 12 անգամ

Ծանոթ ԱՄԿ, № 11

ԵՐԵՎԱՆ

Նոյեմբեր, 1981 թ.

Ր Ո Վ Ա Ն Դ Ա Կ Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

Փորձառական

Տեսերենիկովա-Քարսյան Գ. Ն. Որոշ տվյալներ Հայկական ՍՍՀ-ում հազվագեղատարած և անհետացող բույսերի սեկային հիվանդությունների մասին 1099

Զոխրյան Ժ. Ի., Աբրամով Խ. Խ. Մեկ շղթայանոց պոլիեռլիմերների հիդրոլիզացնող եուկյուլազների սուրստրատային սպեցիֆիկան 1107

Կանրաշյան Է. Ա., Ժամհարյան Հ. Գ., Դավրյան Մ. Ա. Կենդանիների հյուսվածքների և գինու խմորասնկերի արգինին-գլիցին ամիդինոտրանսֆերազայի համեմատական ակտիվությունը 1119

Տրեզո Ա. Ի., Դանիլովա Տ. Ա., Գրոխոբովա Լ. Տ., Գորշկովա Է. Ի., Խեզինկյան Լ. Հ., Ակոպովա Ա. Բ. 400-ամյա գոմեշի յուղուրդա յուղի միկրոֆլորան և թիմիական ցուցանիշները 1125

Խանկյան Ռ. Վ. Կաթնաթթվային և պրոպիոնաթթվային մանրէների ակտիվությունը՝ կախված կաթի միկրոտարրերի կազմից 1129

Վարդանյան Լ. Ս., Ավագյան Ռ. Պ., Տեր-Քալյան Ն. Հ. Շաքարասնկային դուրդի թիմիական բաղադրությունը պահման տարրեր ժամկետներում 1136

Ֆրեզարյան Կ. Հ., Մելիֆոբյան Վ. Շ., Աֆրիկյան Է. Գ. Աէրոբ սպորավոր բակտերիաների մոծակասպանիչ ակտիվության մասին 1142

Յանյան Է. Ա. Գաղձի սերմերի ծլման վրա որոշ բակտերիաների ինհիբիտորային ազդեցության մասին 1148

Խոջկյան Լ. Ա. Արարատյան գետահովտի շագանակագույն հողերի միկրոֆլորան 1153

Խաչատրյան Ա. Ա., Աֆրիկյան Է. Գ. Bacillus subtilis-mesentericus խմրի կուլտուրաների հատկությունների պահպանումը լիոֆիլիզացման ընթացքում 1158

Մաջականյան Ա. Գ., Աղամյան Ա. Հ., Շեխիկյան Մ. Տ., Խամակյան Հ. Կ., Ավետիսյան Հ. Ա. Ժանտախտի Անդրկոպկասյան բարձրադիր լեռնային օջախի անասնաևարակային ակտիվության բնութագիրը 1165

Խամակյան Հ. Կ., Շեխիկյան Մ. Տ., Վաթղանյան Ա. Ա., Խանգուլյան Է. Կ. Անդրկոպկասի ժանտախտի բարձրադիր օջախի տարածքում ժանտախտի սպեցիֆիկ անտիգեն հայտնաբերելու նպատակով կատարված սերոլոգիական հետազոտությունների արդյունքները 1179

Պրոֆանյան Ա. Ա., Մանվելյան Ե. Վ. Իմունային պատասխանի մաթեմատիկական մոդելացումը դիֆտերիայի և պրկախտի դեմ ուղղակի նախադիմացիայից հետո 1176

Ուր-Ավետիսյան Ա. Տ., Պետրոսյան Ա. Ա. Մոլիբդենի ազդեցությունը կենդանիների իմունոգենեզի մի քանի օղակների վրա 1182

Համառոտ հաղորդումներ

Խոջկյան Լ. Հ., Մաղոյան Ռ. Ա., Փանիկանյան Մ. Շ. Հիբերիկներ՝ կաթնաթթվային բակտերիաների աճի խթանիչ 1188

Թեֆերատներ

Չիգոյան Կ. Ա., Տեր-Օհանյան Կ. Ա. Գեհիդրոգենազների սուկցինատի և լակտատի իստոթիմիական ակտիվության ուսումնասիրությունը տնային հավերի ինսուլատի և ուղեկերացող լյարդում 1191

СО Д Е Р Ж А Н И Е

Экспериментальные

<i>Тетеревникова-Бабаян Д. Н.</i> Некоторые данные о грибных заболеваниях редких и исчезающих растений Армянской ССР	1099
<i>Акопян Ж. И., Абрамов Р. Е.</i> Субстратная специфичность нуклеаз, преимущественно гидролизующих одонитевые полинуклеотиды	1107
<i>Мантшиян Э. А., Жамгарян Г. Г., Даятян М. А.</i> Сравнительная активность аргинин-глицин-амидинотрансферазы в тканях животных и в винных дрожжах	1119
<i>Тростько У. И., Даклоян Т. А., Прохорова Л. Т., Горшкова Э. И., Ерзинкян Л. А., Акопова А. Б.</i> Микрофлора и химические показатели буйволиного йогуртного жира 400-летней давности	1125
<i>Саакян Р. В.</i> Активность молочнокислых и пропионовокислых бактерий в зависимости от микроэлементного состава молока	1129
<i>Бартамян Л. С., Авакян Е. П., Тер-Балян Н. А.</i> О химическом составе дрожжевой гущи в различные периоды хранения	1136
<i>Чилингарян К. О., Меликсетян В. Ш., Африкян Э. К.</i> О кулицидном действии культур аэробных спорообразующих бактерий	1142
<i>Оганян Э. А.</i> Угнетающее действие некоторых бактерий на прорастание семян пшенички	1148
<i>Хачикян Л. А.</i> Микрофлора каштановых почв Араратской котловины	1153
<i>Лачатурян А. А., Африкян Э. К.</i> Сохранение свойства <i>Bacillus subtilis-mesentericus</i> при лиофилизации	1158
<i>Мнацаканян А. Г., Адамян А. О., Шехикян М. Т., Хажакян Г. К., Аветисян Г. А.</i> К характеристике эпизоотической активности Закавказского высокогорного очага чумы	1165
<i>Хажакян Г. К., Шехикян М. Т., Вартанян А. А., Хангулян Э. К.</i> Серологические исследования по выявлению специфического чумного антигена в Закавказском высокогорном очаге	1170
<i>Ордуханян А. А., Манвелян Е. В.</i> Математическое моделирование иммунного ответа после ревакцинации против дифтерии и столбняка	1176
<i>Тер-Аветисян А. Т., Петросян А. А.</i> Влияние молибдена на некоторые звенья иммуногенеза у различных животных	1182

Краткие сообщения

<i>Ерзинкян Л. А., Мадоян Р. А., Пахлеванян М. Ш.</i> Гиббереллин—стимулятор роста молочнокислых бактерий	1188
---	------

Рефераты

<i>Дживанян К. А., Тер-Оганян К. С.</i> Гистохимическое изучение активности дегидрогеназ сукцината и лактата в интактной и регенерирующей печени домашних кур	1191
---	------

C O N T E N T S

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

- Teterevntseva-Babayan D. N.* Data on fungal diseases of rare and disappearing plants of the Armenian SSR 1099
- Hakopian J. I., Abramov R. E.* On substrate specific features of nucleases hydrolysing single-strand polynucleotides 1107
- Mantachian E. A., Zhamharlan H. H., Davtlan M. A.* Comparative activity of α -arginineglycine amidinotransferase in animals tissues and wine yeasts 1119
- Trasko U. I., Mironova A. N., Danilova T. A., Erzinkyan L. A., Akopova A. B.* The microflora and chemical composition of beef fat from yogurt of 400 years old 1125
- Sahakian R. V.* The activity of lactic and propionic bacteria related to the trace-element composition of milk 1129
- Vartanian L. S., Avakian B. P., Ter-Ballan N. A.* On the composition of wine yeast biomass in various periods of storage 1136
- Chilingarian K. H., Meliksetian V. Sh., Afrikian E. G.* On the mosquitocidal activity of aerobic sporeforming bacteria 1142
- Ohanian E. A.* On the inhibitory action of some bacteria on the germination of dodder seeds 1148
- Khachikyan L. A.* On the microflora of mountainous chestnut soils in Ararat hollow 1153
- Mnatsakanian A. G., Adamian A. O., Khazhikian G. K., Shekhtikyan M. T., Avetisyan G. A.* On the characteristic of Transcaucasian high mountainous plague epizootic activity 1158
- Khajikian H. K., Shekhtikyan M. T., Khangoullan E. K.* Serological investigations for revealing specific plaque antigen in different objects in Transcaucasian highland region 1165
- Ordukhanian A. N., Manvelian E. V.* Mathematical modeling of immune response after revaccination against diphtheria and tetanus 1170
- Ter-Avetisyan A. T., Petrosian A. A.* Influence of molybdenum on the immunological shift of different animals 1182

Short communications

- Erzinkyan L. H., Madolan R. A., Pahlevanian M. Sh.* Gibberellin as a stimulator for lactobacteria 1188

A b s t r a c t

- Givaulian K. A., Ter-Oganian K. S.* Histochemical study of succinate dehydrogenase activity and lactate in intact regenerating hen liver 1191

УДК 632.4

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ О ГРИБНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ РАСТЕНИЙ АРМЯНСКОЙ ССР

Д. Н. ТЕТЕРЕВНИКОВА-БАБЛЯН

Излагаются результаты исследований и суммированные литературные данные по грибным заболеваниям, распространенным на редких, исчезающих, сокращающихся и подлежащих охране растений дикорастущей флоры Армянской ССР. Представлены сведения по грибным болезням редких видов семейств Rosaceae, Fabaceae, Asteraceae, Apiaceae и Lamiaceae. Подчеркиваются особенно сильно страдающие от грибных паразитов виды растений и наиболее вредоносные виды грибов. Рекомендуются некоторые профилактические меры по ограничению вредного действия этих заболеваний.

Ключевые слова: грибные болезни, редкие и исчезающие растения.

В Армянской ССР из-за изрезанности рельефа и различия в эколого-климатических условиях, как и в пределах всего Кавказа, флора очень разнообразна. Количество видов растений составляет здесь около 3200. Среди дикорастущих растений много весьма ценных для народного хозяйства видов: кормовых, пищевых, витаминоносных, лекарственных и др., много дикорастущих сородичей культурных растений, которые при всестороннем изучении могут быть использованы в селекции новых хозяйственно-ценных сортов культурных растений, наконец, много эндемиков и реликтовых форм. Вместе с тем, в связи с общей интенсификацией народного хозяйства и строительством новых промышленных объектов, с эрозией, засолением и заболачиванием почв, а также с действием многих антропогенных факторов многие виды флоры вымирают или становятся редкими, исчезающими, сильно сокращаются количественно.

В 1979 г. группой сотрудников БИН АН Армянской ССР [1] опубликован список названий редких, сокращающихся и исчезающих видов флоры Армянской ССР (всего 400 видов), который войдет в составляемую в настоящее время «Красную книгу растений Армении». Уже после издания этого списка появились статьи Хуршудяна с соавт. [9] о нуждающихся в охране ботанических объектах Севанского национального парка и Арутюняна [2] об исчезающих видах флоры. В этих работах приведено много редких и сокращающихся, нуждающихся в охране растений, не фигурировавших в первом списке, что свидетельствует о продолжающемся процессе обеднения нашей флоры.

В связи с этим назрела необходимость выявления антропогенных, экологических и др. факторов, препятствующих развитию этих ценных растений.

К числу факторов, резко влияющих на жизнеспособность растений, относятся и грибные заболевания. В настоящее время общепризнано, что как сапротрофные, так и биотрофные—паразитные грибы являются неотъемлемой частью любого фитоценоза. Из литературы известно, что взаимоотношения между паразитными грибами и растениями зачастую складываются не в пользу последних. Пораженные грибами растения истощаются, нарушается нормальное прохождение стадий их развития, многие виды растений могут выпасть из состава фитоценоза вообще. Это особенно быстро может произойти в тех случаях, когда развитие тех или иных паразитных грибов принимает эпифитотический характер.

До настоящего времени никто специально не занимался вопросом грибных заболеваний редких и исчезающих растений. Паразитная грибная флора растений нашей республики изучена довольно полно, однако сведения о поражаемости грибами редких и исчезающих растений нигде не сконцентрированы и пользоваться ими в таком виде невозможно. Поэтому мы поставили себе целью собрать воедино все опубликованные и, по возможности, имеющиеся в гербариях материалы по заболеваниям редких, исчезающих и сокращающихся растений из нескольких обширных ботанических семейств, а именно Rosaceae, Fabaceae, Asteraceae, Apiaceae и Lamiaceae.

В качестве литературных источников использованы 6 томов коллективного труда «Микофлора Армении» [4], а также ряд монографий Мелик-Хачатрян [3], Симонян [5—7], Тетеревникова-Бабаян [8]. Кроме того, включены данные из многочисленных гербариев и статей сотрудников кафедры ботаники и БИН АН Армянской ССР по грибам из систематических групп, пока не нашедшие отражения в вышедших томах «Микофлоры Армении».

Следует отметить, что, как известно, наиболее вредоносные облигатные паразиты обычно имеют специализацию по родам питающих растений, т. е. поражают многие виды данного рода растений-хозяев. Поэтому потенциально огромную опасность представляют грибные паразиты, не только встречающиеся на самом редком виде, но и вообще на всех видах того же рода. Например, опасность для редкого вида *Gundelia tournefortii* L. представляет не только своя ржавчина, но та же ржавчина на других видах *Gundelia*, ибо она может в любой момент с этих видов перейти на редкий вид, тем более что летом в воздухе обычно имеется массовый запас инфекции в виде спор. Исходя из этого, следует собирать сведения о заболеваниях всех этих видов.

В табл. I представлены количественные данные о грибных болезнях на редких и исчезающих растениях из вышеупомянутых пяти семейств.

Из таблицы явствует, что наибольшее количество видов грибов отмечено на редких и исчезающих представителях Rosaceae, на втором месте—сем. Fabaceae и на третьем—Asteraceae. Растения из остальных двух семейств являются хозяевами для значительно меньшего количества грибов.

Таблица 1

Количество видов грибных возбудителей на редких и исчезающих растениях из изученных семейств

Названия семейств	Число родов, содержащих редкие и исчезающие виды	Число редких и исчезающих видов	Число обнаруженных грибов
Fabaceae	11	41	97
Rosaceae	9	32	129
Asteraceae	23	38	89
Lamiaceae	7	12	30
Aplacae	12	20	24
Всего	62	143	369

Огромное число грибов, отмеченное на растениях из сем. Rosaceae, объясняется тем, что в это семейство входят роды с разнообразными жизненными формами—однолетними и многолетними травами, кустарниками, деревьями, что обеспечивает питательным субстратом не только паразитирующие на зеленых органах микромицеты, но и высшие базидиальные грибы на стволах и ветвях, лигнофильные грибы и т. д.

Качественный состав грибов по таксономическим порядкам, обнаруженных на интересующих нас растениях, отражен в табл. 2—4.

Таблица 2

Систематическое распределение грибов по родам сем. Rosaceae, включающим редкие и исчезающие виды

Розы, к которым относятся редкие и исчезающие виды растений	Число редких и исчезающих видов растений	Число видов грибов по порядкам										
		Peronosporales	Erysiphales	Taphrinales	Pyrenomyces (группа поп.)	Discomyces (группа поп.)	Uredinales	Aphylliphorales	Hymenomycetales	Melanconiales	Sphaeropsidales	Всего
Alchimilla	3	—	1	—	—	—	1	—	2	—	1	5
Amelanchier	1	—	—	—	—	1	—	—	—	—	2	4
Amygdalus	2	—	1/1*	—	—	—	—	—	4	—	10	17/2
Cotoneaster	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	7
Potentilla	2	—	1/1	—	—	—	—	—	1	—	2	7/1
Pot. rium	1	—	1/1	—	—	—	—	—	1	—	1	4/1
Pyrus	15	—	1/1	1	7	1	1	5	6	2	11	35/1
Rosa	2	—	1/1	—	7	—	1	1	2	6	17	35/1
Sorbus	3	—	—	—	4	—	1	3	2	—	5	15
		1	6/5	1	20/1	1	11	9	18	8	54	129/6

* В числителе—количество видов, в знаменателе—количество форм или вариаций.

Как видно из табл. 2, на подлежащих охране и систематически близких к ним растениях из сем. Rosaceae зарегистрированы пока грибы из

10 порядков, в том числе афиллофоровые и голосумчатые, отсутствующие на представителях других изученных семейств растений. Некоторые порядки грибов, представленные небольшим количеством видов, тем не менее, очень вредоносны (напр., мучнисто-росяные—всего 6 видов, ржавчинные (11 видов), гифальные, куда входит возбудитель вреднейшего заболевания—парши груши. Наоборот, сферопондальные грибы найдены в числе более 50-ти видов, но значительно вредят лишь единичные из них (например, септориоз груши и некоторые другие). Пероноспоровые и группа порядков «дискомицеты» имеют по 1 представителю—соответственно на лапчатках, которым не наносят особого вреда, и *Sclerotinia fructigena* на диких грушах, вызывающий бурую гниль плодов.

Особо следует остановиться на трех родах растений, содержащих виды, нуждающиеся в охране. В первую очередь—это род *Rugus*. В лесах Армении произрастают 15 видов дикой груши и, кроме того, в садах широко возделываются ценные культурные сорта. Все 15 диких видов относятся к редким и сокращающимся видам флоры, и все они сильно страдают от грибных болезней, особенно от парши, мучнистой росы, курчавости листьев (*Taphrina bullata*), септориоза и др. На грушах зарегистрировано 5 видов трутовиков, которые сильно вредят стволам стареющих деревьев. Виды из группы порядков «пиреномицеты», в изобилии произрастающие на коре и древесине стволов и ветвей груш, являются большей частью факультативными паразитами, но ускоряют отмирание ослабленных органов растений и вносят свою долю вреда. Все это заставляет призадуматься над судьбой наших диких видов груш.

Другая группа растений, сильно поражающихся грибами—это род *Amygdalus* и 2 его сокращающихся вида—*A. pairica* Fed. et Takht. *A. fenzliana*. (Fritsch) Lipsky. Именно на них найдены вредоносные грибы—возбудитель дырчатой пятнистости, буквально изрешечивающий их листья, оранжевый ожог листьев—*Polystigma ochraceum* Pers., мучнистая роса и некоторые другие, всего 10 видов. Миндаль вообще очень нежное растение, легко страдает от заморозков и зимних морозов, особенно сильно обмораживаются растения, ослабленные грибными болезнями.

Почти все то же можно сказать и о сокращающихся диких видах рода *Rosa*. На розах в Армении обитает, как и на груше, 35 видов грибов. Наряду с другими, большой вред наносят некоторые пятнистости листьев, вызываемые несовершенными грибами, в том числе некоторыми меланкониевыми.

Табл. 3 представляет данные о поражаемости растений из сем. Fabaceae, нуждающихся в охране. Из таких растений Хуршудян, Барсегян и Африкян [9], в частности, указывают несколько нагорно-ксерофильных видов астрагалов (всего редких—11 видов), отдельные виды рода *Lathyrus*, *Trifolium* и вики. Многие виды последних трех родов сильно страдают в первой половине лета от пероноспоровых, а позже—

Систематическое распределение грибов по родам сем. Fabaceae, включающим редкие и исчезающие виды

Роды, к которым относятся редкие и исчезающие виды растений	Число редких и исчезающих видов растений	Число видов грибов по порядкам									
		Peronosporales	Erysiphales	Pyrenomyces (группа по р.)	Discomyces (группа по р.)	Uredinales	Hyphales	Melanconiales	Sphaeropsidales	Всего	
Astragalus	11	1	2	1	3	—	1	1	—	3	11/1
Cercis	2	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4
Cicer	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1
Glycyrrhiza	2	—	1	1	—	—	1	2	—	2	6/1
Hedysarum	3	—	—	—	—	—	1	—	—	1	2
Lathyrus	2	5	2	1	—	—	2	4	—	5	19/1
Onobrychis	2	1	2	2	—	—	1	1	—	1	6/2
Trifolium	4	3	1	2	1	—	3	5	1	5	21
Trigonella	3	1	1	1	—	—	—	—	—	1	3/1
Vicia	2	4	2	1	—	—	3	6	1	8	24
Всего		15	11	6	6	1	12	19	2	31	97/6

от мучнисторосяных, ржавчинных, гифальных и других грибов. Болéют также сокращающиеся дикорастущие виды эспарцета.

Особо следует отметить виды солодки (*Glycyrrhiza*) и клевера. Как теперь выясняется, даже такое обычное для очень скудных и засушливых условий растение, как *Glycyrrhiza glabra* L., резко сокращается и нуждается в защите. Большую роль в гибели этого растения играет ржавчина *Uromyces glycyrrhizae* (Rabh.) Magn. Уже в мае в Араратской равнине и предгорных районах можно видеть большие группы растений, листочки которых сплошь густо покрыты пустулами телейтостадии темно-коричневого цвета, так что эти куртины на общем зеленом фоне кажутся выжженными и уже в июне полностью чернеют и засыхают. На этих же растениях встречаются и другие грибы, но вред от них значительно меньше.

В субальпийских лугах Севанского бассейна заметно сокращается *Trifolium ambiguum* Vieb., на котором зарегистрировано 3 вида пероноспоровых, 3 ржавчинных, 5 гифальных, 5 сферопондальных и др.—всего 21 вид грибов. Среди них вредоносный возбудитель корневого рака клевера из порядка Melanconiales—*Kabatiella caulivora* (Kirchn.) Kar. Не вызывает сомнения, что известный и, вероятно, довольно большой процент выпадания этого клевера из травостоя должен быть отнесен за счет грибных болезней.

В табл. 4 суммированы данные о паразитах редких растений из сем. Asteraceae, на которых зарегистрировано 89 видов и 13 форм грибов. Особенно вредят изучаемым растениям представители мучнисторосяных грибов; они хорошо развиваются как в мезофильных, так и в ксерофильных условиях и часто вызывают полное преждевременное усыхание листьев и зеленых побегов растений. Почти в той же степени вредят ржавчинные, а в несколько меньшей—виды остальных групп. Очень сильно поражаются белой ржавчиной (*Albugo tragopogi* (Pers.)

Таблица 1

Систематическое распределение грибов на родах растений сем. Asteraceae, содержащих редкие и исчезающие виды

Роды растений, к которым относятся редкие и исчезающие виды	Число редких и исчезающих видов растений	Число видов по порядкам грибов							Всего	
		Peronosporales	Erysiphales	Pyrenomyces (группа по по.)	Discomycetes (группа по по.)	Uredinales	Hyphales	Melanconiales		Sphaeropsidales
Amberboa	2	—	—	—	—	—	—	—	1	1
Anthemis	2	—	1/1	—	—	—	—	—	1/1	1,1
Calendula	2	—	1/1	—	—	—	—	—	2/1	2,1
Carduus	1	—	1/1	—	—	2	—	—	3/1	3,1
Centaurea	3	1	2/2	1	—	4	3	—	4	15/2
Cichorium	1	—	1	3	—	1	1	—	4	10
Cousinia	4	—	—	—	—	1	—	—	—	1
Crepis	1	1	2/2	—	—	1	—	—	1	5/2
Echinops	4	—	—	1	—	1	—	—	2	4
Gundelia	1	—	—	—	—	1	—	—	—	1
Helychrisum	1	1/1	—	—	—	—	—	—	—	1/1
Inula	2	1/1	1/1	—	—	2	2	—	—	6/2
Lactuca	1	1	1	—	—	2	1	—	2	7
Pyrethrum	1	—	1/1	—	—	1	—	—	3	5/1
Saussurea	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Scorzonera	1	1	—	—	—	1	1	—	2	5
Senecio	2	—	1	—	—	1	1	—	—	3
Serratula	1	1/1	—	—	—	3	4	—	1	9/1
Sonchus	2	1	1	—	—	1	—	—	—	3
Sireptorhampus	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Taraxacum	1	1/1	1	—	—	3	2	—	1	8,1
Tripleurospermum	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ulospermum	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Всего	38	9/4	14/9	5	—	24	16	—	21	89/13

Schroet. var. *tragopogi* Biga) виды *Helychrisum*, которые подлежат охране, так как истребляются; на *Amberboa moschata* (L.) DC. сильно развивается септориозная пятнистость (*Septoria centaureaericola* Brun.), вызывающая раннее засыхание листьев.

Характерно, что на представителях некоторых родов растений встречается по несколько грибов из одной группы. Например, на видах *Centaurea*, среди которых 4 вида—редкие, обнаружено 4 вида ржавчины, 2 вида мучнистой росы и 2 вида *Septoria*. Часто они сопутствуют друг другу.

Число редких, исчезающих и сокращающихся видов сем. зонтичных (*Ariaceae*) сравнительно невелико и составляет всего 19 видов из 12-ти родов. На редких растениях 4-х родов поражения грибами пока не обнаружено (*Dorema*, *Ferula*, *Hohenackeria* и *Smyrniun*). Всего на видах остальных родов обнаружено 23 вида и 5 форм грибов. Особенно страдает от двух ржавчинных грибов и от септориоза редкий вид *Peucedanum caucasicum* (Bieb.) C. Koch. Виды *Eryngium* сильно поражаются мучнистой росой, ржавчиной и др. грибами. Наконец, *Falcaria falcaroides* (Bornm. et H. Wolff) H. Wolff. очень сильно угнетается ржавчиной *Puccinia falcariae* (Pers.) Fckl., эцидиальная стадия ко-

торой особенно сильно вредит, так как инфекция носит системный характер, ранней весной молодые розетки прикорневых листьев гибнут прямо на корню и вновь не отрастают.

Из редких и исчезающих видов сем. *Lamiaceae* наиболее поражаемыми являются виды *Salvia*, *Stachys* и *Teucrium*, которые требуют защиты, поскольку большинство их—лекарственные и хищнически собираются населением, часто—в избыточном количестве и вместе с корнями. На видах шалфея (*Salvia*) паразитирует 3 ржавчинных гриба, 3 мучнисто-росяных, 3 пикнидиальных и др.—всего 12 видов грибов. *Teucrium* (дубровник) особенно страдает от мучнистой росы, а сокращающийся вид *Eremostachys macrophylla* (Montbr. et Auch. ex Benth.) Tackl. от рамуляриоза — *Ramularia eremostachydis* Zaprom.

Весьма сложным является вопрос организации защиты ценных видов растений от микозов. В отношении комплекса древесных пород и кустарников (таких как дикие груши, миндаль, розы и шиповники, некоторые редкие виды рябины, *Cotoneaster* и др.) уже сейчас можно провести некоторую профилактику. В первую очередь, с целью снижения общего запаса инфекции микозов в природе необходимо самым тщательным образом проводить весь обязательный комплекс химических и санитарно-гигиенических мероприятий борьбы с болезнями в культурных насаждениях, которые служат постоянным источником инфекции для своих диких сородичей, как и те в свою очередь в этом отношении представляют опасность для садов. Особенно это важно для диких груш и миндалей. Кроме того, в лесах желательны проводить санитарно-гигиенические мероприятия: обрезку и сжигание плодовых тел трутовиков с последующей дезинфекцией и замазыванием ран, при сильном заражении листьев и плодов—сбор и сжигание падалицы и опавших листьев после листопада. В лесу эти мероприятия проводить трудно, но возможно, особенно в условиях заповедников. Арутюнян [2] рекомендует редкие и сокращающиеся виды растений, большинство из которых обладает декоративными качествами, вводить в озеленительную практику, при озеленении городов и поселков им будет обеспечен уход и сохранность, в том числе и защита от болезней. Это касается как деревьев и кустарников, так и травянистых растений. К этому следует добавить, что, выбирая материал для этих посадок, следует брать саженцы, черенки, дерн для озеленения без признаков каких-либо грибных заболеваний.

Исследования грибных заболеваний редких, исчезающих и сокращающихся видов растений флоры Армянской ССР продолжаются, и результаты их будут изложены в наших последующих сообщениях.

Ереванский государственный университет,
кафедра ботаники

Поступило 6.VII 1981 г.

ՈՐՈՇ ՏՎՅԱԼՆԵՐ ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ-ՈՒՄ ՀԱԶՎԱԴԵՊ ՏԱՐԱՄՎԱՌ
ԵՎ ԱՆՀԵՏԱՑՈՂ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ՍՆԿԱՅԻՆ ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Դ. Ն. ՏԵՏԵՐԵՎՆԻԿՈՎԱ-ԲԱԲԱՅԱՆ

Հողվածում հեղինակի ուսումնասիրությունների արդյունքների հիման վրա հանրագումարի են բերվում այն գրական տվյալները բույսերի հիվանդությունների, որոնք տարածված են Հայաստանում եզակի հանդիպող և անհետացող վայրի բուսականության վրա: Սույն հաղորդման մեջ նկարագրվում են սնկային այն հիվանդությունները, որոնք հանդիպում են Rosaceae, Fabaceae, Asteraceae, Apiaceae և Lamiaceae ընտանիքներին պատկանող եզակի տեսակների վրա: Հնդգրկված են առանձնապես խիստ վարակվող բույսերը և դրանց վնասակար սպորազիտները: Հիվանդությունների պատճառած վնասը նվազեցնելու համար նշվում են պայքարի մի շարք նախազգուշական միջոցներ:

DATA ON FUNGAL DISEASES OF RARE AND DISAPPEARING
PLANTS OF THE ARMENIAN SSR

D. N. TETEREVNIKOVA-BABAYAN

The results of investigations of the author as well as the literature data concerning the fungal diseases of rare, disappearing, reducing and being the subject to protection plants of the Armenian flora are summarized. The report contains information concerning the mycosis of the rare plants belonging to the Rosaceae, Fabaceae, Asteraceae, Apiaceae and Lamiaceae families. Plant species which severely suffer from parasitic fungi and the most harmful species of fungi are particularly emphasized. Some preventive measures for restricting the injury of the described diseases are recommended.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аветисян В. Е., Барсегян А. М., Габриэлян Э. Ц., Григорян А. А., Торосян Г. К. Список редких и исчезающих видов флоры Армении. Ереван, 1979.
2. Арутюнян Л. В. Биолог. ж. Армении, 32, 8, 1980.
3. Мелик-Хачатрян Дж. Г. Микофлора северо-восточной Армении. Ереван, 1964.
4. Микофлора Армении, 1. Пероноспоровые грибы. Ереван, 1967, автор Л. Л. Осипян;
2. Гастеромицеты и афиллофоровые грибы, 1971, авторы Дж. Г. Мелик-Хачатрян и С. Н. Мартиросян;
3. Гифальные грибы, 1975, автор Л. Л. Осипян;
4. Ржавчинные грибы, 1977, автор Д. Н. Тетеревникова-Бабаян.
5. Симосян С. А. Тр. Бот. ин-та АН Армянской ССР, 12, 1959 и 15, 1962.
6. Симосян С. А. Паразитные грибы на растениях Ботанических садов Армянской ССР. Ереван, 1965.
7. Симосян С. А. Микофлора Ботанических садов и дендропарков Армянской ССР. Ереван, 1981.
8. Тетеревникова-Бабаян Д. Н. Обзор грибов из рода *Septoria* на культурных и дико растущих растениях Армянской ССР, Ереван, 1962.
9. Хуршудян П. А., Барсегян А. М., Африкян К. Г. Биолог. ж. Армении, 32, 1, 1980.

СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ НУКЛЕАЗ, ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ГИДРОЛИЗУЮЩИХ ОДНОНИТЕВЫЕ ПОЛИНУКЛЕОТИДЫ

Ж. И. АКОПЯН, Р. Е. АБРАМОВ

Приводятся литературные данные последних лет по изучению нуклеаз, специфически гидролизующих однонитевые полинуклеотидные цепи. Обсуждается сравнительная характеристика по субстратной специфичности данных ферментов.

Ключевые слова: нуклеаза, субстратная специфичность, ДНаза.

Многообразие нуклеаз очень затрудняет их рациональную классификацию; согласно международной классификации, все нуклеазы объединены в одну группу (К. Ф. 3.1.4.X), в пределах которой различным нуклеазам присвоены различные значения X.

По отношению к субстратам различают прежде всего нуклеазы, гидролизующие РНК (РНазы), ДНК (ДНазы), и нуклеазы, действующие на оба типа нуклеиновых кислот. Нуклеазы различают также по взаимодействию со вторичной структурой субстрата: нуклеазы, специфичные к однонитевым полинуклеотидным цепям (sss-нуклеазы), специфичные к двунитевым цепям нуклеиновых кислот (dss-нуклеазы)* и действующие на оба типа полинуклеотидов. Среди dss-нуклеаз имеется особая группа, названная гибридазами или РНазами II, которая включает в себя ферменты, избирательно расщепляющие РНК в составе ДНК/РНК гибрида. Кроме того, имеются нуклеазы, узнающие пространственную структуру полинуклеотида, например, нуклеазы процесса тРНК.

Нуклеазы классифицируют также по взаимодействию с первичной структурой субстрата; здесь различают нуклеазы, специфические по отношению к определенным основаниям или группе оснований и неспецифические.

Субстратная специфичность нуклеаз может выражаться и по месту гидролиза субстрата в полинуклеотидной цепи (экзонуклеазы, эндонуклеазы и неспецифические). Экзонуклеазы, как известно, действуют только на свободные концы полинуклеотидной цепи (либо на 3'-конец, либо на 5'-конец). Они не способны к образованию фермент-субстрат-

* Сокращения: sss — специфичная к однонитевым участкам (single stranded specific), dss — специфичная к двунитевым участкам (double stranded specific).

ных комплексов с кольцевыми полинуклеотидами, в то время как эндонуклеазы расщепляют фосфодиэфирную связь внутри полинуклеотидной цепи и способны к образованию комплексов с кольцевыми полинуклеотидами. Причем продуктами расщепления экзонуклеаз во многих случаях являются небольшие молекулы—олигонуклеотиды и мононуклеотиды в отличие от эндонуклеаз, для которых характерно образование крупных молекул олигонуклеотидов. Однако в последнее время показано, что конечными продуктами каталитического действия многих экзонуклеаз, как например, экзонуклеазы, участвующей в рекомбинации, могут быть также крупные полинуклеотидные молекулы. Кроме того, описаны ферменты, не проявляющие определенной специфичности по отношению к месту приложения к субстрату.

В последнее время в литературе накопилось много данных об особой группе ферментов (фосфодиэстераз), неспецифических относительно типа субстрата (РНК, ДНК), однако гидролизующих преимущественно однонитевые цепи полинуклеотида и в том числе абсолютно специфичных к денатурированным молекулам ДНК и РНК.

Линн и Леман в 1965 году описали эндонуклеазу из *Neurospora crassa*, которая при определенных условиях проявляет активность в отношении нативной ДНК приблизительно на 2%, по сравнению с активностью фермента, гидролизующего денатурированную молекулу ДНК [2]. Однако степень деградации нативной ДНК оптимальна при кислых значениях рН среды и в присутствии ионов Mn^{2+} , тогда как для гидролиза денатурированной молекулы ДНК необходимо присутствие в инкубационной среде ионов Mn^{2+} при щелочных значениях рН. Названная выше нуклеаза из *N. crassa* как бы дополняет экзонуклеазу I (фосфодиэстеразу) из *E. coli* [19]. Оба фермента показали почти абсолютную специфичность ко вторичной структуре полинуклеотидов, и в обоих случаях показан низкий уровень активности гидролиза нативной молекулы ДНК, что в некоторой степени отражает действие этого фермента на денатурированные или однонитевые участки внутри молекулы нативной ДНК. Важной отличительной особенностью этих двух ферментов является механизм каталитического действия, что дополняет действие их при использовании в качестве инструментов при различных исследованиях. Нуклеаза из *E. coli* по механизму действия является экзонуклеазой, тогда как нуклеаза из *N. crassa* действует по эндонуклеазному типу. Фермент из *N. crassa* по своей субстратной специфичности подобен ферменту, выделенному из мозга ягненка, для которого показана высокая избирательность степени деградации денатурированных молекул ДНК или однонитевых молекул ДНК [12].

Весьма характерным для механизма ферментативного гидролиза субстратов олигомерной структуры является механизм действия ДН-азы, выделенной из поджелудочной железы [29]. При описанных условиях нуклеаза из *N. crassa* атакует гексануклеотиды (но не менее), которые имеют на конце 5'-фосфатную группу. Оба фермента преимущественно расщепляют внутренние связи, образуя в качестве продук-

тов реакции моно- и динуклеотиды [29]. Показано, что $d(pT)_{5p}$ атакуется ферментом почти с той же скоростью, что и $d(pT)_6$; эти результаты аналогичны экспериментальным данным, полученным Кораной и Ласковским, которые показали, что 3'-фосфомоноэфирная группа молекулы субстрата моделирует фосфодиэфирную связь, что создает оптимальные условия для действия панкреатической ДНазы [31].

Интересно, что эндонуклеаза, выделенная из *N. crassa*, не была способна к гидролизу олигонуклеотидных молекул, не содержащих концевые фосфатные группы, так как использованная в качестве субстрата ДНК была предварительно обработана высокоактивной фосфатазой. Активность нуклеазы тормозится в случае отсутствия терминальных фосфатных групп только при наличии небольших молекул кислоторастворимых субстратов. Дефосфорилированные олигонуклеотиды не являются субстратами для панкреатической ДНазы [31].

Нуклеаза из *N. crassa* относительно высоко специфична по отношению к связям, включающим гуанозиновые и дезоксигуанозиновые остатки. На начальной стадии гидролиза денатурированной молекулы ДНК уровень дезоксигуанозин-5'-фосфата был приблизительно в три раза выше трех других дезоксирибонуклеотидов (АМФ, ТМФ, ЦМФ). Аналогичные данные получены относительно рибосомальной РНК [21]. Авторы допускают по меньшей мере два объяснения этих результатов: препарат нуклеазы из *N. crassa* содержит как эндонуклеазную, так и неспецифичную экзонуклеазную активности; эндонуклеазная активность должна была бы продуцировать олигонуклеотиды с концевым дезоксигуанилатом, тогда как последующая экзонуклеазная активность должна была атаковать эти олигонуклеотиды с образованием первого дезоксигуанозин-5'-фосфата и затем, как продолжение экзонуклеазного действия, продуцировать другие мононуклеотиды [21]. Прямым следствием подобного механизма действия фермента было бы образование в результате гидролиза раннего дезоксигуанилата относительно высокой концентрации. Главным затруднением в объяснении этой гипотезы является непропорционально низкий уровень образованного дезоксицитидин-5'-фосфата, особенно в очень ранней стадии катализа. Другой трудностью является отсутствие значительной экзонуклеазной активности в очищенных препаратах нуклеазы. Таким образом, можно допустить отсутствие гидролизующего действия фермента на дезоксицитидиновые олигонуклеотиды, тем более что в пределах чувствительности хроматографических методов исследования не было обнаружено даже следовых количеств продуктов нуклеазной реакции—мононуклеотидов. Конечными продуктами реакции оказались тетрамер, тример и димер. С другой стороны, при достаточно высокой концентрации фермента и большой длительности инкубации (24 часа) молекула ДНК может деградировать почти полностью до мононуклеотидов. Вторая модель объясняет преобладание дезоксигуанилата среди продуктов ранней стадии деградации, во-первых, допуская, что фермент характеризуется исключительно эндонуклеазным механизмом, способным вызывать

высокую степень деградации при отсутствии абсолютной специфичности относительно дезоксигуанозинового остатка внутри полинуклеотидной цепи. После того, как были идентифицированы все четыре мононуклеотида среди конечных продуктов реакции, было постулировано, что расщепление может идти по диэфирной связи, включающей любые остатки, и что относительная частота найденных мононуклеотидов легко отражает относительную чувствительность этих связей к эндонуклеазе.

Ограниченная скорость гидролиза олигонуклеотидов, чрезвычайно богатых дезоксицитидином и относительно низкий уровень образования дезоксицитидилата на ранних стадиях гидролиза позволяет допустить, что диэфирные связи, включающие эти остатки, относительно стабильны в отношении гидролитического действия фермента [18].

Мио и др. изучали механизм действия нуклеазы, выделенной из мицелия *N. crassa*, и показали эндонуклеазный характер действия фермента [22]. Линн и Леман, исследовавшие этот фермент из того же биологического объекта, показали незначительную активность фермента в отношении к нативной молекуле ДНК, что, по их мнению, объяснялось наличием в ферментных препаратах примесей других нуклеаз [21]. Более детальными исследованиями однозначно была показана способность нуклеазы из *N. crassa* катализировать гидролитическое расщепление нативной молекулы ДНК и молекулы ДНК, денатурированной нагреванием. После полного гидролиза денатурированной ДНК под действием нуклеазы обнаружили следующие олигонуклеотиды в качестве продуктов нуклеазной реакции, содержащие в основном 5'-концевые группы, %: мононуклеотидов—4,4, динуклеотидов—30,3, тринуклеотидов—36,4, тетрануклеотидов—21 и пентануклеотидов—3,3. Фракция 5'-мононуклеотидов имела следующий состав оснований: дТМФ > дЦМФ > дИМФ > дАМФ. 5'- и 3'-концевые участки олигонуклеотидов содержали тимидин. Аналогичные результаты были получены при анализе продуктов неполного гидролиза денатурированной ДНК. Авторы полагают, что нуклеаза из *N. crassa* преимущественно расщепляет последовательность —Т | рТ- или —Т | рХ. Активность нуклеазы в отношении синтетических полимеров распределялась следующим образом: поли-д(А—Т) >> поли-дА-поли-дТ > поли-д(Г—Ц) > поли-дГ-поли-дЦ [22].

Аналогичную субстратную специфичность к полимерам с 5'-концевым фосфатом проявляют нуклеазы, выделенные из *Thermus thermophilus* HB8 [23]. Ферменты гидролизуют дезоксиолигонуклеотиды с 5'-концевым монофосфатом, с накоплением в инкубационной среде 5'-мононуклеотидов в качестве продуктов реакции. Олигонуклеотиды, не имеющие 5'-концевой фосфатной группы, независимо от наличия или отсутствия 3'-фосфата при гидролитическом расщеплении, деградируют как до 5'-монофосфонуклеотидов, так и до динуклеозидмонофосфатов, которые отщепляются с 5'-конца. Показано также, что динуклеотиды с 5'-концевой фосфатной группой расщепляются до 5'-мононуклеотидов, а динуклеозидмонофосфаты устойчивы к действию фермента. Скорость гидролиза уменьшается в ряду денатурированная нагреванием

ДНК > нативная ДНК > РНК [22]. Фосфогидролазы с такой специфичностью в отношении к нуклеополимерам с 5'-фосфатным концом могут быть широко использованы при прямом определении последовательности у 5'-конца, а также предпоследнего положения в олигонуклеотидах при использовании газожидкостной хроматографии.

Сходную субстратную специфичность относительно олигонуклеотидов с 5'-концевым фосфатом проявляют также sss-нуклеазы, выделенные из плесневых грибов *Aspergillus oryzae* [1, 2].

Фермент, выделенный нами из амилоризина, гидролизует дезокси-олигонуклеотиды с 5'-концевым фосфатом с образованием 5'-моонуклеотидов. Показано, что тимидиннуклеотид является субстратом для данной нуклеазы и гидролизуется до 5'-тимидиннуклеотидов [3].

Нами также показана корреляция связывания фермента с субстратами с образованием фермент-субстратного комплекса в зависимости от состава и строения субстратов. Показано, что аденин и аденозин проявляют слабую тенденцию к ассоциации с ферментом, в то время как 2'-АМФ, 5'-АДФ, 5'-АТФ образуют более устойчивый фермент-субстратный комплекс с нуклеазой. Эффективность ассоциации этих компонентов усиливается в ряду аденин < аденозин < 5'-АМФ < 3'-АМФ < 2'-АМФ < 5'-АДФ < 5'-АТФ (табл. 1). Исследование защиты нуклеазы теми же нуклеотидами и составляющими их компонентами от инактивирующего действия высокой температуры подтвердило полученные нами данные об эффективности ассоциации [4].

В 1956 году Канингхем и соотр. показали, что нуклеаза, выделенная из микрококков, оказалась более активной в отношении участков ДНК, богатых остатками дезоксиадениловой и тимидиловой кислот. Скорость реакции понижается в ряду (A—T)_n > денатурированная ДНК > нативная ДНК. Конечными продуктами являются 3'-монофосфаты. Фермент характеризуется как эндо-, так и экзонуклеазной активностями [8]. В противоположность нуклеазе из *N. crassa* для экзонуклеазы I из *E. coli* для проявления ферментативной активности крайне существенно наличие свободных 3'-гидроксильных групп дезоксирибоолигонуклеотидов. Авторами показана высокая специфичность этой нуклеазы к однонитевым молекулам ДНК. Фермент атакует дезоксирибонуклеотид с 3'-гидроксильного конца с образованием 5'-моонуклеотидов, однако последний динуклеотид не является субстратом для этого фермента. Экзонуклеаза I из *E. coli* атакует денатурированную молекулу ДНК в 40000 раз быстрее, чем нативную ДНК. Образование в качестве конечных продуктов гидролиза в большом количестве 5'-моонуклеотидов, в отличие от олигонуклеотидов, предполагает, что ограниченное действие очищенной экзонуклеазы на нативную ДНК не является результатом загрязнения эндонуклеазой. Введение ДНК-фосфатазы в инкубационную среду (от 78 до 90%) значительно увеличивало степень гидролиза ДНК, денатурированной нагреванием. Олигонуклеотиды с 3'-монофосфоэфирным концом, динуклеозиддифосфаты и динуклеозид-монофосфаты не являются субстратами для экзонуклеазы I [25]. С дру-

Отрицательные отклонения УФ-спектров от аддитивности при внесении в среду нуклеазы из амилоризина и производных ее субстратов

Производные субстрата	A_{265}	A_{265} нуклеаза + нуклеотид	A_{265} нуклеаза/ нуклеотид	Отклонения от аддитивности
Аденин	0,080	0,092	0,102	-0,010
Аденозин	0,082	0,094	0,112	-0,018
5' — АМФ	0,092	0,101	0,129	-0,025
3' — АМФ	0,091	0,103	0,134	-0,031
2' — АМФ	0,092	0,104	0,143	-0,039
5' — АДФ	0,093	0,105	0,153	-0,018
5' — АТФ	0,093	0,105	0,161	-0,056

 A_{265} нуклеазы — 0,012

Положительные отклонения УФ-спектров от аддитивности при внесении в среду нуклеазы из амилоризина и производных ее субстратов

Производные субстрата	A_{285}	A_{285} нуклеаза + нуклеотид	A_{285} нуклеаза/ нуклеотид	Отклонения от аддитивности
Аденин	0,063	0,089	0,086	+0,003
Аденозин	0,064	0,090	0,083	+0,007
5' — АМФ	0,078	0,104	0,195	+0,009
3' — АМФ	0,076	0,102	0,092	+0,010
2' — АМФ	0,077	0,103	0,091	+0,012
5' — АДФ	0,080	0,106	0,091	+0,015
5' — АТФ	0,081	0,107	0,089	+0,018

 A_{285} нуклеазы — 0,026

Условия опыта: 0,03 М ацетатный буфер, рН 4,6. Конечная концентрация нуклеазы $1,2 \times 10^{-5}$ М. Конечная концентрация нуклеотидов $1,5 \times 10^{-5}$ М.

гой стороны, олигонуклеотиды, содержащие более двух нуклеотидных остатков, атакуются ферментом почти с той же скоростью, что и денатурированная молекула ДНК. Однако концентрация субстрата, при которой тестируется половина максимальной скорости, несоизмеримо выше (10^6 раз) для олигонуклеотидов, чем для денатурированной ДНК. Подобные результаты получены и для экзонуклеазы II из *E. coli* [20]. Дезокситимидинтрипуклеотид (д-рТрТрТ) с 3'-концевым монофосфатом полностью инертен к действию экзонуклеазы I. Гидролиз тринуклеотида с 3'-концевой гидроксильной группой тормозит нуклеазную активность примерно в той же степени, что и 3'-концевой фосфотритимидилат. Эти результаты противоречат данным, согласно которым присутствие 3'-концевых монофосфоэфирных групп в полидезоксирибонуклеотидах в большей степени тормозит активность экзонуклеазы I с 3'-гидроксильного конца полинуклеотида. По-видимому, значительная разница в K_m между длиной цепи полидезоксирибонуклеотида и тринуклеотида может иметь важное значение в характеристике инги-

ингибиторных свойств, в связывании экзонуклеазы I, даже в очень высоких концентрациях тринуклеотида, с 3'-фосфатной группой.

Показано, что олигонуклеотиды, в которых ацетируется 3'-концевая гидроксильная группа, не являются субстратами экзонуклеазы I [9]. Такие же данные были получены Леманом и др. при изучении ферментативного гидролиза гексамидилата и его 3'-O ацетильного производного. Из вышесказанного следует: 1—цепи, в которых 3'-концевая гидроксильная группа блокируется фосфорильным или ацетильным остатками, становятся устойчивыми к действию экзонуклеазы I; 2—полинуклеотиды с 3'-концевой фосфорильной группой являются ингибиторами ферментативной активности относительно олигонуклеотидов с 3'-концевой гидроксильной группой. Малые олигонуклеотиды (3 остатка) с 3'-фосфатом не являются ингибиторами фермента; 3-олигонуклеотиды с 3 и 6 остатками атакуются лучше, чем ss-ДНК, но K_m для них приблизительно в 10^6 раз выше, чем для денатурированной молекулы ДНК.

Как было уже описано, экзонуклеаза I гидролизует двунитевые биосинтетические и $d(A-T)_n$ полимеры, однако экзонуклеазная характеристика этого фермента из *E. coli* предусматривает ограничения, чего нельзя сказать о нуклеазе, выделенной из фасоли. Нуклеаза I из фасоли не узнает $d(A-T)_n$ участки, как типичную двунитевую структуру ДНК фага λ , но атакует именно в этой области, поскольку она известна высоким содержанием AT-богатых участков в середине молекулы [16]. Например, при температуре инкубационной среды 37° в присутствии ионов магния это значение равно 30000 для T4 ДНК, для $d(A-T)_n$ — 65, и менее чем 2—для биосинтетического субстрата. Авторы не обнаружили гидролиза поли-дГ, поли-дЦ даже при 100-кратном избытке фермента. Прибавление ионов магния в концентрации 1 мМ в 13 раз понижает степень гидролиза биосинтетического субстрата, но ускоряет в 2—3 раза гидролитическое расщепление денатурированной ДНК. Температурный коэффициент реакции в области $27-37^\circ$ в 5 раз выше для биосинтетического субстрата, чем для природной молекулы $d(A-T)_n$.

Наиболее важным свойством нуклеазы I из фасоли является: 1—ее способность в низких концентрациях удалять одонитевую молекулу ДНК из среды с обеими формами ДНК (нативной и денатурированной); 2—способность в высоких концентрациях специфически расщеплять AT-богатые участки двунитевой ДНК. Авторы дают название «область специфическая нуклеаза», которое предполагает, по-видимому, наличие нового класса ферментов, подобных нуклеазе I из фасоли. Нуклеаза I классифицируется как эндонуклеаза. Нативная ДНК, выделенная из тимуса телят, расщепляется приблизительно на 2,5%. Хотя те же препараты ДНК полностью гидролизуются после денатурации субстрата нагреванием. Гидролиз 2,5%-ной нативной ДНК авторы объясняют как доказательство того, что их препарат нативной ДНК содержит примесь денатурированной формы [16].

Экспериментальные данные, полученные при изучении нуклеазы из фасоли, показали, что фермент гидролизует как нативную, так и денатурированную формы д (А—Т) полимеров. Опыты с линейной двуцепочечной молекулой ДНК фага λ , в которых использовали большие количества нуклеазы I, выделенной из фасоли, показали возможность расщепления молекулы субстрата на один и более фрагментов. Анализ двух больших фрагментов показал, что место разрыва насыщено АТ-парами [16].

При исследовании активности фермента на диэфирную связь, нуклеаза из фасоли не проявляла специфичности по отношению к сахарному остатку субстрата, а при наличии 3'-фосфомоноэфира проявляла определенную специфичность к углеводному остатку субстрата, ибо нуклеазному воздействию подвержены только 3'-рибонуклеотиды. Определенный интерес представляет обнаружение у нуклеазы I из фасоли нуклеотидазной активности. Исследования по определению 3'- и 5'-нуклеотидазных активностей проводились при значениях рН равной 5,0 денатурированной ДНК в качестве субстрата (ДНК-азная активность). При этом же значении рН исследовалась 5'-нуклеотидазная активность. 3'-нуклеотидазная активность определялась при рН 5,0 и 8,0. Было показано наличие всех трех ферментативных активностей примерно равной степени [15].

Микульский и Ласковский также показали неспецифическое действие нуклеазы I из фасоли на углеводную половину субстрата [24]. Было показано, что фермент гидролизует рибозо-, дезоксирибозо-, арабинозопроизводные, а также проявляет ω -монофосфатазную активность. Рибозные производные гидролизировались ферментом в 50 раз лучше, чем дезоксирибозные производные. Как ω -монофосфатаза, фермент проявлял предпочтение к различным основаниям (А > Т(У) > Ц > Г). По специфичности к рибозной половине субстрата нуклеаза I из фасоли очень напоминает эндонуклеазу, выделенную из яда змеи, но отличается от нуклеазы, выделенной из микрококков, которая гидролизует рибозо- и дезоксирибозопроизводные, но не расщепляет арабинозопроизводные. Нуклеаза I в низких концентрациях (около 0,015 единиц активности) способна в различной степени расщеплять АрАр, дАрАр, УрУр, ДТрЦр. Как нуклеаза, она отдает предпочтение рибогетерополимерам, чем ДНК. Был также установлен ряд предпочтения А > Т(У) > Ц > Г; поли-У гидролизуются быстрее, чем поли-А. Эта аномалия, вероятно, вызывается специфичностью действия нуклеазы I из фасоли на ss-структуру.

При высокой концентрации нуклеазы I из фасоли нативная ДНК деградирует не только на ограниченное число гидролизованных участков, но расщепляется также по экзонуклеазному типу реакции. Эта направленная на концевые участки субстрата активность является результатом относительной термодинамической нестабильности пар оснований на концах дуплексов. Эти концы постоянно деградируют под действием sss-нуклеазы, с образованием моно- и динуклеотидов в качестве продуктов реакции [17]. Проведенные тщательные исследования

по изучению механизма действия нуклеазы I на двуниговую молекулу ДНК показали два возможных механизма его расщепления: 1—накопление разрывов на потенциально расщепляемых участках двуниговых молекул субстрата до образования второго разрыва на противоположной нити молекулы на участке либо совпадающем, либо близлежащем; 2—быстрое и предпочтительное расщепление противоположной нити субстрата, существующей до разрыва. Таким образом, фермент катализирует расщепление двуниговых субстратов на ограниченное число участков ДНК фага T7, предпочитая расщепление противоположной нити, существующей до разрыва. Авторами показано отсутствие высокой специфичности нуклеазы I из фасоли по отношению к фосфодиэфирным связям T₅-st (0) разрывов. Устранение только нескольких нуклеотидов на разрезанных участках фага T5 создает участки, благоприятные для быстрого эндонуклеазного расщепления, катализируемого нуклеазой I из фасоли.

Описано несколько моделей участков в субстратах дуплексной молекулы ДНК, которые расщепляются ss-нуклеазой: 1—термостабильные или «структурно-дышащие» области, т. е. области, богатые АТ-парами [14] или области, которые содержат модифицированные нуклеотиды [6]; 2—непарные основания как в крестообразной части молекулы ДНК [10], так и в петле [7] и в ошибочно-спаренных основаниях; 3—дуплекс по поп-ДНК В-типа спирали, т. е. области с измененным спиралевидным углом или измененным углом пар оснований [6]. Известно предпочтительное отношение фермента к A₁pN и T₁pN соединениям; термолабильность расщепляемых участков, вероятно, обуславливается скорее обогащенностью АТ последовательности, чем присутствием модифицированных нуклеотидов. Крокер и сотр. исследовали механизм гидролиза линейной дуплексной молекулы ДНК, содержащей разрывы или пропуски [17]. Эксперименты, выполненные с молекулой ДНК фага T5 в качестве субстрата, показали, что разорванные участки сами по себе недостаточны для узнавания дуплексной молекулы ДНК нуклеазой I из фасоли. Более важны разрывы в ДНК фага T5, которые содержат последовательность 5'-р-Г-Ц-Г-Ц [26], где определенной 3'-концевой последовательностью является радикал —R·R·A·OH, в котором R=Г на двух больших фрагментах и R=A на одном фрагменте [27]. Преимущественного расщепления участков, где R=A должно было привести к уменьшению мол. массы фага T5 на 8%, обнаружить не удалось. Участки, где R=Г, не удобны для ферментативного расщепления, что, по-видимому, обусловлено их природным богатством ГЦ-парами, которые склонны к минимизации структурного «дыхания». В отличие от нуклеазы из фасоли, нуклеаза SI преимущественно гидролизует ДНК фага T5 на большие фрагменты и превращает в линейную форму разорванную циркулярную молекулу ДНК [5]. Однако не показано действительно ли SI нуклеаза узнает разорванные участки сама, наоборот, узнает пропуски, которые являются результатом внутреннего или загрязненного экзонуклеазной активностью действия на

никкированный участок. Нуклеаза I из фасоли расщепляет линейные двунитевые молекулы ДНК фага T7, gh-1 и РМ2 на ограниченное число отрезков, размеры которых лежат в пределах 300—2100 нуклеотидных пар. Число отрезков и их величина для фага T7 совпадает с числом и величиной структурных генов. Исследование зависимости скорости гидролиза от температуры и ионной силы, а также использование ДНК фага T5 с естественными предшествующими надрезами одной из цепей позволили предложить модель, согласно которой специфичные к однонитевой ДНК эндонуклеазы, и в частности нуклеаза I, расщепляют нативную двунитевую ДНК в особых термолабильных участках, богатых АТ-парами [13].

В противоположность нуклеазе из фасоли и пшеницы [11] описана нуклеаза из другого растительного объекта—внеклеточная нуклеаза из культуры клеток табака, которая катализирует гидролиз ds-ДНК полностью, до образования кислоторастворимых фрагментов [28]. Такую же специфичность в отношении к нативной ДНК проявляют ферментные препараты из листьев овса [32] и клубней картофеля [30], которые катализируют быстрый гидролиз нативной молекулы ДНК, хотя скорость гидролиза денатурированной ДНК ферментными препаратами, выделенными из листьев овса и клубней картофеля, как и у нуклеазы из табака, значительно превышает скорость гидролиза нативной ДНК (90% от общей активности). В то время как нуклеазы из фасоли и пшеницы атакуют нативную ДНК только в областях, очень богатых АТ-парами, и количество кислоторастворимых продуктов, образованных в результате гидролиза, очень малос, нуклеаза из культуры клеток табака способна к полному гидролизу нативной ДНК, с образованием кислоторастворимых продуктов из всего пула ДНК.

Денатурированная нагреванием молекула ДНК под воздействием нуклеазы из культуры клеток табака деградирует на начальные кислоторастворимые фрагменты, либо на пентануклеотиды, либо на молекулы большей длины. В ходе дальнейшей реакции эти фрагменты гидролизуются до малых олигонуклеотидов и моонуклеотидов, что позволяет допустить эндонуклеазный характер действия фермента. Механизм действия нуклеазы окончательно не выяснен и требует дальнейшего детального исследования.

Нуклеаза из культуры клеток табака неспецифична в отношении углеводного остатка. Помимо способности к гидролизу денатурированной и нативной ДНК, фермент проявляет и нуклеотидазную активность, расщепляя с заметной скоростью и 3'-нуклеотиды. Для различных моонуклеотидов скорость ферментативного гидролиза различна. Действие внеклеточной нуклеазы на нуклеотиды и нуклеиновые кислоты выглядит следующим образом (табл. 2) [28].

Активность фермента, способного катализировать гидролиз 3'-АМФ, локализуется при электрофорезе препарата в двух областях полиакриламидного геля. Идентичная картина распределения активности при зональном электрофорезе выявлена и для ss-ДНК, РНК и ds-ДНК.

Т а б л и ц а 2

Субстратная специфичность нуклеазы из табака

Субстраты	Удельная активность
3' — АМФ	10,3
3' — УМФ	3,2
РНК рибосомальная (E. coli)	7,6
ДНК денатурированная фага Т4	11,1
ДНК нативная фага Т4	2,3

Таким образом, внеклеточная нуклеаза из культуры клеток табака очень напоминает ферменты, выделенные из различных тканей высших растений, следующими свойствами: активна при низких значениях рН среды; не требует для каталитического действия присутствия двухвалентных катионов; проявляет достаточно высокую активность в отношении 3'-нуклеотидов, РНК, ss-ДНК в качестве субстратов, полинуклеотиды гидролизуются до 5'-моонуклеотидов и олигонуклеотидов; ЭДТА является реагентом, тормозящим ферментативную активность [28].

Институт экспериментальной биологии
АН Армянской ССР

Поступило 3.VI 1981 г.

**ՄԵԿ ԸՂԹԱՅԱՆՈՑ ՊՈԼԻՆՈՒԿԼԵՈՏԻԴՆԵՐ ՀԻԴՐՈԼԻԶԱՑՆՈՂ
ՆՈՒԿԼԵՈՏԻԴՆԵՐԻ ՍՈՒՐՍՏՐԱՏԱՅԻՆ ՍՊԵՑԻՖԻԿԱՆ**

ժ. Ի. ՀԱԿՈՐՅԱՆ, Ռ. Ե. ԱԲՐԱՄՈՎ

Հոդվածում ներկայացված են վերջին տարիների գրականության տվյալները, որտեղ հետազոտվում են մեկ շղթայանոց նուկլեինային թթուներ հիդրոլիզացնող սպեցիֆիկ նուկլեազները, որոնք ընդհանրացվում են իրենց տիրատրատային սպեցիֆիկայով:

**ON SUBSTRATE SPECIFIC FEATURES OF NUCLEASES
HYDROLISING SINGLE-STRAND POLYNUCLEOTIDES**

J. I. HAKOPIAN, R. E. ABRAMOV

Recent data in the study of nucleases, which specifically hydrolyse single-strand polynucleotide chains, are given in this paper. Comparative characteristics according to substrate specific features of the mentioned enzymes is discussed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абрамов Р. Е., Безирджян Х. О., Акопян Ж. И. Биолог. ж. Армении, 30, 58, 1977.
2. Абрамов Р. Е., Акопян Ж. И. Мат. Всесоюз. симпоз. Макромолекула клетки. М., 1979.

3. Абрамов Р. Е., Безирджян Х. О., Акопян Ж. И. Биохимия, 44, 990, 1979.
4. Акопян Ж. И., Абрамов Р. Е. Докл. АН Армянской ССР, 71, 2, 1980.
5. Beard P., Morrow I. E. and Berg P. J. Virology, 12, 1303, 1973.
6. Chan H. W. and Wells R. D. Nature, 252, 205, 1974.
7. Crick F. N. C. and Klug A. Nature, 255, 530, 1975.
8. Cunningham L., Cattlin B. W., Privat de Garlthe M. J. Am. Chem. Soc., 78, 464, 1956.
9. Falasghl A., Adler J. and Khorana H. G. J. Biol. Chem., 238, 3080, 1963.
10. Gierer A. Nature, 212, 1480, 1966.
11. Hanson D. M., Fairly J. C. J. Biol. Chem. 244, 2440, 1969.
12. Healy J. W., Stollar D., Simon M. J., Levine L. Arch. Biochem. Biophys., 103, 461, 1963.
13. Heflich R. H., Manohay-Leo E., Maher V. and McCormick J. J. Photochem. and Photobiol., 30, 247, 1979.
14. Hlppel P. H., Felsenfeld G. Biochemistry, 3, 27, 1964.
15. Johnson P. H. and Laskowski M. S. J. Biol. Chem., 243, 3431, 1968.
16. Johnson P. H. J. Biol. Chem., 245, 891, 1970.
17. Kroecker W. D., Kowalski D. and Laskowski M. S. Biochem., 15, 4463, 1976.
18. Lehman J. R. J. Biol. Chem., 235, 1479, 1960.
19. Lehman J. R. Progr. Nucl. Acid Res. Mol. Biol., 2, 83, 1963.
20. Lehman J. R. and Richardson C. C. J. Biol. Chem., 239, 233, 1964.
21. Linn S., Lehman J. R. J. Biol. Chem., 240, 1294, 1965.
22. Miho T., Tsuneko U. Agr. and Biol. Chem., 41, 1395, 1977.
23. Miho T., Tsuneko U. J. Biochem., 83, 1521, 1978.
24. Mikulski A. J. and Laskowski M. S. J. Biol. Chem., 243, 5026, 1970.
25. Morrison A. and Cazzarelli H. R. Cell., 17, 175, 1979.
26. Nichols B. P. and Donelson I. E. J. Virology, 22, 520, 1977.
27. Nichols B. P. and Donelson I. E. J. Virology, 83, 396, 1977.
28. Oleson A. E., Yanski A. M., Clark E. T. Biochem. et Biophys. Acta, 366, 89, 1974.
29. Ralph R. K., Smith R. A., Khorana H. G. Biochemistry, 1, 131, 1962.
30. Suno M., Nomura A. and Mizuno Y. J. Biochem., Tokyo, 73, 1291, 1973.
31. Vanesco S., Laskowski M. S. J. Biol. Chem., 236, 3312, 1961.
32. Wyen N. V., Erdel S. and Farkas G. L. Biochem. et Biophys. Acta, 232, 472, 1971.

УДК 577.15:582.282.23.547.466

СРАВНИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ АРГИНИН-ГЛИЦИН-АМИДИНОТРАНСФЕРАЗЫ В ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ И В ВИННЫХ ДРОЖЖАХ

Э. А. МАНТАШЯН, Г. Г. ЖАМГАРЯН, М. А. ДАВТЯН

Определена трансамидиназная активность в сравнительном аспекте: высокой активностью обладают почки, печень, а у лягушек и селезенка. Обнаружена трансамидиназная активность в винных дрожжах. В последних показано протекание реакции трансамидинирования между аргинином и глицином. При обработке дрожжевых гомогенатов с целью максимального извлечения фермента показана целесообразность экстрагирования гомогената в холодных условиях и его последующего диализа.

Ключевые слова: аргинина катаболизм, аргинин: глицин-амидинотрансфераза, винные дрожжи.

Фермент трансамидиназа (L-аргинин:глицин-амидинотрансфераза, КФ 2.1.4.1.) осуществляет перенос амидиновой группы аргинина на определенные амидиноакцепторы, каковыми, чаще всего, выступают глицин, орнитин, каналин. Наиболее изученной является реакция синтеза гликоциамина из L-аргинина и глицина, интенсивно протекающая в почках всех исследованных видов млекопитающих, поджелудочной железе и в почках и печени птиц [11].

Для разнообразных групп микроорганизмов катаболизм аргинина представлен рядом ферментативных процессов [5, 9, 10]. Если в настоящее время убедительно продемонстрировано довольно широкое распространение аргиназного и деиминазного путей, то трансамидиназный путь использования гуанидиновой части молекулы аргинина мало описан и, по имеющимся данным, ограниченно распространен [1, 5, 6, 19].

Показано, в частности, что для *Klebsiella aerogenes* превращение аргинина в орнитин возможно только трансамидинажным путем, ибо ни аргиназа, ни аргининдеиминаза в *K. aerogenes* не обнаружены [7, 8]. В тканях гриба *Rapuz tigrinus* при высоких концентрациях ¹⁴C-аргинина утилизация последнего осуществлялась только путем трансамидинирования, аргиназный путь полностью отсутствовал, а декарбоксилазный и трансаминазный имел место лишь при низких концентрациях ¹⁴C-аргинина [13].

Streptomyces griseus, участвуя в биосинтезе молекулы стрептомицина (его стрептидиновой части), обладает трансамидиназной активностью [16], повышающейся по мере накопления антибиотика в культуральной жидкости [2—4]. Работами Уокера показано, что хотя транс-

амидиназа *S. griseus* не реагирует с глицином как почечный фермент, тем не менее механизм действия обоих ферментов одинаков, а реакция протекает между аргинином—орнитинном и канаванином—орнитинном [16].

Настоящее исследование было предпринято с целью сравнительного изучения трансамидиназной активности в почках, печени, легких, селезенке животных, моче больных пиелонефритом—объектах, на которых метод полностью отработан и является достоверным, и в дрожжевых гомогенатах *Saccharomyces vini*, где ранее этот фермент не изучался.

Материал и методика. Животные ткани. Немедленно после забоя животных (крыс, лягушек, кур) извлекались легкие, сердце, печень, селезенка, почки, переносились на холод и подвергались гомогенизации в стеклянном гомогенизаторе в течение 1,5—2 мин. Готовились 20% (для сердца, легких, печени, селезенки) и 4%-ные (для почек) гомогенаты на 0,067 М фосфатном буфере, рН 7,4. Двухсуточная культура дрожжей переносилась с агаризованной среды в синтетическую минеральную среду Ридер, обогащенную 0,5%-ным дрожжевым экстрактом. Культивирование велось в аэробных условиях на круговой качалке (150—200 об/мин) в колбах Эрленмейера при 30°. Экспоненциально выращенные клетки отделяли от культуральной жидкости центрифугированием, дважды промывали холодной водой и один раз 0,067 М фосфатным буфером (рН 7,4), далее ресуспендировали в определенном объеме того же буфера. Для получения гомогенатов после последней промывки дрожжи замораживали при -20° , пропускали через пресс и доводили полученную массу буфером до объема, соответствующего 20%-ной концентрации гомогената.

Определение ферментативной активности велось по Ван-Пилсуму [14]. Реакционная смесь содержала: 0,5 мл ферментной пробы, 0,5 мл 0,067 М фосфатного буфера, рН 7,4; по 0,5 мл 0,04 М растворов аргинина и глицина. В контрольные пробы субстраты добавляли непосредственно перед прекращением реакции. Пробы инкубировали в течение определенного промежутка времени при постоянном перемешивании в открытых сосудиках при 37°. Остановка реакции—10-минутное кипячение 0,5 мл инкубационной смеси. После остывания к пробам и контролям для удаления аргинина добавляли 0,5 мл коммерческого препарата аргиназы, содержащего 1,25 мг (или 36,25 ЕД) чистого фермента. Смесь инкубировали 90 мин при 37°. Белок осаждали добавлением равных объемов (по 1 мл) 0,3 N Ba(OH)₂ во фталатном буфере и 5%-ного ZnSO₄ и центрифугировали 15 мин при 6000 об/мин. Для колориметрического определения гуанидинуксусной кислоты (ГУКА) использовали 1 мл центрифугата. Определение проводилось по методу Сакагучи в модификации Томлинсона [12]. К 1 мл испытуемой пробы прибавляли по 1 мл 5%-ного раствора мочевины и при непрерывном встряхивании добавляли 2 мл гипобромита калия. Смесь оставляли на 20 мин при комнатной температуре и измеряли оптическую плотность зеленым светофильтром (ФЭК-56ПМ). Концентрацию ГУКА находили по калибровочной кривой, построенной с использованием стандартного раствора аргинина (0,01—1,0 мкмоль/мл раствора). Трансамидиназная активность выражалась в мкмоль синтезированной ГУКА на 1 г свежей ткани; на 1 мл мочи в условных единицах (1 у. ед. = 10 мкмоль ГУКА на 1 ч инкубации); на 100 мг абсолютно сухих дрожжей.

Результаты и обсуждение. Результаты определения трансамидиназной активности в органах животных и моче больных представлены в табл. 1 и 2.

Как видно из полученных данных (табл. 1), из изученных нами органов фермент присутствует в больших количествах лишь в почках (у взрослых крыс активность в почках самцов выше, чем у самок). Со-

Таблица 1

Трансамидиназная активность в различных органах животных,
мкмоль ГУКА на 1 г свежей ткани

Источник гомогената	Крысы		Лягушки	Куры
	самец	самка		
Печень	1,22	0,00	4,74	2,52
Селезенка	1,62	1,46	9,59	1,68
Сердце	5,71	0,00	1,68	1,20
Легкие	6,97	5,01	5,40	1,56
Почки	31,65	26,05	31,44	12,58

Согласно литературным данным, высокая по сравнению с другими органами трансамидиназная активность обнаруживается в почках [18], поджелудочной железе животных [15] и печени птиц [17].

Таблица 2

Трансамидиназная активность в моче больных
(мкмоль ГУКА на 1 мл мочи, у. ед.)

Больной	Диагноз	Состояние больного	Трансамидиназа
М. Г.	Мочекаменная болезнь, хронический пиелонефрит. Терминальная стадия	тяжелое	8,2
П. А.	Хронический пиелонефрит с преимущественным поражением правой почки	удовлетворительное	28,1
Б. М.	Хронический пиелонефрит с преимущественным поражением правой почки	удовлетворительное	23,6
С. А.	Хронический пиелонефрит. Достаточная функция почек	удовлетворительное	6,8
К. А.	Хронический пиелонефрит. Сахарный диабет, стадия субкомпенсации	удовлетворительное	7,2

По нашим данным (табл. 2), высокий уровень трансамидиназы в моче отмечен у всех больных, страдающих нарушением функций почек. Если учесть, что в норме трансамидиназа в моче не обнаруживается [1], то такое тестирование позволяет по-новому подходить к биохимической оценке состояния больного и дальнейшим методам лечения.

На рис. 1 представлены результаты определения трансамидиназной активности в винных дрожжах.

Каждая партия дрожжей, соответствующая определенному сроку инкубирования, после количественного определения биомассы замораживалась, пропускалась через пресс, ресуспендировалась в определенном объеме того же буфера, экстрагировалась в холодных условиях в буфере в присутствии ЭДТА (5 мг/мл) в течение 2 ч, центрифугировалась при 6000 об/мин 15 мин; надосадок анализировался в течение ночи против буфера, после чего использовался для определения ферментативной активности.

Как видно из графика, максимум активности приходится на 14-й час выращивания дрожжей, после чего отмечается ее неуклонное снижение. В дальнейших экспериментах применялась 14-часовая культура

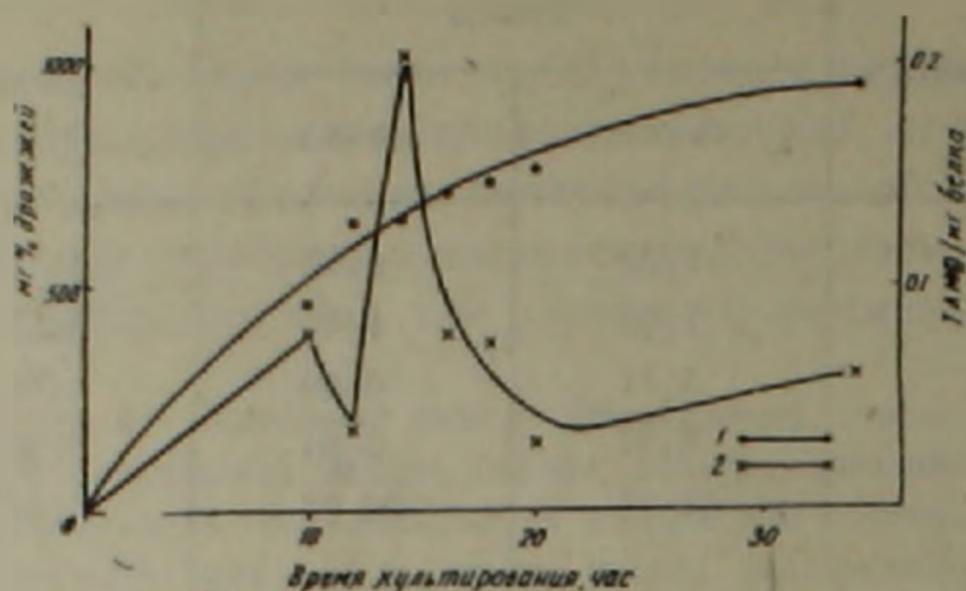


Рис. 1. 1. Биомасса дрожжей; 2. трансамидиназа/мг белка.

На рис. 2 показано влияние времени инкубации реакционной смеси на образование ГУКА. Согласно литературным данным, для выявления трансамидиназной активности используются длительные сроки инкубации—3—7 ч и более, хотя фермент в достаточной мере насыщается субстратом через час инкубации с начальным количеством аргинина и глицина по 20 мкмоль на пробу [14]. Как видно из графика, по мере увеличения времени инкубации реакционной смеси активность трансамидиназы не снижается. В дальнейших экспериментах мы остановились на 3-часовой инкубации реакционной смеси.

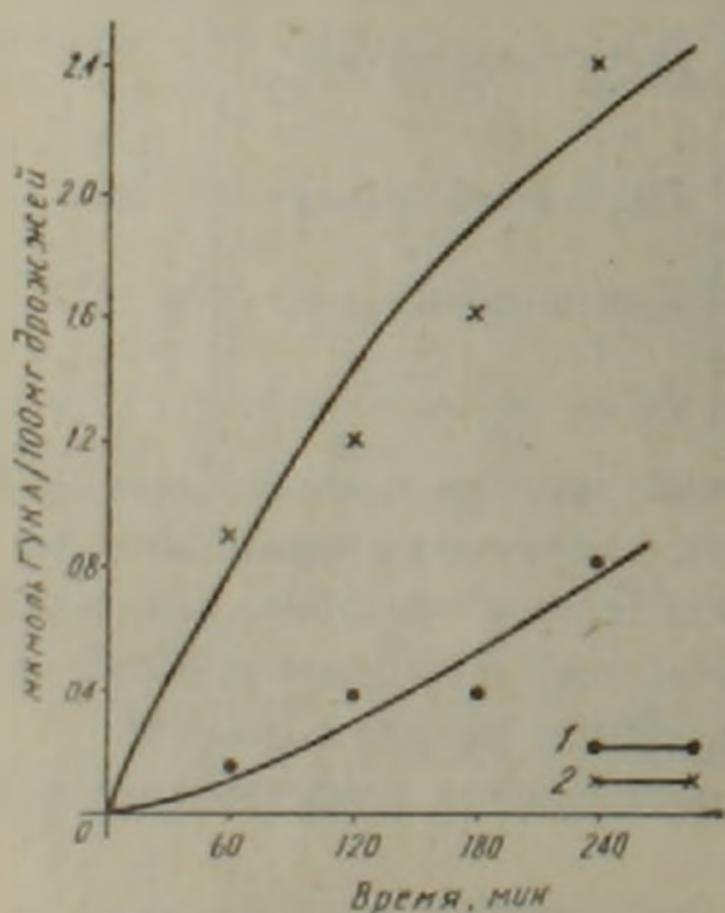


Рис. 2. 1. Целые клетки; 2. гомогенаты.

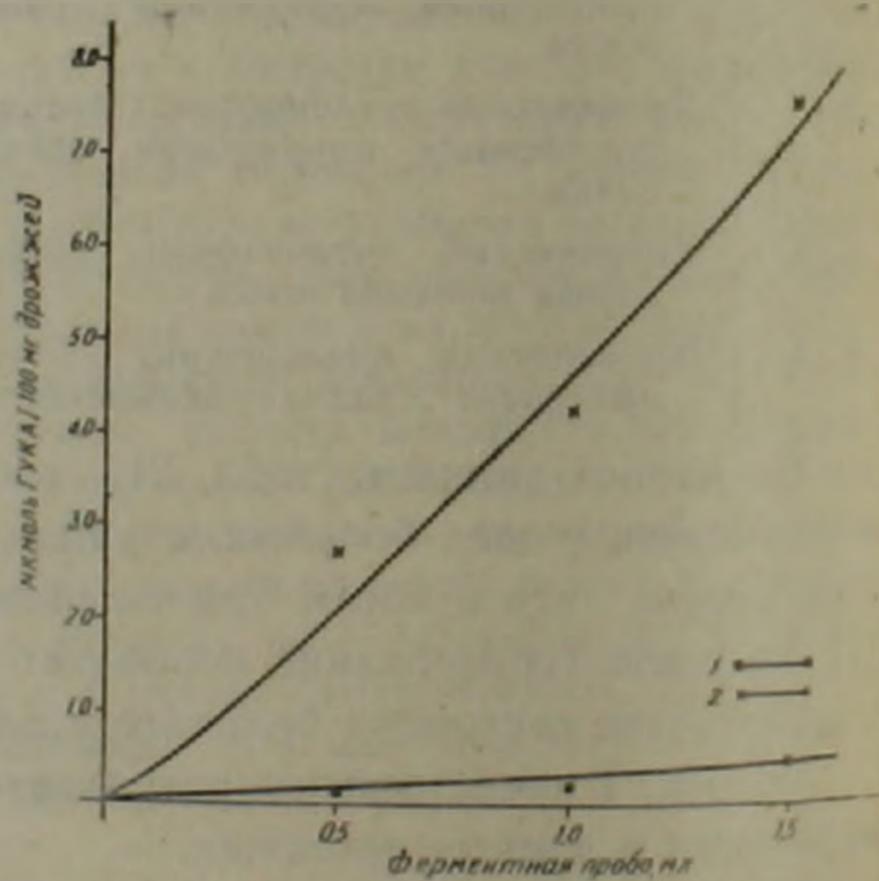


Рис. 3. 1. Целые клетки; 2. гомогенаты.

На рис. 3 показано влияние концентрации ферментной пробы на образование ГУКА. Как видим, 0,5, 1,0 и 1,5 мл 20%-ного гомогената образуют пропорционально возрастающее количество ГУКА, составля-

ишее при максимальной концентрации фермента (1.5 мл на пробу) 7.6 мкмоль/100 мг дрожжей.

С целью возможно большего извлечения трансамидиназы была предпринята экстракция последней в холодных условиях и диализ (табл. 3).

Таблица 3
Частичная обработка дрожжевой трансамидиназы
(мкмоль ГУКА/100 мг абс. сух. дрожжей)

Условия обработки	Трансамидиназа
До диализа:	
центрифугат	0.24
осадок	1.00
После экстракции и диализа:	
центрифугат	1.14
осадок	0.9

Как видим, если до диализа 80% активности оставалось неизвлеченным из осадка, то после экстракции и диализа больше половины активности переводится в надосадочную жидкость, что говорит о целесообразности экстрагирования фермента в холодных условиях с последующим диализом.

Экспериментальные данные о дрожжевой трансамидиназе сообщаются нами впервые. Несомненным является факт протекания реакции трансамидинирования между аргинином и глицином, что может служить отправным моментом при дальнейшем изучении этого фермента в живых дрожжах.

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

Поступило 29.V 1981 г

**ԿԵՆՏՐՈՆԵՐԻ ՀՅՈՒՍՎԱՄՔՆԵՐԻ ԵՎ ԳԻՆՈՒ ԽՄՈՐԱՍՆԿԵՐԻ
ԱՐԳԻՆԻՆ-ԳԼԻՑԻՆ ԱՄԻՆՏՐԱՆՍԱՅԵՐԱԶԱՅԻ
ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ**

Է. Ա. ՄԱՆՔԱՆՅԱՆ, Հ. Կ. ԺԱՄՋԱՐՅԱՆ, Մ. Ա. ԳԻՆԼԹՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է տրանսամինազային ակտիվությունը համեմատաբար անսպեկտիվ կենդանիների հետադոտված օրգաններից բարձր ակտիվությամբ օժտված երկկամենիքը և լյարդը, իսկ դսրտերը մոտ նաև փայծաղը: Գինու յամորասնկերի մոտ հայտնաբերվել է տրանսամինազային ակտիվություն: Վերջիններիս մոտ ցույց է տրվել տրանսամինազային ռեակտիվ արգինինի և գլիցինի միջև: Ֆերմենտի մարսիմալ բանակություն մղարժու համար ցույց է տրվել համոդենատների սառը սլայմաններում մղարժու և դիալիզի նպատակահարմարությունը:

COMPARATIVE ACTIVITY OF L-ARGININE-GLYCINE AMIDINOTRANSFERASE IN ANIMALS TISSUES AND WINE YEASTS

E. A. MANTACHIAN, H. H. ZHAMHARIAN, M. A. DAVTIAN

Transamidinase high activity has been detected in kidney, liver and spleen. It was found also in wine yeasts biomass. Transamidination between arginine and glycine was observed after treatment of crude yeasts extracts under certain condition.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Карелин А. А. В сб. Успехи биол. химии, 15, 121—155, 1974.
2. Кузнецов В. Д., Бушueva О. А., Родионова Е. Г. Антибиотики, 20, 1, 15—18, 1975.
3. Пензикова Г. А., Левитов М. М. Микробиология, 39, 2, 337—342, 1970.
4. Пензикова Г. А., Левитов М. М., Орешина М. Г. Антибиотики, 16, 10, 900—903, 1971.
5. Abdelal Ahmed. Ann. Rev. Microbiol., 33, 139—168, 1979.
6. Bourgeois Claude. BIOS, 4, 3, 134—140, 1973.
7. Friedrich B., Magasanik B. J. Bacteriol., 133, 680—685, 1978.
8. Friedrich B., Magasanik B. J. Bacteriol., 133, 686—691, 1978.
9. Hill D. L., Van Eys J. J. Protozool., 12, 2, 259—265, 1965.
10. Mitraka Bret M., Costilow P. N. J. Bacteriol., 93, 1, 295—301, 1967.
11. Ratner S. In: The Enzymes, 6, 267, 1962.
12. Tomlinson G., Viswanatha T. Anal. Biochem., 60, 1, 15—24, 1974.
13. Uhlemann A. Biochem. a. Physiol. Pflanz., 171, 1, 33—41, 1977.
14. Van Pilsum J., Berman D., Wolln E. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 95, 1, 96—100, 1957.
15. Walker J. B. JBC, 221, 771, 1956.
16. Walker J. B. JBC, 231, 1, 1—9, 1958.
17. Walker J. B. JBC, 235, 2357, 1960.
18. Walker J. B. BBA, 73, 241, 1963.
19. Wilson O. H., Holden J. T. JBC, 244, 2737—2742, 1969.

УДК 637 7 225 637.127 3

МИКРОФЛОРА И ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БУЙВОЛИНОГО ЮГОРТНОГО ЖИРА 400-ЛЕТНЕЙ ДАВНОСТИ

У. И. ТРОСЬКО, Т. А. ДАНИЛОВА, Л. Т. ПРОХОРОВА,
 Э. И. ГОРШКОВА, Л. А. ЕРЗИНҚЯՆ, А. Б. АКОПОВА

Изучена микрофлора и химический состав жира 400-летней давности. Установлено, что жир сильно гидролизован и окислен. По составу жирных кислот, фракции ненасыщенных кислот жир может быть отнесен к буйволиному молочному жиру.

Ключевые слова: йогурт, жирные кислоты, микрофлора.

На заре развития скотоводства человек научился готовить кисло-молочные продукты. Первым продуктом было сквашенное молоко—простокваша, полученная естественным путем—самоквасом. К таким продуктам относится и армянский йогурт. Он готовился в основном из буйволиного и овечьего молока (слово йогурт состоит из двух частей: юг—масло и орд или орт—относящийся). Содержание жира в овечьем молоке достигает в августе месяце 12%, в буйволином—7—8%. Из такого молока получается плотный жирный йогурт ((йогурт) с высокими вкусовыми качествами. Путем сбивания в примитивной глиняной или деревянной маслобойке из него готовили молочный жир. Полученный из йогурта жир часто закапывался в землю для хранения в кувшинах емкостью 6—20 л.

Весной 1974 г. во время закладывания фундамента под новое здание на окраине г. Раздана строители обнаружили на глубине 10 м такой кувшин с жиром. По определению ученых Института археологии АН Армянской ССР, кувшин находился в земле 600 лет.

Хранившийся без доступа воздуха жир был желтоватого цвета, образовавшиеся продукты разложения жирных кислот явились хорошими консервантами, так как даже при последующем хранении в течение 3 лет при комнатной температуре он не плесневел [1, 2].

При земляных работах на строительстве Джогазского водохранилища Иджеванского района В. Мкртчян извлек кувшин, в котором находился жир коровьего молока, хранившийся 1200 лет. Состав жира не изучался, так как он полностью был разложен. При археологических раскопках крепости Бжни Разданского района был обнаружен кувшин с животным жиром 400-летней давности (рис.).

В настоящей работе приводятся результаты микробиологического и химического исследования этого жира.

Материал и методика. Для проведения микробиологических исследований готовили смесь жира (3 г) и стерильной воды (60 мл). Смесь нагревали до 55—60° и встря-

ливали в течение 15 мин. Полученную эмульсию центрифугировали в течение 15 мин при 4500 об/мин [3, 4]. Из осадков делали высевы на соответствующие питательные среды и готовили мазки для микроскопирования. Мазки, нанесенные на предметные стекла, обрабатывали перед окрашиванием метиленовой синью спирто-эфирной смесью.

Для установления природы жира и его состава были определены его химические показатели и проведен хроматографический анализ: методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на силикагеле в системе хлороформ: ацетон (96:4) определен состав продуктов гидролиза, методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ), принятым во ВНИИЖе, изучен жирнокислотный состав фракции неизмененных (растворимых в гексане) и измененных (нерастворимых в гексане) жирных кислот [5].

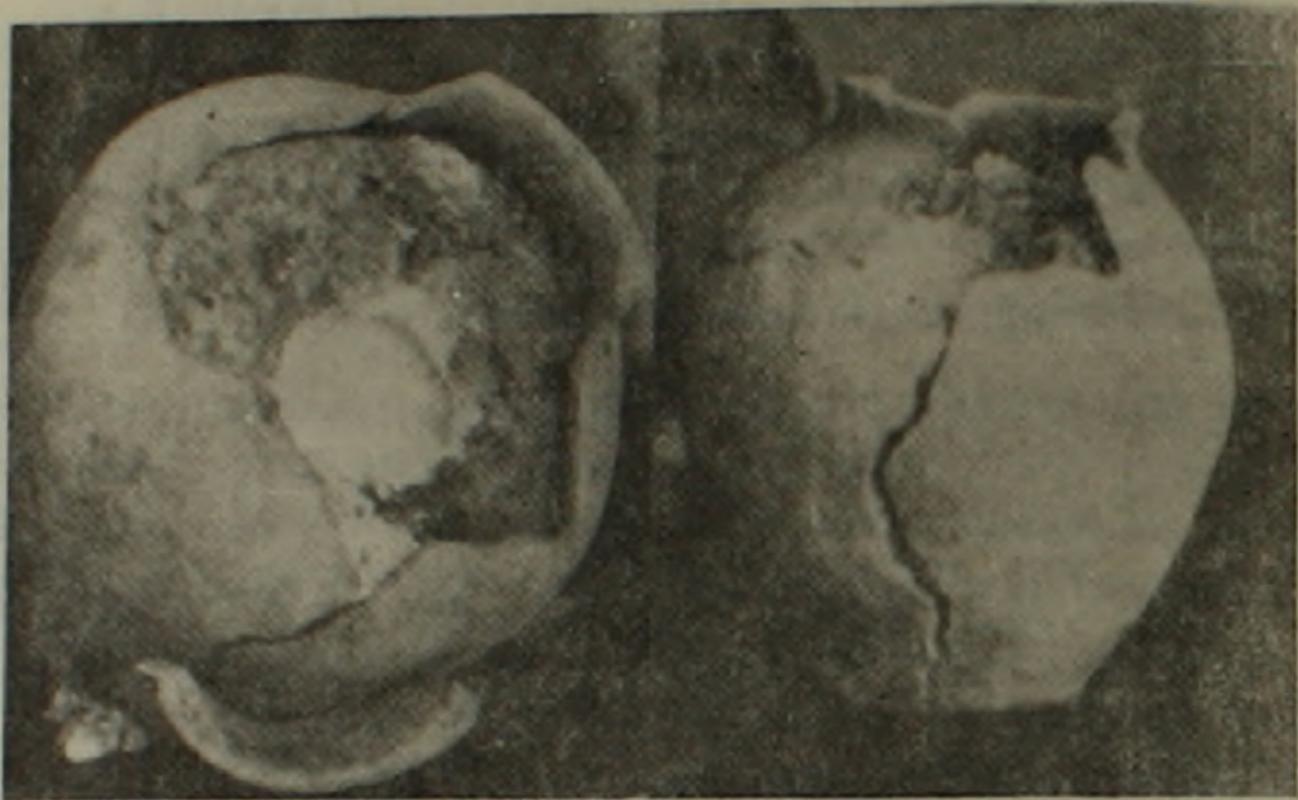


Рис. Кувшин с югортным буйволиным жиром 100-летней давности.

Результаты и обсуждение. Изучаемый животный жир был белого цвета без признаков поражения плесенью. При микроскопическом исследовании после тщательной специальной обработки образцов, взятых из нижних слоев, были обнаружены короткие палочки (5—10х0,6 мкм)—диплококки и стрептококки. Обнаруженные микроорганизмы оказались погибшими. Не исключено, что эти микроорганизмы относились к молочнокислым бактериям, так как в древние времена армяне в основном готовили молочный жир из спонтанно скисшего молока.

Основные показатели и химический состав жира 400-летней давности: кислотное число, мг КОН,—177; число омыления, мг КОН,—300; эфирное число, мг КОН,—123; содержание фосфора, %.—нет; содержание белка, %.—реакция на белок отрицательная; содержание неомыляемых веществ, %.—0,2; содержание токоферолов, мг %.—нет; содержание стеролов, %.—количественно не определяются, присутствуют измененные формы; бензидиновое число, мг % коричневого альдегида,—6,5; коэффициент поглощения, =232 нм,—0,59; =268 нм (структура полосы отсутствует)—0,25.

Методом тонкослойной хроматографии обнаружены в жире продукты его глубокого гидролиза: глицерин, 1-моноглицериды, 2-моноглицериды, 1,2-диглицериды, триглицериды, жирные кислоты.

Выход фракции неизмененных жирных кислот—28,2% от массы жирных кислот, измененных—71,7 (табл. 1).

Таблица 1
Состав жирных кислот жира, % к сумме кислот

Кислота	Фракция кислот	
	неизмененных	измененных
C _{6:0}	0,4	3,0
C _{8:0}	0,5	—
C _{10:0}	1,0	сл.
C _{12:0}	1,6	0,6
C _{14:0}	10,0	5,3
C _{15:0}	1,3	1,1
C _{16:0}	39,7	23,7
Неидентифицирована	0,7	0,4
C _{17:0}	1,3	7,9
C _{18:0}	21,6	13,2
Неидентифицирована	9,5	29,9
C _{19:0}	1,3	5,4
Неидентифицирована	1,9	3,3
Неидентифицирована	0,8	0,3
Неидентифицирована	2,3	1,0
Неидентифицирована	6,1	0,6
Неидентифицирована	—	0,9
Неидентифицирована	—	1,0
Неидентифицирована	—	1,4

По соотношению основных насыщенных кислот (C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:0}) и фракции неизмененных кислот было установлено, что жир может быть идентифицирован как буйволиный молочный жир (табл. 2).

Таблица 2
Массовая доля основных насыщенных жирных кислот, % к их сумме

Жирная кислота	Исследуемый жир	Буйволиный молочный жир [5]
C _{14:0}	14,0	14,0
C _{16:0}	55,7	56,0
C _{18:0}	30,0	30,0

В ИК-спектрах жира (тонкая пленка) имеются полосы поглощения, характерные для свободных жирных кислот и их эфиров (моно-, диглицеридов и триглицеридов).

Таким образом, изученный молочный жир был получен из буйволиного молока. Жир сильно гидролизован, о чем свидетельствуют высокое кислотное число, наличие на ТСХ пятен, соответствующих свободным жирным кислотам, в ИК-спектре—полосы 1700 см⁻¹, характерные для С=О группы в карбоновых кислотах, полосы 930 см⁻¹, соответствующие неплоскому деформационному колебанию димера кислот, полосы в интервале 2700—3200 см⁻¹, характерные для валентного коле-

бания гидроксильной группы в димерах кислот, а также присутствие в жире моно- диглицеридов и глицерина.

Ископаемый жир сильно окислен, так как доля измененных жирных кислот составляет почти 72%. Значительное поглощение при 268 нм в УФ-спектре, отсутствие тонкой структуры этой полосы и высокое значение бензидинового числа говорят о наличии в жире среди других вторичных продуктов окисления большого количества карбонильных соединений.

ВНИИЖ, г. Ленинград
Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 1 VI 1981 г.

400-ԱՄՅԱ ԳՈՄԵՆԻ ՅՈՒՂՈՒՐԴԱ ՅՈՒՂԻ ՄԻԿՐՈՖԼՈՐԱՆ ԵՎ ՔԻՄԻԱԿԱՆ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԸ

Ո. Ի. ՏՐՈՍԿՈ, Տ. Ա. ԴԱՆԻԼՈՎԱ, Լ. Տ. ՊԻՈՒՈՐՈՎԱ,
Է. Ի. ԳՈՐՇԿՈՎԱ, Լ. Հ. ԵՐԶԻՆԿՅԱՆ, Ա. Բ. ԱԿՈՊՈՎԱ

Հետազոտվել է 400-ամյա գոմեշի յուղուրդա յուղի միկրոֆլորան և քիմիական կազմությունը:

Պարզվել է, որ յուղուրդա յուղը ուժեղ հիպրոլիզացված և օքսիդացված է: Հստ ճարպաթթուների, անփոփոխ թթուների ֆրակցիայի յուղուրդա յուղը կարելի է դասել գոմեշի կաթնայուղի շարքին:

THE MICROFLORA AND CHEMICAL COMPOSITION OF BEEF FAT FROM YOGURT OF 400 YEARS OLD

O. I. TROSKO, T. A. DANILOVA, L. T. PIKHOROVA
E. I. GORSHKOVA, L. A. ERZINKYAN, A. B. AKOPOVA

The microflora and chemical composition of 400 years old of beef fat has been investigated. It was shown that the tested fat was strongly hydrolyzed and acidified. The composition of fatty acids in the unchanged parts of fat testifies that the fat belongs to the beef milk.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ерзінкян Л. А., Ақопова А. Б., Купрене Л. И., Качераускіс Д. М. Тр. Литовск. филиала ВНИИМС, 11, 64, 1977.
2. Ерзінкян Л. А. Биологические особенности некоторых рас молочнокислых бактерий. Ереван, 1971.
3. Качераускіс Д. М., Купрене Л. И., Ерзінкян Л. А., Ақопова А. Б. Биолог. ж. Арменин, 31, 8, 838, 1978.
4. Руководство по методам исследования, технич. контролю и учету производства в масло-жировой промышленности. 1, 5, 6, вып. 2, Л., 1967, 1969, 1974.
5. Скородумова А. М. Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов. М., 1963.

АКТИВНОСТЬ МОЛОЧНОКИСЛЫХ И ПРОПИОНОВОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА МОЛОКА

Р. В. СААКЯН

Изучалось влияние содержания микроэлементов в молоке на биохимическую активность, рост и развитие молочнокислых и пропионовокислых бактерий. Установлено, что содержание микроэлементов существенно влияет на физиолого-биохимические свойства клеток. Выявлены минимальные количества этих микроэлементов в молоке, способствующие проявлению присущих штаммам свойств и активности.

Ключевые слова: молоко, молочнокислые и пропионовокислые бактерии, микроэлементы.

В последние годы проблема повышения активности различных видов микроорганизмов, используемых в народном хозяйстве, приобретает все большее значение. Доказано, что в питании микроорганизмов большую роль играют микроэлементы [3, 4, 6, 7, 11, 12], которые влияют на свойства молочнокислых и пропионовокислых бактерий [1, 2, 8, 9, 13]. Однако в литературе не имеется сведений о влиянии изменения микроэlementного состава молока на активность молочнокислых и пропионовокислых бактерий. Между тем, известна значительная изменчивость микроэlementного состава молока различных экономических зон страны в зависимости от ряда факторов. Отсутствие литературных данных о влиянии уровня содержания некоторых (важных с биологической точки зрения) микроэлементов в молоке на биохимическую активность и на свойства указанных бактерий явилось причиной проведения настоящего исследования.

Материал и методика. Изучалось влияние различных доз микроэлементов—марганца, меди, кобальта, цинка—на активность, рост и развитие 6-ти видов молочнокислых бактерий (*Lactobacillus casei*, *L. lactis*, *L. helveticus*, *L. plantarum*, *Streptococcus lactis*, *Str. thermophilus*) и *Propionibacterium shermanii*. Хлористые соли различных доз микроэлементов вносились в молоко из расчета 0,01; 0,025; 0,10; 0,15; 0,30; 0,50; 0,70; 1,0; 5,0; 10,0; 20,0; 40,0; 60,0 мг на 1 кг молока. При этом учитывалось содержание этих же микроэлементов в исходном молоке. Изучались основные свойства кисломолочных сгустков, полученных при внесении в молоко штаммов и соответствующих доз микроэлементов, а также содержание в них некоторых вкусовых веществ (свободные аминокислоты, летучие жирные кислоты, карбонильные соединения). Исследования проводились по общепринятым методикам [5, 10]. Свободные аминокислоты определялись на автоматическом аминокислотном анализаторе, летучие жирные кислоты и карбонильные соединения—методом газожидкостной хроматографии.

Результаты и обсуждение. Исследованиями установлено, что содержание микроэлементов в молоке влияет на кислотообразующую и протеолитическую способности различных видов молочнокислых бактерий. Так, например, предельная кислотность молочнокислых палочек изученных видов при содержании марганца 0,10 мг/кг в среднем составляла 186°Т, с увеличением дозы микроэлемента до 0,70 мг/кг она повышалась и достигала 226°Т. Дальнейшее увеличение количества микроэлемента до 10—15 мг/кг почти не отражалось на величине кислотности и лишь при дозе 40—60 мг/кг начиналось ее снижение. Максимальное кислотообразование (222°Т) у лактобацилл наблюдалось при обогащении молока цинком до концентрации 0,60 мг/кг и меди—0,22 мг/кг. Повышение количества этих микроэлементов до 60 мг/кг сопровождалось снижением кислотообразующей способности штаммов. Минимальным содержанием кобальта в молоке, при котором проявлялась присущая штаммам молочнокислых бактерий кислотообразующая способность, является концентрация 0,025 мг/кг (220°Т). При повышении этой концентрации кислотность почти не менялась, и лишь при количестве его 40—60 мг/кг величина предельной кислотности снижалась. Примерно такие же изменения наблюдались и у молочнокислых стрептококков. Таким образом, как показывают данные, молочнокислые бактерии проявляют наибольшую кислотообразующую способность при содержании в молоке микроэлементов не менее (мг/кг): марганца—0,70, цинка—0,65, меди—0,22, кобальта—0,025.

Под влиянием микроэлементов повышается протеолитическая активность молочнокислых бактерий, что в значительной степени зависит от вида штаммов и микроэлементов—стимуляторов. Так, протеолиз штаммов *L. lactis* под влиянием оптимальных доз марганца повышался на 9,5, *L. casei*—на 7,7, *L. helveticus*—на 21,0, а у термофильных стрептококков—на 30,0%. Примерно та же картина наблюдалась в отношении кобальта. Штаммы молочнокислых бактерий одного и того же вида по-разному реагируют на стимулирующее действие отдельных микроэлементов. Молочнокислые бактерии *L. helveticus* под влиянием оптимальных доз цинка повышали протеолиз всего лишь на 6,4%, тогда как это повышение под влиянием кобальта составляло 17,0%, а марганца—21,0%.

Микроэлементы по-разному действуют на свойства разных видов молочнокислых бактерий, хотя общая тенденция к активации бактерий очевидна. Так, кислотообразующая способность штаммов *L. lactis* под влиянием марганца повышалась в среднем на 24°Т, а *L. helveticus*—на 43°Т. Кобальт в большей степени активизировал кислотообразующую способность штаммов *L. helveticus*. Предельная кислотность термофильных стрептококков под влиянием микроэлементов повышалась от 15 до 35°Т, при этом наиболее эффективно действовал марганец, то же самое обнаружено и в отношении штаммов *Str. lactis*.

Характер влияния различных доз микроэлементов на рост штаммов *Pb. shermanii*, *L. casei*, *Str. thermophilus* отражен на рисунке и в табл. 1. Культивирование пропионовокислых бактерий проводилось в

Таблица 1

Влияние различных доз микроэлементов на рост молочнокислых бактерий в гидролизованном молоке, млн/г

Штамм	Микроэлемент	Количество микроэлемента в среде, мг/кг								
		0,01	0,03	0,10	0,50	1,0	2,5	5,0	20,0	60,0
2476 L. casei	Mn	462	507	550	584	610	646	630	575	503
	Co	502	50	603	605	608	608	614	550	476
	Cu	455	494	574	550	543	510	534	451	350
	Zn	440	450	458	463	466	414	425	402	396
1111 Str. thermophilus	Mn	473	502	547	565	600	620	641	603	558
	Co	507	596	598	601	603	605	610	574	530
	Cu	452	480	500	591	560	550	541	530	410
	Zn	442	417	475	500	576	650	560	497	462

специальной среде в течение 20-ти дней. Максимальное количество клеток наблюдалось после 10-дневной инкубации (рис.), в дальнейшем оно несколько снижалось. Уровень содержания микроэлементов в среде существенно влиял на рост и размножение *Pb. shermanii*, при этом оптимальные концентрации стимулировали рост клеток, а высокие (40—60 мг/кг) несколько снижали его. Изученные микроэлементы по-разному действовали на рост пропионовокислых бактерий. Наиболее замет-

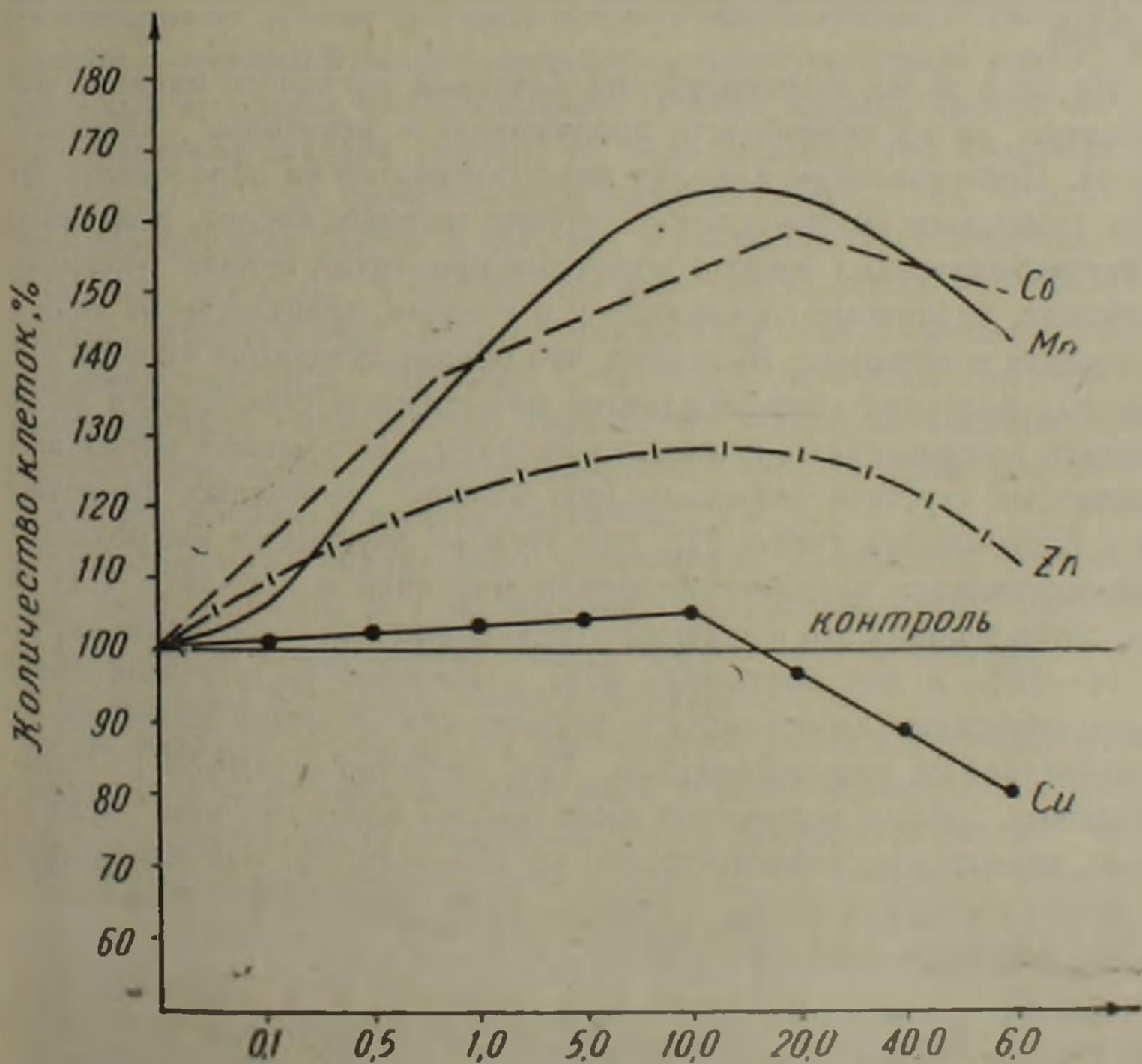


Рис. Влияние различных доз микроэлементов на рост *Pb. shermanii*.

ное влияние оказали оптимальные дозы марганца и кобальта, сравнительно меньшее—цинк. Медь в дозах 0,10—5,0 мг/кг почти не влияла на рост клеток, высокие же дозы ее (20—60 мг/кг) существенно снижали число клеток в средах.

Интересные данные получены также при изучении влияния содержания микроэлементов на рост и развитие молочнокислых палочек и стрептококков (табл. 1). Число клеток в средах после 6-часовой инкубации составляло 17—45, а после 12-часовой—150—300 млн/г, при этом в образцах, обогащенных микроэлементами, количество их значительно превосходило контроль. Максимальное количество клеток в средах наблюдалось при 24-часовом культивировании (330—640 млн/г), после чего оно сильно снижалось. Действие микроэлементов на рост клеток тех или иных видов бактерий было неодинаковым. Так, штамм 2476 *L. casei* наиболее сильно размножался в среде с добавлением марганца и кобальта и очень слабо при обогащении среды цинком, тогда как клетки штамма 1111 *Str. thermophilus* довольно активно развивались под влиянием цинка. Концентрация микроэлементов в среде существенно влияет на число клеток *L. casei* и *Str. thermophilus*. Максимальное количество их наблюдалось при содержании в среде (мг/кг): кобальта—0,07—5,0, марганца—2,0—10,0, меди—0,5—5,0, цинка—0,7—6,0. Повышение дозы микроэлементов до 40—60 мг/кг снижало число клеток в средах.

На пяти видах молочнокислых бактерий изучалось влияние микроэлементов на их способность продуцировать некоторые вкусовые вещества. Исследованием влияния микроэлементов на образование штаммами свободных аминокислот и летучих жирных кислот, роль которых во вкусообразовании многих молочных продуктов велика, установлены изменения, различные по характеру и степени, зависящие от вида микроэлемента и штамма. Выяснено, что общая активация свойств молочнокислых бактерий сопровождается повышением способности их образовывать аминокислоты и жирные кислоты. В опытных образцах кисломолочных сгустков накапливалось больше свободных аминокислот, чем в контрольных (табл. 2), при этом из изученных микроэлементов наиболее сильное влияние оказывали марганец и кобальт. Под влиянием меди и цинка это повышение составляло для молочнокислых палочек 14—17%, а для марганца—35%. Способность штаммов продуцировать свободные аминокислоты зависит как от видов бактерий, так и от применяемых микроэлементов. Так, свойство штаммов *L. lactis* образовывать общее количество аминокислот под влиянием меди и кобальта повышалось соответственно на 15,3 и 13,7%, под влиянием марганца оно достигало 23,0%, а цинка—всего лишь 4,8%. Штаммы *L. casei* под влиянием кобальта повышали общее количество аминокислот в среднем на 11,4, марганца—на 19,5, меди—на 20,3, цинка—на 8,1%, а штаммы *L. helveticus* соответственно—19,2; 20,2; 19,2 и 12,5%. При этом, часто наблюдалась разница в относительном содержании отдельных аминокислот. Кобальт и марганец повышали общее количество

Таблица 2

Содержание свободных аминокислот и летучих жирных кислот в сгустках, мг%

Показатели	Вид молочнокислых бактерий	Вариант	Микроэлементы			
			Mn	Co	Zn	Cu
Сумма свободных аминокислот	палочки	опытный	33,3	24,2	28,1	28,4
		контрольный	24,7	24,7	24,7	24,7
	стрептококки	опытный	6,2	6,5	5,6	5,6
		контрольный	4,0	4,0	4,0	4,0
Сумма летучих жир- ных кислот	палочки	опытный	55,1	57,5	60,1	57,4
		контрольный	49,4	49,4	49,4	49,4
	стрептококки	опытный	23,4	25,1	27,6	28,5
		контрольный	21,0	21,0	21,0	21,0

аминокислот у штаммов *L. casei* одинаково, но их влияние в отношении накопления отдельных аминокислот значительно различалось. Так, под влиянием марганца содержание пролина повышалось на 6,7%, а меди—в 3 раза. Подобные примеры наблюдались и в отношении других микроэлементов.

Добавки микроэлементов стимулировали способность штаммов образовывать летучие жирные кислоты. Их общее количество увеличилось в основном за счет уксусной и пропионовой кислот, а содержание муравьиной и масляной кислот держалось почти на одном уровне. Исследованиями выяснено, что накопление летучих жирных кислот в сгустке в значительной степени зависит от вида штамма, его индивидуальных особенностей и от применяемого микроэлемента. Так, у штаммов *L. lactis* образование уксусной кислоты в наибольшей степени увеличивал марганец (34,8%), а другие микроэлементы—лишь на 10—15%. Количество пропионовой кислоты значительно увеличивалось также под влиянием марганца. Штаммы *L. casei* и *L. helveticus* при этом также продуцировали наибольшее количество уксусной кислоты (18—22%), а максимальный выход пропионовой кислоты у них наблюдался под влиянием кобальта, меди и марганца.

Микроэлементы значительно увеличивали количество свободных летучих жирных кислот и у молочнокислых стрептококков. При этом, на термофильные стрептококки более эффективно действовал марганец, а на штаммы *Str. lactis*—медь и марганец.

Таким образом, в результате проведенной работы установлено, что микроэлементы (марганец, кобальт, медь и цинк) играют существенную роль в жизнедеятельности молочнокислых и пропионовокислых бактерий. Их оптимальные концентрации в молоке обеспечивают активацию физиолого-биохимических свойств, а также рост и развитие этих бактерий. Однако очень сложная ферментная система клеток предопределяет избирательную реакцию в отношении стимулирующего действия того или иного микроэлемента. Изучением влияния различных доз микроэлементов на свойства молочнокислых и пропионовокислых бактерий

установлены их минимальные количества в молоке, при которых штаммы проявляют характерные им свойства и активность. Эти количества для марганца составляют 0,70, цинка—0,65, меди—0,22 и кобальта—0,025 мг/кг.

Ереванский зооветеринарный институт,
кафедра технологии молочных продуктов

Поступило 16.I 1981 г.

ԿԱԹՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ԵՎ ՊՐՈՊԻՈՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ԿԱՆՎԱԾ ԿԱԹԻ ՄԻԿՐՈՏԱՐՐԵՐԻ ԿԱԶՄԻՑ

Ռ. Վ. ՍԱՀԱԿՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է կաթի մեջ մի քանի միկրոտարրերի (մանգան, ցինկ, պղինձ, կոբալտ) տարրեր պարունակության ազդեցությունը կաթնաթթվային և պրոպիոնաթթվային մանրէների կենսաբանական ակտիվության, ինչպես նաև նրանց աճի ու զարգացման վրա: Նշված միկրոտարրերի քանակական փոփոխությունները խիստ ազդում են այդ մանրէների ակտիվության վրա: Մասնավորապես ապացուցված է, որ դրանց բարձր քանակը կաթում (40—60 մգ/կգ) իջեցնում է մանրէների ակտիվությունը, դանդաղեցնում աճն ու զարգացումը: Պարզված է նշված միկրոտարրերի նվազագույն պարունակությունը կաթի մեջ, որոնք թույլ են տալիս կաթնաթթվային և պրոպիոնաթթվային մանրէներին ցուցարբերելու իրենց յուրահատուկ ակտիվությունն ու հատկությունները:

THE ACTIVITY OF LACTIC AND PROPIONIC BACTERIA RELATED TO THE TRACE-ELEMENT COMPOSITION OF MILK

R. V. SAHAKIAN

The influence of the content level of some trace elements in milk on the activity and growth rate of lactic and propionic bacteria has been investigated. Their minimal concentrations in milk stimulate the bacterial activity in following concentrations (mg/kg:): Mn — 0,70; Zn — 0,65; Cu — 0,22; Co — 0,025.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Андерсен И., Лесмент Х. Мат-лы XVIII Междунар. молочного конгресса, 71—72, М., 1972.
2. Воробьева Л. И., Озола Л. Ю. Прикладная биохимия и микробиология, XIII, вып. 4, 531—538, 1977.
3. Гололобов А. Д. В кн.: Биологическая роль микроэлементов и их применение в сельском хозяйстве и медицине, 1, 18—119, Иваново-Франковск, 1978.
4. Диксон М., Уебб Э. Ферменты, 816, М., 1966.
5. Инихов Г. С., Брио Н. Б. Методы анализа молока и молочных продуктов. 423, М., 1971.
6. Лысенков Н. В. Прикладная биохимия и микробиология, 12, вып. 1, 24—29, 1976.

7. *Пейве Я. В., Жизневская Г. Я.* В кн.: Биологическая роль и практическое применение микроэлементов, 1, 9—10, Рига, 1975.
8. *Рамонайтис Д. Б.* Автореф. канд. дисс., 1—27, Каунас, 1973.
9. *Сигаард И.* Мат-лы XVIII Междунар. молочного конгресса, 83, М., 1972.
10. *Скородумова А. М.* Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов, 296, М., 1962.
11. *Чернавина И. А.* Физиология и биохимия микроэлементов, 282, М., 1970.
12. *Nason A., Mcelroy W.* In Plant physiology, 3 ed., Steward, New York — London, 166—170, 1963.
13. *Rulg W. G.* Intern. sympos. Microchem. Techn, Davos, 229—233, 1977.

О ХИМИЧЕСКОМ СОСТАВЕ ДРОЖЖЕВОЙ ГУЩИ В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ХРАНЕНИЯ

Л. С. ВАРТАНЯН, Б. П. АВАКЯН, Н. А. ТЕР-БАЛЯН

При хранении дрожжевой гущи происходит изменение в ее химическом составе, особенно в содержании сухих веществ, спирта, азотистых веществ, протеина, титруемой кислотности, увеличивается содержание летучих кислот, изменяется качественный состав органических кислот и др.

Ключевые слова: дрожжевая гуща, химический состав.

С развитием виноградарства и виноделия все большее значение приобретают вопросы комплексной переработки отходов виноделия, в частности дрожжевой гущи, содержащей много ценных биоактивных соединений, в настоящее время полностью не используемых. Разработан комплексный метод, дающий возможность перерабатывать дрожжевую гущу и получать из нее, наряду со спиртом, солями винной кислоты, также ценные биоактивные соединения [1]. В определенных условиях в дрожжевой гуще может протекать ряд микробиологических процессов, которые приводят к изменению ее химического состава. Дрожжевая гуща в основном состоит из дрожжей, которые осаждаются после брожения и осветления вин. Дрожжи различных типов вин содержат в среднем 75% воды и 25% сухого вещества [2].

Материал и методика. Дрожжевая гуща была взята из винзаводов Арташатского, Аштаракского, Эчмиадзинского и Октемберянского районов. Анализы проводились через каждые два месяца. Во всех образцах в дрожжевой гуще содержание SO_2 колебалось в пределах 80—100 мг/л [3]. Гущу фильтровали, разбавляли водой в отношении 1:2, затем перемешивали в течение 30 мин при 30°. После фильтрации в фильтрате определяли содержание спирта, титруемой кислотности, летучих и органических кислот. Для определения азота, протеина, влажности, зола и клетчатка использовали методики Фролов-Багреева, Агабальянца [4] и Авакянца [5].

Результаты и обсуждение. При хранении дрожжевой гущи в ней протекает ряд процессов, которые обуславливают ее качество. Из табл. 1 и 2 видно, что при хранении содержание спирта и титруемой кислотности в ней уменьшается во всех образцах.

Содержание спирта в дрожжевой гуще, взятой из Арташатского района, составляло 6,9 об. %. При 4-месячном хранении количество его уменьшается до 4,0 об. %. Такое снижение наблюдается и в остальных вариантах. Содержание титруемой кислотности колебалось от 4,82 до

Таблица 1

Химический состав дрожжевой гущи, взятой из винозаводов различных районов после брожения

Анализы Винозаводы	Спирт, %	Титруемая кислотность, г/л	Летучие кислоты, г/л	Зола, %	Влажность, %	Сухие вещества, %	Протеин, %	Клетчатка, %
Арташатский	6,90	5,47	0,45	4,00	75,60	24,40	20,63	14,66
Аштаракский	5,50	4,82	0,29	3,10	78,20	21,80	26,25	12,18
Эчмиадзинский	5,70	5,04	0,34	2,70	67,60	32,40	28,75	10,50
Октемберянский	7,50	6,34	0,29	4,00	68,20	31,80	20,63	10,33

Таблица 2

Химический состав дрожжевой гущи, взятой из винозаводов различных районов, через 4 месяца хранения

Анализы Винозаводы	Спирт, %	Титруемая кислотность, г/л	Летучие кислоты, г/л	Зола, %	Влажность, %	Сухие вещества, %	Протеин, %	Клетчатка, %
Арташатский	4,00	1,94	0,58	3,80	79,62	20,38	22,50	25,60
Аштаракский	3,50	1,15	0,40	3,35	82,62	17,38	24,90	18,30
Эчмиадзинский	3,00	2,81	0,69	2,57	82,25	17,75	24,40	10,30
Октемберянский	4,00	2,81	0,46	3,80	74,25	25,75	25,60	11,30

6,34 г/л. В течение трех месяцев хранения титруемая кислотность доходит от 3,96 до 4,32 г/л. При дальнейшем хранении она уменьшается до 1,15—2,81 г/л.

Однако количество летучих кислот в процессе хранения увеличивается. Содержание летучих кислот выше в дрожжевой гуще, взятой из

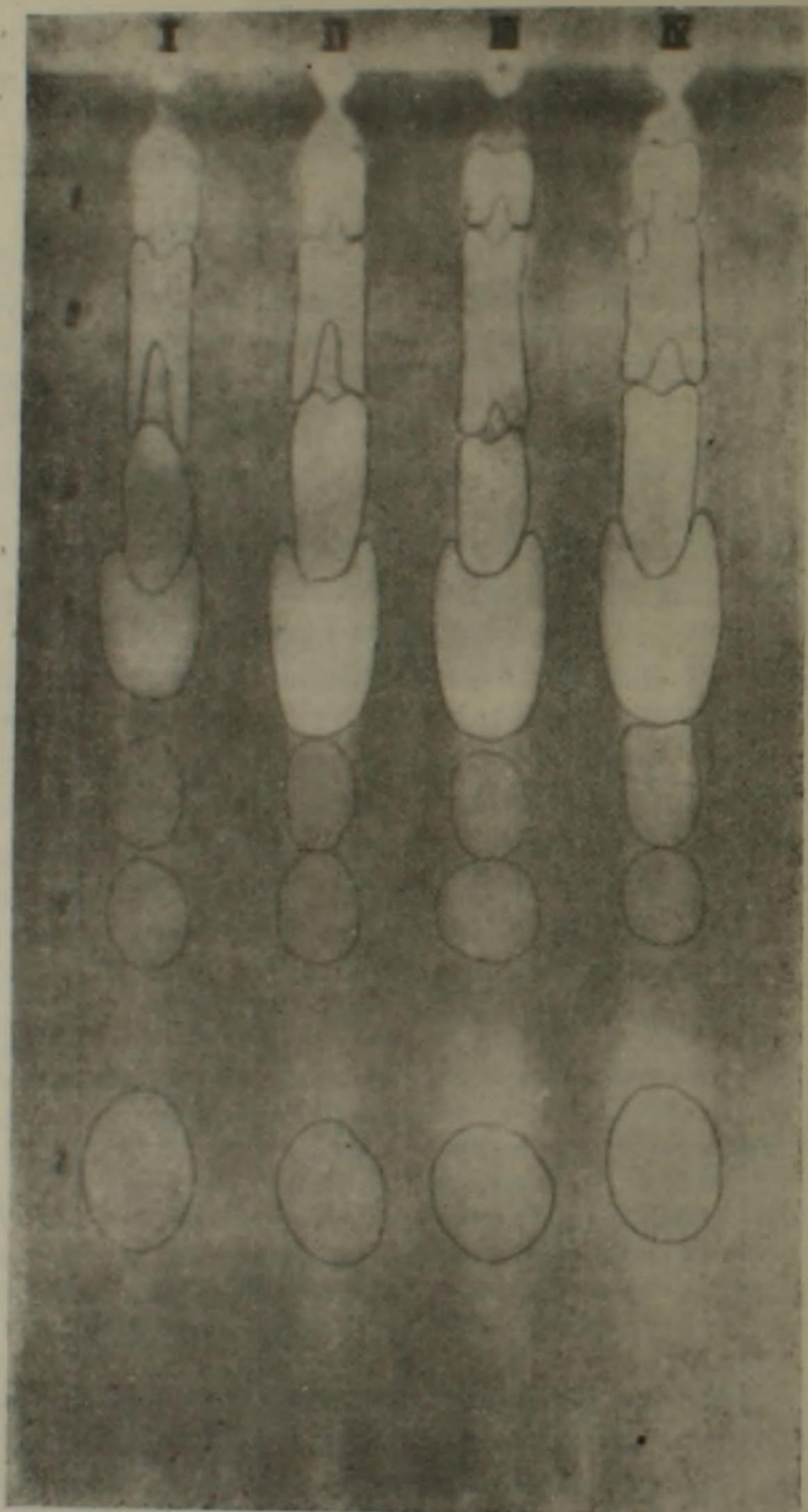


Рис. 1. Хроматограмма органических кислот дрожжевой гущи до хранения. Районы: I. Арташатский, II. Аштаракский, III. Эчмиадзинский, IV. Октемберянский. Органические кислоты: 1. Щавелевая, 2. Винная, 3. Лимонная, 4. Яблочная, 5. Молочная, 6. Гликолевая, 7. Янтарная.

Эчмиадзинского винозавода, — 0,69 г/л. Содержание протеина при хранении также изменяется и связано с изменением других соединений. В

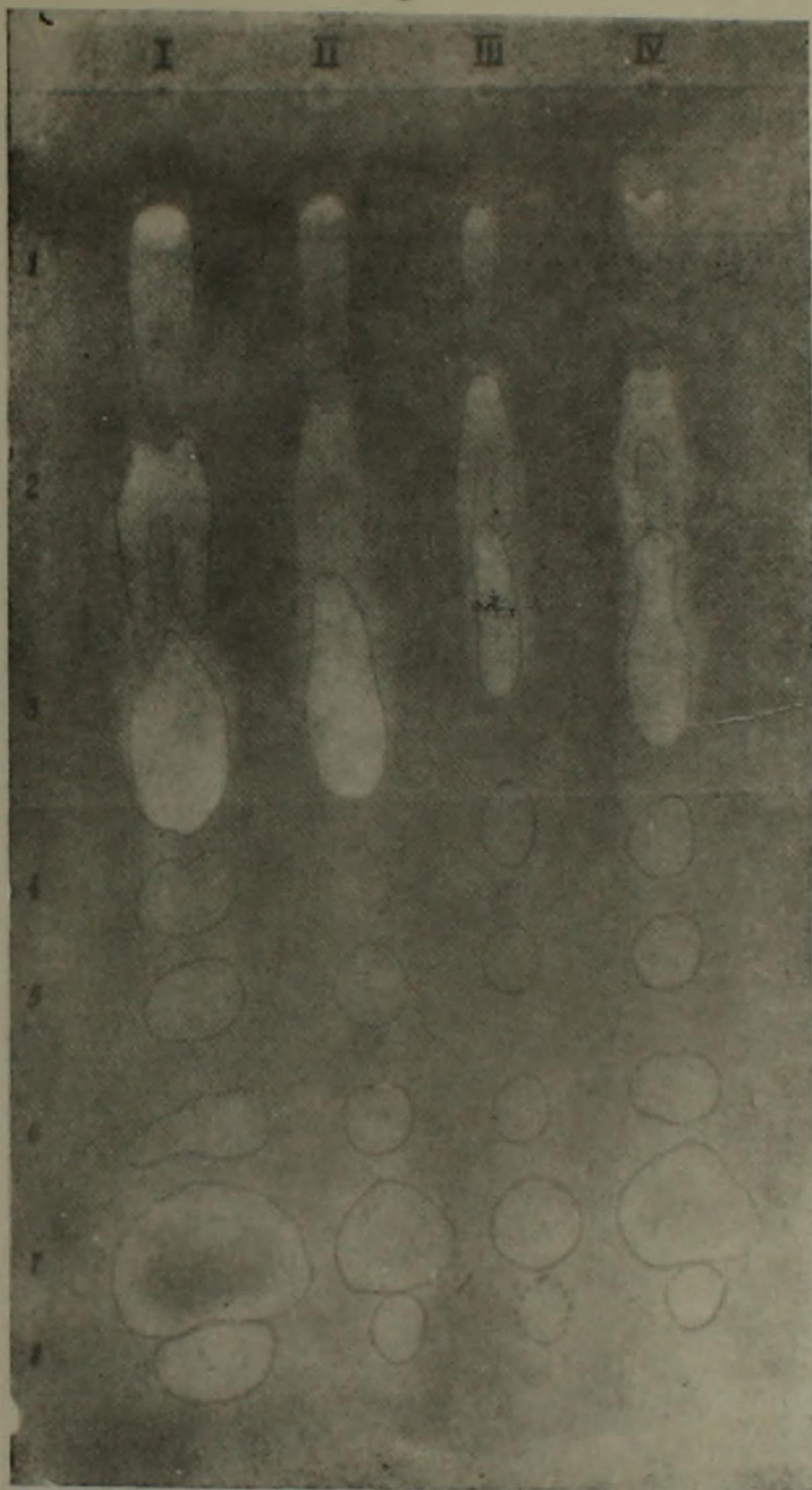


Рис. 2. Хроматограмма органических кислот дрожжевой гущи через 2 месяца хранения. Районы: I Арташатский, II Аштаракский, III Эчмиадзинский, IV Октемберянский. Органические кислоты 1. Щавелевая, 2. Винная, 3. Лимонная, 4. Яблочная, 5. Молочная, 6. Гликолевая, 7. Янтарная, 8. Фумаровая

гущи Октемберянского и Арташатского винных заводов содержание протеина больше по сравнению с пробами гущи из других районов.

Изучался также состав органических и летучих кислот в дрожжевой гуще и его изменение во время хранения. Из хроматограммы (рис. 1) видно, что в дрожжевой гуще, взятой из винзаводов указанных районов, выявлено 7 органических кислот: щавелевая, винная, лимонная, яблочная, молочная гликолевая, янтарная. Через 3 месяца хранения (рис. 2) число органических кислот увеличивается за счет прибавления фумаровой кислоты.

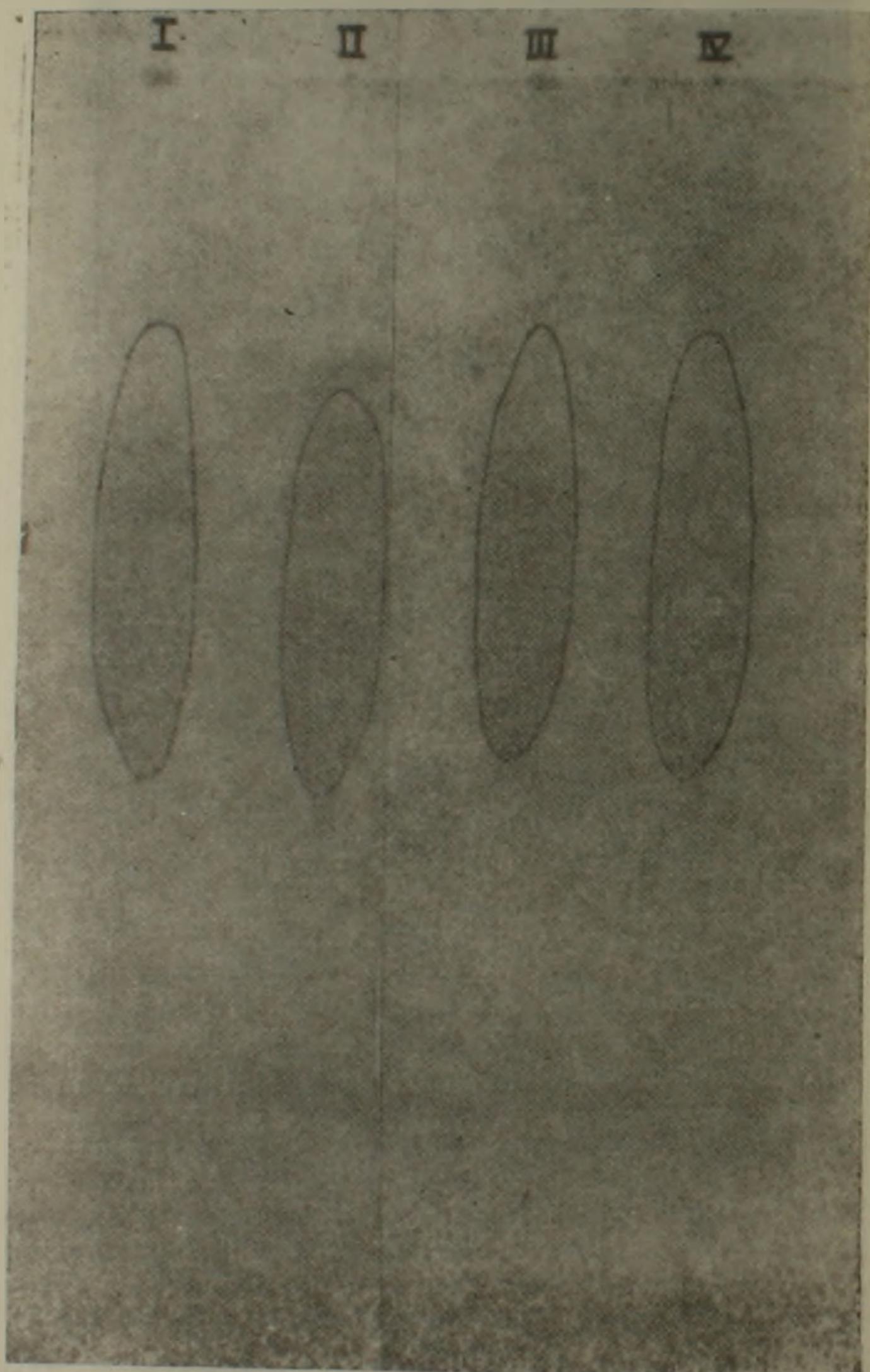


рис. 3. Хроматограмма летучих кислот дрожжевой гущи через 4 месяца хранения Районы: I Арташатский, II Аштаракский, III Эчмиадзинский, IV Октемберянский 1. Уксусная кислота.

Из летучих кислот в гуще обнаружены муравьиная и уксусная. При хранении увеличивается в основном количество уксусной кислоты (рис. 3).

Таким образом, химический состав дрожжевой гущи виноделия при хранении в условиях производства изменяется. Установлено, что при хранении дрожжевой гущи до 4 месяцев крепость значительно уменьшается. Увеличивается качественный состав органических и летучих кислот, последние увеличиваются за счет уксусной кислоты.

Институт виноградарства, виноделия и плодоводства,

МСХ Армянской ССР

Поступило 22.V 1981 г.

ՇԱՔԱՐԱՍՆԿԱՅԻՆ ԴՈՒՐԴԻ ՔԻՄԻԱԿԱՆ ԲԱՂԱԴՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՊԱՀՄԱՆ ՏԱՐԲԵՐ ԺԱՄԿԵՏՆԵՐՈՒՄ

Լ. Ս. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Բ. Պ. ԱՎԱԿՅԱՆ, Ն. Հ. ՏԵՐ-ԲԱԼԻԱՆ

Մշակվել է կոմպլեքսային մեթոդ, որը հնարավորություն է տալիս վերամշակելու շաքարասնկային նստվածքը և նրանից ստանալ սպիտակուցներով ու վիտամիններով հարուստ մթերքներ՝ անասունների կերարածնի մեջ ավելացնելու համար:

Պահման տարրեր ժամանակահատվածներում շաքարասնկային դուրդի քիմիական բաղադրությունը, նրա մեջ եղած միկրոօրգանիզմների կենսագործունեության հետևանքով, փոփոխվում է: Փորձերը ցույց են տվել, որ գինեգործական սեզոնից հետո, դուրդը մինչև 7 ամիս պահելու դեպքում, նրա թնդությունը նվազում է մոտ 50%-ով: Բարձրանում է նաև օրգանական թթուների որակական բաղադրությունը (ֆումարաթթվի հաշվին): Ցնդող թթուների քրոմոտոգրաֆիական անալիզները ցույց տվեցին, որ պահման 5-րդ ամսից դուրդի մեջ բացակայում է մրջնաթթուն, իսկ բացախաթթուն ավելանում է մոտ կրկնակի անգամ:

ON THE COMPOSITION OF WINE YEAST BIOMASS IN VARIOUS PERIODS OF STORAGE

L. S. VARTANIAN, B. P. AVAKIAN, N. H. TER-BALIAN

Changes of chemical composition take place during the storage of wine lees. They concern the content of dry substances, alcohol, ash, nitrogen nitrating acidity and humidity. The content of volatile acids and protein increases during the storage.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Авакян Б. П., Арзуманян П. Р., Авакянц С. П. Авторское свидетельство СССР, № 422768, ст 5/IV—1974 г.
2. Семихатова Н. М., Малыгина М. В. Микробиология дрожжевого производства. М., 1970.
3. Рибера-Гайон Ж. Виноделие. Возбудители брожения. Приготовление вина. М., 1971.
4. Фролов-Багреев А. М., Агабальянц Г. Г. Химия вина. М., 1951.
5. Авакянц С. П. Биохимические основы технологии шампанского 351, М., 1980.

О КУЛИЦИДНОМ ДЕЙСТВИИ КУЛЬТУР АЭРОБНЫХ СПОРООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

К. О. ЧИЛИНГАРЯН, В. Ш. МЕЛИКСЕТЯН, Э. К. АФРИКЯН

Изучено инсектицидное действие 219 штаммов разных серотипов *Bac. thuringiensis* и 34 штаммов *Bac. sphaericus* энтомогенного происхождения. Большинство испытанных штаммов *Bac. thuringiensis* в больших концентрациях обладает инсектицидностью к личинкам *Aedes aegypti*. Наибольшая активность обнаружена у штамма *Bac. thuringiensis* var. *israelensis*. Почти половина выделенных из разных насекомых штаммов *Bac. sphaericus* оказывала ларвицидное действие, однако лишь одна культура данного вида имела высокую активность.

Ключевые слова. комары, спорообразующие бактерии.

В последние годы получены обнадеживающие данные об использовании микроорганизмов для борьбы с комарами. Особый интерес вызывает разновидность спорообразующих бактерий *Bac. thuringiensis* var. *israelensis*, оказавшаяся специфически вирулентной к комарам [5]. Культуры этих бактерий относятся к хорошо изученному виду спорообразующих бактерий, являющемуся в настоящее время основой для производства инсектицидных препаратов против многих видов вредоносных насекомых. При испытании культур этой разновидности, трактуемой как серотип 14 *Bac. thuringiensis*, получены перспективные результаты в борьбе с комарами [2].

Другим видом спорообразующих бактерий, заслуживающим большого внимания, является *Bac. sphaericus* [4, 7]. Из погибших комаров различных районов выделены высоковирулентные штаммы данного вида бактерий, эффективные в борьбе против разных родов этого насекомого [7, 8].

Если инсектицидное действие культур *Bac. thuringiensis* обусловлено особыми кристалловидными включениями белковой природы, то механизм энтомоцидного действия бактерий *Bac. sphaericus* пока не выяснен и подробно изучается.

Настоящая работа посвящена изучению инсектицидного действия культур спорообразующих бактерий *Bac. thuringiensis* и *Bac. sphaericus* на личинок комаров.

Материал и методика. Объектами исследований являлись культуры выделенных нами оригинальных штаммов *Bac. thuringiensis* и *Bac. sphaericus*. Идентификация их проводилась на основе комплекса морфо-физиологических и серологических особенно-

штампы в соответствии с их видовой диагностикой [1, 3]. Все испытанные штаммы были выделены из организмов погибших насекомых разных районов страны. Для выделения культур насекомые растирались в капле стерильной воды, затем суспендировались в разных разведениях и высевались на поверхность агаризованной среды (МПА) в чашках Петри. После микроскопии выросших колоний культуры *Bac. thuringiensis* и *Bac. sphaericus* очищались расеем на чашках и высевались в чистую культуру. Серотипизация проводилась агглютинацией к жгутиковому антигену по методике французских авторов [6]. Штаммы бактерий испытывались в виде водных суспензий 3-суточных культур с МПА и культуральной жидкости при росте на мясопептонном бульоне (МПБ).

Инсектицидность определялась по отношению к личинкам желтолихорадочного комара — *Aedes aegypti* L., который избран тест-объектом как удобная лабораторная культура со сравнительно высокой стойкостью к различным микроорганизмам.

Брали 25 личинок *Aedes aegypti* III—IV возраста на 50 мл водной суспензии с различными разведениями испытываемой культуры. Контрольные личинки находились в воде при аналогичных условиях. Учет гибели личинок проводили спустя 1, 2, 3, 6, 24 и 48 часов. опыты ставились с расчетом определения минимально токсичной летальной дозы испытываемой культуры бактерий. Поэтому тестирование начиналось с культуральных жидкостей бактерий в максимально высоких титрах, а в дальнейшем — при установлении их летальности — проводились их серийные разведения до выявления минимально летальной концентрации.

В предварительных опытах вирулентность бактерий определялась наблюдениями за гибелью личинок в течение одной недели, но в дальнейшем учет был ограничен 48-ю часами, поскольку принципиальных различий в результатах испытаний при этих сроках не было установлено.

Результаты и обсуждение. В табл. 1 обобщены данные о кулицидной активности 219 штаммов различных серотипов *Bac. thuringiensis* энтомогенного происхождения.

Из указанного числа штаммов *Bac. thuringiensis* лишь 68 не обладали кулицидной активностью к личинкам *Aedes aegypti*, 4 штамма обладали высокой активностью, проявляющейся в быстром действии в слабых титрах порядка 10^4 — 10^5 спор/мл, остальные были активны в различной степени.

Обобщая полученные результаты, можно заключить, что культуры серотипа I (*thuringiensis*) не активны к личинкам испытанного вида комаров. Установленная вирулентность 6-ти штаммов в высоких титрах (2,7 млрд спор/мл) может быть отнесена к действию термостабильного экзотоксина. Испытанные штаммы серотипа 3 также могут быть охарактеризованы как штаммы, лишенные выраженной кулицидной активности, хотя в высоких титрах спор отмечена гибель личинок. Культуры серотипов 4, 5, 6, 10 также должны быть охарактеризованы как разновидности *Bac. thuringiensis*, лишенные выраженной энтомоцидной активности к личинкам *Aedes aegypti*.

Из 165-ти изученных культур неидентифицированных серотипов *Bac. thuringiensis* нами обнаружено 4 высокоактивных штамма к личинкам *A. aegypti*, причем 2 из них вызывали их гибель спустя 15 мин, а 2 других — через одни сутки. Интересно отметить, что среди несеротипируемых культур *Bac. thuringiensis* 53 штамма в высоких концентрациях оказались лишенными какой-либо кулицидной активности при наблюдениях в течение 2-х суток. Этот факт свидетельствует о

Таблица 1

Кулицидная активность культур *Bac. thuringiensis* разных серотипов к личинкам *Aedes aegypti*

Серотипы	Происхождение	Количество штаммов	Титр, млрд спор/мл	Гибель личинок, % спустя			
				1 ч	3 ч	6 ч	24 ч
H-1, <i>thuringiensis</i>	большой подкорный клоп, озимая совка	6	2,7	100			
H-3, <i>alesti</i>	гроздевая листовертка, большая восковая моль	3	2,0	0	100		
H-4, <i>dendrolimus</i>	большой подкорный клоп, паразит яблонной моли	1	2,1	100			
		2	2,4	0	0	100	
		4	2,4	0	0	0	0 20
H-5, <i>galleriae</i>	гроздевая листовертка, озимая совка, хищник яблонной моли	3	1,9	100			
		3	2,9	0	100		
		9	0,7	0	0	0	70 90
	паразитированные гусеницы яблонной моли, большая восковая моль	5	1,2	0	0	0	0
H-6, <i>entomocidus</i>	совка	1	2,1	100			
H-10, <i>caucasus</i>	колорадский жук, вола из местообитания комаров, совка - псилон, яблонная моль, паразит яблонной моли, плодовая моль	2	2,3	100			
		3	2,0	0	0	0	80 100
		11	2,0	0	0	0	0
H-14, <i>israelensis</i> (типовой штамм)	личинка комара	1	0.000001	100			
Несеротипируемые	гусеницы совки, личинки комаров, слепни, совки, личинки комара	2	0.000003	100			
		8	0,7	100			
		4	3,0	0	100		
	вола из местообитания комаров, блохи	3	1,9	0	0	100	
		2	0,00002	0	0	0	80-100
	различные насекомые	93	2,0	0	0	0	50-100
	различные насекомые	53	2,0	0	0	0	0

том, что среди культур *Bac. thuringiensis*, образующих кристаллоподобные энтомоцидные токсины, имеются штаммы, лишенные какой-либо энтомоцидной активности к личинкам изученного вида комаров. С другой стороны, по-видимому, среди бактерий указанного вида имеются разновидности, отличающиеся от серотипа *israelensis* и могущие представить практический интерес в аспекте использования их в борьбе с комарами.

Обобщенные данные наших опытов, представленные в табл. 2, показывают, что из 34-х испытанных культур *Bac. sphaericus* 13 штаммов проявляют кулицидное действие на личинок *A. aegypti*, из них 5 штаммов высокоактивны. Как правило, гибель личинок при скармливании им спор *Bac. sphaericus* наступает—за редким исключением—спустя 24 ч, в отличие от *Bac. thuringiensis*, при применении которых обнаруживается обратная картина. Действующее начало и механизм энтомоцидного действия бактерий указанных видов, что подтверждается приведенными данными наших опытов, различны. Анализ полученных ре-

Таблица 2

Кулицидная активность культур *Bac. sphaericus* к личинкам *A. aegypti*
(минимальная летальная доза в расчете титра спор на 1 мл водной суспензии)

Источник выделения	Количество культур	Титр спор, млрд/мл	Гибель личинок, %, спустя		
			2 ч	24 ч	48 ч
Coleoptera					
Личинки колорадского жука, Украинская ССР	1	0,0007	100		
	1	1,7	0	100	
Diptera					
Слепни, Армянская ССР	1	1,7	0	100	
Личинки комаров, Тюм. обл.	7	2	0	0	0
	2	0,001	0	100	
Личинки комаров, Индия	1	2,2	0	100	
Мухи, Литовская ССР	3	1,5	0	0	0
Lepidoptera					
Гусеницы совок, Армянская ССР	2	1,3	0	100	
	2	0,00025	0	0	100
	2	1	0	0	20
Гусеницы совок, Украинская ССР	1	1,5	0	100	
	1	6	0	100	
Гусеницы пядениц, Литовская ССР	3	2	0	0	0
Гусеницы гроздевой листовертки, Армянская ССР	1	1	0	100	
Гусеницы листоверток, Литовская ССР	2	2	0	0	0
Гусеницы непарного шелкопряда, Литовская ССР	2	2	0	0	0
Гусеницы яблонной плодожорки, Армянская ССР	2	2	0	0	0

результатов не вскрыл какой-либо закономерности в зависимости от источника энтомогенного происхождения и специфической кулицидной активности изученных штаммов *Bac. sphaericus*. Лишенные вирулентности культуры данного вида выделены нами из погибших комаров, непарного шелкопряда, яблонной плодожорки, листоверток, пядениц и других насекомых. С другой стороны, активные к личинкам комаров штаммы были выделены также из этих видов насекомых.

Испытания на ларвицидную активность к *A. aegypti* проводились с суспензией хорошо заспорированных культур *Bac. sphaericus*, начиная с высоких титров порядка 1—2 млрд спор/мл. С некоторыми наиболее вирулентными штаммами нами были проведены специальные опыты по изучению минимальной летальной дозы в расчете на количество спор, вызывающих 100-процентную гибель личинок. Среди испытанных нами

штаммов *Bac. sphaericus* был выделен лишь один, вызывавший в течение 2-х часов 100-процентную гибель личинок при титре 1×10^5 спор/мл.

На материале изученных штаммов можно заключить, что, за исключением одной культуры *Bac. sphaericus*, выделенной из личинок колорадского жука, остальные вирулентные штаммы оказывают ларвицидное действие спустя 24 ч после испытания их во взвеси с бактериями этого вида. Два штамма вызвали полную гибель личинок спустя 48 часов. Приведенные данные, по-видимому, указывают на развитие токсикоза у личинок комаров после заглатывания ими испытанных бактерий.

Проведенное исследование морфо-физиологических особенностей культур *Bac. sphaericus* выявило их неоднородность по многим признакам. Коррелятивной зависимости между кулицидностью и тем или иным комплексом этих свойств нам не удалось обнаружить. Вместе с тем микроскопия живых и окрашенных препаратов культур этого вида в цикле развития не выявила в спорулирующих клетках кристалловидных включений.

Указанный факт также подтверждает различный характер механизма энтомопатогенного действия культур *Bac. sphaericus* и *Bac. thuringiensis* на личинок комаров.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 27.VII 1981 г.

ԱԷՐՈԲ ՍՊՈՐԱՎՈՐ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՄՈՍԿԻՏԻՑԻԴՆԵՐԸ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Կ. Ն. ՉԻԼԻՆԳԱՐՅԱՆ, Վ. Շ. ՄԵԼԻՔՍԵՏԻԱՆ, Է. Գ. ԱՖՐԻԿԻԱՆ

Ուսումնասիրվել է մոծակասպանիչ ակտիվության առկայությունը միջատային ծագում ունեցող *Bac. sphaericus*-ի 34 շտամի և *Bac. thuringiensis*-ի տարբեր սերոտիպների 219 շտամի մեջ:

Փորձարկված *Bac. thuringiensis*-ի շտամների մեծ մասը բարձր խտության դեպքում օժտված է միջատասպանիչ հատկությամբ *Aedes aegypti*-ի թրթուրների նկատմամբ: Մեծագույն ակտիվություն հայտնաբերվել է *Bac. thuringiensis*, var. *israelensis*-ի շտամների մեջ: *Bac. sphaericus*-ի շտամների գրեթե կեսը օժտված է մոծակասպանիչ հատկությամբ, բայց միայն մի կուլտուրա ունի բարձր ակտիվություն:

ON THE MOSQUITOCIDE ACTIVITY OF AEROBIC SPOREFORMING BACTERIA

K. N. CHILINGARIAN, V. SH. MELIKSETIAN, E. G. AFRIKIAN

The screening of mosquito-cide activity of *Bac. thuringiensis* and *Bac. sphaericus* cultures have been carried out. Mosquito-cide action against *Aedes aegypti* larvae in high concentrations has been observed in *Bac. thuringiensis* cultures belonging to different serotypes. The strain of *Bac. thuringiensis* var. *israelensis* which was very active to *A. aegypti* larvae has been isolated.

Almost half of *Bac. sphaericus* cultures isolated from various insects has revealed mosquitocide activity but the only strain had strong larvicide action.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- 1 Африкян Э. К. Энтомопатогенные бактерии и их значение. Ереван, 1973.
- 2 Дубицкий А. М., Саубенова О. Г., Черкашин А. Н., Лухменева О. П., Рахимбаева К. Т. РЖБ. № 11Л, 67, 419. Деп., 1980
- 3 Buchanan R. E., Gibbons N. E. Bergey's Manual of determinative bacteriology. 8-th ed., Williams a. Wilkins Co., Baltimore, 1974.
- 4 Davidson E. W., Singer S., Briggs J. D. J. Invertebr. Pathol., 25, 179-184, 1975.
- 5 De Barjac H. C. R. Acad. S. D., 286, 797-800, 1978.
- 6 De Barjac H., Bonnesol A. Entomophaga, 7, 5, 1972.
- 7 Singer S. Dev. Ind. Microbiol., 20, 117-122, 1979.
- 8 Singer S. Biotechnology a. Bioengineering, 22, 1335-1355, 1980.

УГНЕТАЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ БАКТЕРИЙ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН ПОВИЛИКИ

Э. А. ОГАНЯН

Установлено ингибиторное влияние некоторых бактерий, особенно группы *Bac. subtilis-mesentericus*, на семена и молодые ростки повилики одноствольковой *Cuscuta monogyna* Vahl.

Ключевые слова: повилика, бактерии.

Одним из разрабатываемых методов борьбы с повиликой, *Cuscuta monogyna* Vahl., злостным паразитом сельскохозяйственных растений, является биологический метод. С этой точки зрения определенный интерес представляют естественные враги повилики, как микроорганизмы, так и насекомые.

Изучение микрофлоры повилики [1—7] показало, что имеются виды грибов, которые в благоприятные для их развития годы могут вызвать массовое поражение се. Другие же представители грибов, входящие в состав эпифитной микрофлоры, могут воздействовать на отдельные органы повилики своими метаболитами. К их числу относится *Trichothecium roseum* Link. и продуцируемый им антибиотик, исследованный нами [1—4].

Настоящее исследование посвящено выявлению микробов—ингибиторов повилики из группы бактерий.

В процессе наших исследований были использованы как штаммы бактерий, выделенные с разных органов здоровой и больной повилики и из почвы (30 штаммов), так и штаммы, полученные ранее из Института микробиологии АН Армянской ССР—спорообразующие (37 штаммов) и 15 штаммов из рода *Pseudomonas*.

Ранее нами сообщалось о массовом преждевременном усыхании повилики виноградной лозы в условиях учебного хозяйства АрмСХИ. Среди образцов больной повилики были обнаружены бурые, липковатые побеги и соцветия, с которых выделены бактерии и грибы. Кроме того, были выделены бактерии из почвы под виноградниками, пораженными повиликой.

Материал и методика. Для опытов использовались стимулированные семена повилики, *Cuscuta monogyna* Vahl., с высокой прорастаемостью, не ниже 90—95%. Метод проращивания повилики в лабораторных условиях описан нами ранее [1—3]. Бактерии проращивались в колбах на жидких средах: МПБ, пептоно-глюкозной сре-

де, на среде Эшби и разбавленном пивном сусле при 24—25° в течение 10 дней. Испытывали действие культуральной жидкости и фильтрата на семена и ростки разной длины, в качестве контроля применялись вода и соответствующая питательная среда. Учеты проводили на 5—10-е дни опыта (наблюдения продолжали и далее, пока в контроле ростки были здоровыми). Поскольку используемые среды, как показали результаты опытов, не оказывают угнетающего влияния на прорастание семян и рост ростков повилки, в качестве контроля будут приведены лишь данные по воде. Большинство выделенных нами штаммов бактерий с больной повилки относились к группе спорозоносных *Bac. subtilis-mesentericus* и *Bac. mycolides*.

Результаты и обсуждение. В табл. 1 обобщены данные о влиянии культуральной жидкости бактерий на семена повилки одностолбиковой с виноградной лозы.

Таблица 1

Влияние некоторых штаммов спорозоносных бактерий на прорастание семян повилки

Виды бактерий	Процент проросших семян	Длина ростков на 10-й день, см	Вид ростков
Контроль (вода)	100	15—20	ростки здоровые, белые
<i>Bac. mesentericus</i>	0	—	семена набухшие, позеленевшие
<i>Bac. brevis</i>	0	—	
<i>Bac. subtilis</i>	0	—	то же
<i>Bac. megaterium</i>	0	образовались клювики	клювики зеленоватые
<i>Bac. mycolides</i>	0	то же	то же
<i>Bac. cereus</i>	100	4—5	ростки белые
<i>Bac. polymyxa</i>	100	6—10	ростки белые

Согласно данным таблицы, наиболее сильными ингибиторами семян повилки являются штаммы видов *Bac. mesentericus*, *Bac. brevis*, *Bac. subtilis*, *Bac. megaterium*, *Bac. mycolides*. Однако в процессе работы были выявлены также штаммы этих видов, которые оказывали слабое ингибирующее влияние на семена. К ним относятся *Bac. mesentericus roseus*, *Bac. subtilis 3062* и др. Из 20-ти штаммов спорозоносных бактерий, выделенных из почвы виноградников, 13 — группы *Bac. subtilis-mesentericus* и *Bac. mycolides* — оказались сильными ингибиторами семян повилки. Среди штаммов, выделенных из преждевременно усохшей повилки, липковатой на ощупь, были такие, которые вызывали не только позеленение семян, но и гниль. Результаты опытов показали, что при ингибирующем действии штаммов набухшие семена повилки приобретают зеленоватую окраску (рис. 1, 2).

Данные табл. 2 показывают, что среди штаммов *Pseudomonas* имеются культуры с ингибиторным влиянием на семена, а азотобактеры, наоборот, могут даже стимулировать рост ростков.

Данные табл. 3 показывают, что как среди спорозоносных, так и неспорозоносных бактерий имеются штаммы, которые могут подавлять дальнейший рост ростков. На основании результатов опыта были отобраны наиболее активные ингибиторы повилки и испытаны их метаболиты.

Выяснилось, что фильтраты культуральной жидкости активных штаммов сохраняют ингибиторную активность как при действии на семена, так и на короткие ростки.

Действие ингибиторов ослабляется при заражении ростков, имеющих длину более 5 см. Однако и в этих вариантах наблюдалось частичное гниение ростков.

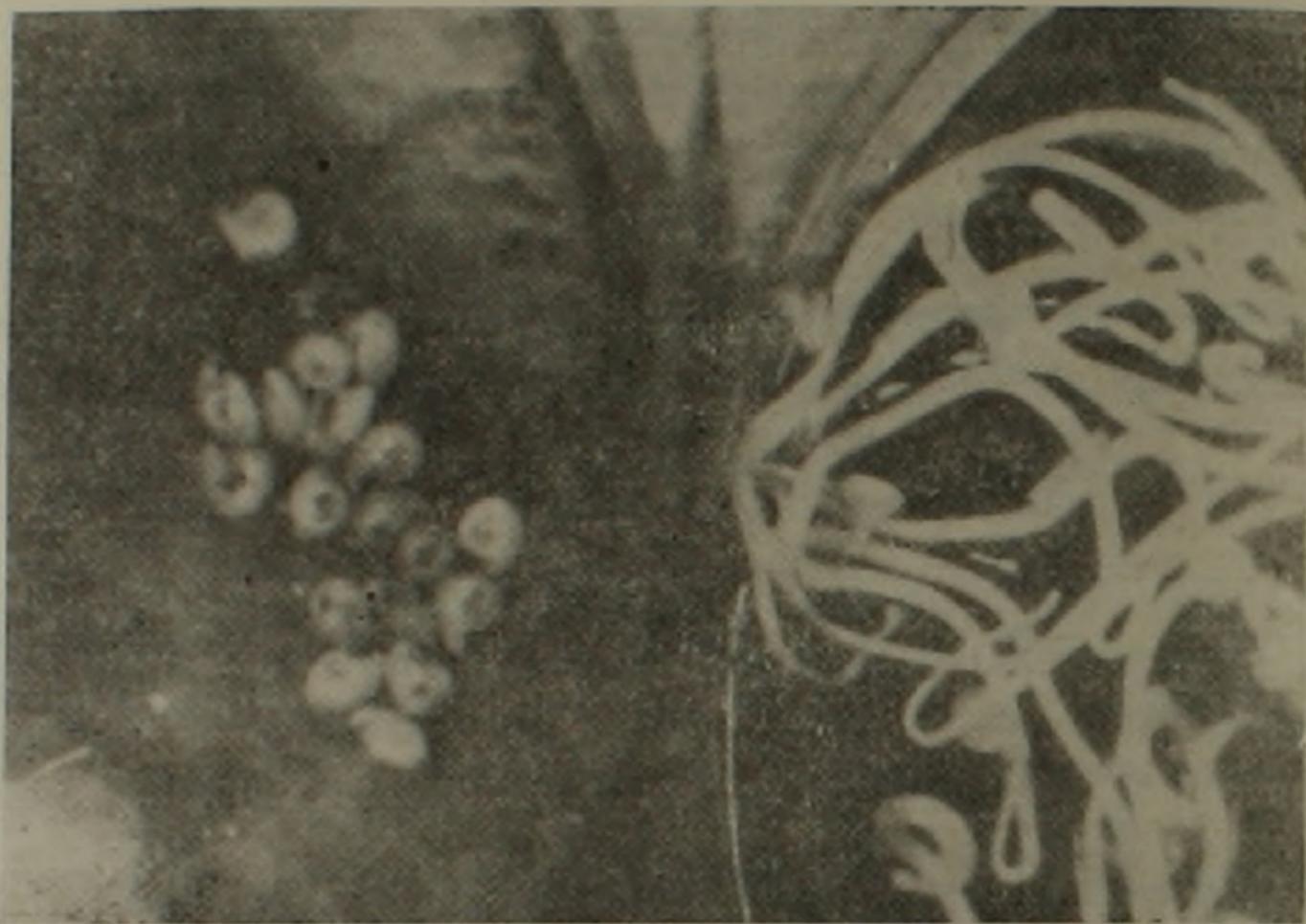


Рис. 1. Ингибиторное влияние спороносных бактерий на семена повилки, справа—контроль, на 10-й день.

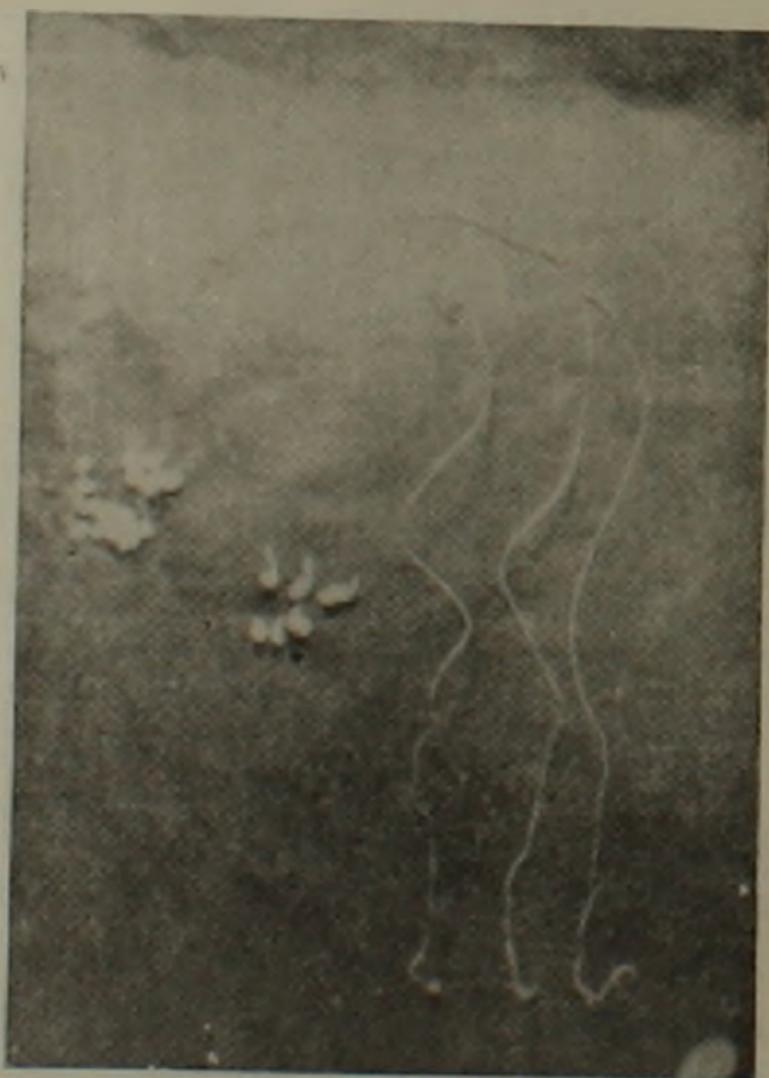


Рис. 2. То же с культурами *Bac. brevis* и *Bac. thurcoides*, контроль—справа.

Таблица 2

Влияние культуральной жидкости неспороносных бактерий
на проращивание семян повилки

Штаммы бактерий	Процент проросших семян	Длина ростков на 10-й день, см	Состояние ростков
Контроль (вода)	100	12—15	ростки, белые, здоровые
<i>Pseudomonas</i> sp., штаммы 27, 1060, 17, 261, 5, 41	100	3—6	
<i>Pseudomonas</i> sp., шт. 47	50	0,5	зеленоватые
<i>Pseudomonas</i> sp., шт. 61	60	1,5—2	белые ростки
<i>Pseudomonas</i> sp., шт. 3	100	1,5—2	зеленоватые, сгнившие
<i>Pseudomonas</i> sp., шт. 4	50	0,3—0,5	зеленоватые
<i>Azotobacter chroococcum</i> , шт. 171	100	15—16	здоровые, длиннее, чем в воде
<i>Azotobacter chroococcum</i> (5 штаммов)	100	10—13	здоровые, белые
<i>Azotobacter agile</i> , шт. 33	100	9—11	здоровые, белые

Таблица 3

Влияние разных штаммов бактерий на рост ростков повилки одностолбиковой
(ростки до опыта—с булавовидный отросток)

Штаммы бактерий	Длина ростков на 10-й день, см	Состояние ростков
Контроль (вода)	14—18	белые, здоровые
<i>Bac. mesentericus</i> , шт., 1226		
<i>Bac. mesentericus niger</i> , шт. 45		
<i>Bac. mesentericus vulgaris</i> , шт. 66	2—4	все сгнившие
<i>Bac. brevis</i>	6—8	здоровые
<i>Bac. mesentericus</i> из почвы, 8 штаммов	1,5—2	сгнили
<i>Bac. mycoides</i>	4—7	часть сгнивших
<i>Bac. cereus</i> , шт. 720, 647	3—5	сгнившие, зеленоватые
<i>Bac. mycoides</i> (гладкий)	11—13	здоровые
<i>Bac. polymyxa</i>	10—12	здоровые
<i>Pseudomonas</i> sp., шт. 4, 6, 47, 37	6—7	частично
<i>Pseudomonas</i> sp., шт. 27, 1060	3—6	все сгнившие

Интересно было выявить действие некоторых активных штаммов на нестимулированные семена повилки. С этой целью семена помещали в культуральную жидкость на 3—4 дня, контролем служили семена, выдержанные в воде и необработанные вообще. Затем семена стимулировали обычным способом и ставили на проращивание по той же методике. Результаты этих опытов показали, что метаболиты некоторых штаммов бактерий могут воздействовать на зародыш семени через неповрежденную кожицу семян повилки, устойчивую против многих факторов. Таковыми являются некоторые штаммы спороносных бактерий, выде-

ленных из почвы. Для части же активных ингибиторов прорастающих семян неповрежденная кожица семян оказывается непроницаемой.

Обобщая результаты проведенных исследований, следует отметить, что среди изученных бактерий наиболее активными ингибиторами как прорастающих семян, так и молодых проростков повилки одностолбиковой являются многие штаммы спороносных бактерий, особенно из группы *Bac. subtilis-mesentericus*. Интересно, что некоторые ингибиторы могут воздействовать на семена через неповрежденную прочную семенную кожицу.

Можно полагать, что большое распространение некоторых групп спороносных бактерий в почве способствует частичному уничтожению прорастающих семян повилки, что надо иметь в виду при проведении агротехнических мероприятий, способствующих улучшению воздушного режима почвы.

Армянский сельскохозяйственный институт

Поступило 27 III 1981 г

ԿԱՂՋԻ ՍԵՐՄԵՐԻ ՄԱՄԱՆ ՎՐԱ ՈՐՈՇ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԻՆՀԻԲԻՏՈՐԱՏԻՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Է. Ա. ՕՀԱՆՅԱՆ

Ստուամնասիրվել է որոշ սպորավոր և ոչ սպորավոր բակտերիաների ազդեցությունը գաղձի սերմերի և երիտասարդ ծիլերի աճման վրա: Ստացված արդյունքները ցույց են տվել, որ հատկապես *Bacillus subtilis-mesentericus* սպորավոր բակտերիաների շտամները կարող են լրիվ կասեցնել գաղձի ինչպես ծլող սերմերի, այնպես էլ երիտասարդ ծիլերի աճը:

ON THE INHIBITORY ACTION OF SOME BACTERIA ON THE GERMINATION OF DODDER SEEDS

E. A. OHANIAN

Among the bacteria tested *Bacillus subtilis-mesentericus* group was the most active to inhibit the growth of young dodder seedlings and the germination of seeds.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Оганян Э. А., Карапетян Н. О. Сб. науч. тр. АрмСХИ, вып. 14, 1965.
2. Оганян Э. А., Карапетян Н. О. Сб. науч. тр. АрмСХИ, вып. 15, 1967.
3. Оганян Э. А. Мат. лы научн. конф., Краснодар, 1967.
4. Оганян Э. А. Биолог. ж. Армении, 24, 9, 1976.
5. Рудаков О. Л. Сб. работ по микологии и альгологии. Фрунзе, 1963.
6. Рудаков О. Л. Грибной паразит повилки, его выращивание и применение, Фрунзе, 1961.
7. Рудаков О. Л. Альтернариоз повилки, Фрунзе, 1960.

УДК 631.461:577.16

МИКРОФЛОРА КАШТАНОВЫХ ПОЧВ АРАРАТСКОЙ КОТЛОВИНЫ

Л. А. ХАЧИКЯН

Приведена микробиологическая характеристика горных каштановых почв. Установлена определенная зависимость между составом почвенной микрофлоры и подтипами каштановых почв.

Ключевые слова: микрофлора, каштановые почвы.

Почвенный покров зоны каштановых почв характеризуется довольно большой пестротой, что обусловлено рельефом, материнскими породами, каменистостью и слабощелочной или нейтральной реакцией.

В Армении выделяются два самостоятельных подтипа: темно-каштановые и светло-каштановые почвы [8]. В верхнем гумусо-аккумулятивном горизонте целинных каштановых почв содержание перегноя варьирует в пределах 2,2—3,8% и вниз по профилю почв постепенно снижается.

Специфичность свойств горных каштановых почв, растительность и климат засушливых степей накладывает характерный отпечаток на жизнедеятельность микроорганизмов, формируя специфические микробные ценозы в подтипах каштановых почв.

Соотношение групп микроорганизмов в каштановых почвах обуславливает специфику разложения органических веществ и растительных остатков в зоне сухих степей.

Микрофлора подтипов каштановых почв Армении изучена недостаточно, имеются лишь работы относительно распространения некоторых групп бактерий и актиномицетов [1, 2, 4, 7]. Целью настоящей работы явилось выявление количественного и родового состава микроорганизмов подтипов каштановых почв, характеризующих их биологическую активность.

Материал и методика. Исследования проводились на горных каштановых почвах Араратской котловины Абовянского, Наиринского и Талинского районов.

В основу микробиологических исследований положен метод почвенных разведений в высевах на плотных и жидких питательных средах. Посевы проводились из разво-
дков свежих почвенных образцов глубинным способом. Учитывались следующие группы микроорганизмов: бактерии на крахмало-аммиачном и мясо-пептонном агаре; актиномицеты—на крахмало-аммиачном агаре; грибы (численность и групповой состав) на сусле агаре с молочной кислотой; олигонитрофилы и азотобактер—на агаре Эшби.
Для изучения спорозоных бактерий применялась смесь равных объемов мясо-пептон-

ного агара и сусло-агара по Мишустину, для аммонификаторов—пептонная вода, для нитрификаторов—жидкая среда 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, актиномицетов, грибов [5, 11, 12].

Результаты и обсуждение. Каштановые почвы, развиваясь в условиях горного расчлененного рельефа в сухостепной зоне, приобрели не одинаковые биологические свойства. Подтипы каштановых почв различаются между собой микробиологической активностью, обусловленной условиями почвообразования. Этим почвам свойственны определенные бактериальные и грибные группировки. Во всех микробных сообществах в изученных почвах преобладают бактерии, актиномицеты, грибы.

Сводные данные, подытоженные в табл. 1 и 2, показывают, что содержание органических веществ в значительной степени определяет состав почвенной микрофлоры, формирование ее ценозов и растительности.

Таблица 1

Численность и относительное содержание микроорганизмов горных каштановых почв

Местонахождение разреза	Горизонт, глубина, см	Количество микроорганизмов, млн/г			Относительное содержание основных групп, %		
		бактерии	актиномицеты	грибы	бактерии	актиномицеты	грибы
Темно-каштановые							
Абовянский район, г. Абовян	A 0—15	10,00	7,30	0,10	57	42	1
	B ₁ 15—34	7,40	3,00	нет	71	29	—
	BC 34—73	4,60	1,20	нет	79	21	—
	C ₁ 73—105	3,70	0,20	нет	84	16	—
	C ₂ 105—155	1,30	0,10	нет	93	7	—
Наирийский район, с. Егвард	A 0—16	10,08	1,86	0,22	83	15	2
	B ₁ 16—30	5,68	0,53	0,06	94	5	1
	B ₂ 30—48	4,89	0,53	нет	90	10	—
	C 48—60	3,93	0,34	нет	92	8	—
Светло-каштановые							
Талинский район, с.Тлянк	A 0—9	5,78	0,78	0,02	84	14	2
	B ₁ 9—21	5,00	0,62	0,02	88	11	1
	B ₂ 21—33	3,84	0,48	0,01	88	12	—
	BC 33—46	3,24	0,46	0,01	87	13	—
	C 46—70	2,14	нет	нет	100	—	—
Наирийский район, с. Егвард	A 0—24	6,91	2,04	0,08	76	23	1
	B 24—47	4,71	0,78	0,06	84	14	2
	BC 47—72	4,11	0,58	нет	88	12	—
	C 72—116	3,49	0,48	нет	88	12	—

В подавляющем большинстве случаев независимо от подтипов почв и характера растительного покрова проявляется одинаково выраженная закономерность—постепенное уменьшение содержания всех групп микроорганизмов с глубиной почвенного разреза и уменьшением гумуса.

Таблица 2

Численность отдельных физиологических групп микроорганизмов
горных каштановых почв, млн/г

Местона- хождение разреза	Горизонт, глубина, см	Бактерии		Олиго- нитро- филы	Целлю- лозо- разру- шающие	Аммони- фика- торы	Нитри- фикато- ры
		споро- носные	неспоро- носные				
Темно-каштановые							
Абовянский район, с. Абовяи	A ₁ 0—15	5,50	3,83	8,31	0,36	7,80	1,20
	B ₁ 15—34	3,70	2,44	7,24	0,10	0,70	1,20
	BC 34—73	1,53	1,53	7,20	0,10	0,70	1,20
	C ₁ 73—105	1,14	0,90	1,41	нет	0,30	1,00
	C ₂ 105—155	0,70	0,63	0,91	нет	0,30	1,00
Накрыйский район, с. Егвард	A 0—16	6,65	3,17	9,11	0,22	1,20	1,20
	B ₁ 16—30	2,72	1,90	5,17	0,15	0,77	1,20
	B ₂ 30—48	2,50	1,62	4,15	0,12	0,75	1,18
	C 48—60	2,20	1,50	2,81	0,11	0,25	1,18
Светло-каштановые							
Талинский район, с. Талия	A 0—9	4,22	1,83	2,79	0,24	1,25	1,25
	B ₁ 9—21	4,20	1,14	2,37	0,23	1,22	1,22
	B ₂ 21—33	1,74	0,93	2,21	0,10	0,82	1,22
	BC 33—46	1,74	0,73	2,08	0,04	0,70	1,10
	C 46—70	1,65	0,36	0,23	0,03	0,01	1,20
Накрыйский район, с. Егвард	A 0—24	4,99	1,54	5,18	0,20	0,39	1,28
	B 24—47	4,14	0,58	2,20	0,14	0,28	1,26
	BC 47—72	3,89	0,52	1,90	0,13	0,26	1,25
	C 72—118	3,72	0,35	1,60	0,12	0,08	1,20

Относительное содержание бактерий в составе микрофлоры каштановых почв значительно меньше, чем в черноземах. Однако в темно-каштановых почвах численность микроорганизмов приближается к их количеству в обыкновенных подтипах чернозема.

Одной из характерных черт каштановых почв является содержание в них актиномицетов. Установлено, что темно-каштановые почвы намного богаче актиномицетами, чем черноземы. Большая численность актиномицетов в этих почвах создает своеобразные условия для превращения органического вещества и его гумификации в почве [10]. Из актиномицетов здесь встречается *Act. albus*, *Act. oryzae*, *Act. rectus*, *Act. griseus* и др., участвующие в разрушении клетчатки. Микроскопических грибов в зоне каштановых почв относительно меньше, чем в подтипах чернозема [9].

При сравнении микрофлоры темно- и светло-каштановых почв выявляется более высокое содержание микроскопических грибов в темно-каштановых почвах. Относительно высокий уровень минерализации в каштановых почвах приводит к снижению содержания грибов рода *Penicillium*, дрожжеподобных грибов и возрастанию количества представителей рода *Aspergillus*. Процессы минерализации здесь протекают в более глубоких слоях, чем в черноземах [3, 6, 9].

В составе бактериальной флоры в горных каштановых почвах наблюдается большая численность спороносных бактерий с преобладанием *Bac. megaterium* и *Bac. mesentericus*, что указывает на характер разложения органического вещества, типичный для засушливой степной зоны.

В табл. 2 приведены результаты исследований микробиологического профиля почв, свидетельствующие о том, что каштановые почвы богаты олигонитрофилами, азотобактер встречается редко, в основном в светло-каштановых почвах и особенно в их пахотных вариантах. Установлено, что большое количество олигонитрофилов представлено бактериями, принадлежащими к родам *Bacillus*, *Bacterium*, *Pseudomonas*, актиномицетами, принадлежащими к родам *Act. albus*, *Act. griseus*, *Act. rectus*.

В горных целинных каштановых почвах целлюлоза разлагается преимущественно при участии аэробных целлюлозоразрушающих актиномицетов и грибов. Из целлюлозоразрушающих грибов встречаются *Stachybotrys*, *Stysanus*, *Aspergillus*. Процессы аммонификации, нитрификации и сульфификации в каштановых почвах протекают интенсивно.

Таким образом, установлено, что горные каштановые почвы характеризуются умеренной микробиологической активностью. Выявлена определенная зависимость между составом почвенной микрофлоры и подтипами каштановых почв. Распределение микрофлоры по профилю почв характеризуется постепенным снижением содержания микроорганизмов, в зависимости от мощности перегнойного слоя. Темно-каштановые почвы по сравнению со светло-каштановыми отличаются высокой микробиологической активностью. Специфичность группового состава почвенной микрофлоры горных каштановых почв в отличие от черноземов заключается в большей численности актиномицетов, спороносных бактерий. Из грибов наиболее типичен для них род *Aspergillus*.

Институт почвоведения и агрохимии,
МСХ Армянской ССР

Поступило 18.III 1981 г.

ԱՐԱՐԱՏՅԱՆ ԳԵՏԱՀՈՎՏԻ ՇԱԳԱՆԱԿԱԿՈՒՅՆ ՀՈՂԵՐԻ ՄԻԿՐՈՅԼՈՐԱՆ

Լ. Ա. ԽԱԶՐԿՅԱՆ

Հոդվածում տրված է լեռնային շագանակագույն հողերի ենթատիպերի մանրէաբանական բնութագիրը: Պարզվել է, որ մուգ շագանակագույն հողերը օժտված են մանրէաբանական ավելի բարձր ակտիվությամբ, քան բաց շագանակագույնները: Շագանակագույն հողերը տարբերվում են միկրոֆլորայի խմբակային կազմի յուրահատկությամբ, ճառագայթասնկերի և սպորազոոքակտերիաների քանակությամբ, որը շատ տիպիկ է չոր սառիաստատանային գոտու հողերի համար:

ON THE MIKROFLORA OF MOUNTAINOUS CHESTNUT SOILS IN ARARAT HOLLOW

I. A. KHACHIKIAN

The microbiological characteristics of Ararat hollow chestnut soil has been presented. The presence of certain relationships between the composition of soil microflora and chestnut soils subtypes has been shown.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Африкян Э. К. *Вопр. с.-х. и пром. микробиологии*, 1, вып. 7, Ереван, 1953.
2. Африкян Э. К. *Вопр. с.-х. и пром. микробиологии*, 1, вып. 11, Ереван, 1961.
3. Егоров С. В. В кн.: *Микрофлора почв южной части СССР*. М., 1966.
4. Киракосян А. В., Зубетян Л. А., Каримян Р. С. *Вопр. с.-х. и пром. микробиологии*, 11, вып. 8, Ереван, 1955.
5. Красильников Н. А. *Определитель бактерий и актиномицетов*. М.—Л., 1940.
6. Мишустин Е. Н. *Успехи современной биологии*, 37, вып. 1, 1954.
7. Паносян А. К., Туманян В. Г., Тарян Л. С., Арутюнян Р. Ш. *Вопр. с.-х. и пром. микробиологии*, 1, вып. 7, Ереван, 1953.
8. *Почвы Армянской ССР*. Ереван, 1976.
9. Хачикян Л. А. *Биолог. ж. Армении*, 32, 9, 1979.
10. Чулаков Ш. А. *Тр. Ин-та микробиологии и вирусологии АН Каз. ССР*, 4, 1961.
11. *Bergeys manual of determinative bacteriology*. 8th ed., Baltimore, 1974.
12. *Gillman J. G. A manual of soil fungi*. The Iowa State College Press, 1945.

СОХРАНЕНИЕ СВОЙСТВ *BACILLUS SUBTILIS-MESENTERICUS* ПРИ ЛИОФИЛИЗАЦИИ

А. А. ХАЧАТУРЯН, Э. К. АФРИКЯН

Изучено влияние лиофилизации на основные физиологические свойства 40 культур группы *Bacillus subtilis-mesentericus* и родственных видов. Установлено, что использование сыворотки крови в качестве суспензионной среды в целом обеспечивает стабильность основных физиолого-биохимических признаков у большинства изученных культур в течение 2-х лет.

Ключевые слова: спорообразующие бактерии, лиофилизация.

Разработка эффективных методов длительной консервации культур микроорганизмов представляет важную научно-производственную задачу. Аэробные спорообразующие бактерии, благодаря образованию эндоспор, обладают высокой степенью жизнеспособности в самых разнообразных условиях. В этой связи наибольший интерес представляет изучение сохранения у них исходных физиологических свойств. Данные многих авторов показывают, что одним из надежных способов хранения культур многих родов и видов является лиофильное высушивание с предварительным замораживанием [1—6]. При этом одним из важнейших условий является правильный выбор суспензионной среды. С этой целью разные авторы предлагают различные субстраты и их комбинации [7, 12].

Основываясь на результатах наших ранних исследований, мы остановились на применении в качестве оптимальной суспензионной среды нормальной бычьей или лошадиной сыворотки без добавления каких-либо других соединений [7].

Особый практический интерес приобретает исследование стабильности различных свойств для разработки системы дифференциации и идентификации бацилл. Ряд авторов провели подобные исследования для разработки методов кластерного анализа с применением ЭВМ [8, 9].

Целью настоящей работы явилось изучение влияния лиофилизации на основные физиолого-биохимические свойства штаммов группы *Bacillus subtilis-mesentericus* и родственных видов.

Материал и методика. В работе использованы коллекционные культуры групп *Bac. subtilis-mesentericus*, а также родственных видов *Bac. pumilus* и *Bac. licheniformis*. Всего было изучено 40 штаммов, выделенных нами и полученных из зарубежных и отечественных коллекций. Было использовано по 10 штаммов каждого вида.

Для лиофилизации штаммы выращивались на мясо-пептовом агаре с добавлением 1% дрожжевого автолизата до полного высыпания спор, затем суспендировались в нормальной лошадиной сыворотке и разливались по 0,2 мл в стерильные ампулы с внутренним диаметром 0,5 и длиной 10 см. Лиофилизацию проводили следующим образом. Для быстрого замораживания ампулы погружались на 15—20 мин в смесь сухого льда с изопропиловым спиртом (-70°), затем переносились в холодильную камеру при температуре -40° на 4—6 часов. Высушивание осуществлялось в лиофильной камере типа ТГ-15 производства ГДР под вакуумом $10^{-1} - 10^{-1.5}$ при начальной температуре 5—8°, которая повышалась до 37° и сохранялась на этом уровне до полного высыхания осадка. Весь процесс длился 18—20 часов. Лиофилизированные ампулы запаковывались, проверялись на наличие вакуума и хранились при комнатной температуре в течение двух лет. Выведение культур из состояния анабиоза проводилось путем инкубации во вскрытую ампулу 0,2 мл стерильной дистиллированной воды и выдержки в течение 30 мин при комнатной температуре. Далее суспензии высевались на мясо-пептовый агар с 1% дрожжевого автолизата и изучались изменения основных физиолого-биохимических свойств по сравнению с исходными штаммами. Изучение признаков проводилось согласно общепринятым тестам, применительно к аэробным спорообразующим бактериям [10—12].

Результаты и обсуждение. Изучение влияния лиофилизации на свойства культур после двухлетнего хранения выявило различную стабильность признаков у штаммов разных видов бацилл.

Для штаммов группы *Bac. subtilis-mesentericus*, как видно из табл. 1—2, стабильными оказались: наличие каталазной, казеиназной, амилитической (за исключением одного штамма *Bac. subtilis*) и инвертазной активностей, образование ацетилметилкарбинола (АМК), рост

Таблица 1

Сохранение некоторых физиолого-биохимических свойств у бактерий *Bac. subtilis-mesentericus* в лиофилизированном состоянии (учет результатов после 2-х лет, по 10 штаммов каждого вида)

Тесты	<i>Bac. subtilis</i>		Расхождение, %	<i>Bac. mesentericus</i>		Расхождение, %
	количество активных			количество активных		
	до лиофилизации	после лиофилизации		до лиофилизации	после лиофилизации	
Каталаза	10	10	0	10	10	0
Желатиназа	8	6	25	10	10	0
Амилаза	10	9	10	10	10	0
Инвертаза	10	10	0	10	10	0
Протеолиз казеина	10	10	0	10	10	0
Денитрификация	10	9	10	10	9	10
Образование АМК	10	10	0	10	10	0
Рост при pH 5,7	10	10	0	10	10	0
Рост с 7% NaCl	10	10	0	10	10	0

при pH 5,7 и в среде с 7% поваренной соли, отсутствие лецитиназной активности и усвоения пропионата натрия. Желатиназная активность изменилась у двух штаммов *Bac. subtilis* (к двум неактивным штаммам прибавилось еще два), денитрификация—у одного штамма *Bac. subtilis* и *Bac. mesentericus*.

Влияние лиофилизации на усвоение разных источников углерода штаммами *Bac. subtilis*

Источники углерода	Количество ферментирующих		Расхождение, %
	до лиофилизации	после лиофилизации	
Глюкоза, фруктоза, сахароза, трегалоза, маннит, глицерин, сорбит, салицин, молочная кислота	10	10	40
Рибоза, галактоза, мальтоза, лимонная кислота	8	9	15
Манноза, целлобиоза	8	8	0
Ксилоза	8	7	15
Рамноза	5	5	0
Лактоза	7	8	15
Раффиноза	9	7	20
Декстрин	8	5	30
Уксусная кислота	6	6	0
Сорбоза, инулин, дульцит	0	0	0

Данные табл. 2 показывают, что способность усваивать различные источники углерода сохранилась после хранения в лиофилизированном состоянии у разных штаммов по-разному. Так, у штаммов *Bac. subtilis* стабильны ферментирующие свойства в отношении глюкозы, фруктозы, сахарозы, трегалозы, рамнозы, маннита, глицерина, сорбита, молочной кислоты, маннозы и целлобиозы. Другие использованные источники углерода проявляют вариабельность и до лиофилизации, а после нее, например, у штамма *Bac. subtilis* отмечается усвоение лактозы, рибозы, галактозы, мальтозы и лимонной кислоты. Это явление чаще наблюдается у штаммов вида *Bac. mesentericus* (табл. 3). Среди последних наиболее стабильна способность расти на глюкозе, фруктозе, сахарозе и глицерине. Усвоение других источников углерода, указанных в таблице, вариабельно, в особенности у штаммов 12, 63, 1861, 1869.

У большинства штаммов вида *Bac. pumilus* (табл. 4) почти все изученные физиологические свойства оказались стабильными. Это касается и тех культур, которые составляли исключение из данной группы по таксономическим признакам: два штамма из десяти обладали амилолитической способностью и сохранили ее после лиофилизации.

Лиофилизированный штамм 1891 потерял это свойство, желатиназная активность утрачивалась у двух штаммов (1893, 1894), один штамм из десяти (1895) восстанавливал нитраты и до и после лиофилизации.

Усвоение разных источников углерода (табл. 5) также сравнительно более стабильно, чем у группы *Bac. subtilis-mesentericus*—из 10 штаммов *Bac. pumilus* только у одного или двух культур исчезает или появляется свойство усваивать тот или иной сахар, а именно ксилозу, фруктозу, галактозу, трегалозу, маннит, глицерин, декстрин, молочную кислоту. Особенно вариабельны эти признаки у штамма 1892, который стабильно усваивает арабинозу, рибозу, глюкозу, маннозу, раффинозу, целлобиозу, сахарозу, салицин и лимонную кислоту.

Таблица 3

Влияние лиофилизации на усвоение источников углерода штаммами *Bac. mesentericus*

Источники углерода	Количество ферментирующих		Расхождение, %
	без лиофилизации	после лиофилизации	
Глюкоза, фруктоза, сахароза, глицерин	10	10	0
Ксилроза	2	1	50
Лактоза	2	4	50
Арабиноза, рибоза, салицин	5	9	50
Манноза	8	10	20
Галактоза, целлобиоза	6	10	50
Мальтоза	10	9	10
Раффиноза	5	6	20
Инулин	3	0	30
Маннит	9	10	10
Декстрин	9	2	20
Сорбит	7	10	30
Молочная кислота	9	10	10
Рамноза, дульцит	0	0	0

Таблица 4

Влияние лиофилизации на физиолого-биохимические свойства штаммов *Bac. pumilus*

Тесты	Из них активны	Активны после лиофилизации	Расхождение, %
Каталаза	10	10	0
Лецитиназа	0	0	0
Желатиназа	9	7	20
Протеолиз казеина	10	10	0
Амилаза	3	2	60
Денитрификация	1	1	0
Образование АМК	9	9	0
Усвоение цитрата	10	10	0
Усвоение пропионата	7	6	15
Рост при 7% NaCl	10	10	0
Рост при pH 5,7	10	10	0

Таблица 5

Влияние лиофилизации на усвоение источников углерода штаммами *Bac. pumilus*

Источники углерода	Количество ферментирующих		
	до лиофилизации	после лиофилизации	расхождение, %
Арабиноза, рибоза, манноза, глюкоза	10	10	0
Фруктоза, галактоза, трегалоза, маннит, глицерин	9	10	10
Раффиноза, лимонная кислота	9	9	0
Целлобиоза, сахароза, салицин	9	9	0
Ксилроза, молочная кислота	8	9	15
Лактоза	7	10	30
Мальтоза	6	6	0
Сорбоза, инулин, дульцит	0	0	0

Аналогичные с *Bac. pumilus* по стабильности данные получены у культур вида *Bac. licheniformis*. Из табл. 6 видно, что после лиофилизации сохранились каталазная, лецитиназная, казеиназная, амилолитическая активность, рост при pH 5,7 и с 7% поваренной соли, усвоение цитрата натрия, образование АМК. В этой группе после лиофилизации только штамм 1911 потерял способность восстанавливать нитраты и усваивать пропионат натрия. Последнее отсутствовало также у штамма 1908. Перечисленные признаки имеют таксономическое значение для дифференциации: *Bac. licheniformis* от *Bac. subtilis* и *Bac. pumilus* [10].

Таблица 6

Влияние лиофилизации на физиолого-биохимические свойства штаммов *Bac. licheniformis*

Тесты	Количество активных		
	до лиофилизации	после лиофилизации	расхождение, %
Каталаза	10	10	0
Лецитиназа	0	0	0
Желатиназа	2	2	0
Протеолиз казеина	10	10	0
Амилаза	9	9	0
Денитрификация	10	9	10
Образование АМК	10	10	0
Усвоение цитрата	10	10	0
Усвоение пропионата	10	8	20
Рост при 7% NaCl	0	10	0
Рост при pH 5,7	10	10	0

Таблица 7

Влияние лиофилизации на усвоение источников углерода штаммами *Bac. licheniformis*

Источники углерода	Количество ферментирующих		
	до лиофилизации	после лиофилизации	расхождение, %
Арабиноза, рибоза, фруктоза, глюкоза, целлобиоза, маннит, молочная кислота	10	10	0
Галактоза, манноза, мальтоза, трегалоза, глицерин, сорбит, салицин	9	10	10
Ксилоза	8	6	31
Рамноза	7	9	15
Лактоза	6	10	40
Сахароза	10	6	40
Раффиноза	10	9	10
Инулин	1	5	20
Декстрин	9	6	30
Уксусная кислота	7	6	15
Лимонная кислота	10	7	30

Из источников углерода (табл. 7) изученные культуры после хранения в течение 2-х лет в лиофилизированном виде стабильно усваивают арабинозу, рибозу, фруктозу, глюкозу, целлобиозу, маннит, молочную кислоту.

Штамм 1910 после лиофилизации усваивает галактозу, маннозу, мальтозу, трегалозу, глицерин, сорбит, салицил. Значительное число штаммов *Bac. licheniformis* проявляет выраженную вариабильность по ферментации ксилозы, рамнозы, лактозы, сахарозы, инсулина, декстрина, уксусной и молочной кислот.

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что физиолого-биохимические признаки культур видов *Bac. subtilis-mesentericus*, *Bac. pumilus*, *Bac. licheniformis* при лиофилизации в основном сохраняют стабильность и могут быть использованы в качестве диагностических и после лиофилизации. Вместе с тем, усвоение различных источников углерода, характеризующихся значительной вариабильностью при хранении культур на питательных средах и в условиях лиофилизации, должно быть использовано с определенной предосторожностью.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 17.11 1981 г.

BACILLUS SUBTILIS-MESENERICUS

ԽՄՐԻ ԿՈՒԼՏՈՒՐԱՆԵՐԻ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՊԱՀՊԱՆՈՒՄԸ
ԼԻՈՖԻԼԻԶԱՑՄԱՆ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ

Ա. Ա. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Է. Գ. ԱՖՐԻԿՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է լիոֆիլիզացիայի ազդեցությունը *Bacillus subtilis-mesentericus* խմբի կուլտուրաների և ցեղակից տեսակների հիմնական ֆիզիոլոգիական հատկությունների վրա: Հաստատվել է, որ արյան շիճուկի օգտագործումը որպես սուսպենզիոն միջավայր, ամրապահում է ուսումնասիրված կուլտուրաների մեծ մասի ֆիզիոլոգիական և բիոքիմիական հատկանիշների պահպանումը երկու տարվա ընթացքում:

MAINTENANCE OF PROPERTIES OF BACILLUS SUBTILIS-MESENERICUS GROUP OF BACTERIA DURING LYOPHILIZATION

A. A. KHACHATURIAN, E. G. AFRIKIAN

The maintenance of biochemical properties of 40 cultures of aerobic spore forming bacteria of *Bac. subtilis-mesentericus*, *Bac. pumilus*, *Bac. licheniformis* during lyophilization for 2 years has been investigated. The beef and horse serum as suspension medium has been used. The main diagnostic properties of studied species cultures were stable, but the relation to some carbohydrates significantly varies.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Барбишова Н., Владимирова Г., Ермолова В. Тр. ВНИИ с/х микробиологии, 48, 190, Л., 1979.

2. Беккер М. Е. Изв. АН Латв. ССР, 3, 332, 3, 1975.
3. Зубенко Т. Ф., Султанова И. Г., Закиров М. З. Прикл. биохимия и микробиология, 15, 4, 636, 1979.
4. Кузнецов В. Д., Семенов С. М. Антибиотики, 15, 11, 977, 1970.
5. Лаузне Э. Я., Клишаре А. А. В кн. Продукты аминокислот и ферментов, 44, Рига, 1978.
6. Родионова Г. С., Степаненко В. Г. Микробиологический синтез, 6, 27, 1974.
7. Хачатурян А. А., Бобикян Р. А., Мартиросова Т. А., Аветян Ж. Н., Африкян Э. К. Биолог. ж. Армении, 33, 4, 391, 1980.
8. Legon N. A., Berkeley R. C. W. In: The Aerobic endospore-forming bacteria, 105—140, AP, 1981.
9. Bonde G. J. Danish Med. Bull., 41, 1975.
10. Gordon R. E., Haynes W. S., Fang C. H.-N. Agric. Research service, US Dept of Agriculture Washington, D. C., 1973.
11. Holding J., Collee J. G. In: Methods in Microbiology, 6 A, AP, 1971.
12. Lapage S. P., Shelton J. E., Mitchell T. G., Mackenzie A. R. In: Methods In Microbiology, 3A, AP, 1970.

УДК 616.981.452

К ХАРАКТЕРИСТИКЕ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЗАКАВКАЗСКОГО ВЫСОКОГОРНОГО ОЧАГА ЧУМЫ

А. Г. МНАЦАКЯН, А. О. АДАМЯН, М. Т. ШЕХИКЯН,
Г. К. ХАЖАКЯН, Г. А. АВЕТИСЯН

В мезоочагах Закавказского высокогорного очага чумы—Ленинаканском, Зангезуро-Карабахском, Присеванском—с 1958 по 1979 гг. было выделено соответственно 1574, 1157, 3117 штаммов чумного микроба; в пределах Армении было изолировано 1835 штаммов чумного микроба, в том числе: 1404 от обыкновенных полевков, 4408 от их блох (9 видов) и клещей, 23 от других видов грызунов. Активность эпизоотического процесса повышается в теплое время года. Природная очаговость здесь поддерживается сохранением возбудителя чумы в поселениях обыкновенных полевков в отдельных микроочагах.

Ключевые слова: чума, обыкновенная полевка, блохи.

Особенности Закавказского высокогорного очага были изучены и освещены в литературе [1—5] уже в течение первых 10—12 лет со времени его обнаружения (1958—1969 гг.). За последующие годы (1970—1979 гг.) накопились новые данные о пространственной структуре и характере течения эпизоотического процесса, которые также заслуживают внимания и могут пополнить существующие теоретические знания о природной очаговости и эпизоотологии чумы на Армянском нагорье.

Как известно, Закавказский высокогорный очаг чумы расположен на Армянском нагорье и в горах Малого Кавказа на высотах 1500—3100 м над уровнем моря. Его площадь составляет примерно 2,5 млн га. Однако территория, где непосредственно регистрируются эпизоотии чумы, не превышает 1200 тыс. га. Сюда входят почти вся высокогорная часть Армянской ССР, северо-восточные отроги Карабахского нагорья (в пределах Азербайджанской ССР), юго-западные склоны Зангезурского хребта (в пределах Нахичеванской АССР) и северо-западные склоны Джавахетского хребта (в пределах Грузинской ССР).

В период с 1958 г по 1979 г. включительно определилось три относительно автономных участка (мезоочага) стойкого проявления эпизоотии чумы—Ленинаканский, Зангезуро-Карабахский и Присеванский.

К настоящему времени Ленинаканский мезоочаг занимает территорию 11 административных районов северо-западной Армении и 1 района Грузинской ССР; Зангезуро-Карабахский—4 района юго-восточной Армении, а также 3 района Нахичеванской АССР и 2 района Азербайджанской ССР; Присеванский мезоочаг охватывает территорию 6 районов центральной части Армянской ССР.

В указанные годы эпизоотии чумы в Ленинканском мезоочаге регистрировались в течение 16 лет (1958—1959, 1963—1965, 1969—1979 гг.), где и было выделено 1574 штамма чумного микроба, в Зангезуро-Карабахском—15 лет (1962—1965, 1967—1970, 1972, 1974—1979 гг.), изолировано 1157 штаммов и в Присеванском—12 лет (1962, 1969—1979 гг.), выделено 3117 штаммов.

В очаге в целом эпизоотии чумы не отмечались лишь в 1960, 1961 и 1966 гг. За все годы эпизоотий в пределах Армении было выделено 5835 штаммов чумного микроба, в том числе: 1404—от обыкновенных полёвок, 4408—от их блох и клещей и 23—от других видов зверьков. Наибольшее количество штаммов (1230) было обнаружено в 1977 г., наименьшее (6 штаммов)—в 1959 г. Ежегодно здесь выделялось в среднем более 324 штаммов чумного микроба.

На территории большинства районов эпизоотии регистрировались неоднократно. Так, в пределах Гукасянского района она отмечалась в течение 16 лет, Сисианского и Мартунинского—12 лет, Абовянского и Амасийского—9 лет, а остальных районов—от 1 до 6 лет. Эти данные свидетельствуют о высокой активности Закавказского высокогорного очага и об отсутствии здесь межэпизоотического периода как такового. Вывод не лишен оснований, поскольку непрерывное проявление эпизоотии за последние 11 лет (1969—1979 гг.) регистрировалось в Ленинканском и Присеванском мезоочагах, а в Зангезуро-Карабахском оно не отмечалось только в 1971 и 1973 гг. Это вместе с тем свидетельствует о том, что активность очага во времени и в пространстве поддерживается за счет ежегодного проявления эпизоотического процесса либо в одном-двух, либо же во всех трех его мезоочагах. Более того, систематическое обследование показало, что в некоторых точках микроб чумы сохраняется сравнительно долгое время. Например, в долине реки Гукасян, особенно в окрестностях села Зуйгахпюр (Ленинканский мезоочаг—Гукасянский район), и на восточных склонах Гегамского хребта, в окрестностях животноводческой фермы с. Тазагюх (Присеванский мезоочаг—Мартунинский район), эпизоотии чумы в 1969—1979 гг. регистрировались каждый год. В Зангезуро-Карабахском мезоочаге места наиболее частого обнаружения эпизоотии расположены в пределах Сисианского района на юго-западных склонах Карабахского нагорья и северо-восточных склонах Зангезурского хребта. Наличие таких эпизоотических точек площадью до нескольких сотен га позволяет утверждать, что в Закавказском высокогорном очаге природная очаговость поддерживается сохранением возбудителя чумы в отдельных микроочагах.

Хорошо известно, что эта форма проявления чумы свойственна ландшафтам с оптимальными условиями для жизни носителя и переносчика. Такими ландшафтами в условиях Закавказья являются лугостепи, субальпийские и альпийские луга, а также долины горных рек и ручьев, расположенных в верхнем ярусе горных степей. Именно к этим местам и приурочено большинство микроочагов со стойкими поселениями обыкновенных

обыкновенных полевок, в которых осуществляется непрерывная циркуляция чумного микроба.

Ведущая роль в возобновлении эпизоотического процесса, весьма вероятно, принадлежит полевочьим блохам *Ceratophyllus caspius*, *C. consimilis*, способным переживать зимний период даже в отсутствие хозяина и переносить чуму из одного сезона в другой.

На данном этапе исследовательских работ трудно судить о степени долговечности микросчагов, однако, учитывая постоянную перестройку микрорельефа, почв, растительного покрова и т. п., можно предположить, что они подвержены перемещению во времени и в пространстве.

В проявлении эпизоотического процесса в Закавказском высокогорном очаге наблюдается слабо выраженная периодичность. Через каждые 3—4 года, иногда 5 лет, на фоне высокой численности обыкновенных полевок и их блох эпизоотический процесс обычно активизируется и носит относительно острый и разлитой характер. Такие эпизоотии в Закавказье регистрировались в 1965, 1969 и 1974 гг., в Ленинанканском — в 1969, 1973 и 1977 гг. и в Присеванском мезоочаге — в 1969, 1974 и 1976 гг. В годы, предшествующие резким подъемам численности полевок и их блох, отмечаются локальные и вялотекущие эпизоотии чумы.

Что касается сезонной динамики эпизоотии, то здесь они регистрируются с апреля по декабрь, т. е. в течение всего периода наблюдений. Продолжительность эпизоотии в разные годы на отдельных участках колебалась от 1,5 до 6—7 месяцев. Так, например, эпизоотии, которые регистрировались в течение 8 лет (1964, 1969, 1970, 1971, 1972, 1974, 1976, 1977 гг.), протекали более 6 месяцев, 4 лет (1965, 1973, 1975, 1978 гг.) — более 5 месяцев, 6 лет (1958, 1959, 1962, 1963, 1968, 1979 гг.) — от 1,5 до 5 месяцев.

Активность эпизоотического процесса обычно повышается летом или в середине осени и резко снижается в ноябре-декабре. Это объясняется тем, что в конце осени или в начале зимы в популяциях обыкновенных полевок преобладают молодые особи (свыше 90%), более резистентные к чумному микробу, чем взрослые зверьки. Кроме того, с наступлением холодов в горах (ноябрь-декабрь) подвижность обыкновенных полевок (как и активность их блох) заметно снижается, и ослабевают внутрипопуляционные контакты. Однако это не исключает возможности обнаружения в зимний период зараженных чумой зверьков и блох. Такие особи были обнаружены в Ленинанканском мезоочаге в декабре 1958 и 1963 гг. и в Присеванском мезоочаге в декабре 1976 г.

Благодаря наличию на территории Закавказского очага многочисленных горных рек, ручьев, ущелий и каменистых участков поселения полевок разобщены и, естественно, связи между ними затруднены. Поэтому эпизоотии чумы здесь протекают обычно на небольших участках, площадь которых составляет от нескольких десятков до нескольких сот га. Однако в годы высокой численности полевок (500 и более на 1 га) эпизоотии охватывают более значительные площади. Например, в

1965 г. эпизоотия чумы на склонах горы Мец-Ишханасар и в окр. озера Аллагелляр (Зангезуро-Карабахский мезоочаг—Сисианский район) охватывала более 25 тыс. га. Аналогичная картина отмечалась летом 1969 и 1979 гг. на юго-западных склонах Гегамского хребта (Присеванский мезоочаг—Абовянский район), где зараженная чумой территория занимала более 15—20 тыс. га.

При вялотекущих эпизоотиях зараженность чумой обыкновенных полевых блох не превышает 1%, их блох—1—3%. Однако при относительно острых и разлитых эпизоотиях этот показатель значительно возрастает. Так, в период активной эпизоотии чумы, протекавшей в 1976 г. в Присеванском мезоочаге (Абовянский район), зараженность полевых блох на отдельных эпизоотических точках варьировала в пределах 0,3—10%, а их блох—от 2,4 до 88,4%.

В заключение следует отметить, что активное состояние Закавказского высокогорного очага вызывает необходимость постоянного надзора и проведения всего комплекса санитарно-профилактических противочумных мероприятий. Дальнейшее изучение этого очага должно быть направлено на выявление и описание основных признаков всех существующих здесь микроочагов, что позволит ускорить разработку тактики и методики эпизоотологического обследования, а также своевременного прогнозирования эпизоотии чумы.

Армянская противочумная станция

Поступило 18.XII 1980 г.

ԺԱՆՏԱՆՏԻ ԱՆԴՐԿՈՎԿԱՍՅԱՆ ԲԱՐՁՐԱԴԻՐ ԼՆՈՆԱՅԻՆ ՈՋԱԽԻ ԱՆԱՍՆԱՃԱՐԱԿԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Ա. Կ. ՄԱՅԱԿԱՆՅԱՆ, Ա. Հ. ԱԴԱՄՅԱՆ, Մ. Տ. ՇԻՆԻԿՅԱՆ,
Հ. Կ. ԽԱԺԱԿՅԱՆ, Հ. Ա. ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ

Ժանտախտի Անդրկովկասյան բարձրադիր լեռնային օջախը ընդգրկում է Հայկական բարձրավանդակի և Փոքր Կովկասի 1500—3100 մ ծովի մակերեւծությունից բարձր ընկած տարածքը: Այն գրադեցնում է մոտավորապես 2,5 մլն հա տարածություն: Այստեղ առանձնացվում են երեք ինքնուրույն մեզոօջախներ՝ Լենինականի, Զանգեզուր-Ղարաբաղի, Մերձսևանյան: Նշված մեզոօջախներից, 1958—1979 թթ. ընթացքում, անջատվել են ժանտախտի միկրոբային կուլտուրաներ: Ժանտախտի բնական օջախայնությունը Անդրկովկասի լեռներում պահպանվում է առանձին միկրոօջախներում սովորական դաշտամկան պոստուլյացիաներում: Միկրոբների ցիրկուլյացիան հիմնականում իրականացվում է սովորական դաշտամկան լվերի միջոցով: Ժանտախտի անասնաճարակը բնական օջախում ակտիվանում է տարվա տաք եղանակներին:

ON THE CHARACTERISTIC OF TRANSCAUCASIAN HIGH MOUNTAINOUS PLAGUE EPIZOOTIC ACTIVITY

A. G. MHATSAKIAN, A. O. ADAMIAN, M. T. SHEKHIKIAN,
G. K. KHAZHAKIAN, G. A. AVETISAIN

Transcaucasian high mountainous plague area with physal area of 2.5 million hectors is disposed in the mountains of Armenian upland and Small Caucasus at 1500–3100 m height above the sea level. In its structure three separate districts are marked out—Leninakan, Zangezooro-Karabakh and the lake Sevan regions. In the mentioned 7 meschearts from 1958 to 1979, 1574, 1157, 3117 strains of plague bacteria are respectively marked out and within the Armenia 5835 strains of plague bacteria have been isolated. They include 1404 of ordinary field-voles, 4408 of their fleas (9 types) and ticks, 23 types of other kinds of rodents. Main role in this belongs to field fleas.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Адамян А. О. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1970.
2. Бабенышев В. Н., Давтян Г. Г., Есаджанян М. М. и др. Тр. Арм. противочумн. ст., вып. 1, 51—78, 1960.
3. Вартамян А. А., Сукиасян М. Л., Давтян Г. Г. и др. Тр. Арм. противочумн. ст., вып. 3, 17—29, 1964.
4. Елкин Ю. М., Петров П. А., Косминский Р. Б. и др. Особо опасные инфекции на Кавказе, 81—86, Ставрополь, 1966.
5. Елкин Ю. М., Петров П. А., Косминский Р. Б. и др. Проблемы особо опасных инфекций, 4, 152—157, Саратов, 1968.

СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ВЫЯВЛЕНИЮ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ЧУМНОГО АНТИГЕНА В ЗАКАВКАЗСКОМ ВЫСОКОГОРНОМ ОЧАГЕ

Г. К. ХАЖАКЯН, М. Т. ШЕХИКЯН, А. А. ВАРТАНЯН, Э. К. ХАНГУЛЯН

Приводятся результаты серологического исследования различных объектов—блох, субстратов гнезд и погадок хищных птиц—с целью выявления специфического чумного антигена на территории Закавказского высокогорного природного очага чумы.

Метод наиболее результативен при исследовании погадок хищных птиц, затем субстрата гнезд грызунов. Серологическое исследование блох малоэффективно

Ключевые слова: чумный антиген, серологические исследования.

В последние годы серологические методы исследования полевого материала нашли широкое применение в эпизоотологическом обследовании ряда природных очагов чумы нашей страны: Среднеазиатского пустынного, Среднеазиатского горного, северо-западного Прикаспия, Забайкальского, Горно-Алтайского и других. Ежегодно увеличивается объем серологических исследований, касающихся также Закавказского высокогорного очага.

Серологическому исследованию может подвергаться любой биологический материал, не пригодный для исследования бактериологическим методом,—погадки*, субстраты гнезд грызунов, испражнения наземных хищников, кости, мумифицированные трупы и т. д. В этом заманчивость метода.

Преимущество его состоит еще и в простоте и безопасности лабораторных манипуляций.

Серологические методы исследования позволяют выявить больных и переболевших зверьков, а также установить наличие специфического антигена в различных объектах.

Рядом исследователей серологические методы были использованы для выявления капсульного антигена чумного микроба в трупах грызунов [10], в костных остатках и экскрементах животных и погадках хищных птиц [4, 11], а также в субстрате гнезд и в организме блох [8, 11, 17, 18]. Инфицирование субстрата гнезд происходит как самим болеющим зверьком, так и паразитирующими на нем кровососущими насекомыми.

* Погадка—комочок неперевариваемых частей пищи (шерсть, кости, перья и т. п.), формирующийся в зобу хищной птицы и выбрасываемый через рот по окончании пищеварения.

Возможность применения реакции нейтрализации антител (РНАт) для этих целей не только подтверждена [6, 9, 15], но и установлено, что обнаружение специфического антигена, в известной мере, равносильно выделению возбудителя, так как РНАт чувствительна и строго специфична [11].

Установлено, что возбудитель чумы может сохраняться в почве длительное время—до 1700 дней [5, 7, 16, 19].

В связи с тем, что основная масса культур чумного микроба в Закавказском высокогорном очаге выделяется из гнездовых блох, серологическое исследование субстрата гнезд обыкновенных полевок привлекает внимание специалистов. Целесообразность исследования гнезд полевок состоит еще и в том, что добыча их в определенных условиях, особенно летом, не представляет больших трудностей, и зообригада из 3–4 человек за один рабочий день может собрать и доставить в лабораторию большое число гнезд обыкновенных полевок.

Первое исследование субстрата гнезд в Закавказском высокогорном очаге было проведено в 1969 г. И. Черченко и Е. Оганян совместно с сотрудниками Кафанского отделения в Сисианском и Горисском районах Зангезуро-Карабахского мезоочага. Из 50 проб, составляющих 133 гнезда полевок, в 9 пробах был получен положительный результат. На этих же территориях в этот период протекала эпизоотия чумы. В том же году И. И. Черченко и Е. Оганян предприняли первые попытки серологического исследования блох в Зангезуро-Карабахском мезоочаге. Из 85 проб суспензии блох (куда вошло 1928 экз. блох) в 57 пробах был обнаружен чумной антиген. Бактериологически возбудитель чумы был обнаружен лишь в 21 пробе.

Благодаря обнаружению Ф1 чумного микроба в субстрате гнезд малого суслика в горах Предкавказья в апреле 1976 г. при тщательном эпизоотологическом обследовании через месяц на этой же территории удалось обнаружить возбудителя чумы, который здесь не выделялся длительное время.

В настоящем сообщении обобщен и проанализирован материал по серологическому исследованию различных объектов внешней среды на наличие Ф1 чумного микроба за период с 1976—1979 гг.

За это время на станции, в отделениях и эпидотрядах обследованию было подвергнуто 13002 объекта, из них 759 трупов грызунов в основном обыкновенных полевок, 7529 субстратов гнезд, 4656 погадок хищных птиц, 32 пробы суспензии нерастертых блох, 25 суспензий из органов павших биопробных животных.

Из Присеванского и Ленинанского мезоочагов было обследовано 6859 субстратов гнезд и получено 37 положительных реакций, что составляет 0,54%. При этом 35 положительных было из материала Абовянского района (Присеванский мезоочаг), где все эти годы протекала довольно острая эпизоотия чумы, и 2 положительные из Ленинанского мезоочага. Следует отметить, что положительные находки в субстрате гнезд по существу отмечались только в местах, где в момент обследования или в недалеком прошлом протекала эпизоотия чумы. В то же время при обследовании 1670 субстратов гнезд Зангезуро-Карабахского мезоочага, находящегося на протяжении 2 лет в состоянии эпизоотической депрессии, положительных результатов не зарегистрировано.

Нам думается, что процент положительных находок при исследовании субстрата

гнезд будет гораздо выше при более тщательном и педантичном отборе для серологического анализа старых гнезд, которые, согласно данным литературы последних лет [8], более результативны. Поэтому в дальнейшем мы должны пересмотреть тактику сбора гнезд обыкновенных иклевков.

Серологическое исследование блох в 1970—1975 гг. не давало обнадеживающих результатов, они были отрицательными. Появление в периодической литературе сведений об утрате чумным микробом способности синтезировать антиген Ф1 в организме блохи [20] несколько ослабили наш интерес к этому вопросу.

Известно [3, 21], что, адаптируясь к организму переносчика, микроб претерпевает ряд поэтапных изменений, в ходе которых меняется его фенотип, что выражается, в частности, в появлении клеток с разным содержанием специфического антигена. Фенотипическая изменчивость чумного микроба в блохе, как оказалось, зависит не только от особенностей экологии данного вида блох, но и от физиологического состояния конкретных особей, а также от условий среды обитания, температуры, влажности [1, 2].

Между тем, серологическому исследованию мы подвергли большие партии блох, в основном используя суспензии нерастертых блох, на которых неизменно получали отрицательные результаты. Небольшое число реакций было поставлено с использованием поверхностноактивного вещества ОП-7, но и это не увенчалось успехом.

Надо сказать, что в наших условиях совершенно не апробирован метод исследования смывов микробного урожая посевов блох после выращивания их при 37°, когда в микробной клетке происходит накопление капсульного антигена.

Так как содержание Ф1 в блохах обусловлено рядом перечисленных выше факторов, и антиген чумного микроба [14] в организме блох полевок в условиях эксперимента сохраняется в общем-то недолго—13—35 дней, серологическое исследование их вряд ли можно считать перспективным и целесообразным, если к тому же учесть, что выделение культур от блох не составляет труда. Достаточно сказать, что из всех культур возбудителя чумы, выделенных со времени установления природной очаговости в Закавказском высокогорном очаге (1958 г.) и по настоящее время, от блох выделено 75,3% штаммов.

Особое внимание уделяется нами серологическому исследованию погадок хищных птиц.

Следует признать, что в связи с трудоемкостью методов выявления эпизоотий природноочаговых инфекций, и в частности чумы и туляремии, начиная от сбора полевого материала до его лабораторного исследования, нередко приходится ограничивать размеры обследуемой территории. Кроме того, показано, что отлов даже значительного числа зверьков далеко не всегда позволяет выявить эпизоотию чумы [12, 13]. В связи с этим тщательное обследование территории можно проводить лишь после ориентировочного предположения наличия инфекции на том или ином участке.

В качестве такого рекогносцировочного метода рядом авторов применялось серологическое исследование погадок хищных птиц. Идея использования хищных птиц как индикаторов эпизоотии в природе заманчива в том отношении, что они, поедая преимущественно ослабленных зверьков или их трупы, по-существу производят отбор материала, желательного для бактериологических исследований. Преимущество этого метода заключается в малой трудоемкости процесса сбора и исследования погадок, а также в возможности за короткий срок обследовать значительную территорию и получить более или менее достоверный ответ о наличии или отсутствии инфекции. Метод этот можно применять для раннего и ретроспективного выявления эпизоотии.

Результаты серологического исследования погадок характеризуют именно ту территорию, на которой они собраны, так как установлено, что птицы сбрасывают погадки через 10—20 ч после поедания пищи, в пределах 2—3 км от места ее добычи.

Бактериологическое исследование погадок нецелесообразно ввиду того, что в их кислой среде чумной микроб очень быстро отмирает [4]. А выявление антигена в них может служить индикатором наличия эпизоотии в настоящее время или в недавнем прошлом.

Исследование погадок в Закавказском высокогорном очаге вполне целесообразно. За последние 4 года исследовано 4656 погадок и зарегистрировано 128 положительных результатов, что составляет 2,7%.

При наличии эпизоотии процент положительных находок в погадках достигал в отдельных местах 8—10% (Абовянский район), при ее депрессии он уменьшался в 10—20 раз (Ленинаканский мезоочаг). Так, при обследовании 70 погадок в Абовянском районе в 1976—77 гг. получено 8 положительных реакций в системе РПГА (1—7 лунок), РНАт (2—10 лунок). На данной территории в эти годы протекала довольно интенсивная эпизоотия чумы. В 1977 г. на территории Севанского района была зарегистрирована эпизоотия чумы. Серологическое исследование 36 погадок из этих мест завершилось обнаружением гаптена в 6 пробах. В 1979 г. с территории Севанского района исследовано 203 погадки и лишь на одной пробе получен положительный результат, 0,4%. Эпизоотия чумы здесь не была выявлена.

Полноценный антиген получен в погадках района им. Камо. При исследовании 679 погадок отмечено 8 положительных результатов одновременно в РПГА и РНАт в высоких титрах. На данной территории возбудитель чумы не был выделен вообще. Аналогичные результаты получены и при исследовании погадок из высокогорной зоны Кафанского района в 1978 г., в 5 пробах серологически обнаружен гаптен.

В Ленинаканском мезоочаге исследована 521 погадка и в 7 пробах был обнаружен гаптен в РНАт (2—5 лунок).

Примечательна история изучения погадок из Арагацкого района, где чумная инфекция в последний раз была зарегистрирована в 1969 г.

За 2 года (1976—1977) исследовано 763 погадки и получено 52 положительных результата в реакции РНАт (от 1 до 5 лунок), 6,2%. Од-

нако эпизоотию на этой территории в эти годы установить не удалось, она была выявлена осенью 1979 года. На этой территории в это время было собрано 600 погадок, в 39 из них был обнаружен гаптен, 6,5%.

Ретроспективно можно предположить, что высокий процент [2, 6] положительных результатов при исследовании погадок Арагацкого района в 1976—77 гг. также был обусловлен наличием инфекции на данной территории.

Подытоживая результаты проведенной работы и давая оценку сравнительной эффективности серологического исследования различных объектов внешней среды с целью выявления антигена, можно заключить, что наибольшую ценность в этом отношении представляют прежде всего погадки хищных птиц, затем субстрат гнезд грызунов. Серологическое исследование блох, по нашим предварительным данным, малоэффективно. Этот вопрос будет предметом дальнейшего изучения.

Армянская противочумная станция

Поступило 13.X 1980 г.

ԱՆԴՐԿՈՎԿԱՍԻ ԺԱՆՏԱԽՏԻ ԲԱՐՉՐԱԴԻՐ ՕՋԱԽԻ ՏԱՐԱՄՔՈՒՄ
ԺԱՆՏԱԽՏԻ ՍՊԵՑԻՖԻԿ ԱՆՏԻԳԵՆ ՀԱՅՏՆԱՔԵՐԵՆԻՈՒ ՆՊԱՏԱԿՈՎ
ԿԱՏԱՐՎԱԾ ՍԻՐՈՂՈՒԴԻԱԿԱՆ ՀԵՏԱՂՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ

Հ. Կ. ԽԱԺԱԿՅԱՆ, Մ. Տ. ՇԵԽԻԿՅԱՆ, Ա. Ա. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Է. Կ. ԽԱՆԳՈՒԼՅԱՆ

Հոդվածում բերվում են տվյալներ Անդրկովկասի ժանտախտի բարձրադիր օջախի տարածքում, 1976—1979 թվականների ընթացքում, ժանտախտի սպեցիֆիկ անտիգեն հայտնաբերելու նպատակով տարբեր օբյեկտների (լվեր, կրծողների բների պարունակություն, գիշատիչ թռչունների կողմից արտադատած սննդի շմարսված մնացորդներ) սիրոլոգիական հետազոտությունների արդյունքների մասին:

Պարզվել է, որ հայտնաբերման ամենաբարձր արդյունավետությունը ստացվում է գիշատիչ թռչունների կողմից արտադատված սննդի շմարսված մնացորդների, ապա կրծողների բների պարունակությունը հետազոտելիս:

Լվերի սիրոլոգիական հետազոտություններն այս օջախում արդյունավետ չեն:

SEROLOGICAL INVESTIGATIONS FOR REVEALING SPECIFIC
PLAQUE ANTIGEN IN DIFFERENT OBJECTS IN TRANSCAUCASUS
HIGHLAND REGION

H. K. KHAKJAKIAN, M. T. SHEKHIKIAN, A. A. VARTANIAN,
E. K. KHANGOULIAN

The results of the serological investigations for finding the specific plaque antigen on the Transcaucasus highland plaque region have been presented.

It was found out that the most effective results gave the storage wastes of the ferocious birds and the excretae of rodents. Serological investigation of the fleas are less effective.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бибикова В. А., Волхив В. А., Егоров Р. П. Девятое совещ. по паразитологическим проблемам АН СССР, 19—20, 1957.
2. Бибикова В. А., Анисимова Т. И. и др. Мат-лы расширенной научн. конф., посвящ. 40-летию Казах. ССР, Алма-Ата, 1961.
3. Бибикова В. А., Классовский Л. Н. Паразитология, 2, вып. 3, 209, 1968.
4. Доброхотов Б. П., Стефанова Т. А., Маленкова Е. А. ЖМЭИ, 1, 132—135, 1971.
5. Домарадский И. В., Григорян Э. Г. и др. Микробиология, 8, 104—108, 1968.
6. Залыгина Н. П. Мат-лы юбилейной конф. Уральск. противочумн. станции (1914—1964), 359—362, Уральск, 1964.
7. Клец Э. И., Шекунова З. И. Докл. Иркутск. научно-исслед. противочумн. ин-та, вып. 2, 35, 1961.
8. Климов В. Т., Ешелкин И. И. Серологические методы диагностики при эпизоотологическом обследовании природных очагов чумы. Тематический сб., 113—115, Саратов, 1975.
9. Леви М. И., Басова Н. Н. и др. Микробиология, 10, 40—45, 1962.
10. Леви М. И., Мамот А. Г. Сб. научн. работ Элистинской противочумной станции, вып. 2, 207—214, 1961.
11. Леви М. И., Канатов Ю. В. и др. Серологические методы диагностики при эпизоотологическом обследовании природных очагов чумы. Тематический сб., 49—54, Саратов, 1975.
12. Миронов Н. П., Агафонов А. В. и др. Тр. Ростовск.-на-Дону противочумного ин-та, 18, 88, 1961.
13. Петров П. А., Адамян А. О. и др. Проблемы ООИ, 1, 119—120, Саратов, 1968.
14. Суворова А. Е., Акиев А. К., Бейер А. П. Серологические методы диагностики при эпизоотологическом обследовании природных очагов чумы. Тематический сб., 89—92, Саратов, 1975.
15. Сучков Ю. Г. ЖМЭИ, 1, 135—141, 1964.
16. Тимофеева Л. А., Головачева В. Я., Смирнова Л. А. Докл. Иркутск. научн.-исслед. противочумн. ин-та, 7, 46—47, 1966.
17. Черченко И. И., Оганян Е. Ф. и др. Проблемы ООИ, 5, 46—49, 1972.
18. Черченко И. И., Оганян Е. Ф. и др. Проблемы ООИ, 1, 5—10, 1973.
19. Ballazard M. Med. Hyg, 22, 172, 1954.
20. Cavanaugh D., Kandall R. J. immunol., 83, 4, 343—363, 1959.
21. Hudson B., Kartman L., Prince F. Bulletin WHO, 34, 5, 709—714, 1966.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА
 ПОСЛЕ РЕВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ДИФТЕРИИ И СТОЛБНЯКА

А. А. ОРДУХАНЯН, Е. Б. МАНВЕЛЯН

Проанализированы основные положения, принятые при конструировании классической модели Готтлиба для долгосрочного иммунитета к дифтерии и столбняку. Создан банк данных по вакцинации детей 11 лет. С помощью кластер-анализа и анализа канонической корреляции исследовалась внутренняя структура используемых параметров. Выявлена взаимозависимость относительных уровней титров дифтерийных и столбнячных антител как в фиксированное время, так и в динамике их изменения со временем.

Ключевые слова: иммунитет, ревакцинация, моделирование, кластер-анализ, каноническая корреляция.

Моделирование иммунного ответа организма уже нашло определенное признание в иммунологии [2, 4]. Наиболее общая модель для исследования долгосрочного иммунитета к дифтерии и столбняку была предложена Готтлибом [5]. Модель формировалась следующим образом:

$$\lg \frac{\text{Titer}}{\text{Pre}} = h(Y) \cdot \lg \frac{\text{Post}}{\text{Pre}} = h(Y) \cdot g(D) \cdot 10^{a_0 + a_1 \lg \text{Pre} + a_2 (\lg \text{Pre})^2},$$

где Titer—уровень антител к моменту Y;

Pre—уровень антител до вакцинации;

Post—уровень антител после ревакцинации, в частности, через 2 недели [5];

h(Y)—функция снижения титра со временем (после Y лет);

g(D)—функция зависимости от дозы антигена в сыворотке.

Коэффициенты a_0 , a_1 и a_2 подбираются по методу наименьших квадратов, исходя из обработки экспериментального материала, в частности, приводятся следующие значения: $a_0=0,0531$, $a_1=-0,2935$, $a_2=-0,0535$ для дифтерии и $a_0=0,2214$, $a_1=-0,1548$, $a_2=-0,0162$ для столбняка [5]. Функцию g(D) авторы находят графически из эксперимента, а h(Y) постулируют следующим образом:

$$h(Y) = \frac{1 + 10^{-0.53(Y-0.05)^{0.79}}}{2}$$

На наш взгляд, модель обладает рядом недостатков, что, естественно, должно снизить ее предсказательную ценность. Во-первых,

предлагаемая модель не обоснована статистическими критериями значимости полученных соотношений. Как справедливо отмечают авторы, они старались обосновать модель скорее графически, нежели математически. Однако отсутствие статистической обработки безусловно снижает обоснованность модели. Далее предполагается, что реакция на один антиген не зависит от уровня антител на другой антиген. Как будет показано далее, это предположение не совсем обосновано. Наконец, не учтена зависимость уровня антител от такого рода факторов, как пол, группа крови, сезон вакцинации и т. д. Отмечается лишь, что не найдено различий в титрах в зависимости от пола, возраста и времени, прошедшего после предыдущей вакцинации. Исходя из сказанного, мы провели собственные исследования с целью создания более простой модели, обоснованной статистически и пригодной для описания иммунного ответа организма после ревакцинации.

Материал и методика. Была проведена ревакцинация АДС-анатоксином 867 детей 11 лет из 21-й школы г. Еревана. Уровни титров по дифтерии и столбняку определялись в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) многократно: до ревакцинации, через 1,5—2 месяца после ревакцинации, через 6 месяцев, год, 2 года, 3 года. В соответствии с моделью Готтлиба в анализе использовались не сами титры, а логарифмы соотношений титра в фиксированный момент к титру в доревакцинальный период. Приняты следующие обозначения: DPRE и SPRE—десятичные логарифмы титров по дифтерии и столбняку в доревакцинальный период,

$$D_{015} = \lg \frac{\text{титр ДА в 1,5—2 мес.}}{\text{DPRE}}; S_{015} = \lg \frac{\text{титр СА через 1,5—2 мес.}}{\text{SPRE}}$$

и аналогично—для последующих моментов определения уровня антитоксических титров. Для учета факторов, возможно влияющих на относительный уровень титра в крови, в анализ вовлекаются следующие параметры: N—номер, служит для идентификации детей; SEX—пол (0—мужской, 1—женский); BLOOD—группа крови (0—отсутствие данных, 1—первая группа крови, 2—вторая, 3—третья, 4—четвертая); TAI—время после последней прививки; KPAT—кратность; SERIA—серия анатоксина (4,5—опытные дозы, содержащие 5 Lf дифтерийного и 5 ЕС столбнячного антигенов в 0,5 мл; 6, 7, 8—контрольные дозы, содержащие 30 Lf и 10 ЕС соответственно); SEASON—сезон вакцинации (1—весна, 2—осень, 3—зима); SCHOOL—номер школы.

Результаты и обсуждение. На основе описанного материала был создан банк данных на НМД (накопители на магнитных дисках) по вакцинации детей 11 лет, который и анализировался в дальнейшем полностью либо выборочно, в зависимости от поставленных задач. Распределение в банке данных следующее: мальчиков—439, девочек—428; по группам крови: 212, 348, 101 и 43 с первой по четвертую группу соответственно; по сериям: контрольная—406, опытная—461; по сезону ревакцинации: весна—350, осень—418, зима—99. Анализ односторонних статистических характеристик, в частности коэффициента асимметрии и эксцесса, показывает, что распределение материала хорошо аппроксимируется нормальным распределением, что оправдывает применение в дальнейшем регрессионной модели.

На следующем этапе анализа нас интересовала внутренняя структура используемых параметров, их взаимозависимость. Из 867 детей 103 имелся полный набор данных, который и исследовался с помощью

кластер-анализа. Каждый параметр представлялся вектором в 103-мерном пространстве объектов. Мерой близости принята абсолютная величина коэффициента корреляции. Таким образом, исходной матрицей схожести S служит матрица абсолютных величин коэффициентов корреляции, которые являются мерой взаимозависимости (по крайней мере линейной) параметров. Корреляционная матрица приведена в табл. 1. Теперь интересующий нас вопрос может быть поставлен в альтернативной форме. При объективной классификации параметров с описанной метрикой в один кластер должны попасть более схожие — коррелированные параметры. На первом шаге в один кластер объединяются два наиболее коррелированных параметра. Далее пересчитывается матрица схожести по формуле

$$S = |S_{ij}| = \frac{1}{N_i N_j} \cdot \sum_{\substack{(i) \\ (j)}} S_{ij}$$

(метод среднего расстояния между кластером I с численностью N_i и кластером J с численностью N_j) и опять объединяются наиболее схожие кластеры. Процесс продолжается, пока все параметры не объединятся в один кластер. Результаты кластер-анализа представлены на рисунке. Как и следовало ожидать, на первом шаге объединяются парамет-

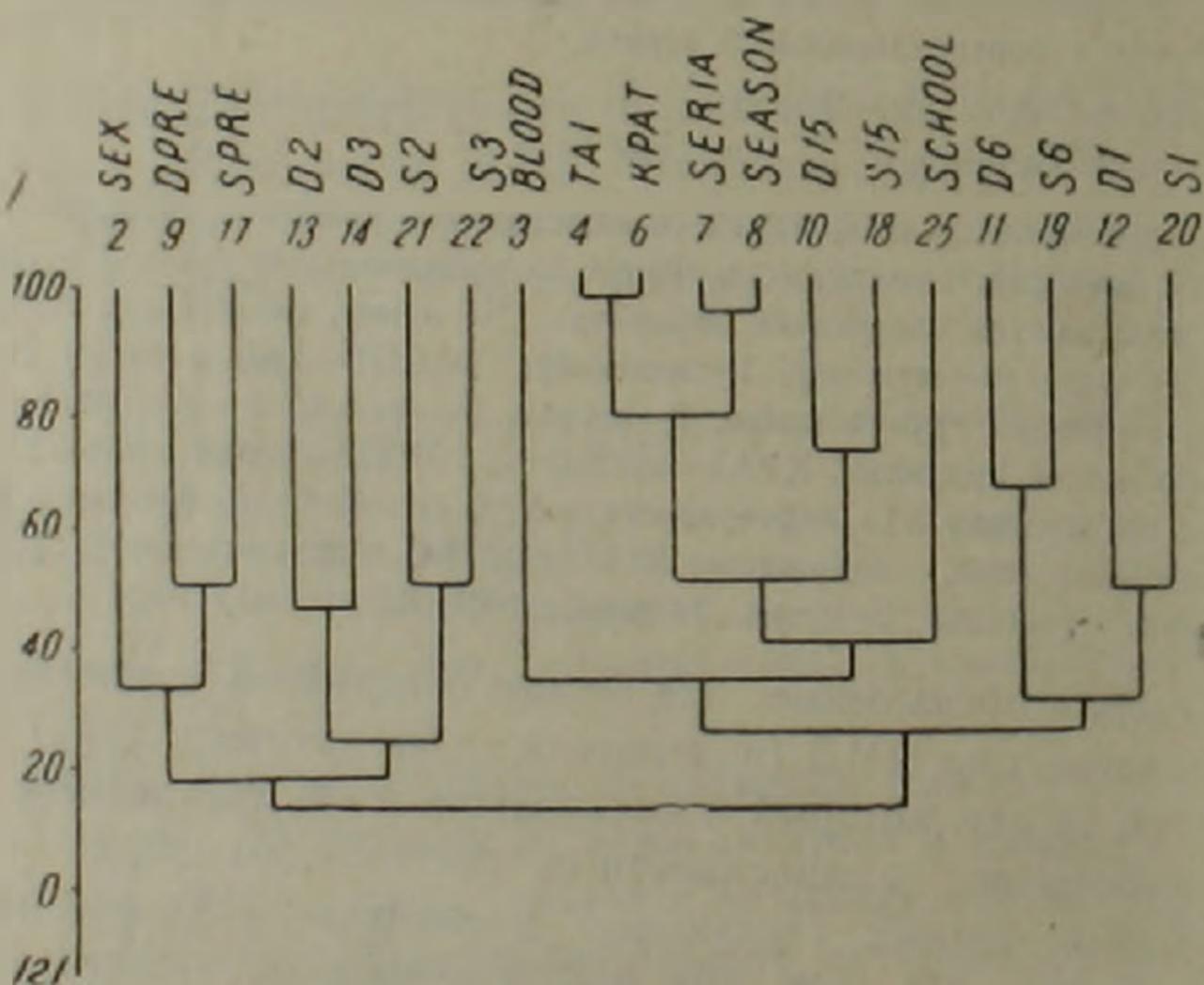


Рисунок. Древо кластирования.

ры TAI и KPAT — время после последней прививки и кратность. Пол ребенка включается в кластер с довакцинальными титрами (DPRE, SPRE), тогда как группа крови входит в кластер с поствакцинальными титрами (D015 и S015). Туда же входят параметры SERIA, характеризующие дозу антигена в сыворотке, SEASON — время вакцинации и номер школы. Справа на древе кластирования выделяется кластер, ко-

торый можно условно назвать относительным уровнем антител по дифтерии и столбняку через 6 месяцев после вакцинации, а в середине такой же кластер, но с относительными уровнями титров через 2 и 3 года после вакцинации. Интересно отметить деталь, выявленную объективной классификацией по кластер-анализу. Относительные уровни группируются прежде всего по временному признаку. Относительный уровень антител по дифтерии через полгода в первую очередь группируется с относительным уровнем антител по столбняку, то же самое наблюдается через год после вакцинации. Даже через 2 и 3 года титры по дифтерии группируются с соответствующими титрами по столбняку скорее, чем с другими параметрами. Таким образом, кластер-анализ четко выявляет тесную взаимозависимость относительного уровня антител к дифтерии и столбняку за каждый проверяемый период.

Исходя из вышесказанного, интересно проанализировать коррелированность не только относительного уровня титров, но и саму динамику измерения титров по дифтерии и столбняку. Для этого необходимо проанализировать корреляцию двух множеств величины относительных титров: DPRE, D015, D06, D1, D2, D3 и SPRE, S015, S06, S1, S2, S3. Первое множество дает динамику изменения титров по дифтерии, второе—по столбняку. Как известно [3], для этой цели служит каноническая корреляция, которая является обобщением множественной корреляции на случай нескольких зависимых переменных. Анализ канонической корреляции проводился на множестве 194 объектов, для которых известны полные наборы титров по дифтерии и столбняку. Некоторые

Таблица 2

Анализ канонической корреляции

	Анализируемые параметры	I	II	III
I множество	DPRE	0,12	0,11	0,18
	D015	0,37	0,53	0,76
	D06	0,53	1,06	0,93
	D1	0,49	0,54	0,77
	D2	0,40	0,41	0,62
	D3	0,21	0,37	0,22
II множество	SPRE	0,17	0,26	0,21
	S015	0,39	0,50	0,75
	S06	0,41	1,27	0,85
	S1	0,42	0,51	0,74
	S2	0,48	0,68	0,69
	S3	0,49	0,16	0,59

Примечание. I—квадрат коэффициента множественной корреляции параметра со всеми параметрами своего множества. II—коэффициенты для I канонической переменной, III—нагрузки I канонической переменной (корреляции канонической переменной с исходными параметрами).

Результаты приведены в табл. 2. Известно [1], что анализ канонической корреляции выделяет линейные комбинации параметров I и II множеств

в порядке убывания корреляции. Для выделения статистически значимых коэффициентов канонической корреляции используется тест Бартлетта, который для больших выборок аппроксимируется χ^2 распределением. Значения канонических корреляций и критерия Бартлетта их значимости даны в табл. 3. Проверка значимости по критерию Бартлет-

Таблица 3
Канонические корреляции и тест Бартлетта их значимости

Канонические корреляции	χ^2	Число степеней свободы	Достоверность
	138	36	100
0,62	49	25	99,7
0,39	18	16	68
0,26	5,18	9	28
0,15	0,91	4	88
0,07	0,03	1	13
0,01	0,0	0	0

та дает статистическую значимость лишь для первого коэффициента (уровень значимости 0,997, тогда как для второго—уже 0,68). Нагрузки I канонической переменной (равные корреляции этой переменной с исходными параметрами) также приведены в табл. 2.

Таким образом, в результате проведенного анализа была выявлена статистически значимая корреляция не только для значений титров в фиксированное время, но и в динамике их изменения как по дифтерии, так и по столбняку.

НИИ эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии им. А. Б. Алексаняна

Поступило 5.VIII 1981 г.

ԻՄՈՒՆԱՅԻՆ ՊԱՏԱՍԽԱՆԻ ՄԱԹԵՄԱՏԻԿԱԿԱՆ ՄՈՒԵԼԱՑՈՒՄԸ
ԳԻՖՏԵՐԻԱՅԻ ԵՎ ՊՐԿԱԽՏԻ ԴԻՄ ԲԻՎԱԿՅԻՆԱՑԻՍՅՈՒՑ ԷՆՏՈ

Ա. Ա. ՕՐԴՈՒԽԱՆՅԱՆ, Ե. Վ. ՄԱՆՎԵԼՅԱՆ

Աշխատանքում քննվում են այն հիմնական ենթադրությունները, որոնք ընդունվել են դիֆտերիայի և պրկախտի նկատմամբ՝ երկարատև անընկալության Գոտլիբի դասական մոդելի ստեղծման ժամանակ:

Ստեղծվել է դիֆթերիայի և պրկախտի դեմ 11 տարեկանների պատվաստման սովյալների բանկ: Կլաստեր անալիզի և կանոնիկ կոռելյացիայի անալիզի օգնությամբ հետազոտվել է օգտագործվող պարամետրերի ներքին կառուցվածքը: Հայտնաբերվել է դիֆթերիային և պրկախտային հակամարմինների տիտրերի համեմատական մակարդակների փոխկախվածությունը՝ ժամանակի նշված պահերին և դինամիկայում՝ ժամանակի փոփոխությամբ:

MATHEMATICAL MODELING OF IMMUNE RESPONSE AFTER REVACCINATION AGAINST DIPHTHERIA AND TETANUS

A. A. ORDUKHANIAN, E. V. MANVELIAN

General assumptions used for construction of well-known Gottliet's mathematical model for long-term immunity to diphtheria and tetanus have been analyzed. Data bank is created for immunity of 11-years old children.

Using the cluster analysis and analysis of canonical correlation the intrinsic structure of analysed parameters is discussed. The presence of relationship between titers of diphtheria and tetanus both for fixed time of determination and for dynamics of changes during the observation time has been pointed out.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Болч Б., Хуань К Дж. Многомерные статистические методы для экономики. М., 1979.
2. Ишков В. Л., Лишук В. А. Успехи совр. биол., 87, 2, 229—244, 1979.
3. Кендалл Дж., Стьюарт А. Многомерный статистический анализ и временные ряды. М., 1976.
4. Леви М. И., Смирнова О. А. Ж. общей биол., 38, 1, 88—99, 1977.
5. Gottlieb S., Martin M., Mc Laughlin F. X., Panaro R. S., Levine L., Edsall G Amer. J. of Epidemiology., 85, 2, 207—219, 1967.

ВЛИЯНИЕ МОЛИБДЕНА НА НЕКОТОРЫЕ ЗВЕНЬЯ ИММУНОГЕНЕЗА У РАЗЛИЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

А. Т. ТЕР-АВETИСЯН, А. А. ПЕТРОСЯН

Выявлено, что длительное действие стабильного молибдена вызывает некоторые изменения в функционировании иммунологической системы как единого целого, что выражается в дисфункции кроветворной системы (костный мозг—периферическая кровь), а также в сдвигах, происходящих в тимусе, лимфатических узлах, селезенке, при одновременном нарушении циркуляции и обмена клетками между иммунологическими органами.

Наблюдаемые явления носили проходящий характер, и нормализация клеточного равновесия в иммунологических органах наступала к концу восстановительного периода.

Ключевые слова: молибден, кроветворение, иммуногенез.

Доказано [3—5], что даже незначительные количества молибдена обладают большой биологической активностью и участвуют в сложных белковых, углеводных, минеральных и других обменных процессах организма. Имеются данные о роли молибдена (Мо) в процессах кроветворения [1, 2].

Большое значение имеет изучение влияния микроэлементов на иммунозащитные возможности организма. Поэтому целью настоящей работы явилось исследование некоторых сторон иммуногенеза после 120-дневного ингаляционного поступления стабильного Мо в организм животных.

Материал и методика. Опыты были поставлены на половозрелых животных: 95-ти крысах-самцах и 15-ти кроликах, которые были подразделены на две группы. Животные I группы (крысы, кролики) однократно и перорально получали стабильный Мо в количестве 2 мл, в котором содержалось 19—38 мг стабильного Мо/на животное.

Во II группе животные (крысы) затравлялись стабильным Мо ингаляционным способом. Ингаляционная затравка животных порошком металлического Мо производилась в 750-литровой камере в течение 4-х месяцев. Ежедневно (кроме субботы и воскресенья) животным, находившимся в затравочной камере, с воздухом подавался Мо. Для выявления предполагаемого действия Мо выбирали концентрацию, превышающую ПДК (предельно допустимые концентрации) нерастворимых соединений и металлического Мо (6 мг/м³) в 10 раз. Экспериментальная величина концентрации Мо составляла $56,30 \pm 3,063$ мг/м (среднее от 138 измерений) и в ходе опытов оставалась относительно постоянной. В начале эксперимента концентрация Мо в затравочной камере определялась весовым методом на фильтре АФА—10, затем для сравнения химическим методом. Порошок металлического Мо распыляли в камере с помощью распылителя Ю. Г. Широкова, через который подавался воздух.

Исследования проводились через 1, 5, 7, 10, 14, 20, 21, 30, 60, 90, 120, 150 сут от начала опытов.

Мазки костного мозга, лимфатических узлов, тимуса селезенки, периферической крови окрашивались по методу Паппенгейма. Одновременно проводился общий анализ крови.

Материал подвергнут обработке методом вариационной статистики.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что однократное пероральное введение крысам стабильного Mo приводит к значительному уменьшению числа нормоцитов в костном мозге. Во все сроки исследований в периферической крови был установлен эритроцитоз. Гемоглобин находился в пределах контрольных величин с резким снижением (52,2%) на 7-е сут опытов. Mo не вызвал отчетливых нарушений в нейтрофильной системе кроветворения, кроме миелоцитоза, который наблюдался в костном мозге только через 24 ч от начала опытов.

Однократное введение стабильного Mo через 24 ч вызвало снижение числа клеток в лимфатическом ряду тимуса (лимфобластов, пролимфоцитов—27,4%; норма—63,217%). Тенденция к увеличению этих элементов была отмечена на 7-й день исследований (лимфобласты, пролимфоциты—91,0%; лимфоциты—461,0%). Количество зрелых лимфоцитов колебалось в пределах контрольных величин.

Следовательно, согласно нашим данным, у животных, подвергшихся однократному воздействию стабильного Mo , имело место количественное нарушение клеток красного ростка костного мозга и эритроцитов в периферической крови во все сроки исследований. Серьезные сдвиги наблюдались в клеточном равновесии лимфоидного ряда тимуса.

Аналогичные, но более глубокие изменения происходили в организме кроликов: через 24 ч и на 7-й день опытов у них наблюдались не только количественные сдвиги в системе костного мозга, но также качественные нарушения (резко выраженная зернистость цитоплазмы нейтрофильного ряда, тусклость эритроидных клеток).

Изучение системы эритропоэза после длительного ингаляционного поступления стабильного Mo (табл. 1) в организм животных обнаружило количественную активацию эритробластов на 5-е и 20-е сут, уменьшение числа ретикулоцитов на 90-е сут, снижение и подскок гемоглобина на 10-е и 120-е дни от начала опытов. Уровень эритроцитов сохранялся в пределах контроля.

Исследование костного мозга выявило некоторые сдвиги со стороны несегментированных и переходных элементов миелопоэза: отмечался миелоцитоз на 30-е сут, резкое уменьшение числа метамиелоцитов даже через 30 дней после прекращения дачи стабильного Mo . Фазовые нарушения имели место в количестве палочкоядерных элементов с пиками резкого их уменьшения на 20-е и 90-е дни опыта, содержание которых так и не достигло нормальных величин к концу восстановительного периода.

Число сегментоядерных элементов в костном мозге колебалось в пределах контрольных величин в течение всех дней наблюдений. В пе-

Влияние стабильного молибдена на количественные изменения клеток костного мозга у крыс

Показатели, %	Контроль	Дни исследований						
		5	10	20	30	60	120	150
Миелоциты	12,9±3,863	8,938±1,724 t = +0,937 P > 0,5	20,875±1,326 t = +1,953 P > 0,1	21,25±4,84 t = +1,349 P > 0,25	23,25±2,785 t = +2,172 P = 0,05	10,398±1,552 t = +0,615 P < 0,5	14,688±2,718 t = +0,379 P < 0,5	10,438±1,857 t = ±0,574 P < 0,5
Метамиелоциты	15,9±3,326	14,129±1,989 t = +0,458 P < 0,5	18,85±1,724 t = +0,761 P > 0,5	15,938±3,846 t = +0,007 P < 0,5	18,563±3,912 t = +0,536 P < 0,5	17,56±2,45 t = +0,403 P < 0,5	11,688±1,1 t = +1,201 P > 0,25	7,075±0,796 t = ±2,581 P > 0,05
Палочко-ядерные	5,9±0,858	5,875±0,796 t = +0,057 P < 0,5	4,125±0,796 t = +1,506 P > 0,25	3,25±0,663 t = +2,427 P > 0,05	4,375±0,597 t = +1,519 P > 0,2525	7,75±1,193 t = +1,259 P = 0,25	5,188±0,862 t = ±0,586 P < 0,5	3,75±0,597 t = +2,059 P = 0,05
Сегментоядерные	35,5±4,614	31,375±2,122 t = +0,812 P > 0,5	32,375±3,315 t = +0,55 P < 0,5	34,875±1,989 t = +0,124 P < 0,5	33,0±2,884 t = +0,455 P < 0,5	37,625±2,055 t = +0,424 P < 0,5	27,063±4,973 t = +1,243 P > 0,25	39,288±2,718 t = +0,707 P > 0,5
Эозинофилы	1,6	5,875±1,459	1,375	2,625	0,813	1,938	2,5	10,32±2,65
Моноциты	3,0±0,429	3,815±0,265 t = +1,617 P > 0,25	2,25	3,313±0,398 t = +0,536 P < 0,5	2,688±0,464 t = +0,494 P > 0,5	2,813±0,133 t = +0,417 P < 0,5	4,375±0,398 t = ±2,354 P > 0,05	4,125±0,388 t = +1,926 P = 0,05
Лимфоциты	3,3±0,536	4,25±0,464 t = +1,342 P > 0,25	2,75±0,265 t = +0,931 P > 0,5	3,575±0,61 t = +0,338 P < 0,5	3,188±0,398 t = +0,168 P < 0,5	3,813±0,464 t = +0,725 P > 0,5	4,625±0,39 t = +1,387 P = 0,05	3,45±0,39 t = +0,225 P < 0,5
Базофилы	—	1,25	0,875	0,938	1,313	0,563	0,688	1,038
Метакарноциты	0,636	0,438	2,635	1,925	1,185	1,478	0,875	0,625
Эритробласты	6,6±1,073	11,125±1,193 t = +2,821 P > 0,02	5,875±1,193 t = +0,452 P < 0,5	5,875±1,193 t = +2,12 P = 0,05	10,0±1,193 t = +0,829 P > 0,5	8,125±1,79 t = +0,732 P > 0,5	7,375±1,26 t = +0,489 P < 0,5	8,25±1,0 t = +1,128 P > 0,5
Нормоциты	—	—	—	—	—	—	—	—
Ретикулоциты	11,4±3,648	9,125±0,796 t = ±0,609 P = 0,5	6,0±0,928 t = ±1,43 P > 0,25	5,688±0,928 t = +1,518 P > 0,25	7,25±0,796 t = +1,112 P > 0,5	7,0±0,663 t = +1,187 P > 0,5	6,688±1,103 t = +1,228 P > 0,25	5,375±0,995 t = +1,594 P > 0,25
Плазматические клетки	1,2	3,375	2,375	1,563	1,25	1,063	3,625	6,063±1,068

риферической крови было обнаружено значительное увеличение числа этих клеток на 20, 30, 60, 90, 120-е дни опытов.

Уровень моноцитов в костном мозге регистрировался в пределах нормальных величин в течение первых трех месяцев экспериментально-го периода, и только на 4-й месяц (120-й день) у этой группы животных отмечался моноцитоз, который стойко держался до конца наблюдений. В периферической крови содержание моноцитов колебалось в пределах нормы.

Резкий эозинофилез в костном мозге наблюдался на 5-е сутки, а также через 30 дней после прекращения ингаляционной заправки стабильным Мо. В периферической крови была отмечена значительная эозинофилия почти во все сроки исследований, за исключением 10, 20, 120-го дней, в течение которых уровень эозинофилов не поднялся выше контроля (табл. 2). Лимфоцитоз в костном мозге был отмечен лишь на 120-е сутки, в остальные сроки исследований уровень этих элементов был нормальным. В периферической крови количество лимфоцитов увеличилось на 10, 20, 120-е сутки после введения стабильного Мо.

В то же время, по сравнению с контролем, была отмечена резко выраженная активация молодых и зрелых элементов в лимфоидном ряду тимуса в течение всех сроков исследований, не исключая и восстановительный период.

Аналогичные нарушения клеточного равновесия наблюдались также в лимфатических узлах. Подобная закономерность с некоторыми отклонениями была установлена со стороны тех же элементов в селезенке во все сроки исследований.

Результаты наших опытов свидетельствуют о том, что иммунологические изменения, наблюдаемые нами после длительного ингаляционного поступления стабильного Мо в организм животных, имеют ряд характерных черт: определенный полиморфизм изменений, их фазность, активация молодых, а также зрелых клеточных элементов.

Нарушение эритропоэза выразилось в нестойкости количественных сдвигов со стороны эритробластов, ретикулоцитов в костном мозге, при соответствующем их отражении в картине периферической крови (увеличение гемоглобина на 10-е и 120-е сут по сравнению с контролем при одновременно нормальном уровне эритроцитов в течение всего экспериментального периода).

Недостаточность лимфо- и лейкопоэза проявлялась в выраженном лимфоцитозе только лишь на 120-е сут: в уменьшении числа метамиелоцитов через 30 дней от начала периода восстановления, в количественной неустойчивости палочкоядерных клеток на протяжении 150-дневного исследования (костный мозг). Некоторые незакономерные изменения имели место со стороны лимфоцитов, эозинофилов, моноцитов в периферической крови в течение всего эксперимента.

Необходимо отметить, что хотя в костном мозге количественных изменений со стороны зрелых нейтрофилов по сравнению с контролем не произошло, однако фазовые нарушения тех же элементов были обнару-

Влияние стабильного молибдена на изменения клеток периферической крови у крыс

Показатели, %	Контроль	Д и и с с л е д о в а н и я						
		5	10	20	30	60	120	150
Гемоглобин	76,6 \pm 3,648	82,625 \pm 3,315 t = +1,223 P > 0,25	67,13 \pm 3,448 t = +1,888 P < 0,0605	79,0 \pm 2,586 t = +0,537 P < 0,5	80,938 \pm 3,713 t = +0,833 P > 0,5	90,5 \pm 3,315 t = +2,809 P < 0,02	86,625 \pm 2,387 t = +2,295 P > 0,5	79,13 \pm 3,183 t = +0,523 P < 0,5
Эритроциты	3,82 \pm 0,408	3,32 \pm 0,265 t = +0,485 P < 0,5	4,55 \pm 0,318 t = +1,609 P > 0,25	3,563 \pm 0,159 t = +0,351 P < 0,5	4,275 \pm 0,199 t = +0,258 P < 0,5	4,45 \pm 0,199 t = +0,339 P > 0,5	5,05 \pm 1,618 t = +0,788 P > 0,05	3,3 \pm 0,31 t = +0,822 P > 0,5
Лейкоциты	12,28 \pm 2,146	14,775 \pm 2,228 t = +3,093 P > 0,02	16,8 \pm 5,808 t = +0,730 P > 0,5	23,35 \pm 3,116 t = +2,926 P > 0,02	9,875 \pm 1,618 t = +0,895 P > 0,5	9,925 \pm 2,042 t = +0,795 P > 0,5	7,825 \pm 1,485 t = +1,707 P > 0,25	12,025 \pm 0,902 t = +0,15 P < 0,5
Палочкоядерные	—	0,5	—	—	—	—	0,125	—
Сегментоядерные	15,2 \pm 3,433	20,125 \pm 1,857 t = +1,262 P > 0,25	42,24 \pm 10,476 t = +0,773 P > 0,05	33,0 \pm 4,509 t = +3,141 P > 0,02	33,375 \pm 6,896 t = +2,257 P > 0,05	29,375 \pm 5,437 t = +2,205 P > 0,05	25,375 \pm 2,917 t = +2,255 P > 0,05	23,0 \pm 4,243 t = +1,429 P > 0,25
Эозинофилы	3,2 \pm 0,644	1,25—2	2,5	3,0	1,5	1,875	3,25 \pm 0,633 t = +0,054 P < 0,5	1,625
Моноциты	4,0 \pm 0,614	4,25 \pm 0,663 t = +0,267 P < 0,5	3,25	2,875	2,25	2,0	2,625	5,25 \pm 0,79 t = +1,217 P > 0,25
Базофилы	0,5	0,75	1,25	—	0,25	0,375	0,5	1,5
Лимфоциты	76,8 \pm 3,219	74,0 \pm 2,387 t = +0,699 P > 0,5	46,375 \pm 9,15 t = +3,262 P > 0,01	59,875 \pm 7,293 t = +2,123 P = 0,05	61,625 \pm 7,16 t = +19,33 P > 0,11	67,25 \pm 5,7 t = +1,459 P > 0,25	67,375 \pm 2,917 t = +2,17 P = 0,05	68,375 \pm 3,448 t = +1,786 P > 0,25

жены в периферической крови. Волнообразный характер носили также изменения в количестве лейкоцитов, с тенденцией к лейкоцитозу на 5, 20, 90-е сут от начала опытов.

Таким образом, исходя из результатов наших исследований, можно полагать, что длительное воздействие стабильного Мо вызывает в организме животных некоторые изменения в функционировании иммунологической системы как единого целого, что выражается в дисфункции кроветворной системы (костный мозг, периферическая кровь), а также в сдвигах, происходящих в тимусе, лимфатических узлах, селезенке, при одновременном нарушении циркуляции и обмена клетками между иммунологическими органами.

Институт общей гигиены и профзаболеваний
МЗ Армянской ССР

Поступило 6.XII 1980 г.

ՄՈԼԻԲԴԵՆԻ ԱՉԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԿԵՆԴԱՆԻՆԵՐԻ ԻՄՈՒՆՈԳԵՆԵՑԻ ՄԻ ՔԱՆԻ ՕՂԱԿՆԵՐԻ ՎՐԱ

Ա. Տ. ՏԵՐ-ԱՎԵՏԻՍԻԱՆ, Ա. Ա. ՊԵՏՐՈՍԻԱՆ

Տարբեր տեսակի կենդանիների իմունոգենների մի քանի օղակների ուսումնասիրությունների ժամանակ հայտնաբերվել է, որ մոլիբդենի երկարատև ազդեցությունն առաջացնում է իմունոլոգիական համակարգի՝ որպես միասնական ամբողջության գործունեության, որոշակի խանգարումներ, Իրանք դրսևորվում են արյունաստեղծ համակարգի (ոսկրածուծի, պերիֆերիկ արյան) դիսֆունկցիայով, ինչպես նաև՝ ուրցագեղձում, լիմֆոհանգույցներում, փայծաղում տեղի ունեցող տեղաշարժերով ու իմունոլոգիական օրգանների միջև բջիջների շրջանառության և փոխանակության միաժամանակյա խանգարումներով:

INFLUENCE OF MOLIBDENUM ON THE IMMUNOLOGICAL SHIFT OF DIFFERENT ANIMALS

A. T. TER-ABETISIAN, A. A. PETROSIAN

The stable molybdenum causes some changes in the immune system expressed in the disfunction of hematopoetic system and also in the deviation in the thymus, lymph node and spleen with the simultaneous shift of the circulation and cell metabolism between the immunogenous organs.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гаприелова Г. М. цит. по Геворкян Г. Г. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1966.
2. Бабенко Г. А., Решеткина А. П. В кн.: Применение микроэлементов в медицине. Киев, 1971.
3. Гойнацкий М. Н. В кн.: Микроэлементы в медицине. Киев, 1968.
4. Ковальский В. В., Яровая Г. А. Молибден в живых организмах и окружающей среде. Природа, 6, 1966.
5. Малеванная Е. М. Автореф. канд. дисс., Киев, 1962.

ГИББЕРЕЛЛИН—СТИМУЛЯТОР РОСТА МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Л. А. ЕРЗИНКЯН, Р. А. МАДОЯН, М. Ш. ПАХЛЕВАНЯН

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, гиббереллин.

Стимулирование роста молочнокислых бактерий осуществляется путем добавления в питательную среду различных соединений, таких, как пептиды, лимонная и уксусная кислоты, а также их соли, цитраты и ацетаты, из жирных кислот—олеиновая кислота.

Как известно, в растениеводстве в качестве стимулятора роста растений и в целях повышения урожайности сельскохозяйственных культур используются гиббереллины [3]. В нашей стране исследования по изучению стимулирующего действия гиббереллинов на рост и развитие растений первым начал Чайлахян [5, 7, 8]. Однако вопрос о влиянии гиббереллина на микроорганизмы изучен недостаточно. В литературе встречаются противоречивые сведения. По данным некоторых авторов, гиббереллин не стимулирует рост и развитие микроорганизмов [2, 11, 12]. Имеются также данные, которые свидетельствуют об отрицательном влиянии его на микроорганизмы [6, 13]. Однако в последнее время в литературе появились сообщения о благоприятном влиянии гиббереллина на рост и развитие азотобактера и дрожжей [1, 9, 10].

До сих пор полностью отсутствуют данные о влиянии гиббереллина на молочнокислую эпифитную микрофлору растений и молочнокислые бактерии молочных продуктов.

В связи с этим нами было изучено влияние различных концентраций гиббереллина на рост и развитие молочнокислых бактерий и их кислотообразующее свойство.

Материал и методика. Для исследовательских работ были взяты 0,001-, 0,005- и 0,01%-ная концентрации гиббереллина (производства Курганского завода) в молоке и изучено его влияние на величину, количество клеток, а также на кислотообразование высокоэффективных штаммов *Lbm. lactis* 13/17, *Lbm. plantarum* 44/9, *Lbm. mazoni* 74/2 и *Str. lactis* 14/20.

При указанных концентрациях гиббереллина в молоке проводилась инкубация *Lbm. lactis* шт. 13/17 при 37° в течение суток; *Lbm. plantarum* шт. 44/9 — при 30° в течение 7 суток; *Lbm. mazoni* шт. 74/2 — при 37° в течение двух суток; *Str. lactis* шт. 14/20 — при 37° в течение суток.

Для получения силоса с использованием гиббереллина силосуемую кукурузную массу увлажняли водным раствором гиббереллина в концентрациях 0,001 и 0,005% от массы силосуемой кукурузы.

Количество микроорганизмов определялось по Мак-Креди, кислотность в молоке — по Тернеру, кислотность в силосе — по Зубрилину [4].

Результаты и обсуждение. Полученные данные показывают, что гиббереллин в концентрациях 0,001 и 0,005% повышает количество микроорганизмов всех испытываемых штаммов молочнокислых бактерий от 4 до 8 раз. При концентрации его в молоке 0,01% количество микроорганизмов у штаммов *Lbm. plantarum* 44/9, *Lbm. lactis* 13/17 и *Lbm. mazoni* 74/2 увеличивается в 10 раз, тогда как у штамма *Str. lactis* 14/20 — примерно в 4 раза. Как видно из таблицы, влияние гиббереллина на молочнокислую микрофлору зависит от вида бактерий.

Наши исследования показали, что гиббереллин положительно влияет на кислотообразование. Так, у штамма *Lbm. lactis* 13/17 наблюдалось повышение кислотности по сравнению с контролем на 50°Т, а у штамма *Lbm. mazoni* 74/2 — на 30°Т при концентрации 0,01% (таблица).

Таблица

Влияние различных концентраций гиббереллина на испытываемые штаммы молочнокислых бактерий

Культура бактерий	Контроль (молоко без гиббереллина)		Молоко с гиббереллином					
			0,001		0,005		0,01	
	кислот- ность, °Т	количество бактерий в 1 мл	кислот- ность, °Т	количество бактерий в 1 мл	кислот- ность, °Т	количество бактерий в 1 мл	кислот- ность, °Т	количество бактерий в 1 мл
<i>Lactobacterium lactis</i> шт. 13/17	100	2,5 · 10 ⁹	180	1 · 10 ⁹	200	2 · 10 ⁹	230	2,5 · 10 ⁹
<i>Lactobacterium planta- rum</i> шт. 44/9	100	6 · 10 ⁷	100	2,5 · 10 ⁸	110	4 · 10 ⁸	120	6 · 10 ⁸
<i>Lactobacterium mazoni</i> шт. 74/2	210	2,5 · 10 ⁹	210	1 · 10 ⁹	220	1,5 · 10 ⁹	240	2,5 · 10 ⁹
<i>Streptococcus lactis</i> шт. 14/20	115	6 · 10 ⁷	115	2,5 · 10 ⁸	120	2,5 · 10 ⁸	125	2,5 · 10 ⁸

Гиббереллин не оказывает влияния на величину клеток при всех испытываемых концентрациях.

Через 15 суток после закладки силоса численность молочнокислых бактерий в 1 г силосуемой массы при количестве гиббереллина 0,001% по сравнению с контролем возрастает в 10 раз, при концентрации стимулятора 0,005% — в 20 раз. Соответственно количество образованной молочной кислоты в силосуемой массе при внесении 0,001%-ного гиббереллина повышается на 15%, а при концентрации 0,005% — на 23%.

В результате активации молочнокислого брожения за счет спонтанной молочнокислой микрофлоры силосуемой массы вкусовые качества силоса значительно улучшаются.

Таким образом, сопоставление всех полученных данных позволяет считать, что в определенных концентрациях гиббереллины значительно повышает активность роста молочнокислых бактерий, увеличивает выход бактериальной биомассы и продуктов их биосинтеза. Его можно с успехом использовать при силосовании кормов и в разных отраслях мясомолочной промышленности.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 1.VI 1981 г

ՀԻՐԵՐԵԼԻՆԸ՝ ԿԱԹՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԱՃԻ ԽԹԱՆԻՉ

Լ. Ն. ԵՐԶԻՆՅԱՆ, Ի. Ռ. ԽԱՒՈՅԱՆ, Ի. Շ. ՓԻՆՆՎԱՆՅԱՆ

Հիբերելինը խթանիչ ազդեցություն է ցուցաբերում ուսումնասիրված կաթնաթթվային բակտերիաների վրա: Այն 0,001., 0,005 և 0,01% կոնցենտրացիաներով կաթի մեջ՝ մակարդակած *Lbm. plantarum* 44/9, *Lbm. lactis* 13/17 *Lbm. mazuni* 74/2 և *Str. lactis* 14/20 շտամներով, միկրոօրգանիզմների թիվը ավելացնում է 4—10 անգամ, թթվությունը՝ 4—28% -ով:

Սիլոսացման ժամանակ բույսերի էպիֆիտ միկրոֆլորայի կաթնաթթվային բակտերիաների բջիջների թիվը հիբերելինի 0,001 և 0,005% կոնցենտրացիաների դեպքում (ըստ սիլոսացվող մասսայի) ավելանում է 10—20 անգամ, թթվությունը՝ 15—23% -ով:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арцтюнян Р. Ш., Степанян М. Д., Чайлахян М. Х. Вопросы микробиологии, Ереван, 6, 16, 44—56, 1973.
2. Гольдик М. И., Лалидус Н. Г. Изв. АН СССР, 1, 129—131, 1960.
3. Гиббереллины и их действие на растения. М., 1963.
4. Зубрилин А. А. Методы биохимических исследований силоса. Дубровицы, 1967.
5. Красильников Н. А., Чайлахян М. Х., Скрябин Г. К., Хохлова Ю. М., Улезло И. В., Константинова Т. Н. Докл. АН СССР, 121, 4, 755—758, 1958.
6. Островский Н. И., Шалагина А. Н., Крюкова М. А., Баньковская А. Н. Физiol. раст., 8, 3, 358, 1961.
7. Чайлахян М. Х. Гиббереллины и их действие на растения. М., 7—28, 1963.
8. Чайлахян М. Х. Бот. журн., 43, 7, 927—952, 1958.
9. Чурикова В. В., Орлова А. И. Прикладная биохимия и микробиология. 10, 1, 161—165, 1974.
10. Greenberg L., Tirpak J. Amer. Pharm., 49, 5, 333, 1960.
11. Lu K. C., Gilmour C. M., Zagallo A. C., Bollen W. B. Nature, 181, 4603, 18a, 1959.
12. Luridiano N., Robustelli F. Biol. Latina, 13, 2, 263, 1960.
13. Santoro T., Castda L. Mycologia, 51, 1, 70, 1962.

РЕФЕРАТЫ

УДК 591.169.616—003,93,616—007.15

ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ
ДЕГИДРОГЕНАЗ СУКЦИНАТА И ЛАКТАТА В ИНТАКТНОЙ И
РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ ДОМАШНИХ КУР

К. А. ДЖИВАНЯН, К. С. ТЕР-ОГАНЯН

Изучена активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в печени домашних кур в норме и в разные сроки после частичной гепатэктомии.

В гепатоцитах интактной печени домашних кур активность СДГ высокая, оценивается в 3 балла; активность ЛДГ умеренная, может быть оценена в 2 балла.

В ранние сроки опыта (1—3-й дни после операции) в печени подопытных кур, особенно в зоне резекции, значительно снижалась активность СДГ, в сильно поврежденных дольках она полностью утрачивалась. Снижалась также активность ЛДГ, но в отличие от СДГ она проявлялась в дисконкомплексированных секреторных трубках. На 5-й день опыта сохранялся пониженный уровень активности СДГ (2 балла) и еще более снижалась активность ЛДГ. На 10-, 20-е сутки активность изученных ферментов почти нормализовалась. Через 30—60 суток после частичной гепатэктомии активность ЛДГ в гепатоцитах регенерирующей печени находилась на уровне контроля, активность СДГ на 30-й и особенно 60-й дни опыта во всей печени значительно повышалась.

4 с., илл. 2, библиогр. 9 назв.

Ереванский государственный университет,
кафедра зоологии

Поступило 8 VIII 1981 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИННИГИ