

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
ՀԱՆԴԵՍ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ
АРМЕНИИ

Издается с 1946 года

Айастані кенсабанакан андес,

выходит 12 раз в год

на армянском и русском языках

Խմբագրական կոլեգիա՝ Ծ. Մ. Ավագյան, Վ. Ծ. Ավետիսյան, Է. Գ. Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Հ. Գ. Բակլավադջյան, Հ. Դ. Բատիկյան, Ա. Շ. Գալստյան (գլխ. խմբագրի տեղակալ), Ժ. Ի. Հակոբյան, Վ. Հ. Ղազարյան, Ս. Հ. Մովսիսյան:

Խմբագրական խոստովոց՝ Ն. Ն. Ակրամովսկի, Վ. Շ. Աղաբաբյան, Հ. Ս. Ավետիսյան, Է. Գ. Աֆրիկյան (խորհրդի նախագահ), Դ. Ն. Բաբայան, Ս. Ա. Բակունց, Ա. Լ. Թախտադջյան, Պ. Ա. Խուրշուդյան, Ս. Կ. Կարապետյան, Մ. Գ. Հովհաննիսյան, Լ. Լ. Հովսեփյան, Լ. Ս. Ղամբարյան, Ա. Ա. Մաթևոսյան, Մ. Խ. Չալախյան, Ս. Հ. Պողոսյան, Մ. Ե. 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, 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.

Բ Ո Վ Ա Ն Դ Ա Կ Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

Փորձառական

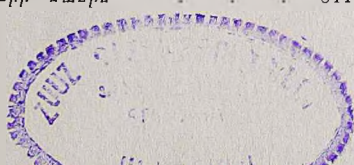
- Կարապետյան Ս. Կ., Արշակյան Ա. Վ., Պողոսյան Ն. Լ. Հիպոթալամուսի դերը թուղանների պայմանական ռեֆլեկտոր գործունեության մեջ 777
- Ղարիբյան Ա. Ա., Խանամիրյան Տ. Վ., Ղազարյան Գ. Մ., Ղամբարյան Լ. Ս. Ուղեղի խորքում տեղավորված ստրուկտուրաների դերը կենդանիների հարմարվողական վարքագծում 783
- Մխիթարյան Վ. Գ., Մխիթարյան Լ. Վ., Սեմերչյան Լ. Վ. Առնետների լյարդում և ուղեղում լիպիդային զերօքսիդացման պրոցեսի վրա բլոֆլավանոլիդների ազդեցությունը 787
- Գաբրիելյան Ա. Գ., Ազարյան Ն. Գ., Զաֆարյան Ռ. Ա. Պլազմիդային ԴՆԹ-ների ուսումնասիրումը սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակով 790
- Հովհաննիսյան Գ. Հ. Աղիքային ցուպիկի ռիբոսոմային մուտանտների նոր խմբի ստացումը և ուսումնասիրությունը 795
- Սիմոնյան Ն. Վ., Ավագյան Մ. Մ., Զանփուլադյան Ն. Լ., Ստեփանյան Լ. Գ. *Pichia pinus* խմորասնկերի ռադիոզգայնությունը անման ստացիոնար և լոգարիթմական ֆազաներում 799
- Պարոնյան Ա. Խ., Գաբաև Թ. Ա., Մալարյան Մ. Ն. Զերմուկի հանքային ջրերից անջատված *Rhodopseudomonas* sp. շտամ Ու-4 ֆոտոտրոֆ բակտերիան 803
- Ալեքսանյան Ե. Ռ., Մաքկոսյան Լ. Ս. *Pullularia* sp. սնկի β-ֆրուկտոֆուրանոզիդազայի հատկությունները 809
- Անանյան Լ. Դ., Ղազարյան Ֆ. Ռ., Աղաջանյան Զ. Ա., Պոպով Յու. Գ. Արզիսիների փոխանակության ուղիները *Rhodospirillum rubrum* -ի մոտ 812
- Ավվախյան Ն. Ն., Հովսեփյան Մ. Վ. Ուռուի և առվույտի պալարաբակտերիաների պոլիպլոիդ ձևերի սիմբիոտիկ առանձնահատկությունները 819
- Հովսեփյան Մ. Վ., Հաբուսյան Ս. Հ. Աղենոզինեոֆոսատազային և զերօքսիդազային ակտիվության ցիտոքեմիան պալարաբակտերիաների պոլիպլոիդ ձևերի մոտ 824
- Խաչիկյան Լ. Ա. Արարատյան հարթավայրի մարգագետնային գորշ ոռոգելի հողերի միկրոֆլորայի մասին 828
- Մաքկոսով Ռ. Ն., Մկրտչյան Լ. Պ., Խեչոյան Լ. Ս. Քաղցածության ազդեցությունը Արարատյան որդան կարմրի *Porphyrophora hamelii* Brandt վերարտադրողական ֆունկցիայի վրա 832

Համառոտ հաղորդումներ

- Նիկողոսյան Վ. Գ. Ազոտաբակտերի սպիտակուցի սինթեզման ու նիտրոգենազային ակտիվության դինամիկայի մասին 835
- Շաֆարյան Գ. Ա., Սևյան Թ. Կ., Հակոբյան Զ. Մ. Երևանի թոշնաբուժական ֆաբրիկայի օդի միկրոֆլորան և նրա զգայունությունը անտիբիոտիկների նկատմամբ 837
- Մնացականով Ս. Տ. Էնտերոպաթոգեն *Escherichia coli* շտամների էկոլոգիայի մասին 840
- Հաբուսյան Վ. Մ. Մակերիկամի կեղևի և վահանաձև զնդի ֆունկցիոնալ փոխադարձ կապը ալոբասնային դիաբետի ժամանակ 842

Ռեֆերատներ

- Նիկողոսյան Վ. Գ. *Azotobacter chroococcum*-ի անտիբիոտիկադիմացկուն մուտանտների կենսաբանական առանձնահատկությունների մասին 844



Մուրադյան Ա. Ա., Մանուչարյան Մ. Ա. Հայաստանի ֆլորայի ներկատու բույսերը	845
Մուսայելյան Մ. Ս., Ռևազովա Լ. Վ., Մանուչարյան Մ. Ա. Հայաստանի ֆլորայի որոշ բույսերում տանիղեների պարունակության մասին	846
Թովմասյան Վ. Ս. Մաղկափոշու ծլման դինամիկան և կենսունակության պահպանումը ծածկասերմ բույսերի որոշ ընտանիքներում	848

Խոցեիկա

Պրոֆեսոր Ավետիք Տեր-Պողոսյանի հիշատակին (1880—1954)	849
---	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Экспериментальные

Карапетян С. К., Аршакиан А. В., Погосян Н. Л. О роли гипоталамуса в условно-порефлекторной деятельности птиц	777
Гарибян А. А., Ханамирян Т. В., Казарян Г. М., Гамбарян Л. С. Роль глубинных структур мозга в адаптивном поведении животных	783
Мхитарян В. Г., Мхитарян Л. В., Семерджян Л. В. Влияние биофлавоноидов на процесс липидной пероксидации в органах белых крыс	787
Габриелян А. Г., Азарян Н. Г., Захарян Р. А. Спектрофотометрическое изучение плазмидных ДНК	790
Оганесян Гар. Г. Получение и анализ новой группы рибосомных мутантов кишечной палочки	795
Симонян Н. В., Авакян Ц. М., Джанполадян Н. Л., Степанян Л. Г. Радиочувствительность клеток дрожжей <i>Pichia ripus</i> в стационарной и логарифмической фазах роста	799
Паронян А. Х., Габаева Т. А., Малатян М. Н. <i>Rhodospseudomonas</i> sp. штамм Д-4-фототрофная бактерия из минерального источника Джермука	803
Алексян Е. Р., Маркосян Л. С. Свойства β -фруктофуранозидазы из <i>Pullularia</i> sp.	809
Ананян Л. Г., Казарян Ф. Р., Агаджанян Дж. А., Попов Ю. Г. Пути обмена аргинина у <i>Rhodospirillum rubrum</i>	812
Авакумова Е. Н., Овсепян М. В. Симбиотические особенности полиплоидных форм клубеньковых бактерий	819
Овсепян М. В., Арутюнян С. А. Цитохимия аденозинтрифосфатазной и пероксидазной активности у полиплоидных форм клубеньковых бактерий	824
Хачикян Л. А. Микрофлора орошаемых лугово-бурых почв Араратской равнины	828
Саркисов Р. Н., Мкртчян Л. П., Хечоян Л. С. Влияние голодания на воспроизводительную функцию араратской кошенили <i>Porphyrophora hamelii</i> Brandt	832

Краткие сообщения

Никогосян В. Г. О динамике нитрогеназной активности и синтеза белка в процессе развития азотобактера	835
Шакарян Г. А., Севян Т. К., Акопян З. М. Микрофлора воздушной среды Ереванской птицефабрики и ее чувствительность к антибиотикам	837
Мнацаканов С. Т. Об экологии энтеропатогенных штаммов <i>Escherichia coli</i>	840
Арутюнян В. М. Функциональная взаимосвязь коры надпочечников и щитовидной железы при аллоксановом диабете	842

Рефераты

Никогосян В. Г. О биологических особенностях антибиотикустойчивых мутантов <i>Azotobacter chroococcum</i>	844
Мурадян А. А., Манучарян М. А. Красильные растения флоры Армении	845

Мусаелян М. С., Ревазова Л. Б., Манучарян М. А. О содержании танидов в некоторых растениях флоры Армении	846
Товмасын В. С. Динамика прорастания и сохранения жизнеспособности пыльце- вых зерен у некоторых семейств покрытосеменных по фазам вегетации	848

Хроника

Памяти профессора Аветика Тер-Погосяна (1880—1954)	849
--	-----

ACADEMY OF SCIENCES OF THE ARMENIAN SSR BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

Founded in 1946

12 issues per year

Vol XXXV, № 10

YEREVAN

October, 1982

C O N T E N T S

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

<i>Karapetyan S. K., Arshakyan A. V., Pogossyan N. L.</i> Role of hypothalamus in the conditional reflexes of poultry	777
<i>Garibian A. A., Hanamirian T. V., Kazarian G. M., Gambarian L. S.</i> Role of the cerebral deep structures in the adaptive behaviour of animals	783
<i>Mkhitarian V. G., Mkhitarian L. V., Semerdjian L. V.</i> Bioflavonoids' action on the lipid peroxidation process in the rats' brain and liver	787
<i>Gabrielyan A. G., Azaryan N. G., Zakharyan R. A.</i> Spectrophotometric study of plasmid DNA-s	790
<i>Ohannessian G. H.</i> Isolation and analysis of a new group of ribosom mutants of <i>Escherichia coli</i>	795
<i>Simonian N. V., Avakian Ts. M., Janpoladian N. L., Stepanian L. G.</i> The radio-sensitivity of <i>Pichia pinus</i> yeast cells in the stationary and logarithmic phases of growth	799
<i>Paronian A. Kh., Gabaeva T. A., Malatian M. N.</i> <i>Rhodopseudomonas</i> sp. D-4-phototrophic bacterium separated from the mineral spring of Jermuk	803
<i>Alexanian E. R., Markossian L. S.</i> Biochemical properties of β -fructofuranosidase of <i>Pullularia</i> sp.	809
<i>Ananian L. G., Kazarian F. R., Agadjanian J. A., Popov Y. G.</i> Routes of arginine metabolism in <i>Rhodospirillum rubrum</i>	812
<i>Avvakumova E. N., Ousepian M. V.</i> Symbiotic properties of polyploid forms of roots nodule bacteria <i>Rhizobium leguminosarum</i> and <i>Rhizobium meliloti</i>	819
<i>Ousepian M. V., Harutiunian S. H.</i> The cytochemistry of ATP-ase and Peroxidase activity of polyploid forms of nodule bacteria	824
<i>Khachikian L. A.</i> On the microflora of irrigated meadow-brown soils of Ararat plain	828
<i>Sarkisov R. N., Mkrtchyan L. P., Khechoyan L. S.</i> Effect of starvation on the reproductive function of Araratian cochineal <i>Porphyrophora hamelii</i> Brandt	832

Short Communications

<i>Nikogossian V. G.</i> About the dynamics of nitrogenase activity and protein synthesis in the process of development of azotobacter	835
<i>Shakarian G. A., Sevan T. K.</i> The microflora of atmospheric air of Yerevan poultry plant and its sensibility to antibiotics	837
<i>Mnatsakanov S. T.</i> On the ecology of enteropathogenous strains of <i>Escherichia coli</i>	840
<i>Harutiunyan V. M.</i> On the functional interrelation of adrenal cortex and thyroid glands in alloxan diabetes conditions	842

A b s t r a c t s

<i>Nikogossian V. G.</i> Biological peculiarities of mutants <i>Az. chroococcum</i> resistant to antibiotics	844
<i>Muradian A. A., Manucharian M. A.</i> Dye plants of the Armenian flora	845

<i>Mussaelian M. S., Revazova L. V., Manucharian M. A.</i> Contents of tannids of Armenian flora's some forms	846
<i>Toumassian V. S.</i> The germination dynamics of the pollen and the protection of the vitality in some families of angiosperms	848

C h r o n i c s

To professor Avetik Ter-Pokhossian's memory (1880—1954)	849
---	-----

УДК 612.833+611.814

О РОЛИ ГИПОТАЛАМУСА В УСЛОВНОРЕФЛЕКТОРНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПТИЦ

С. К. КАРАПЕТЯН, А. В. АРШАКЯН, Н. Л. ПОГОСЯН

Изучалось влияние разрушения переднего и заднего отделов гипоталамуса птиц на пищеводвигательные условные рефлексы. Показано, что при коагуляции гипоталамуса в корково-подкорковой функциональной системе нарушается механизм формирования временных связей, в то время как механизм реализации выработанных условных рефлексов сохраняется.

Ключевые слова: гипоталамус, условные рефлексы.

В последние годы значительно повысился интерес к изучению роли гипоталамуса в формировании пищевого поведения у различных видов животных.

Эксперименты, проведенные в основном на млекопитающих, показали, что в условнорефлекторной деятельности существенную роль играют многие структуры мозга, причем особая роль в ней принадлежит гипоталамусу [1, 4, 8—11, 14—16, 18]. Так, разрушение области межточного мозга вызывает резкое нарушение высшей нервной деятельности в виде ослабления процессов возбуждения и торможения с преобладанием последнего, а также нарушение соотношения между двигательными и секреторными компонентами [5, 7, 16].

Изучению значения разрушения латерального гипоталамуса в осуществлении условных рефлексов посвящена работа [15], авторы которой полагают, что гипоталамус участвует в процессе воспроизведения условных рефлексов, обеспечивая оптимальную скорость в зависимости от степени упрочения временной связи. Показано также, что после разрушения латерального гипоталамуса у крыс условные рефлексы спонтанно восстанавливались, а на новые раздражители вырабатывать временные связи не удавалось [18].

Полное выпадение условных положительных и отрицательных рефлексов у кроликов при возбуждении гипоталамуса показано в работе Павлыгиной [14]. Другие авторы [4] считают, что гипоталамус оказывает активирующее влияние на кору больших полушарий, в основном изменяя ее тонус и при этом повышая или снижая условный рефлекс. Данные же в отношении птиц ограничены и касаются главным образом влияния разрушения гипоталамуса на механизмы регуляции воспроизводительной функции и на электрическую активность больших полушарий [3, 13, 17].

Разноречивость имеющихся в литературе данных не позволяет сделать определенного вывода о значении гипоталамуса в формировании условных рефлексов.

Цель данной работы состояла в выяснении влияния частичного электрического разрушения переднего или заднего отделов гипоталамуса на формирование условнорефлекторной деятельности у кур.

Материал и методика. Опыты проводились на четырех группах птиц количеством 20 голов. Высшая нервная деятельность исследовалась по двигательной пищевой методике. Условными раздражителями служили звуковые сигналы (метроном 120—положительный, метроном 60—отрицательный), условным рефлексом—выработанное движение: нажим клювом на подвижный диск. Положительные и отрицательные раздражители чередовались в опыте 4 раза с минутными интервалами. Раздражитель действовал 10 сек. В случае отсутствия за это время условной двигательной реакции действие его продолжалось до ее наступления, но не более 30 сек. Пищевое подкрепление подавали сразу после условного сигнала. О свойствах нервных процессов судили по величине условного рефлекса, скорости образования и упрочения положительных и тормозных рефлексов.

У опытных птиц I группы предварительно устанавливали нормальный фон условных рефлексов, затем производили двустороннее разрушение области переднего гипоталамуса. После восстановления операционной травмы приступали к проверке динамики ранее выработанных условных рефлексов. У птиц II группы разрушалась область переднего гипоталамуса, затем исследовалось влияние повреждения на динамику выработки условных положительных и тормозных рефлексов. У III группы на стадии прочно закрепленного пищедвигательного рефлекса производилось двустороннее электрическое разрушение заднего отдела гипоталамуса. После восстановления операционной травмы проверялись последствия коагуляции на ранее выработанные условные рефлексы. У IV группы сначала разрушали область заднего отдела гипоталамуса, затем приступали к выработке пищедвигательных условных рефлексов.

Разрушение изучаемых структур достигалось анодным электролизом в течение 20 сек с силой тока 1,5—2 ма. Стереотаксические координаты рассчитаны по атласу птиц [19]. Количественные показатели у всех подопытных птиц суммировались, и полученные данные использовались для статистической обработки результатов по Стьуденту.

Результаты и обсуждение. Морфологический анализ срезов мозга, окрашенных по методу Ниссля, показал локализацию кончиков электродов в расчетных точках гипоталамуса (рис. 1 а, б). Анализ поведения

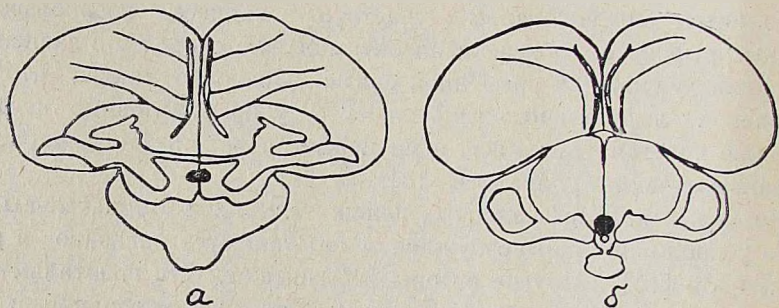


Рис. 1. а, б. Схематическое изображение степени повреждения переднего (а) и заднего (б) отделов гипоталамуса.

птиц по скорости выработки пищедвигательных условных рефлексов (табл.) показал, что у птиц I группы в норме положительный условный рефлекс появился в среднем через 38,3 сочетания условного и безусловного раздражителей и стабилизировался к 52,8 сочетанию, а дифференцировка наметилась на 5-м применении отрицательного сигнала и

Скорость выработки пищевого двигательных условных рефлексов
при разрушении переднего и заднего гипоталамуса

Группы птиц	Положительный условный рефлекс		Дифференцировка		Средняя величина условного рефлекса
	появление	упрочение	появление	упрочение	$M \pm m$
I группа					
В норме	38,5	52,8	5	12,5	23,74 $\pm$ 0,68
После разрушения	15	22	6,5	9	21,51 $\pm$ 1,56
II группа	92	—	—	—	—
III группа					
В норме	22	31	9	15	—
После разрушения	64	—	—	—	—
IV группа	240	—	—	—	—

* Достоверность разницы для I группы составляла $P < 0,02$.

упрочилась после 12-ти неподкреплений (рис. 2 а). Операцию птицы перенесли довольно легко, и уже на 8—10-й день после операции, когда двигательные нарушения полностью компенсировались, были начаты опыты по условным рефлексам.

Разрушение области переднего гипоталамуса у обученных птиц препятствует осуществлению ранее выработанных условных рефлексов. У всех оперированных птиц пищеводвигательная реакция полностью исчезала, и практически ее пришлось вырабатывать заново (рис. 2 б). При этом в первые 1—2 дня отмечалось угнетение поведения птиц с появлением сонного торможения или же пассивно-оборонительной реакции. В последующие дни условный рефлекс на звуковой раздражитель не отличался от дооперационного. Положительные двигательные условные рефлексы появляются в результате 15-ти и упрочиваются после 22-х сочетаний условного раздражителя с пищевым подкреплением, а отрицательный условный рефлекс соответственно после 6,5 и 9-ти (рис. 2 в).

Разрушение переднего гипоталамуса у птиц, не имевших дооперационного опыта научения (II группа), сопровождалось рядом общих расстройств поведения: наблюдалась ярко выраженная ориентировочная реакция, в течение длительного времени не проявлявшая тенденции к угашению; переход ее в условную реакцию протекал плавно, зачастую было трудно отличить ориентировочную реакцию от начальной стадии условного рефлекса; отсутствовала двигательная инициатива—следствие исключительной инертности нервных процессов. После операции у одних птиц безусловные и условные рефлексы долгое время не вырабатывались, а у других—время условной двигательной реакции оказалось почти в три раза длиннее, чем у интактных. Так, условный рефлекс на положительный раздражитель наметился после 92-х сочетаний условного раздражителя с безусловным, однако упрочить его так и не удалось, несмотря на применение 190 сочетаний. При введении дифференцировочного раздражителя наблюдался отказ от корма, что указывало на

ослабление процессов внутреннего торможения, сопровождающееся широкой иррадиацией тормозного процесса с распространением его на безусловный пищевой центр. При перерыве в работе на 1,5 месяца наступило полное угашение условной реакции—нажима клювом на клевок, которая восстановилась в среднем через 13 опытов.

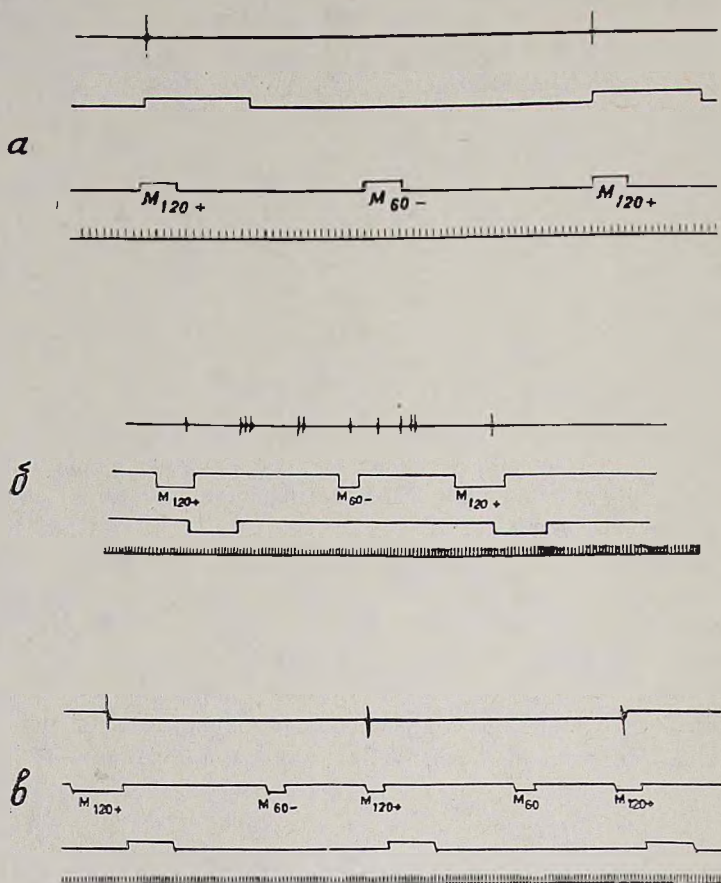


Рис. 2, а, б, в. Фрагменты кимограмм опытов птиц до и после частичного разрушения переднего гипоталамуса: а—условная реакция в норме, б—условная реакция после разрушения, в—условная реакция после восстановления. Сверху вниз: двигательная пищевая реакция, действие условного раздражителя, подача кормушки, отметка времени.

У птиц III группы пищедвигательная реакция в норме появилась в среднем через 22 сочетания и стабилизировалась к 31-му сочетанию условного и безусловного раздражителей. Дифференцировка наметилась на 9-м применении отрицательного раздражителя и упрочилась к 15-му неподкреплению. После разрушения области заднего гипоталамуса значительно нарушалась динамика ранее выработанных условных рефлексов. На положительный раздражитель условная реакция наметилась в среднем после 64-х дополнительных сочетаний, однако упрочить их не удалось даже после 180—190 подкреплений.

IV группа, не имевшая дооперационного опыта научения, приучалась к экспериментальной обстановке через 8—10 дней после операции. Опыты этой серии показали, что разрушение заднего отдела гипоталамуса также приводило к общей депрессии, скованности. Включение положительного раздражителя вызывало выраженную ориентировочную реакцию, в интервалах между условными сигналами отмечались межсигнальные реакции. Правильные условнорефлекторные ответы у этих птиц в течение 6-ти месяцев получить не удалось.

Литературные данные по вопросу о характере влияния различных отделов гипоталамуса на корковую деятельность довольно противоречивы. Одни авторы [5, 7] показали, что гипоталамус не принимает непосредственного участия в замыкательной функции и его деятельность ограничивается лишь тонизирующим влиянием на кору, другие [6, 8, 12] говорят о непосредственном участии гипоталамуса в замыкательной функции. Относительно тонизирующего влияния гипоталамуса на кору известно, что у некоторых видов новорожденных животных, в частности у цыплят, с первого же дня их жизни при пробуждении регистрируется низковольтная быстрая активность в коре, а при сне—медленные волны [17], что свидетельствует о существовании на ранних этапах онтогенеза у птиц определенной зрелости аппарата десинхронизации.

Экспериментальные данные, описанные в настоящей работе (I группа), отчасти совпадают с имеющимися в литературе данными [18], а именно: после разрушения латерального гипоталамуса ранее выработанные условные рефлексы сохраняются и спонтанно восстанавливаются, а новые рефлексы выработать не удается. Отсюда следует, что данная структура не является стратегически важной для осуществления условнорефлекторной деятельности.

Эффект коагуляции заднего отдела гипоталамуса в сравнении с передним проявляется в более значительном нарушении условнорефлекторной деятельности. Так, у птиц III группы в отличие от IV условный раздражитель с трудом запускает ранее выработанную и хорошо упроченную реакцию, так и не достигающую дооперационного уровня. Разрушение как переднего, так и заднего отделов гипоталамуса у птиц, не имевших дооперационного опыта научения (II и IV группы), приводило к резкому снижению двигательной и пищевой активности и нарушению процесса замыкания временных связей. При этом необходимо отметить, что наибольшему тормозному влиянию подвержены птицы IV и меньше—II группы. В корково-гипоталамической функциональной системе нарушается механизм формирования условных рефлексов, в то время как механизм реализации временных связей сохраняется. Это можно объяснить как широким вовлечением следов прошлого опыта, так и целостной деятельностью мозга в осуществлении поведенческого акта. Поэтому на данном тормозном фоне положительный условный раздражитель в течение длительного времени не приобретает свойств сигнального значения.

Результаты наших опытов согласуются с данными других исследователей [16] о том, что механическое разрушение заднего и бокового отделов гипоталамуса у собак приводит к нарушению целостности пи-

щедвигательной реакции, а выработка нового условного рефлекса крайне затрудняется. Некоторые авторы [5] считают, что мамиллярные тела не принимают непосредственного участия в сохранении следов памяти, их функция заключается в обеспечении оптимальной скорости воспроизведения в зависимости от степени упрочения условных рефлексов. Более выраженное активирующее влияние на кору заднего гипоталамуса по сравнению с передним показано в исследованиях Баклаваджяна [2].

На основании полученных данных мы считаем, что задний отдел гипоталамуса оказывает на высшие отделы головного мозга, в том числе на структуры, участвующие в замыкании условных рефлексов, обштонизирующее влияние. Поведенческие изменения подопытных птиц свидетельствуют о функциональной неоднозначности изучаемых отделов гипоталамуса в формировании и реализации условных рефлексов, что позволяет полагать, что кратковременная и долговременная память связаны с различными морфологическими системами, динамично возникающими в корково-подкорковых взаимоотношениях.

Таким образом, частичное разрушение области переднего гипоталамуса у кур с предварительно выработанными условными рефлексами вызывает нарушение в динамике условнорефлекторной деятельности, носящее преходящий характер. Разрушение области заднего гипоталамуса приводит к резкому снижению скорости восстановления ранее выработанных положительных и отрицательных условных рефлексов. Процесс формирования новой целостной пищедвигательной реакции после разрушения как переднего, так и заднего отделов гипоталамуса существенно нарушается.

Результаты исследований позволяют считать, что у кур активирующее влияние заднего отдела гипоталамуса на большие полушария более выражено, чем переднего.

Институт физиологии им. Л. А. Орбели
АН Армянской ССР

Поступило 7.IV 1982 г.

ՀԻՊՈԹԱԼԱՄՈՍԻ ԴԵՐԸ ԹՈՉՈՒՆՆԵՐԻ ՊԱՅՄԱՆԱԿԱՆ ՌԵՖԼԵՔՏՈՐ ԳՈՐԾՈՒՆԵՈՒԹՅԱՆ ՄԵԶ

Ս. Կ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ա. Վ. ԱՐՇԱԿՅԱՆ, Ն. Լ. ՊՈԳՈՍՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է առաջնային և հետին հիպոթալամոսի քայքայման ազդեցությունը թռչունների սննդաշարժական ռեֆլեքսների վրա:

Ցույց է տրվել, որ հիպոթալամոսի կողմնակցիան խախտում է կեղևա-ենթակեղևային գործառնակա համակարգում ժամանակավոր կապերի առաջացման մեխանիզմը, մինչդեռ մշակված պայմանական ռեֆլեքսների իրականացման մեխանիզմը պահպանվում է:

ROLE OF HYPOTHALAMUS IN THE CONDITIONAL REFLEXES OF POULTRY

S. K. KARAPETYAN, A. V. ARSHAKYAN, N. L. POGOSSYAN

The effect of destruction of anterior and posterior hypothalamus on the conditional reflexes of poultry was studied.

It was shown that coagulation of hypothalamus caused a marked disturbance of formation of conditional reflexes of cortico-subcortical mechanisms, whereas the mechanism of realization of developed conditional reflexes was preserved.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аршакян А. В., Погосян Н. Л., Хачатрян Д. К. Докл. III съезда Армянского физиол. об-ва, 39—44, Ереван, 1979.
2. Баклаваджян О. Г. Вегетативная регуляция электрической активности мозга, Л., 1967.
3. Белехова М. Г. Бюлл. эксп. биол. и мед., 53, 2, 31—35, 1962.
4. Босый М. К., Давиденко И. М., Микитенко М. А. Физиол. ж., 27, 2, 155—160, 1981.
5. Васильев М. Ф. Автореф. докт. дисс., Л., 1953.
6. Воронин Л. Г., Калюжный Л. В., Захарова И. Н. Ж. высш. нервн. деятельности, 15, 2, 364, 1965.
7. Дерябин В. С. Физиол. ж. СССР, 32, 5, 553, 1946.
8. Калюжный Л. В. 22-е совещ. по пробл. высш. нервн. деятельности. Тез. и реф. докл., 109, Рязань, 1969.
9. Калюжный Л. В. Успехи совр. биологии, 68, 3, 361—380, 1969.
10. Карапетян С. К., Аршакян А. В., Хачатрян Д. К., Погосян Н. Л. Мат-лы IV Всесоюз. конф. по физиол. вегетативной нервн. системы, 138, Ереван, 1976.
11. Костенецкая Н. А., Лапина И. А., Мецзякова В. А. Проблемы физиол. и патол. высш. нервн. деятельности, 4, 71—82, Л., 1970.
12. Любимов Н. Н. Ж. высш. нервн. деятельности, 15, 5, 636, 1958.
13. Новиков Б. Г., Руднева Л. М., Феликс Л. С. Реф. докл. на симпоз. XII съезда Всесоюзн. физиол. об-ва, 1, 323—324, Тбилиси, 1975.
14. Павлыгина Р. А. Тр. Ин-та высш. нервн. деятельности. Сер. физиол., 2, 124, 1956.
15. Солдатова К. А., Тушчалова Н. Л., Ж. высш. нервн. деятельности, 21, 4, 706—711, 1971.
16. Черешнев И. А. Ж. высш. нервн. деятельности, 10, 6, 896—902, 1960.
17. Key B., Marley E. Neurophysiol., 14, 1, 1962.
18. Schwartz Myrna, Feitelbaum Philip. J. Comp. a Physiol., Psychol., 87, 3, 384—398, 1974.
19. A. Van Tienhoven, L. P. Juhanasz. J. Comp. Neur. 118, 2, 185—194, 1962.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

УДК 612.821.6

РОЛЬ ГЛУБИННЫХ СТРУКТУР МОЗГА В АДАПТИВНОМ ПОВЕДЕНИИ ЖИВОТНЫХ

А. А. ГАРИБЯН, Т. В. ХАНАМИРЯН, Г. М. КАЗАРЯН, Л. С. ГАМБАРИАН

Изучались роль и удельное значение палео-, архи- и неостриатума, а также люисова тела, полей Фореля, красного ядра, гиппокампа, безымянной и черной субстанций в механизмах целенаправленного поведения животных. Показано, что отмеченные структуры вместе с корой головного мозга участвуют в оперативной памяти.

Ключевые слова: условный рефлекс, глубинные структуры, базальные ганглии.

И. П. Павлов [15] неоднократно подчеркивал, что высшая нервная деятельность животных складывается из взаимодействия коры и ближай-

шей подкорки. В опытах Павлова и его последователей [1, 2, 17] показано, что удаление коры не препятствует образованию примитивных условных оборонительных и пищевых рефлексов, на основании чего было сделано предположение, что замыкание временных связей происходит на уровне коры и подкорки [1, 12]. Эти данные косвенно говорили об участии глубинных структур мозга в адаптивном поведении. С внедрением в экспериментальную практику стереотаксической методики появилась возможность прямого изучения роли этих структур в условно-рефлекторной деятельности.

Материал и методика. Опыты проводились на 250 половозрелых кошках и 300 крысах. У всех животных изучались условно-двигательные пищевые рефлексы, затем производилось разрушение глубинных структур: палео-, архи- и неостриатума, люисова тела, полей Фореля, красного ядра, гиппокампа, безымянной и черной субстанции.

Условные рефлексы у кошек вырабатывались по ранее описанной методике [5, 12]: на один раздражитель (звонок) кошки подходили к правой кормушке, а на другой—(метроном)—к левой и нажимом на педаль автоматически получали пищу. У крыс же они вырабатывались в лабиринте: животных обучали преодолевать в длинном коридоре три шторки, на которых последовательно изображались фигуры треугольника, креста и квадрата; за последней шторкой они получали пищу. После того как они научились преодолевать все три шторки, для них создавалась новая ситуация—одновременное предъявление всех трех оптических сигналов. Одни животные выбирали квадрат «с места», другие—после 2—3 х проб и ошибок. Третью группу приходилось специально обучать выбору квадрата [12]. Когда подопытные животные обучались в 100% случаев адекватно отвечать на условные сигналы, у них производилось повреждение глубинных структур мозга, осуществляемое стереотаксически по координатам атласов мозга кошки [21, 23] и крысы [22]. Спустя 7—10 дней после операции проверялась сохранность ранее выработанных условных рефлексов. После завершения эксперимента мозг каждого животного подвергался морфологическому контролю, а данные обрабатывались статистически.

Результаты и обсуждение. Палеостриатум. Как показали опыты [5, 12], при одномоментном повреждении бледного шара у всех животных на 20—35-й день после операции условные рефлексы полностью отсутствуют, но в результате тренировки в последующем они восстанавливаются. Однако восстановившиеся при этом двигательные рефлексы (28—50 применений звонка и 25—48 применений метронома) не всегда проявлялись с четким выбором стороны подкрепления. В первые полтора месяца животные неправильно выбирают ее; в конце третьего, послеоперационного месяца процент ошибок выбора достигает 30-ти. При полном билатеральном удалении бледного шара условные рефлексы исчезают и не восстанавливаются [12].

Неостриатум. Билатеральное разрушение головки хвостатого ядра у кошек приводило к нарушению выбора стороны подкрепления также на 30%. В отличие от паллидотомированных животных, у которых после операции развивались бради- и гипокинезия, у каудатомированных—наблюдалась гиперактивность, напоминающая лоботомированных животных [12, 18]. При частичном же повреждении каудатопутамена у крыс изменения в высшей нервной деятельности были такими же, как и у паллидотомированных животных [11, 12].

Люисово тело. Билатеральное разрушение люисова тела у кошек влекло за собой стабильное нарушение двигательных пищевых рефлек-

сков с выбором стороны подкрепления. При деструкции же эфферентных путей, идущих от бледного шара к таламусу и люисову телу (поля Фореля H_1 и H_2), наблюдались такие же нарушения высшей нервной деятельности [16].

Черная субстанция. Билатеральное неполное разрушение черной субстанции приводило к временному выпадению условных пищевых (у кошки) и оборонительных (у крысы) рефлексов, удлинению времени двигательной реакции [9]. Поэтапное повреждение черной субстанции с обеих сторон уменьшало правильность реакции выбора стороны подкрепления на 30—40%.

Безымьянная субстанция. Двустороннее неполное повреждение безымьянной субстанции приводило к удлинению втрое латентного периода и нарушению правильности выбора стороны подкрепления на 40%.

Красное ядро. При билатеральном разрушении красного ядра не наблюдалось таких нарушений высшей нервной деятельности, с которыми мы встречались при деструкции упомянутых выше структур [8]. При том же разрушении у крыс последние выбирали оптимальный раздражитель со скоростью и точностью, аналогичной интактным и псевдооперированным животным.

Амигдаларный комплекс. У кошек и крыс деструкция базолатеральных ядер приводила к удлинению вдвое латентного периода приобретенных двигательных реакций и заметному нарушению (на 30—32%) правильности выбора стороны подкрепления. Разрушение амигдалы у белых крыс приводило к «забыванию» правильности выбора оптимального пищевого сигнала на 20% [10].

Иными словами, наблюдаемые у обоих видов животных изменения высшей нервной деятельности были связаны с нарушениями правильной оценки экстренно возникшей ситуации [4, 10].

Гиппокамп. Билатеральное неполное разрушение гиппокампа приводило к временному угнетению условных пищевых рефлексов, к замедленному их образованию, растормаживанию дифференцировок и появлению ошибок в выборе стороны подкрепления (на 30%) у кошек [6]. У крыс, предварительно обученных выбору оптимального пищевого сигнала, после гиппокампотомии отмечалось резкое снижение процента правильности ответов [7].

Из приведенного экспериментального материала видно, что такие глубинные структуры, как палео-, архи- и неостриатум, поля Фореля H_1 и H_2 , люисово тело, безымьянная, а также черная субстанции, гиппокамп, которые обладают отличными друг от друга физиологическими функциями, имеют определенную общность во влиянии на адаптивное поведение животных, что подметил в свое время Черкес [20]. В наших опытах указанная закономерность проявлялась в том, что билатеральное неполное разрушение перечисленных выше структур приводило к незначительным или малозаметным нарушениям условных рефлексов, однако это резко сказывалось на стратегии поведения в экстренно изменившейся ситуации.

При разрушении же красного ядра ни у кошек, ни у крыс подобных стабильных нарушений нервной деятельности не наблюдалось; обнару-

живались лишь нарушения точности и меткости движений. Следовательно, приведенные данные о красном ядре дают основание считать, что возникающие в связи с разрушением других глубинных структур изменения носят специфический характер.

Таким образом, показано, что отклонения поведения от нормы у животных при разрушении глубинных структур мозга (исключая красное ядро) происходят за счет нарушения оперативной памяти [10, 12].

Возникает вопрос, является ли оперативная память новым приобретением глубинных структур. Опыты показывают, что низшие позвоночные (рыбы, амфибии, рептилии, птицы), у которых передний мозг состоит только из гомологов бледного шара, хвостатого ядра, скорлупы, миндаля и гиппокампа, хорошо «запоминают» территорию обитания и рьяно защищают ее пределы [13, 19]. Более того, у них развита также условнорефлекторная и образная память [3]. Это дает основание считать, что у высших позвоночных с хорошо развитой корой головного мозга глубинные структуры не утрачивают своих первоначальных функций и вместе с ней обеспечивают высшую интегративную деятельность [12]. Приведенную закономерность мы рассматриваем как дальнейшее развитие эволюционного учения Орбели [14] и Карамяна [13].

Институт зоологии АН Армянской ССР

Поступило 23X 1981 г.

ՈՒՂԵԴԻ ԽՈՐՔՈՒՄ ՏԵՂԱՎՈՐՎԱԾ ՍՏՐՈՒԿՏՈՐԱՆԵՐԻ ԴԵՐՔ ԿԵՆԴԱՆԻՆԵՐԻ ՀԱՐՄԱՐՎՈՂԱԿԱՆ ՎԱՐՔԱԳԾՈՒՄ

Ա. Ա. ԳԱՐԻԲՅԱՆ, Տ. Վ. ԽԱՆԱՄԻՐՅԱՆ, Գ. Մ. ԿԱԶԱՐՅԱՆ, Լ. Ս. ԳԱՄԲԱՐՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է պալեո-, արխի- և նեոստրիատումի, ինչպես նաև էպոփի մարմնի, անանուն նյութի, սև նյութի, կարմիր կորիզի և հիպոկամպի դերը և տեսակարար նշանակությունը կենդանիների նպատակային վարքագծում:

Յույց է տրվել, որ նշված ստրուկտուրաները ուղեղի կեղևի հետ միասին ակտիվորեն մասնակցում են օպերատիվ հիշողության պրոցեսներին:

ROLE OF THE CEREBRAL DEEP STRUCTURES IN THE ADAPTIVE BEHAVIOUR OF ANIMALS

A. A. GARIBIAN, T. V. HANAMIRIAN, G. M. KAZARIAN, L. S. GAMBARIAN

Partial role of the paleo-, archi- and neostriatum and also of the Luis corpus, substantia innominata, substantia nigra, red nucleus and hippocampus has been studied in the mechanism of the animal adaptive behaviour. These structures participate in the operative memory together with cerebral cortex.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Беленков Н. Ю. Условный рефлекс и подкорковые образования мозга. М., 1965.
2. Беленков Н. Ю. В кн.: Руководство по физиол. Физиол. высш. нервн. деят., ч. I, 268—293, М., 1970.

3. Бериташвили И. С. Память позвоночных животных, ее характеристика и происхождение. 1974.
4. Винницкий Л. С., Илюченко Р. Ю. Ж. высш. нервн. деят., 23, 4, 766, 769, 1973.
5. Гамбарян Л. С., Саркисян Ж. С., Гарибян А. А. Ж. высш. нервн. деятельности, 22, 3, 435—442, 1972.
6. Гамбарян Л. С., Коваль И. Н., Гарибян А. А., Саркисян Ж. С. Ж. высш. нервн. деятельности, 22, 6, 1158—1165, 1972.
7. Гамбарян Л. С., Гехт К., Саркисов Г. Т., Коваль И. Н., Казарян Г. М., Гарибян А. А., Саркисян Ж. С. Ж. высш. нервн. деятельности, 24, 1, 56—63, 1979.
8. Гамбарян Л. С., Мадатова И. Р., Гарибян А. А., Коваль И. Н., Саркисов Г. Т. Ж. высш. нервн. деятельности, 24, 4, 684—691, 1979.
9. Гамбарян Л. С., Саркисян Ж. С., Гарибян А. А., Коваль И. Н., Мадатова И. Р., Геворкян К. Н., Ходжоянц И. Ю. Ж. высш. нервн. деятельности, 31, 5, 1247—1254, 1981.
10. Гамбарян Л. С., Казарян Г. М., Гарибян А. А. Амигдала. Ереван, 1981.
11. Гарибян А. А., Казарян Г. М., Геворкян К. Н., Гамбарян М. Л. Биол. ж. Армении, 33, 8, 829—834, 1980.
12. Гарибян А. А., Гамбарян Л. С. Поведение и базальные ганглии. Ереван, 1982.
13. Карамян А. И. Эволюция конечного мозга позвоночных. Л., 1976.
14. Орбели Л. А. Избранные труды. I. Вопросы эволюционной физиологии. М.—Л., 1961.
15. Павлов И. П. Полное собрание сочинений. 3, кн. 1 и 2, М.—Л., 1951.
16. Сефeryан Е. С., Саркисян Ж. С., Гарибян А. А., Гамбарян Л. С. Ж. высш. нервн. деятельности, 27, 5, 978—986, 1978.
17. Хананашвили М. М. Вестник АМН СССР, 6, 27, 120—128, 1964.
18. Шумилина А. И. В кн.: Проблемы высш. нервн. деятельности, 561—574, М., 1949.
19. Шовен Р. Поведение животных. М., 1972.
20. Черкес В. А. Передний мозг и элементы поведения. Киев. 1978.
21. Avendano C., Reinoso—Suarez F. Stereotaxic atlas of the cats amygdala, hypothalamus and preoptic region. Madrid, 1975.
22. De Groot J. The rat forebrain in stereotaxic coordinates. Amsterdam, 1950.
23. Jasper H., Ajmon—Marsan C. A stereotaxic atlas of Diencephalon of the cat. Ottawa, 1954.

«Биол. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

УДК 577.164.3:616—008.9

ВЛИЯНИЕ БИОФЛАВОНОИДОВ НА ПРОЦЕСС ЛИПИДНОЙ ПЕРОКСИДАЦИИ В ОРГАНАХ БЕЛЫХ КРЫС

В. Г. МХИТАРЯН, Л. В. МХИТАРЯН, Л. В. СЕМЕРДЖЯН

Изучено влияние рутина и гесперидина на процесс избыточной липидной перекисидации, вызванной перекисленой олеиновой кислотой. Установлено, что рутин в дозе 5 мг/100 г и гесперидин в дозе 6 мг/100 г массы животного приводит к снижению содержания липидных перекисей в мозге и в печени во все сроки эксперимента, особенно после седьмого дня.

Ключевые слова: липидные перекиси, перекисленая олеиновая кислота, биофлавоноиды.

В настоящее время интенсивно изучаются как механизм перекисного окисления липидов, так и факторы, осуществляющие его регуляцию.

Одним из многочисленных факторов, способствующих инициации перекисного окисления липидов, являются ненасыщенные жирные кислоты и их перекисленные формы [6]. Нашими предыдущими исследованиями установлено, что некоторые витамины (Е, никотинамид), коферменты (НАДН, НАДФН, ТПФ), циклические нуклеотиды (цАМФ) угнетают процесс липидной перекиссации [5, 7]. Однако механизм действия этих факторов неодинаков. Некоторые из них действуют как антиоксиданты, другие—через систему ферментов антирадикальной защиты клеток.

Имеются данные относительно угнетающего действия биофлавоноидов и родственных им соединений на перекисное окисление арахидоновой кислоты [9]. Отмечено ингибирующее действие витамина Р на аскорбиноксидазу. Так, Давидек обнаружил способность Р-витаминных веществ предохранять от окисления аскорбиновую кислоту [2], которая обладает антиоксидантными свойствами. С другой стороны, биофлавоноиды оказывают ингибирующее влияние на активность липоксигеназы, что в свою очередь может влиять на уровень липидных перекисей [9]. Одновременное введение флавоноидов (рутина и эпикатехина) задерживает распад и выведение витамина С [11]. Природные изофлавоны оказывают противоиатеросклеротическое и противоопухолевое действия [3, 4]. В патогенезе отмеченных заболеваний немаловажное значение придается липидным перекисям.

В свете вышеизложенного представляло интерес изучение влияния некоторых биофлавоноидов на процесс избыточной липидной перекиссации, индуцируемой перекисленной олеиновой кислотой.

Материал и методика. Опыты ставили на белых крысах-самцах массой 140—150 г. Животные были разделены на три группы: первой—вводили внутривентально перекислированную олеиновую кислоту (ПОК) (180 мкмоль перекисного кислорода на 1 г кислоты) в количестве 0,1 мл на 150 г массы животного; вторая—получала параллельно рутин в дозе 5 мг/100 г; третья—одновременно с ПОК получала гесперидин в дозе 6 мг/100 г. Через 24 ч, 7 и 14 дней ежедневных внутривентальных инъекций крыс декапитировали и в гомогенатах печени и мозга определяли содержание липидных перекисей по интенсивности окраски малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой при 535 нм на спектроколориметре «Spesol» (ГДР). Количество липидных перекисей выражали в мкмоль МДА/г ткани.

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования выявили определенные сдвиги в содержании липидных перекисей в мозге и печени при введении рутина и гесперидина на фоне избыточной липидной перекиссации, вызванной введением перекисленной олеиновой кислоты (табл.). Как видно из таблицы, рутин на фоне ПОК в мозге и печени снижает содержание липоперекисей во все сроки эксперимента, особенно после седьмого дня; гесперидин оказывает аналогичный, но менее выраженный эффект.

Таким образом, рутин и гесперидин на фоне избыточной липидной перекиссации снижают содержание липоперекисей как в мозге, так и в печени. Наибольшие сдвиги в содержании липоперекисей установлены при введении рутина, что, вероятно, связано с его структурными особенностями. Сравнительное изучение биофлавоноидов показало,

Таблица

Содержание липидных перекисей в мозге и в печени крыс при совместном введении ПОК с рутином и гесперидином, мкмоль МДА/г ткани

Ткань	Введенное вещество	Через 24 ч	% изменения	Через 7 дней	% изменения	Через 14 дней	% изменения
Мозг	ПОК	$1,04 \pm 0,02$ n=6	—	$1,74 \pm 0,03$ n=6	—	$1,23 \pm 0,02$ n=6	—
	ПОК + рутин	$0,9 \pm 0,02$ n=7 P<0,001	-13,5	$0,67 \pm 0,03$ n=7 P<0,001	-61,5	$1,09 \pm 0,05$ n=7 P>0,1	-13,5
	ПОК + гесперидин	$0,95 \pm 0,09$ n=6 P<0,25	-8,7	$0,93 \pm 0,04$ n=6 P<0,001	-46,6	$0,95 \pm 0,01$ n=6 P<0,001	-24,7
Печень	ПОК	$2,71 \pm 0,17$ n=7	—	$3,41 \pm 0,12$ n=7	—	$2,67 \pm 0,09$ n=9	—
	ПОК + рутин	$2,16 \pm 0,06$ n=8 P<0,02	-20,7	$1,86 \pm 0,06$ n=7 P<0,01	-45,5	$2,32 \pm 0,07$ n=6 P<0,01	-13
	ПОК + гесперидин	$2,01 \pm 0,1$ n=7 P<0,02	-16,0	$2,2 \pm 0,1$ n=6 P<0,001	-35,5	$2,25 \pm 0,12$ n=6 P<0,05	-15,8

что активность рутина превышает активность гесперидина [8]. Однонаправленное воздействие рутина и гесперидина в печени и мозге дает основание считать, что механизм действия биофлавоноидов в этих органах одинаковый. Известно, что некоторые биофлавоноиды обладают антипероксидазной активностью. Авторы полагают, что флавоноиды являются непосредственными ловушками «свободных радикалов» [11].

Установлено также, что биофлавоноиды предохраняют от окисления адреналин, который способствует синтезу ц-АМФ [9]. Длительное внутрибрюшинное введение крысам адреналина [1] или ц-АМФ [7] на фоне избыточной липидной пероксидации приводит к снижению липоперекисей.

Исходя из литературных данных и наших исследований, мы допускаем, что действие флавоноидов на процесс липидной пероксидации может быть осуществлено непосредственно по антиоксидантному механизму или через адренкортикальную систему.

Ереванский медицинский институт,
кафедра биохимии

Поступило 11.VI 1982 г.

ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴՈՒՄ ԵՎ ՈՒՂԵՂՈՒՄ ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՅՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ՎՐԱ ԲԻՈՖԼԱՎՈՆՈԻԴՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ

Վ. Գ. ՄԵՐԻՔԱՐՅԱՆ, Լ. Վ. ՄԵՐԻՔԱՐՅԱՆ, Լ. Վ. ՍԵՄԵՐՋՅԱՆ

Հետազոտվել է առնետների լյարդում և ուղեղում լիպիդային գերօքսիդացման պրոցեսի վրա ուտիինի և հասպերիդինի ազդեցությունը:

Ցույց է տրվել, որ առնետներին ներորոգայնային ուտին 5 մգ/100 գ և հասպերիդին 6 մգ/100 գ ներարկելիս, լիպիդային գերօքսիդների քանակը նվազում է թե՛ լյարդում և թե՛ ուղեղում, մանավանդ փորձի 7-րդ օրը:

'BIOFLAVONOIDS' ACTION ON THE LIPID PEROXIDATION PROCESS IN THE RATS' BRAIN AND LIVER

V. G. MKHITARIAN, L. V. MKHITARIAN, L. V. SEMERDJIAN

It was established that rutin (5 mg/100 g) and hesperidin (6 mg/100 g animal mass) induced the reduction of lipid peroxides' content in the brain and in the liver of rats in all terms of experiment, especially after the 7 th day.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арапатьян Э. А. Журн. эксп. и клин. медицины, 21, 482—487, 1981.
2. Давидек И. Биохимия, 25, 1105, 1960.
3. Даирова Л. М. Автореф. канд. дисс., Алма-Ата, 1974.
4. Казаков А. Л. Химикофарм. ж., 13, 1, 58—60, 1967.
5. Мелик-Агаева Е. А. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1967.
6. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Мелик-Агаева Е. А. Биолог. ж. Армении, 27, 6, 3—8, 1974.
7. Мхитарян В. Г., Семерджиан Л. В. Журн. эксп. и клин. мед. 22, 2, 103—107, 1982.
8. Смирнов М. И. Витамины. 415, М., 1974.
9. Baumann J., Bruchhausen F. Prostaglandins, 20, 4, 627—639, 1980.
10. Cavallini L., Bindoli A., Siliprandi N. Pharmacol Res., 10, 2, 133, 1978.
11. Gintter E. Physiol bohemois, 28, 6, 516—524, 1979.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

УДК 577.321.01

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПЛАЗМИДНЫХ ДНК

А. Г. ГАБРИЕЛЯН, Н. Г. АЗАРЯН, Р. А. ЗАХАРЯН

Исследована тонкая структура кривых плавления ДНК плазмид RP4, RP4::Tn3 и pAS9. Разностные дифференциальные кривые плавления, полученные с помощью ЭВМ, соответствуют выплавлению отдельных делеций и вставок в молекулах ДНК и демонстрируют возможности спектрофотометрии высокого разрешения в изучении характера последовательности оснований в различных ДНК.

Ключевые слова: плазмидные ДНК, делеции и вставки, разностные дифференциальные кривые плавления.

Обычно для характеристики плазмидных и рекомбинантных ДНК применяют рестрикционный анализ, использующий электрофоретический метод разделения, и электронную микроскопию. Эти методы позволяют с большой точностью и достаточно быстро выяснить, в каком месте ДНК и какого размера изменения типа вставки или делеции участка. Однако они не могут дать информации о характере нуклеотидной последовательности как исходной ДНК, так и ее производных. Изу-

чение тонкой структуры кривых плавления позволяет охарактеризовать особенности распределения пар оснований в структуре генома [3, 4, 24].

В данной работе исследование дифференциальных кривых плавления (ДКП) применено нами для характеристики ДНК плазмиды RP4 и ее производных с делециями и вставками.

Материал и методика. В работе использованы следующие плазмиды: RP4⁺ (bla, tet, kap, tra⁺), [20], RP4::Tn3 (bla, tet, kap, tra⁻), предоставленная В. Б. Федосеевой (ИМГ АН СССР, Москва) [13], pAS9 (bla, tet, tra⁻), предоставленная В. А. Саканяном (ВНИИ Генетика, Москва) [5]. Плазмидную ДНК выделяли из саркозидных лизатов бактерий (штамм *E. coli*, J53 pro⁻met⁻), используя методику Клевелла и Хеллиного [10]. Равновесное ультрацентрифугирование в градиенте CsCl с бромистым этидием (плотность 1,62 г/см³) осуществляли на угловом роторе № 3 (44000 об/мин) при 15° в течение 44 ч (центрифуга «Beckman» США, модель L5-65). Относительную фракцию плазмидной ДНК очищали на колонке с гидроксипатитом, элюцию производили 0,5 М фосфатным буфером pH 7,5 при 60°.

ДНК плазмиды RP4 обрабатывали для раскрытия суперспиралей рестриктазой EcoRI в буфере 100 mM трис-HCl, pH 7,5, 5 mM MgCl₂, 50 mM NaCl при 37° в течение часа. С этой же целью ДНК плазмиды RP4::Tn3 подвергали серии последовательных размораживаний—замораживаний. Для раскрытия суперспиралей плазмиды pAS9 использовали рестрикции эндонуклеазой BamHI в буфере 10 mM трис-HCl, 50 mM NaCl, 10 mM MgCl₂, pH 7,5 в течение часа при 37°, а также метод замораживания—размораживания.

После трехкратной фенольной депротеинизации и окончательной очистки ДНК ее переносили в 0,1×SSC на колонке с сефадексом G-50 fine.

Операции отбора, очистки, рестрикции плазмидных ДНК контролировали электронно-микроскопически и электрофоретически (0,5%-ный агарозный гель, агароза «Сигма № 111» при 30 v, в течение 10 ч).

Плавление образцов ДНК проводили на спектрофотометре «Cary 219», оборудованном специальной термостатирующей ячейкой. Использовали микрокуветы «Varian». Дифференцирование кривых плавления осуществляли на ЭВМ HP 9829 по программе «Melting». ДКП, отвечающие усреднению кривых плавления одной и той же ДНК, полученных в нескольких независимых экспериментах, строили с помощью программы «Unification». Разностные кривые для ДНК различных плазмид получали по программе «Delta», результирующие кривые нормированы по программе «Melting», полученных от Е. И. Голованова (ИМГ АН СССР, Москва).

Результаты и обсуждение. Плазида RP4 из P-1 группы несовместимости обладает уникальным свойством передаваться конъюгационным путем в широкий круг различных видов грамотрицательных бактерий и стабильно в них наследоваться [11, 12, 21]. Единственный транспозон Tn3 расположен на координате 5,2—9,8 кв в области генов несовместимости и репликации, кодирующих жизненно важные функции плазмиды [8, 22]. Tn3 фланкирован небольшими инвертированными повторами (по ~140 пар оснований). ДНК плазмиды RP4—кольцевые, суперспиральные молекулы с молекулярным весом 36,4 млн. дальтон (19,1 мкм) [16]. Суперспиральные циркулярно-замкнутые молекулы ДНК при плавлении дают гладкую дифференциальную кривую, лишенную тонкой структуры [15], поэтому необходимо предварительно перевести молекулы ДНК в линейную форму, желательнее в одном и предпочтительнее в определенном месте молекул.

В случае RP4 мы действовали посредством рестриктазы EcoRI, имеющей один сайт рестрикции на ДНК плазмиды (см. например, [8]).

На рис. 1 (кр. 2) приведена ДКП для ДНК RP4. Кривая—не гладкая, колоколообразная, как для ДНК эукариот аналогичного молекулярного веса [18], а имеет тонкую структуру. Большая ширина интервала плавления характеризует гетерогенную ДНК, состоящую из больших блоков с сильно различающимися ГЦ-содержаниями. ГЦ-содержание всей ДНК RP4 приблизительно определяется из кривой плавления [1, 19], оно равно 68%, что согласуется с результатами работы Саундерса [23], полученными методом аналитического ультрацентрифугирования. Большая доля ДНК плавится в интервале температур 79—84°, но имеется отделенная часть кривой плавления в $\sim 3^\circ$ шириной. Мы предположили, что соответствующая ему более легкоплавкая область ДНК, выплавляющаяся при 74—77°,—область Tn3. Во-первых, судя по температуре плавления, эта часть ДНК имеет ГЦ-содержание,

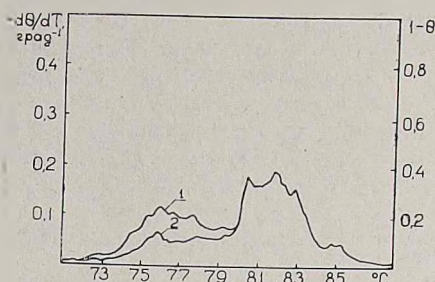


Рис. 1.

Рис. 1. Дифференциальные кривые плавления ДНК RP4::Tn3 (кривая 1) и RP4 (кривая 2).

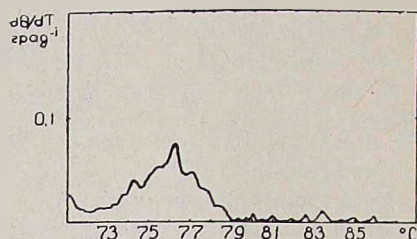


Рис. 2.

Рис. 2. Нормированная разностная кривая плавления ДНК RP4::Tn3—RP4.

равное 50%, что соответствует величине ГЦ-содержания Tn3 (50,11%), рассчитанной на ЭВМ по расшифрованной последовательности [2, 17]. Во-вторых, по форме этот пик соответствует форме кривой плавления Tn3 в составе плазмиды ColE1::Tn3 [7]. Для доказательства этого предположения нами проплавлена ДНК плазмиды RP4::Tn3.

Плазида RP4::Tn3 является производной плазмиды RP4 и, как показал гетеродуплексный анализ [13], содержит две инвертированные копии элемента Tn3 (по $3,2 \times 10^5$ дальтон). На рис. 1 (кр. 1) приведена ДКП ДНК этой плазмиды. Видно, что низкотемпературный пик кривой 1 повторяет по форме пик кривой 2, но охватывает большую площадь. А правые части обеих кривых совпадают*. Таким образом, левая часть кривых действительно отвечает выплавлению элемента Tn3 в ДНК плазмиды RP4 (кривая 2) и двух копий Tn3 в случае ДНК плазмиды RP4::Tn3. Разность двух кривых, полученная с помощью ЭВМ, описывает плавление транспозона Tn3 в составе плазмиды RP4::Tn3

* Поскольку сравниваются кривые, отвечающие плавлению ДНК с различными молекулярными весами, то нормируется одна из кривых (кривая 2), а другая приведена не к площади 1, а к $1 M_1/M_2$, где M_1 и M_2 соответственно молекулярные веса ДНК RP4::Tn3 и RP4. Такая графическая процедура приводит к совпадению площадей, ограниченных правыми частями кривых.

(рис. 2). Локализованный характер плавления транспозона Tn3 свидетельствует о гомогенном, равномерном распределении в нем нуклеотидных пар.

Получена также ДКП ДНК плазмиды pAS9—производной RP4. Это—рекомбинантная плазида, делеционный, нетрансмиссибельный мутант гибридной плазмиды pAS8 (RP4—ColE1) [5, 6]. pAS9 содержит неповрежденный ColE1-фактор и часть ДНК плазмиды RP4. При этом утрачивается детерминанта устойчивости к канамицину и повреждается trnA-оперон, что указывает на их близкое расположение друг от друга.

Так как рестриктаза EcoRI имеет два участка узнавания на pAS9, мы расщепляли циркулярно-замкнутую плазмидную ДНК эндонуклеазой BamHI, имеющей один сайт рестрикции [8]. При этом кривые плавления получались неотличимыми от ДКП ДНК pAS9, суперспирали которой раскрыты методом замораживания—размораживания. Определенный методом скоростной седиментации [1, 14] молекулярный вес ДНК pAS9 оказался равен $(23 \pm 3) \times 10^6$, что согласуется с полученной электронно-микроскопически величиной контурной длины 9,8 мкм (контурная длина ДНК RP4—19,1 мкм [16], а pAS8—21,3 мкм [6]).

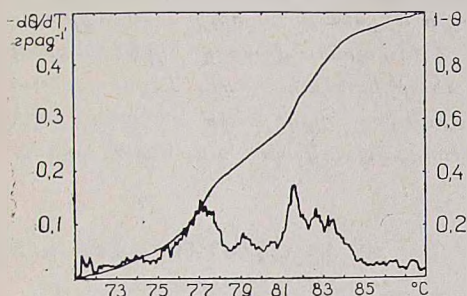


Рис. 3.

Рис. 3. Интегральная (кривая 1) и нормированная дифференциальная (кривая 2) кривые плавления ДНК pAS9.

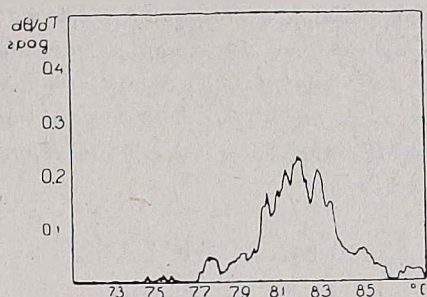


Рис. 4.

Рис. 4. Нормированная разностная кривая плавления ДНК RP4—pAS9.

Из рис. 3 видно, что кривая плавления ДНК pAS9 имеет такой же характер, как и ДКП ДНК RP4. Это понятно, поскольку последовательность нуклеотидов ДНК pAS9 в основном содержится в ДНК RP4. В то же время ДНК pAS9 характеризуется более выраженной тонкой структурой ДКП, чем более высокомолекулярная ДНК RP4. Форма кривой плавления ДНК pAS9 такая же, какой была бы кривая плавления смеси двух ДНК с различным ГЦ-содержанием. Сравнение с кривой плавления RP4 позволяет считать, что низкотемпературный массив пиков соответствует ДНК ColE1 (ГЦ-содержание ~58% близко к значению, полученному для ДНК ColE1 в работе [7]). ГЦ-содержание остатка RP4 ~69% (правая часть ДКП). ДНК плазмиды pAS9 содержит приблизительно 65% ГЦ [1].

На рис. 4 приведена разностная кривая плавления двух ДНК RP4—pAS9. В какой-то мере (без учета ColE1—вставки) она характеризует

делетированный участок RP4, содержащий детерминанту устойчивости к канамицину и *tet*^r—оперон. Как видно из кривой, это довольно гомогенный по составу ГЦ-обогащенный участок.

Таким образом, по изменению ДКП можно получить сведения о характере нуклеотидной последовательности вставки (или делеции) в ДНК.

Авторы благодарят Ю. С. Лазуркина и Ю. Л. Любченко за предоставление возможности для проведения работы и Банникова Ю. А. за помощь в работе.

Институт экспериментальной биологии
АН Армянской ССР

Поступило 14.V 1982 г.

ՊԼԱԶՄԻԴԱՅԻՆ ԴՆԹ-ՆԵՐԻ ՌԻՍՈՒՄԱՍԻՐՈՒՄԸ ՍՊԵԿՏՐՈՖՈՏՈՄԵՏՐԻԿ ԵՂԱՆԱԿՈՎ

Ա. Դ. ԳԱԲՐԻԵԼՅԱՆ, Ն. Գ. ԱԶԱՐՅԱՆ, Բ. Ա. ԶԱԽԱՐՅԱՆ

Հետազոտվել է RP4, RP4:Tn3 և pAS9 պլազմիդների ԴՆԹ-ների հալման կորերի նուրբ կառուցվածքը: Էլեկտրոնային մեքենայի հատուկ ծրագրերի միջոցով հաշված են տարբեր ԴՆԹ-ներին համապատասխանող դիֆերենցիալ հալման կորերի տարբերությունները: «Տարբերական» այդ կորերը բնութագրում են տվյալ ԴՆԹ-ներում պարունակվող ներդիրների և հանումների (դելեցիաների) ազդեցության հիմքերի հաջորդականության առանձնահատկությունները:

SPECTROPHOTOMETRIC STUDY OF PLASMID DNA-s

A. G. GABRIELIAN, N. G. AZARYAN, R. A. ZAKHARYAN

The differential melting curves of RP4 and of its derivatives RP4::Tn3 and pAS9 plasmid DNA-s have been studied. The difference between the differential melting curves corresponds to the melting of individual insertion and deletion elements in DNA macromolecules and allows to study the character of base sequences in different DNA-s.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Габриелян А. Г., Аблязимова Н. А., Варганян М. К., Карагезян К. С., Захарян Э. Г., Захарян Р. А. Биолог. ж. Армения, 33, 8, 799, 1980.
2. Габриелян А. Г., Захарян Р. А., Азарян Н. Г., Федосеева В. Б. Мат-лы симпозиума СССР—ФРГ «Структура генома и транскрипция», Ереван, 1981.
3. Габриелян А. Г., Сафарян Э. С., Сафарян А. С., Варганян М. К., Захарян Р. А. Биолог. ж. Армения, 34, 6, 627, 1981.
4. Лазуркин Ю. С. Молек. биол., 11, 6, 627, 1981.
5. Саканян В. А., Алиханян С. И., Якубов Л. З., Степанов А. И. Генетика, 13, 10, 1778, 1977.
6. Саканян В. А., Якубов Л. З., Алиханян С. И., Степанов А. И. Генетика, 14, 5, 853, 1978.
7. Amtrikyan B. R., Vologodskii A. V., Lyubchenko Yu. L. Nucl. Acids Res., 9, 5469, 1981.

8. Barth P. T., Grinter N. J. J. Mol. Biol., 113, 453, 1977.
9. Borovik A. S., Kalambet Ju. A., Lyubchenko Yu. L., Shitov V. T., Golovanov Eu. I. Nucl. Acids Res., 8, 18, 4165, 1980.
10. Clewell D. B., Helinski D. R. Biochemistry, 9, 4428, 1970.
11. Datta N., Hedges R. W. J. Gen. Microbiol., 70, 453, 1972.
12. Datta N., Hedges H. W., Shaw E. J., Sykes R. B., Richmond M. H. J. Bacteriol., 108, 1244, 1971.
13. Dobritsa A. A., Ksenzenko V. N., Fedoseeva V. B., Alexandrov A. A., Kamini-na T. P., Khmel'nitsky M. I. Gene, 8, 153, 1980.
14. Felsenfeld G., Hirschman S. Z. J. Mol. Biol., 13, 407, 1965.
15. Frank—Kamenetskii M. D., Lazurkin Yu. S. Ann. Rev. Biophys. Bioenerg., 3, 127, 1974.
16. Grinsted J., Saunders J. R., Ingram L. C., Sykes R. B., Richmond M. H. J. of Bacteriology, 110, 2, 529, 1972.
17. Heffron F., M.—Carthy B. J., Ohtsubo H., Ohtsubo E. Cell, 18, 1153, 1979.
18. Lyubchenko Yu. L., Frank—Kamenetskii M. D., Vologodskii A. V., Lasurkin Yu. S., Gause G. G. Biopolymers, 15, 1019, 1976.
19. Marmur J., Doty F. J. Mol. Biol., 5, 109, 1962.
20. Novick R. P., Clowes R. C., Cohen S. N. Curtis R., 111, Datta N., Falko S. Bacteriol. Rev., 40, 168, 1976.
21. Olsen R. H., Shipley P. L. J. Bacteriol., 113, 772, 1973.
22. Rubens C., Falkow S. Proc. of National Acad. of Sci, USA, 72, 3623, 1975.
23. Saunders J. R., Grinsted J. J. of Bacteriol., 112, 690, 1972.
24. Wada A., Yabuki S. Husimi, Fine structure in the thermal denaturation of DNA, Crit. Rev. Biochem., 1, 1978.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

УДК 576.8.575.24

ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ НОВОЙ ГРУППЫ РИБОСОМНЫХ МУТАНТОВ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ

ГАР. Г. ОГАНЕСЯН

Получено более 100 новых рибосомных (стрептомициновых) мутантов у кишечной палочки. Отмечена высокая плеiotропия проявления мутаций этого типа, выражающаяся в изменении термочувствительности, ауksотрофности, скорости деления клеток и других свойств.

Ключевые слова: рибосома, мутации, фенотип, стрептомицин, плеiotропия, кишечная палочка.

Стрептомицин (СМ) является одним из наиболее распространенных антибиотиков аминогликозидного ряда и широко используется как в медицинской практике, так и в молекулярно-биологических исследованиях. Было установлено, что стрептомицин действует на один из компонентов (белок S 12) малой (30 S) субчастицы рибосомы и детерминруется *rpsL* локусом.

Стрептомициновые мутации связаны с изменением гена¹, контролирующего биосинтез S12 белка, в результате чего клетка приобретает

устойчивость (или зависимость) к антибиотику [7]. Поскольку рибосомы играют активную роль в определении специфичности трансляции, можно предположить, что изменения структуры рибосом приводят к изменению их функций.

При изучении стрептомицинрезистентных (СМ-р) и стрептомицинзависимых (СМ-з) мутантов бактерий была обнаружена высокая плейотропия при проявлении мутаций, выражавшихся в изменении свойства клетки: температурочувствительности, ауксотрофности, скорости деления, чувствительности к УФ-лучам и др. [3-5].

Задача настоящей работы состояла в выделении и изучении новой группы стрептомициновых рибосомных мутантов для получения дополнительных данных о природе биосинтетических процессов, изменяющихся при мутировании генов, контролирующих биогенез рибосом. Полученные данные могут быть использованы в практической селекции полезных форм микроорганизмов, продуцентов ценных метаболитов.

Материал и методика. Бактерии. В работе использованы чувствительные к стрептомицину бактерии *E. coli* K12 штамм СА 167 (получен от Бреннера), несущий окраситель *sur* С и чувствительную к нему мутацию в гене лактозного оперона [6], который сбраживает лактозу (лак+фенотип).

Питательные среды. В качестве индикаторной среды при определении способности сбраживать лактозу использовали среду Эндо. Минимальная среда (М9) готовилась для выявления групп ауксотрофных мутантов [1]. Во всех необходимых случаях добавлялся стрептомицин до получения конечной концентрации—200 мкг/мл.

Выделение и анализ мутантов. Стрептомициновые мутанты выделялись по ранее описанному методу [4]. Для фенотипического анализа мутанты, посеянные на соответствующие среды, инкубировались при 27°, 37° и 42° в течение 4-х сут, и результаты регистрировались каждые 24 ч.

Результаты и обсуждение. Было получено свыше 100 спонтанных стрептомициновых мутантов штамма СА 167. Спонтанная частота появления стрептомицинустойчивых мутантов составляет 1—2 на 10^9 проверенных клеток, а частота возникновения стрептомицинзависимых мутантов на порядок ниже, что согласуется с литературными данными [2].

Из общей группы полученных спонтанных СМ-р мутантов можно выделить группы, характер роста которых на различных средах приведен в табл. 1.

Таблица 1

Рост различных ауксотрофных мутантов на разных средах

Группы мутантов	Минимальная (М9) среда		Полноценная (Эндо) среда	
	без СМ	с СМ	без СМ	с СМ
I группа (всего 2 мутанта)	—	—	+	+
II группа (всего 19 мутантов)	—	—	—	+
СА 167 (контроль)	+	—	+	—

— — отсутствие роста, + — нормальный рост.

Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что среди выделенных мутантов имеются две группы, ведущие себя как ауксотрофы. Мутанты первой группы ведут себя как обычные ауксотрофы, в то время как мутанты второй группы проявляют одновременно зависимость от СМ (не растут без добавления антибиотика и на полноценной среде Эндо). Полученные результаты могут объясниться тем, что у первой группы мутантов рибосомные мутации каким-то образом повредили биосинтетические процессы, происходящие в клетке и обеспечивающие ее необходимыми факторами роста, такими, например, как витамины, аминокислоты, нуклеотиды. У мутантов же второй группы помимо указанных повреждений рибосома вследствие мутаций утратила способность функционировать в отсутствие стрептомицина; этим можно объяснить неспособность мутантов второй группы расти на полноценной среде Эндо без антибиотика.

Результаты проверки роста стрептомициновых мутантов при различных температурах представлены в табл. 2.

Таблица 2

Рост различных рибосомных мутантов при разных температурах на синтетической и полноценной средах

Группы мутантов	Минимальная (М9) среда						Полноценная (Эндо) среда					
	без СМ			с СМ			без СМ			с СМ		
	27°	37°	42°	27°	37°	42°	27°	37°	42°	27°	37°	42°
I группа (всего 25 мутантов)	2	2	0	2	2	0	3	3	0	3	3	0
II группа (всего 3 мутанта)	2	2	0	2	2	0	3	3	3	3	3	0
III группа (всего 5 мутантов)	0	0	0	2	2	0	0	0	0	3	3	3
СА 167 (контроль)	3	3	3	0	0	0	3	3	3	0	0	0

0 — отсутствие роста, 2 — ослабленный рост, 3 — нормальный рост.

Как видно из таблицы, по отношению к температуре проверенные мутанты подразделяются на три группы. В первой оказываются мутанты, утратившие способность роста при 42° независимо от условий. Термочувствительность мутантов второй группы зависит от состава инкубационной среды и проявляется только на синтетической среде. Можно предположить, что у мутантов этой группы при 42° инактивировались какие-то этапы биосинтеза факторов роста (аминокислоты, витамины, нуклеотиды и др.). Наконец, третья группа представлена мутантами, которые наряду с термочувствительностью проявляют зависимость от наличия стрептомицина в среде.

Были проверены также лактозосбраживающая способность и скорость клеточного деления у выделенных мутантов. Исходный штамм СА 167 мог сбраживать лактозу и на индикаторной среде Эндо имел

лак⁺ фенотип вследствие подавления supC супрессором мутации в Z-гене. Среди проверенных СМ-р и СМ-з мутантов со сравнительно высокой частотой наблюдается изменение лак⁺ фенотипа на лак⁻, что свидетельствует о рестрицирующем влиянии рибосомных мутаций на работу охра-супрессора.

Проверка скорости роста мутантов показала, что имеются мутанты, по скорости роста опережающие исходный штамм СА 167, и группа мутантов, значительно отстающих от него.

Таким образом, было выделено и охарактеризовано несколько классов СМ-р и СМ-з мутантов, что указывает на высокоплейотропное действие стрептомициновых мутаций. Полученные данные позволяют предположить, что обнаруженные типы изменений могут быть следствием изменений самого белка S12 в структуре рибосом либо иных жизненно важных белков, синтезируемых на мутантных рибосомах как результат каких-то нарушений в их работе при рибосинтезе белков.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии

Поступило 16.VI 1982 г.

ԱՂԻՔԱՅԻՆ ՑՈՒՊԻԿԻ ՌԻԲՈՍՈՄԱՅԻՆ ՄՈՒՏԱՆՏՆԵՐԻ ՆՈՐ ԽՄԲԻ ՍՏԱՅՈՒՄԸ ԵՎ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Դ. Հ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

Աղիքային ցուպիկից անջատված են ավելի քան 100 նոր ռիբոսոմալ (ստրեպտոմիցինային) մուտանտներ: Ուշադրություն է դարձված այն փաստի վրա, որ այդպիսի մուտանտները ունեն բարձր պլեյոտրոպիա, որն արտահայտվում է ջերմազգայունության, աուքոտրոֆության, բջջի կիսման արագության և այլ հատկանիշների փոփոխությամբ:

ISOLATION AND ANALYSIS OF A NEW GROUP OF RIBOSOM MUTANTS OF ESCHERICHIA COLI

G. H. OHANESSIAN

More than 100 new ribosomal (streptomycin) mutants of *E. coli* have been obtained. The mutants have high pleiotropy, which is expressed in thermosensitivity, auxotrophy, in the rate of cell division (doubling time) and in other properties.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Адамс М. Бактериофаги. М., 1961.
2. Барегамян И. Н. Вопросы молекулярно-клеточной биологии и иммунологии. 13—18, Ереван, 1970.
3. Кудлай Д. Г., Чубукова В. Ф., Оганесян М. Г. Генетика лекарственной устойчивости бактерий. 29, М., 1972.
4. Оганесян М. Г., Барегамян И. Н. Биолог. ж. Армении, 27, 7, 1974.
5. Оганесян М. Г., Мугнищян Э. Г. Биолог. ж. Армении, 29, 11, 1976.
6. Brenner S., Beckwith G. R. J. Mol. Biol., 13, 629, 1965.
7. Nomura, Mizushima, Ozaki et al. Structure and function of ribosomes and their molecular components. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 34, 49, 1969.

УДК 577.391:663.12/14

РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК ДРОЖЖЕЙ *PICHIA PINUS* В СТАЦИОНАРНОЙ И ЛОГАРИФМИЧЕСКОЙ ФАЗАХ РОСТА

Н. В. СИМОНЯН, Ц. М. АВАКЯН, Н. Л. ДЖАНПОЛАДЯН, Л. Г. СТЕПАНЯН

Изучались радиорезистентность и содержание эндогенных тиолов в активно пролиферирующих и покоящихся клетках гаплоидных и диплоидных дрожжей *Pichia pinus*. Показано, что уровень эндогенных тиолов выше в почкующихся клетках этих дрожжей, обладающих повышенной устойчивостью к рентгеновским лучам.

Ключевые слова: радиорезистентность, эндогенные тиолы.

Известно, что радиорезистентность клеток живых организмов зависит от того, в какой стадии клеточного цикла находятся клетки во время облучения. У дрожжевых клеток период повышенной устойчивости к ионизирующим излучениям, как было показано в работе Бима с сотр. [3], совпадает с появлением почек и продолжается, согласно Бернсу [4], с начала образования почки до достижения ею размера, равного примерно 1/3 материнской клетки.

Нами показано [1, 2], что почкующиеся клетки дрожжей *Saccharomyces ellipsoideus*, штамм Мегри 139-В, и *Saccharomyces cerevisiae* «дикого типа», отличающиеся повышенной радиорезистентностью, содержат больше эндогенных тиолов, чем более чувствительные непочкующиеся клетки. Клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, несущие мутацию *rad 51* и не отличающиеся по радиорезистентности в стационарной и логарифмической фазах роста, не различаются и по содержанию SH-групп. Одним из иных путей проверки представлений, связывающих повышенную радиорезистентность почкующихся клеток дрожжей с повышенным содержанием в них SH-групп, может служить определение содержания SH-групп, в активно пролиферирующих и покоящихся клетках дрожжей *Pichia pinus*, у которых нетипичная реакция на облучение (гаплоидные клетки резистентнее диплоидных), что и было сделано в данной работе.

Материал и методика. Объектами исследования служили гаплоидный и диплоидный штаммы дрожжей *Pichia pinus*, выращенные на агаризованном неохмеленном пивном сусле (4° Балл) при 30°. Концентрацию клеток и процент почкования определяли подсчетом в камере Горяева. Для определения радиочувствительности суспензию, содержащую 1—2·10⁶ кл/мл, облучали рентгеновскими лучами на установке РУП 220/20 при напряжении на трубке 200 кВ, силе тока 15 мА, мощности дозы 2100 Р/мин, фокусном расстоянии 10 см и высевали на поверхность сусло-агара. Выживаемость определяли подсчетом макроколоний через 7—10 сут после посева, в течение которых успевали сформироваться колонии из всех клеток, не погибших вследствие облучения. Для определения инкубации по методике Седлака и Линдсея [5] дрожжи выращивали на сусло-агаре и высушивали на фильтровальной бумаге. Содержание тиолов в клетках относили к 100 мг сухой биомассы.

Результаты и обсуждение. Как известно, дрожжевые клетки в процессе развития проходят несколько хорошо различающихся фаз (рис. 1): фаза I—покоящаяся клетка, ядро без видимых изменений; фаза II—клетка с почкой, которая равна или меньше 1/3 величины материнской клетки, ядро без изменений или начинает готовиться к делению, перемещается по направлению к почке или изменяет форму; фаза III—почка приближается по размеру к материнской клетке, ядро делится, и дочернее ядро перемещается в почку; фаза IV представлена еще не разошедшимися материнской и дочерней клетками с полностью обособившимися ядрами. На рис. 2 представлены кривые содержания в культуре различного типа почкующихся клеток гаплоидного и диплоидного штаммов *Pichia pinus* в зависимости от времени инкубации на питательной среде.

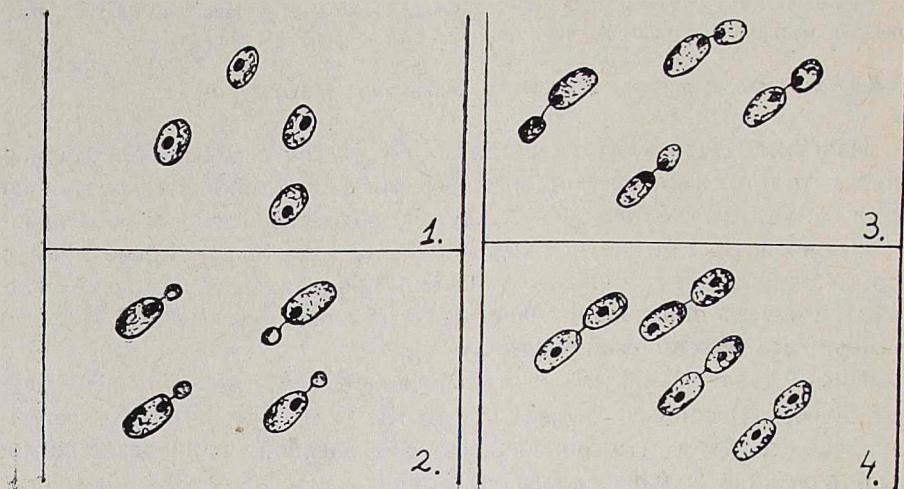


Рис. 1. Фазы роста культуры дрожжей.

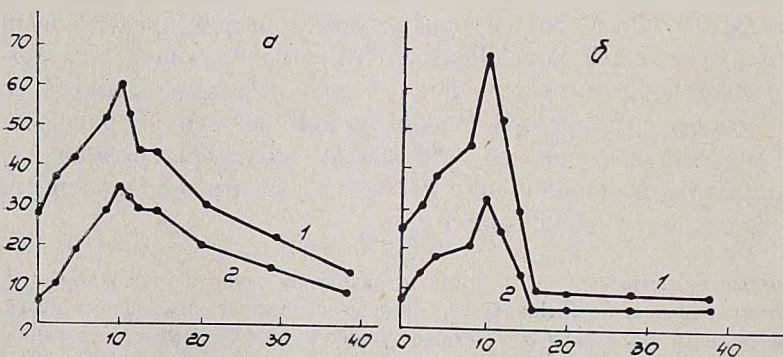


Рис. 2. Кривые содержания в культуре различного типа почкующихся клеток гаплоидных (а) и диплоидных (б) дрожжей *Pichia pinus* в зависимости от времени инкубации. 1—кривая содержания клеток, находящихся в фазах II—IV; 2—кривая содержания клеток, находящихся в фазе II. По оси абсцисс—время инкубации, ч; по оси ординат—содержание почкующихся клеток, %.

Кривые зависимости содержания клеток, находящихся в фазе II (кривые 2) и в фазах II—IV (кривые 1), от времени инкубации показывают, что максимальное содержание клеток, находящихся как в фазе II, так и в фазах II—IV, приходится примерно на 10 ч инкубации.

Кривые выживания клеток 4-часовой, 10-часовой и 5-суточной культур гаплоидного и диплоидного штаммов *Pichia pinus* приведены на рис. 3. Наибольшей резистентностью обладают клетки 10-часовой культуры, наименьшей—5-суточной. 10-часовая культура содержит наибольшее количество клеток с мелкими и крупными почками, 4-часовая культура как по содержанию тех и других почкующихся клеток, так и по радиорезистентности занимает промежуточное положение между 10-часовой и 5-суточной. Это характерно как для гаплоидных, так и для диплоидных дрожжей.

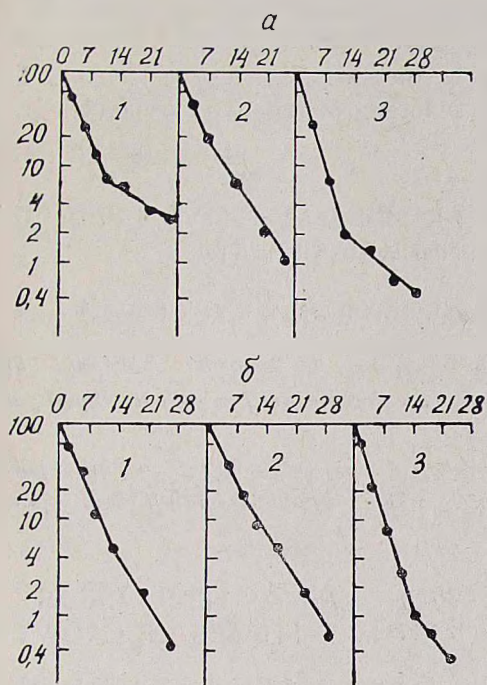


Рис. 3. Кривые выживания гаплоидных (а) и диплоидных (б) дрожжей *Pichia pinus*. 1. 4-часовая культура, 2. 10-часовая культура, 3. 5-суточная культура. По оси абсцисс—доза облучения, крад; по оси ординат—выживаемость, %.

Для проверки представлений, связывающих повышенную радиорезистентность почкующихся клеток с более высоким уровнем содержания эндогенных тиоловых соединений, мы определили содержание SH-групп в клетках этих культур (табл.).

Из данных таблицы следует, что клетки 10-часовой культуры гаплоидного и диплоидного штаммов, обладающие повышенной радиорезистентностью и состоящие в основном из почкующихся клеток, содержат больше эндогенных тиолов, чем менее радиорезистентные клетки 5-суточных культур, состоящие в основном из покоящихся клеток. Клетки 4-часовой культуры, занимающие промежуточное положение как по радиорезистентности, так и по содержанию почкующихся клеток, содержат больше эндогенных тиолов, чем клетки 5-суточной культуры, и меньше, чем клетки 10-часовой.

Т а б л и ц а

Содержание SH-групп в клетках дрожжей *Pichia pinus* различного возраста, ммоль/100 мг

Штаммы	Возраст культуры		
	5-суточная	4-часовая	10-часовая
МН4	1,06	1,26	1,37
МН4-Д	0,98	1,12	1,23

Примечание: ошибка в определении SH-групп не превышала 3%.

Полученные результаты хорошо согласуются с данными, полученными на диплоидных дрожжах *Saccharomyces ellipsoideus*, штамм Мерри 139-В, и гаплоидных и диплоидных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* разных генотипов и свидетельствуют в пользу представлений, связывающих повышенную радиорезистентность почкующихся клеток с более высоким уровнем содержания эндогенных тиоловых соединений.

Ереванский физический институт ГКАЭ

Поступило 8.VII 1982 г.

PICHIA PINUS ԽՄՈՐԱՍՆԿԵՐԻ ՌԱԴԻՈԶԳԱՅՆՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՃՄԱՆ ՍՏԱՅԻՆԱՐ ԵՎ ԼՈԳԱՐԻԹՄԱԿԱՆ ՖԱԶԱՆԵՐՈՒՄ

Ն. Վ. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Մ. Մ. ԱՎԱԿՅԱՆ, Ն. Լ. ԶԱՆՓՈԼԱԴՅԱՆ, Լ. Գ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է *Pichia pinus* դիպլոիդի և հապլոիդի խմորասնկերի բողբոջվող և չբողբոջվող բջիջների ռադիոզգայնությունը և նրանցում SH-խմբերի պարունակությունը:

Ցույց է տրվել, որ էնդոգեն տիոլների մակարդակն աճելի բարձր է խմորասնկերի բողբոջվող բջիջներում, որոնք ռենտգենյան ճառագայթների նկատմամբ մեծ կայունություն ունեն:

THE RADIOSENSITIVITY OF *PICHIA PINUS* YEAST CELLS IN THE STATIONARY AND LOGARITHMIC PHASES OF GROWTH

N. V. SIMONIAN, Ts. M. AVAKIAN, N. L. JANPOLADIAN, L. G. STEPANIAN

Data are presented on the content of endogenous thiols and radioresistance of cells of haploid and diploid yeast culture *Pichia pinus* of different budding cell content. Yeast cultures, having a higher content of budding cells, were shown to contain a larger number of endogenous thiols and to be more radioresistant than those having a smaller amount of budding cells.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Симонян Н. В., Авакян Ц. М., Джанполадян Н. Л. Радиобиология, 18, 1, 32—35, 1978.
2. Симонян Н. В., Джанполадян Н. Л., Степанян Л. Г. Радиобиология, 20, 1, 123—126, 1980.

3. Beam C. A., Mortimer R. K., Wolfe R. G., Tobias C. A. Arch. Biochem. Biophys. 49, 1, 110—122, 1954.
4. Burns V. W. Radiation Res., 4, 2, 394—399, 1956.
5. Sedlak J. and Lindsay R. H. Analytical Biochemistry, 28, 1, 192—205, 1969.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

УДК 576.854.3095.322.2

RHODOPSEUDOMONAS SP. ШТАММ Д-4-ФОТОТРОФНАЯ БАКТЕРИЯ ИЗ МИНЕРАЛЬНОГО ИСТОЧНИКА ДЖЕРМУКА

А. Х. ПАРОНЯН, Т. А. ГАБАЕВА, М. Н. МАЛАТЯН

Из сульфатно-гидрокарбонатной воды минерального источника Джермука выделена чистая культура несерной пурпурной бактерии и изучены ее морфофизиологические особенности. В качестве единственного источника углерода она использует ряд органических кислот и сахаров, а из источников азота—соли аммония, некоторые аминокислоты и мочевины. В зависимости от источника углерода культура растет и развивается в широком диапазоне значений pH (5,0—10,0). На средах с сахарами она накапливает в большом количестве кислоты, в связи с чем значительно снижается pH среды. Выделенная культура отнесена к роду *Rhodopseudomonas* и обозначена шт. Д-4. Она близка к *Rhodopseudomonas capsulata*, однако отличается от нее некоторыми физиологическими особенностями.

Ключевые слова: минеральная вода, фототрофные бактерии, род *Rhodopseudomonas*.

Выделение и изучение фототрофных бактерий из различных природных водоемов, отличающихся по своим физико-химическим характеристикам, представляют большой интерес как с точки зрения систематики и экологии, так и практического использования этих организмов. Последнее связано с проблемой получения дешевых кормовых концентратов, биологически активных соединений, очистки сточных вод и т. д. [2, 3, 7, 8].

Настоящая работа посвящена изучению морфофизиологических особенностей несерной пурпурной бактерии, выделенной из минерального источника Джермука.

Материал и методика. Исследуемый штамм пурпурной бактерии выделен из сульфатно-гидрокарбонатно-натриевой воды минерального источника Джермука с содержанием минеральных солей около 5 г/л, pH 7,1 и температурой 30°.

Накопительную культуру получали методом Виноградского в цилиндрах, а также высевом образцов минеральной воды в среду Ормеруда [9] с различными источниками углерода и дрожжевым экстрактом. Чистая культура выделялась методом серийных разведений накопительной культуры и посева в агаризованную среду Ормеруда в пробирках с последующим пересевом отдельно выросших в глубине агара колоний на среду того же состава. Чистоту ее проверяли под микроскопом и высевом на питательные среды МПА и среду Постгейта для сульфатредуцирующих бактерий [1].

Культуру выращивали на среде Ормеруда с малатом натрия (2,0 г/л). Начальное значение pH среды—7,0—7,2; температура культивирования—28—30°; она росла в

анаэробных условиях при освещении 1500—2000 лк, а также в микроаэрофильных и аэробных условиях в темноте. Морфологию бактерий исследовали с помощью светового микроскопа с фазовым контрастом и электронного микроскопа. Жгутиковый аппарат изучали методом негативного контрастирования ФВК, тонкое строение клеток — методом ультратонких срезов. Препараты просматривались в электронном микроскопе BS-613 (Тесла). Отношение микроорганизмов к различным органическим соединениям устанавливали посредством добавления их в среду в концентрации 0,1%. Гидролизат казеина, мочевину и неорганические соли азота добавляли в количестве 290 мг/л по азоту. Биомассу определяли на спектрофотометре СФ-16 при длине волны 650 нм. Спектры поглощения целых клеток определяли на регистрирующем спектрофотометре СФ-10 с расширенной шкалой. Глюкозу определяли применением микроцида (глюкозооксидазы) [5].

Результаты и обсуждение. Морфология культуры. Клетки изучаемой культуры, обозначенной нами как шт. Д-4, сферические или овальные, размером $1,2\text{--}2,2 \times 1,0\text{--}1,2$ мкм, часто образуют зигзагообразные короткие цепочки, характерные для *Rhodopseudomonas capsulata* (рис. 1). Они подвижны благодаря одному полярно расположенному жгутику; делятся путем перетяжки; грамтрицательны. На поверхности агара в темноте в аэробных условиях культура образует темно-красного цвета колонии со светлым ровным краем, выпуклые, гладкие, мягкой консистенции, диаметром 0,5—3 мм; в глубине агара на свету — чевицеобразные колонии красного цвета.

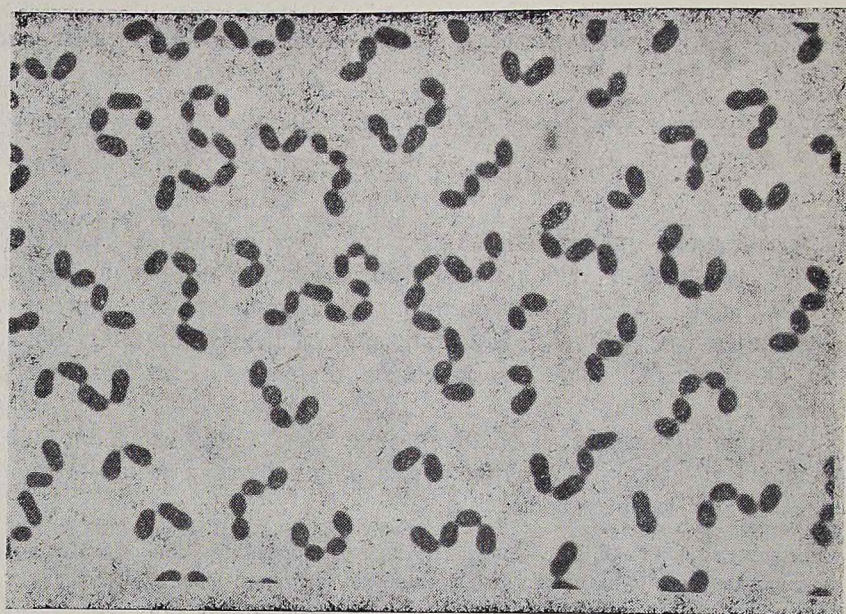


Рис. 1. Клетки культуры Д-4, выращенной в анаэробных условиях на свету. (Фазовый контраст, $\times 2500$).

Электронно-микроскопические исследования ультратонких срезов показали, что изучаемые бактерии обладают фотосинтезирующей мембранной системой везикулярного типа.

Пигменты культуры. С целью установления пигментного состава, а также влияния условий культивирования на синтез пигментов снимали

спектры поглощения целых клеток культуры Д-4, выращенной в различных условиях. На кривой, представленной на рис. 2, обнаруживается ряд пиков, обусловленных поглощением бактериохлорофилла и каротиноидов. Основные максимумы поглощения целых клеток, выращенных в условиях фотосинтеза (кривая 1), приходятся на 454, 482, 512, 590, 800 и 855 нм, что свидетельствует о наличии бактериохлорофилла *a* и набора каротиноидов. Цвет культуры, выращенной в анаэробных усло-

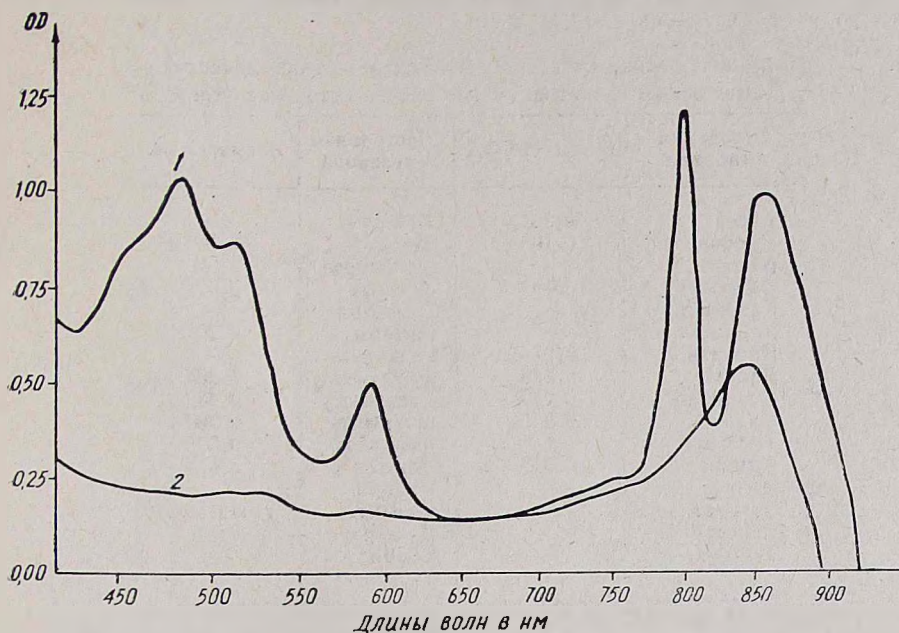


Рис. 2. Изменение спектра поглощения целых клеток культуры Д-4 при выращивании на средах с различным количеством глюкозы через 96 ч: 1—содержание глюкозы в среде 1,5 г/л, 2—то же 2,5 г/л.

виях на свету, при последующем встряхивании в присутствии кислорода, меняется от желто-коричневого до коричневатого-красного, что, по-видимому, указывает на наличие сфероидина и гидроксисфероидина—каротиноидов, принадлежащих к альтернативной серии спириллоксантина, которые в присутствии кислорода превращаются в соответствующие кетокаротиноиды [6].

Физиологические особенности. Культура Д-4 фотоорганотрофна, способна к росту как на свету в анаэробных условиях, так и в темноте в аэробных условиях. Цвет клеточной суспензии, выращенной в условиях фотосинтеза, желтовато-коричневый. В темноте в микроаэрофильных условиях образует розовое кольцо на уровне поверхности среды; на агаризованных средах—ярко-красные колонии. В темноте в аэробных условиях не растет. Организм мезофильный, температурные границы роста—от 23 до 42°. Оптимальная температура роста—28—30°.

Диапазон значений pH, при которых культура растет, довольно широкий—5,0—10,0. Оптимальное значение pH находится в зависимости от источника углерода. Так, если накопление биомассы на среде Ормеруда с малатом происходит начиная от pH 5,0, то на той же среде с

глюкозой рост культуры наблюдается при более высоких значениях рН (6,5—10,0). Следует отметить, что *Rhodopseudomonas acidophila* растет в диапазоне рН 4,8—7,0 при оптимуме 5,8 [10, 12].

В качестве фактора роста культура Д-4 нуждается в тиамине.

Толерантность к концентрации NaCl в среде невысокая—1,5—2%.

В качестве источника углерода и донора электронов культура может использовать различные органические соединения (табл. 1). Хо-

Таблица 1

Использование культ. рой Д-4 различных органических соединений в качестве единственного источника углерода

Источники углерода	Биомасса, ОД	Источники углерода	Биомасса, ОД
Ацетат	0,251	Оксалат	—
Пропионат	0,103	Бензоат	—
Валерат	—	Арабиноза	—
Капронат	—	Ксилоза	0,184
Капринат	—	Рамноза	—
Каприлат	—	Глюкоза	0,207
Пируват	0,276	Галактоза	—
Лактат	0,229	Фруктоза	0,237
Сукцинат	0,410	Сахароза	0,432
Малат	0,245	Мальтоза	0,207
Тартрат	—	Рафиноза	0,375
Фумарат	0,357	Лактоза	—
Цитрат	—	Инулин	—
Бутират	—	Маннит	0,113
Пеларгонат	—	Дульцит	—
Формиат	—	Сорбит	—

(—) — отсутствие роста.

роший ее рост обеспечивают сукцинат, фумарат, пируват, ацетат, малат, сахароза, рафиноза, фруктоза, мальтоза, глюкоза. Таким образом, изучаемая культура проявляет широкие возможности по использованию различных соединений углерода. В качестве единственного источника углерода, кроме органических кислот, она может использовать также ряд углеводов и в отличие от *Rhodopseudomonas capsulata*—низкомолекулярный спирт маннит.

В качестве источников азота штамм Д-4 использует различные соли аммония, некоторые аминокислоты (DL-аланин, L-глутамин, L-аргинин) и мочевины. Культура неспособна использовать нитраты и нитриты.

Как уже отмечалось, наряду с другими источниками углерода рост культуры обеспечивают и сахара. При выращивании организма на среде Ормеруда с глюкозой, фруктозой, сахарозой, мальтозой и ксилозой в качестве единственного источника углерода отмечается постепенное изменение цвета клеточной суспензии: из желтовато-коричневого он становится на третьи сутки зеленовато-серым. Выяснено, что это связано с накоплением в среде кислот, приводящим к значительному падению рН среды (рис. 3). По-видимому, при низких значениях рН пигменты претерпевают изменения; на это указывает также изменение спектра поглощения целых клеток культуры. На четвертые сутки культивирова-

ния, параллельно с подкислением среды, постепенно исчезают несколько пиков, характерных для каротиноидов; остается всего один пик в зоне поглощения бактериохлорофиллов (рис. 2, кривая 2).

Следует отметить, что при этом клетки морфологически не меняются, хотя цепочки, характерные для данной культуры, разрываются. Жизнеспособность клеток сохраняется, и при последующем пересеве на полноценную питательную среду культура развивается нормально.

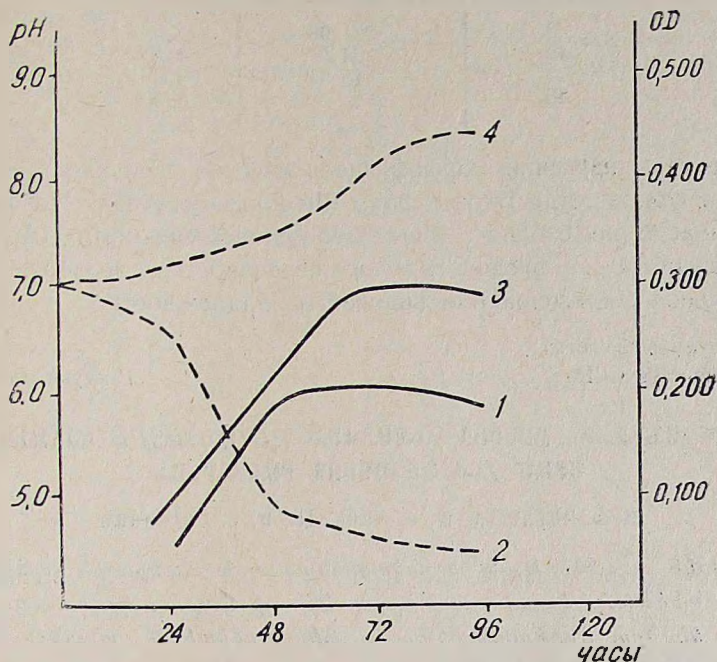


Рис. 3. Накопление биомассы и изменение pH культуры Д-4 в динамике роста на средах с разными органическими субстратами: 1—накопление биомассы на среде с глюкозой, 2—изменение pH на той же среде, 3—накопление биомассы на среде с малатом, 4—изменение pH на той же среде.

Падение pH среды до 3,5 описано и при росте *Rhodospseudomonas globiformis* на средах с глюкозой, фруктозой и маннитом [11], однако при этом автором не отмечено изменений цвета культуры.

Дальнейшие исследования культуры в этом направлении проводились только с глюкозой. При начальной концентрации сахара ниже 2 г/л описанного явления не наблюдается. Цвет культуры не изменяется и при одновременном присутствии в среде глюкозы и малата, а также при поддержании pH на постоянном уровне (в пределах pH 6,8—7,5) в процессе ее роста.

Определение количества глюкозы в среде в динамике роста культуры (табл. 2) подтверждает, что глюкоза полностью расходуется ею.

Известно, что значительное подкисление среды в процессе развития пурпурных бактерий является следствием накопления серной кислоты либо органических кислот [4]. Так как образование серной кислоты происходит лишь при окислении сероводорода или тиосульфата, а в употребляемой среде они отсутствуют, то можно предположить, что на

средах с сахарами изучаемая культура накапливает органические кислоты.

Таблица 2
Использование глюкозы культурой D-4
и изменение pH среды в динамике ее роста

Время инкубации	Количество глюкозы, мг %	pH среды
0	221,08	7,0
48	54,57	4,8
72	15,41	4,6
96	—	4,5

Результаты изучения морфофизиологических особенностей культуры D-4 позволяют отнести ее к роду *Rhodopseudomonas*. По большинству признаков она сходна с *Rhodopseudomonas capsulata* [12]. Дальнейшее изучение ее физиологических особенностей позволит сделать окончательное заключение о ее видовой принадлежности.

Институт микробиологии
АН Армянской ССР

Поступило 5.V 1982 г.

ՋԵՐՄՈՒԿԻ ՀԱՆՔԱՅԻՆ ՋՐԵՐԻՑ ԱՆՋԱՏՎԱԾ *RHODOPSEUDOMONAS* SP. ՇՏԱՄ D-4 ՖՈՏՈՏՐՈՓ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆ

Ա. Խ. ՊԱՐՈՆՅԱՆ, Թ. Ա. ԳԱԲԱԵՎԱ, Մ. Ն. ՄԱԼԱԹՅԱՆ

Ջերմուկի սուլֆատային-հիդրոկարբոնատային հանքային ջրերից անջատվել է անձծամբ ծիրանագույն բակտերիայի մաքուր կուլտուրա: Ուսումնասիրվել են նրա մորֆոլոգիական և ֆիզիոլոգիական առանձնահատկությունները: Ստացված նախնական տվյալների հիման վրա բակտերիան դասվել է *Rhodopseudomonas* ցեղին և նշվել է որպես D-4 շտամ:

Այն մոտ է կանգնած *Rhodopseudomonas capsulata*-ին, սակայն իր որոշ ֆիզիոլոգիական հատկանիշներով տարբերվում է նրանից:

RHODOPSEUDOMONAS SP. D-4-PHOTOTROPHIC BACTERIUM SEPARATED FROM THE MINERAL SPRING OF JERMUK

A. Kh. PARONIAN, T. A. GABAEVA, M. N. MALATIAN

A pure culture of purple nonsulphur bacterium was isolated from sulphate-hydrocarbonate mineral spring of Jermuk.

Its morpho-physiological characteristics was studied. From preliminary data this organism was determined as *Rhodopseudomonas* sp. strain D-4.

This strain showed a close resemblance to *Rhodopseudomonas capsulata*. There were, however, some physiological differences between these species.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Каравайко Г. И., Кузнецов С. И., Голомзик А. И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. М., 1972.

2. Карапетян С. К., Баласанян Р. Г., Малатян М. Н., Паронян А. Х. Биолог. ж. Армении, 33, 150—155, 1980.
3. Кобаяши М., Курата Ш. И. Тез. докл. II Международн. симп., 207, Пушино, 1977.
4. Кондратьева Е. Н. Фотосинтезирующие бактерии. М., 1963.
5. Лукомская И. С., Городецкий В. К. Биохимия, 26, 447—482, 1961.
6. Cohen—Bazire G., Sistrom W. R., Stanier R. Y. J. Cellular and Compar. Physiol., 49, 25—68, 1957.
7. Kobayashi M. Microbial Energy Conversion, Göttingen, Ed. by H. G. Schlegel and J. Barnea, 443—453, 1976.
8. Malatian M. N., Paronian A. Kh., Eliasian A. A. The Feed product, from phototrophic bacteria. In: XII International congress on microbiology. München, 1978.
9. Ormerod I. Arch. Bacteriol., 94, 449, 1961.
10. Pfennig N. J. Bacteriol., 99, 597—602, 1961.
11. Pfennig N. Arch. Microbiol., 100, 197—206, 1974.
12. Pfennig N., Trüpper N. G. Genus Rhodopseudomonas. In: Buchanan and Gibbons (editors), Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore, pp. 29—33, 1974.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

УДК 664.164

СВОЙСТВА β -ФРУКТОФУРАНОЗИДАЗЫ ИЗ PULLULARIA SP.

Е. Р. АЛЕКСАНЫАН, Л. С. МАРКОСЯН

Исследовались биохимические свойства β -фруктофуранозидазы гриба *Pullularia* sp. (оптимальная температура, pH, концентрация субстрата и фермента, pH- и термостабильность). Выявлена высокая стабильность фермента при кислых значениях pH. Показано, что синтезируемая *Pullularia* sp. инвертаза отличается от аналогичных ферментов, выделенных из других объектов (в частности, по насыщению фермента субстратом).

Ключевые слова: β -фруктофуранозидаза, инвертаза.

β -Фруктофуранозидаза [1—3, 26] относится к наиболее хорошо изученным ферментам. Объектами для ее выделения и исследования служили в основном дрожжи [1, 6, 12], тогда как грибам уделялось незначительное внимание. Сравнительно хорошо изучена β -фруктофуранозидаза грибов рода *Aspergillus* [3, 4]. Исследования в этой области позволили предложить гипотетический механизм действия фермента [5]. Изучение свойств β -фруктофуранозидазы указанных плесневых грибов имеет большое практическое значение, но не менее важно изыскание и сравнительное изучение новых видов, обладающих инвертазной активностью.

Наша работа посвящена исследованию свойств инвертазы, синтезируемой грибом *Pullularia* sp., не отмеченным ранее как продуцент инвертазы.

Материал и методика. Гриб *Pullularia* sp. выращивали в среде следующего состава (%): сахара—10; K_2HPO_4 —0,5; $NaCl$ —0,1; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ —0,02; $(NH_4)_2SO_4$ —0,06; дрожжевой экстракт—2 [7]. Культивирование проводили глубинным методом в колбах Эрленмейера емкостью 700 мл, содержащих 200 мл среды при 26° на круговой качалке в течение 5 сут. Затем суспензию центрифугировали при 20000 об/мин 20 мин для освобождения от клеток и спор. Полученную культуральную жидкость использовали в качестве источника инвертазы для исследований.

Активность β -фруктофуранозидазы определяли по степени гидролиза сахарозы, редуцирующие вещества—методом Сомоджи-Нельсона [10]. Инкубационную смесь, состоящую из 0,7 мл 0,5% сахарозы, 0,3 мл ферментного препарата и 0,5 мл фосфатно-цитратного буфера, pH 5,8, выдерживали 15 мин при 50°.

За единицу удельной активности принимали такое количество фермента, которое катализировало превращение 1 мкмоль сахарозы при 50° за 1 мин на 1 мг белка.

Белок определяли по методу Лоури [9].

Результаты и обсуждение. Изучение зависимости активности фермента от температуры инкубирования показало, что максимальный гидролиз сахарозы происходит при 50°. При дальнейшем повышении температуры (до 70°) скорость реакции падает. Следует отметить, что эта температура не является благоприятной для инвертазы при относительно долгом ее выдерживании, поскольку фермент не является термостабильным и при длительной термообработке (2 ч) максимальную активность проявляет при 18°.

β -Фруктофуранозидаза *Pullularia* sp. весьма чувствительна также к изменению pH инкубационной среды. Наибольшая активность наблюдалась в достаточно узком интервале значений pH—5,4—6,8.

Изучение pH-стабильности фермента выявило одно из интересных свойств этого фермента. Являясь наиболее стабильной в кислой области (pH 3,0), он постепенно теряет активность с повышением pH до 8,0. При значениях pH, близких к оптимальным, изменение активности незначительно. Этот факт, по-видимому, можно объяснить, основываясь

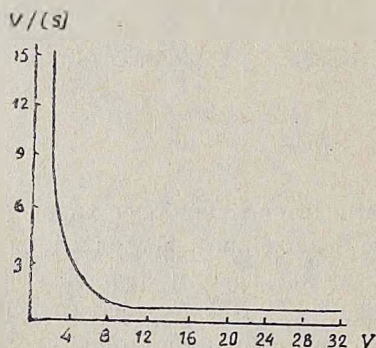


Рис. Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата (0,001—50%) в координатах Эди—Хофсти.

на исследованиях Жеребцова и Буковой [5], показавших, что в активный центр β -фруктофуранозидазы входят имидазольная и карбоксильная группы. Карбоксильная группа, более реакционноспособная по сравнению с имидазольной, в большей степени обуславливает причину стабильности фермента при кислых значениях pH. Изменение pH инкубационной среды в щелочную сторону и выдержка фермента в этих условиях в течение двух часов, возможно, вызывает деформацию кар-

боксильной группы, что в свою очередь приводит к понижению активности фермента.

Исследования показали, что при изменении концентрации инвертазы наблюдается прямолинейная зависимость скорости реакции от концентрации фермента.

Одновременно изучение зависимости активности фермента от концентрации субстрата показало, что она не подчиняется уравнению Михаэлиса-Ментен. Расчеты K_m в координатах Лайнуивера-Бэрка не соответствуют классическому изображению уравнения и не пересекают оси ординат в изученном интервале концентраций субстрата (0,001—50%). Указанные расчеты, объединенные на одном графике в системе Эди—Хофсти, также имеют необычный вид (рис.).

В литературе имеются данные, указывающие на возможность подобного отклонения от уравнения Михаэлиса-Ментен при наличии нескольких кинетически различающихся форм фермента в результате образования комплексов фермента с другими соединениями [2, 8, 11].

У нас есть основание предположить, что инвертаза из *Pullularia sp.* находится в связанном с полисахаридом состоянии, так как попытка отделить фермент от пуллулана различными способами (высаливание сульфатом аммония, осаждение этиловым спиртом и диоксидом, гель-электрофорез, очистка на целлюлозе ДЕ-52 и гель-фильтрация) не дали положительных результатов. Исходя из перечисленных фактов, мы склонны считать, что необычность характера зависимости скорости реакции от концентрации субстрата вызвана образованием комплекса β -фруктофуранозидазы с пуллуланом.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 5.VII 1982 г.

PULLULARIA SP. ՄԵԿԻ β -ՖՐՈՒԿՏՈՖՈՐԱՆՈԶԻԴԱԶԱԻ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ե. Ռ. ԱԼԵՔՍԱՆԻԱՆ, Լ. Ս. ՄԱՐԿՈՍՅԱՆ

Ուսումնասիրվել են *Pullularia sp.* սնկի β -ֆրուկտոֆորանոզիդազայի բիոքիմիական և ֆիզիկո-քիմիական հատկությունները: Ցույց է տրվել, որ նշված ֆերմենտը իր մի շարք առանձնահատկություններով տարբերվում է այլ միկրոօրգանիզմների նույնանման ֆերմենտից:

BIOCHEMICAL PROPERTIES OF β -FRUCTOFURANOSIDASE OF *PULLULARIA SP.*

E. R. ALEXANIAN, L. S. MARKOSSIAN

The biochemical properties of β -fructofuranosidase of *Pullularia sp.* (optimal temperature, pH, concentration of substrate and enzyme, pH and thermostability) are investigated. The high stability of enzyme under acid conditions has been observed. It was shown that invertase produced by *Pullularia sp.* differs: from related enzymes, isolated from different objects (partly from saturation of enzyme by substrate).

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абдуразаков С. Х., Саломов Х. Т. Прикл. биох. и микробиол., 11, 30, 1975.
2. Березин И. В., Антонов В. К., Мартинек К. Имобилизованные ферменты, 2, 25, 1976.
3. Добролинская Г. М., Серова Ю. З. Прикл. биох. и микробиол., 10, 717, 1974.
4. Жеребцов Н. А., Букова В. Б., Прикл. биох. и микробиол., 13, 289, 1977.
5. Жеребцов Н. А., Букова В. Б. Прикл. биох. и микробиол., 14, 217, 1978.
6. Юркевич В. В., Ковалева Н. С., Бакер Х. Х. Физиол. раст., 19, 937, 1972.
7. Bender H., Wallenfels K. Biochem. Z., 334, 79, 1961.
8. Lilly M. D., Sharp A. K. Chem. Eng., 215, CE 12, 1968.
9. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall L. J. J. Biol. Chem., 36 790, 1951.
10. Somogji M. J. Biol. Chem., 195, 19, 1952.
11. Weetall H. H., Havewala N. B. Enzyme Engeneering (Wingard L. B., ed.) Inter-sci. Publ., L—N. Y., 241, 1972.
12. Yamamoto R., Ooshima H., Harano Y. J. Chem. Tech. Biotechnol., 30, 579, 1980.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

УДК 577.15.591.8

ПУТИ ОБМЕНА АРГИНИНА У RHODOSPIRILLUM RUBRUM

Л. Г. АНАНЯН, Ф. Р. КАЗАРЯН, Дж. А. АГАДЖАНИЯН, Ю. Г. ПОПОВ

У *Rhodospirillum rubrum* обнаружены ферменты двух путей катаболизма аргинина: аргиназа и ферменты аргининдигидролазного пути (аргининдезиминаза и орнитинтранскарбамилаза). В присутствии L-аргинина наблюдается индукция аргиназы. Однако по сравнению с малатом прирост биомассы на L-аргине в качестве единственного источника углерода значительно ниже. Установлено наличие ферментов пути биосинтеза аргинина, характерных для цикла мочевинообразования. Активность уреазы повышается в присутствии аргинина и индуцируется мочевиной.

Ключевые слова: бактерии фотосинтезирующие, ферменты, аргинин.

Литературные данные, касающиеся обмена аминокислот у фототрофных бактерий, немногочисленны. Поэтому представлялось интересным изучение у них обмена аргинина, который играет многогранную роль в метаболизме клетки. Такие исследования интересны и с точки зрения эволюционной биохимии. Пути обмена аргинина прослежены у многих прокариотов—псевдомонад [27], клебсиелл и других энтеробактерий [16], клостридий [20], бацилл [10, 15, 18], молочнокислых бактерий [2, 3, 14], стафилококков [26], коринебактерий [17] и цианобактерий [29], однако фототрофные бактерии в этом отношении изучены недостаточно.

Возможность использования аргинина некоторыми пурпурными бактериями в качестве донора электронов и источника углерода [28],

наряду с обнаруженной нами аргиназной активностью ряда фототрофов [1], обусловили необходимость дальнейшего изучения ферментов обмена аргинина.

Материал и методика. Объектом исследований служил штамм *Rhodospirillum rubrum*, полученный из лаборатории фототрофных бактерий Института микробиологии АН АрмССР. Бактерии выращивались на среде Ормерода [22], в которой варьировалось содержание источников С и N. Малат и аргинин вносились в следующих количествах: малат—6 г/л; аргинин—6 или 3 г/л; смесь малата и аргинина—по 6 или 3 г/л каждого. Орнитин и мочевины вносились в среду как в отдельности, так и в смеси в количествах, соответствующих содержанию их остатков в 3 г/л аргинина, а именно орнитина солянокислого—2,9 г/л, а мочевины—1 г/л. Бактериальная культура выращивалась в анаэробных условиях на свету (1500 люкс) в течение 72 ч в колбах Эрленмейера на 500 мл. После инкубации биомасса отделялась центрифугированием при 5000 об/мин в течение 10 мин и дважды промывалась дистиллированной водой. Количество биомассы определялось нефелометрически на ФЭК-57 по стандартной кривой для сухого веса бактерий.

Об активности аргиназы (L-аргинин-амидиногидролаза, КФ 3.5.3.1) intactных клеток судили по образованию мочевины, которая определялась методом Арчибальда [13]. Колориметрирование проводилось на СФ-4 при $\lambda=478$ нм. Активность фермента выражалась в мкМ мочевины. Комбинация методов Кочетова [7] и Зеллинсона в модификации Силаковой и др. [9, 24] использовалась при определении активности уреазы (карбамид-амидогидролазы, КФ 3.5.1.5). Реакционная смесь, содержащая клеточную суспензию и мочевины (3%) в калий-фосфатном буфере (0,5 М, pH 7,0), выдерживалась в течение часа при 37° на качалке; затем реакция останавливалась 20%-ным ТХУ. Активность уреазы выражалась в мкМ азота аммиака, отщепившегося от мочевины.

Аргиназа бесклеточного экстракта определялась по методу Ратнер и Паппас [23] после разрушения клеток промытой биомассы в стеклянном гомогенизаторе Портера-Эльвейгейма с использованием Al_2O_3 . Инкубационная смесь содержала 1 мл ферментного препарата, L-аргинин (50 мкМ), $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (5 мкМ) и глициновый буфер (0,05 М, pH 9,4). Инкубация проводилась в аэробных условиях в течение 90 мин при 37°; реакция останавливалась 20%-ным ТХУ. Активность аргиназы выражалась в микромолях мочевины. Количество мочевины рассчитывалось по выделенному при ее распаде под действием уреазы аммиаку, определяемому модифицированным микродиффузионным методом [9, 24]. Удельная активность фермента выражалась в мкМ на мг белка. Белок рассчитывался по количеству общего азота гомогената, определяемого по микрометоду Кьельдаля [6].

Аргининдегидминаза (L-аргинин-иминогидролаза, КФ 3.5.3.6) определялась в калий-фосфатном буфере (0,2 М, pH 5,8—6,0) по методу Слейда [25] в присутствии L-аргинина (50 мкМ) и $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (20 мкМ). Инкубация реакционной смеси велась в течение 60 мин при 37°. Реакция останавливалась 20%-ным ТХУ. Активность фермента выражалась в мкМ азота аммиака и цитруллина, а на 100 мг биомассы—в мкМ аммиака. Цитруллин определялся по методу Арчибальда [13]. Колориметрирование проводилось на ФЭК-56 М при $\lambda=490$ нм. Показания экстинкции вычислялись по калибровочной кривой для цитруллина. Идентификация цитруллина и орнитина проводилась методом бумажной хроматографии [11].

Орнитинтранскарбамилаза (карбамилолфосфат: L-орнитин карбамилолтрансфераза, КФ 2.1.3.3) определялась путем арсенолиза цитруллина по методу Кребса с сотр. [18]. Инкубационная смесь, содержащая ферментный препарат, L-цитруллин (100 мкМ) и арсенат Na (500 мкМ), выдерживалась в аэробных условиях в водной среде (pH 7,1) в течение часа при 37°; реакция останавливалась 20%-ным ТХУ. Активность фермента выражалась в мкМ отщепившегося аммиака, определяемого вышеупомянутым микродиффузионным методом. Для одновременного определения активностей аргининосукцинат-синтетазы (L-цитруллин: аспартат лигаза (образующая АМФ), КФ 6.3.4.5) и аргининосукцииназы (L-аргининосукциинат аргинин-лиаза, КФ 4.3.2.1) использовался метод Ратнер и Паппас [23]. Инкубационная смесь содержала 1 мл ферментного пре-

парата, L-аспартат (20 мкМ), L-цитруллин (20 мкМ), АТФ (10 мкМ), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (5 мкМ), сукцинат (20 мкМ), аргиназу (1 мг) и уреазу (0,5 мг) в калий-фосфатном буфере (0,05 М, рН 7,4). Инкубация проводилась в аэробных условиях при 37° в течение 90 мин. Активность фермента выражалась в мкМ образовавшейся мочевины на 100 мг сухой биомассы.

Результаты и обсуждение. Предварительные эксперименты показали, что рост и аргиназная активность *Rh. rubrum* из испытанных сред—варианты среды Молиша, среда Ван-Нила и среда Ормерода—оказались наибольшими на последней [21]. Так, активность аргиназы интактных клеток *Rh. rubrum*, выращенных на среде Ормерода, составила в мкМ мочевины (100 мг сухой биомассы, $1,50 \pm 0,09 \text{ М} \pm m$, при $n=4$). Поэтому все ферментативные активности определялись у культу-

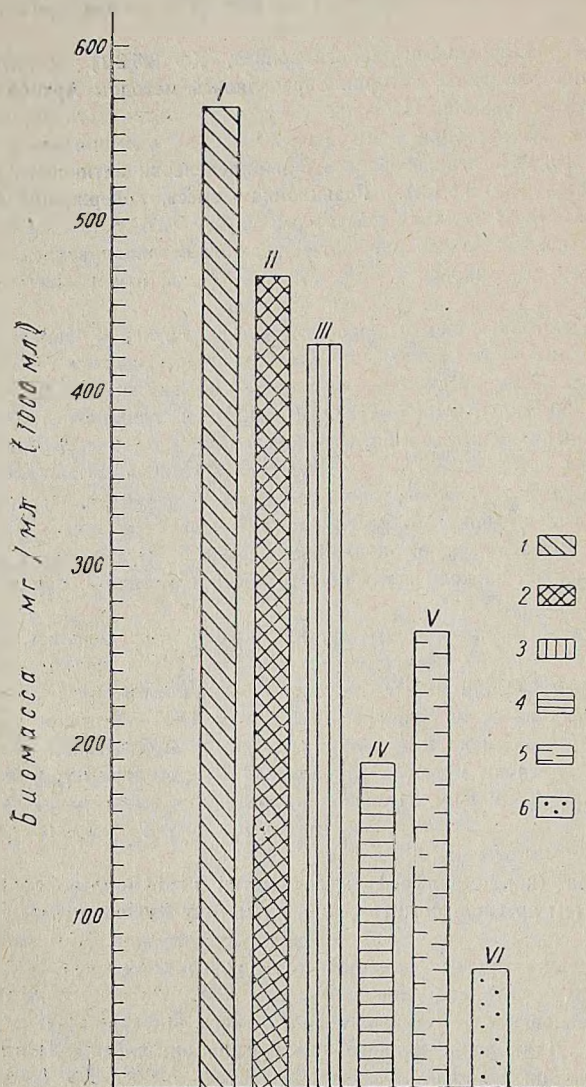


Рис. Влияние содержания источников углерода и азота в среде Ормерода на накопление биомассы *Rh. rubrum*: I—малат 6 г/л (контроль); II—малат+аргинин по 6 г/л; III—малат+аргинин по 3 г/л; IV—аргинин 6 г/л; V—аргинин 3 г/л; VI—L-орнитин 2,9 г/л+мочевина 1 г/л.

ры, выращенной на среде Ормерода, с различными комбинациями источников С и N. Как видно из рис., больше всего накапливается биомассы при использовании яблочной кислоты (6 г/л). Внесение в среду аргинина на фоне малата несколько снижало рост бактерий. Полная замена малата среды равным количеством аргинина подавляла рост в три раза. С уменьшением концентрации аргинина в среде вдвое—3 г/л рост бактерий увеличивался. Наименьший рост наблюдался при внесении в питательную среду в качестве источника углерода орнитина и мочевины в количествах, эквивалентных содержанию их остатков в 3 г/л аргинина. Полученные результаты объясняются, по-видимому, угнетающим действием на рост *Rh. rubrum* продуктов распада аргинина. Свидетельством тому служит низкий уровень роста на средах, содержащих смесь орнитина и мочевины или аргинина в повышенной концентрации—6 г/л.

Что касается аргиназной активности, то как видно из табл. 1, она возрастает в зависимости от концентрации аргинина в среде. Если в клетках, выращенных на среде только с малатом, активность фермента в 100 мг сухой биомассы составила 2,13 мкМ, то замена яблочной кислоты аргинином в качестве единственного источника углерода приводит к возрастанию активности более чем в три раза в варианте с 3 г/л аргинина и почти в 13 раз в варианте с 6 г/л аргинина. Однако при совместном внесении в среду как малата, так и аргинина активность аргиназы увеличивается в меньшей степени, что, возможно, объясняется механизмом катаболической репрессии. Тем не менее добавление аргинина в среду в качестве второго источника углерода увеличивало активность аргиназы в 1,5—3 раза.

Таблица 1

Активность аргиназы в бесклеточных экстрактах *Rh. rubrum* (n=4)

Источники углерода	Общая активность, мкМ мочевины, $M \pm m$	Активность, мкМ мочевины/100 мг сухой биомассы, $M \pm m$	Удельная активность, мкМ мочевины/мг белка
I. Малат, 6 г/л	5,23 $\pm$ 1,04	2,13 $\pm$ 0,88	0,052
II. Малат + L-аргинин по 6 г/л	16,36 $\pm$ 2,02	3,46 $\pm$ 0,42	0,145
III. Малат + L-аргинин по 3 г/л	27,1 $\pm$ 2,16	6,26 $\pm$ 0,64	0,384
IV. L-аргинин, 6 г/л	48,48 $\pm$ 0,73	25,79 $\pm$ 0,82	1,200
V. L-аргинин, 3 г/л	18,36 $\pm$ 1,29	6,99 $\pm$ 0,28	0,265

Полученные данные свидетельствуют о том, что аргиназа исследуемых бактерий, подобно аргиназе других прокариотических микроорганизмов [4, 21], индуцируется L-аргинином.

Помимо расщепления аргинина с помощью аргиназы, у микроорганизмов описаны другие, многочисленные и разнообразные пути деградации аргинина. К тому же известны бактерии с более чем одним путем его катаболизма. Так, например, в бациллах, молочнокислых бактериях и цианобактериях могут одновременно функционировать как аргиназный, так и аргининдигидролазный пути обмена [2, 15, 29]. На-

ми определялись также два фермента аргининдигидролазного пути у *Rh. rubrum*: аргининдезиминаза и орнитинтранскарбамилаза.

Таблица 2

Активность аргининдезиминазы в бесклеточных экстрактах *Rh. rubrum* (n=4)

Источники углерода в среде	Общая активность		На 100 мг сухой биомассы, мкМ аммиака, $\bar{M} \pm m$
	мкМ аммиака, $\bar{M} \pm m$	мкМ цитруллина, $\bar{M} \pm m$	
Малат, 6 г/л	1,27 $\pm$ 0,445	0,643 $\pm$ 0,082	0,395 $\pm$ 0,149
Малат, 6 г/л + L-аргинин, 6 г/л	18,63 $\pm$ 0,494	8,110 $\pm$ 1,711	12,740 $\pm$ 0,681

Как видно из табл. 2, на среде только с малатом обнаруживается слабая аргининдезиминая активность; при добавлении L-аргинина, однако, эта активность значительно возрастает—в 32 раза. Очевидно, что имеет место субстратная индукция аргининдезиминазы L-аргинином. Образование же аммиака и цитруллина, как это видно по таблице, в неэквимольных количествах косвенно указывает на присутствие в реакционной смеси орнитинтранскарбамилазы, под действием которой происходит частичный распад цитруллина на аммиак и орнитин. Образование орнитина было подтверждено методом бумажной хроматографии. Прямое доказательство присутствия катаболической орнитинтранскарбамилазы в бесклеточных экстрактах *Rh. rubrum* было получено с помощью метода арсенолиза цитруллина, продуктами которого являются орнитин, NH_3 и CO_2 . При этом обнаружена довольно заметная активность фермента: общая—6,38 $\pm$ 1,23 и на 100 мг сухой биомассы—2,11 $\pm$ 0,63.

С катаболизмом аргинина в аргиназном пути тесно связано расщепление мочевины под действием уреазы. Детальные исследования уреазы фототрофов проведены Малофеевой [8]. Нами изучалось также влияние на уреазную активность *Rh. rubrum* условий культивирования (табл. 3).

Как у Малофеевой, разложение мочевины в отсутствие кофакторов свидетельствует о наличии уреазы, а не амидо-лиазы. При этом добавление в среду на фоне малата мочевины или аргинина значительно индуцирует активность уреазы: в 17 раз на среде с добавлением аргинина (3 г/л); в 18 раз на среде с добавлением мочевины в количестве, соответствующем содержанию ее остатка в 3 г/л аргинина (1 г/л); и в 22 раза на среде с удвоенным по сравнению с предыдущим вариантом содержанием мочевины (2 г/л). Совпадение уровней индукции активности уреазы в вариантах с внесением в среду 3 г/л аргинина и 1 г/л мочевины предполагает опосредованный механизм индукции аргинином: добавление в среду аргинина индуцирует аргиназу, а образующаяся под воздействием аргиназы мочевина индуцирует уреазу. Труднее интерпретировать данные, полученные в вариантах с внесением в среду орнитина, как в отдельности, так и в смеси с мочевиной. Вместо ожидаемого совпадения, уровень активности фермента в V варианте оказался ниже, чем во II и III. Это говорит о сложном характере регули-

рования уреазы орнитинном. Тем не менее заметная индукция уреазы при внесении только орнитина позволяет предположить наличие ферментов, ведущих от орнитина к биосинтезу аргинина и таким образом — индукции уреазы. Проверка этого предположения привела к обнаружению в изучаемых бактериях аргининосукцинат-синтетазы и аргининосукциназы, общая активность которых составляла— $2,140 \pm 0,533$ и активность на 100 мг сухой биомассы— $0,665 \pm 0,166$. Этот факт, наряду с установленным Храмовым и Кондратьевой [12] образованием карбамоилфосфата и цитруллина некоторыми фототрофными бактериями, свидетельствует о возможности существования у *Rh. rubrum* пути биосинтеза аргинина, идентичного реакциям цикла Кребса-Гензеляйта.

Таблица 3

Активность уреазы в интактных клетках Rh. rubrum, мкМ мочевины

Акти: постъ	Малат 6 г/л	Малат 6 г/л + + L-аргинин 3 г/л	Малат 3 г/л + мо- чевина 1 г/л	Малат 6 г/л + мо- чевина 2 г/л	Малат 3 г/л + + L-орнитин 2,9 г/л + мочеви- на 1 г/л	Малат 3 г/л + + L-орнитин 2,9 г/л
Общая	0,69	8,71	7,68	7,15	7,03	2,94
100 мг сухой биомассы	0,21	3,48	3,82	4,62	2,55	2,04

Таким образом, у *Rh. rubrum* имеются, по крайней мере, два пути катаболизма аргинина—аргиназный и аргининдигидролазный, а также путь биосинтеза аргинина, характерный для цикла мочевинообразования. В последнем случае реакции с участием карбаматкиназы и орнитинтранскарбамилазы [12], аргининосукцинат-синтеказы и аргининосукциназы обеспечивают синтез аргинина. Но роль первых двух путей представляется менее ясной. Хорошо известная по литературе АТФ-продуцирующая функция аргининдигидролазного пути [2, 5, 14, 29], по-видимому, не имеет значения для *Rh. rubrum* на свету в условиях анаэробно-аэробно-анаэробного роста, поскольку рост в среде с малатом и сульфатом аммония даже лучше, чем при добавлении аргинина. Аргиназный же путь служит для снабжения клеток азотом. Окончательное выяснение этих вопросов требует дальнейшего изучения.

Ереванский государственный университет,
Кафедра физиологии и анатомии растений,
Проблемная лаборатория сравнительной и
эволюционной биохимии

Поступило 14.VII 1982 г.

ԱՐԳԻՆԻՆԻ ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՈՒՂԻՆԵՐԸ RHODOSPIRILLUM
RUBRUM-Ի ՄՈՏ:

Լ. Գ. ԱՆԱՆՅԱՆ, Ֆ. Ռ. ՂԱԶԱՐՅԱՆ, Զ. Ա. ԱՂԱԶԱՆՅԱՆ, ՅՈՒ. Գ. ՊՈՊՈՎ

Rh. rubrum մանրէների մոտ հայտնաբերված են արգինինի կատաբոլիզմի երկու ուղիների ֆերմենտները՝ արգինազան և արգինիդիզիդրոլազան ուղու ֆերմենտները (արգինինդեզիմինազա և օրնիտինտրանսկարբամի-

(լազա) L-արգինինի առկայությամբ դիտվում է արգինազայի ինդուկցիա: Սակայն մալատի հետ համեմատած L-արգինինի վրա որպես ածխածնի միակ աղբյուրի, կենսազանգվածի աճը նշանակալի ցածր է: Հաստատված է արգինինի բիոսինթեզի ուղու ֆերմենտների ներկայությունը, որը բնորոշ է միզանյութի առաջացման ցիկլին: Արգինինի առկայությամբ բարձրանում է ուրեազայի ակտիվությունը և նա ենթարկվում է ինդուկցիայի միզանյութով:

ROUTES OF ARGININE METABOLISM IN *RHODOSPIRILLUM RUBRUM*

L. G. ANANIAN, F. R. KAZARIAN, J. A. AGADJANIAN, Y. G. POPOV

Enzymes of two pathways of arginine catabolism were determined in *Rhodospirillum rubrum*: arginase and enzymes of arginindihydro-lase pathway (arginine-desiminase and ornithine-carbamoyl-transferase). In the presence of L-arginine the induction of arginase was observed, though in comparison with malate the yielding of this activity with L-arginine as the sole source of the carbon was considerably poor.

The presence of the enzymes of arginine synthesis was established which was characteristic of the urea cycle. The urease activity was raised in the presence of arginine and induced by the urea.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агаджанян Дж. А., Ананян Л. Г., Казарян Ф. Р., Попов Ю. Г. Тез. докл. III конф. Закавказских отделений ВМО АН СССР, Ереван, 1981.
2. Ананян Л. Г., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 27, 4, 23—28, 1974.
3. Ананян Л. Г., Асатрян М. О., Давтян М. А. Биолог. ж. Армении, 20, 10, 76—80, 1977.
4. Ананян Л. Г., Асатрян М. О., Даниелян С. Р. Биолог. ж. Армении, 33, 12, 13—21, 1980.
5. Готшалк Г. Метаболизм бактерий. М., 1982.
6. Добрынина В. И., Свешникова Е. Я. Руководство к практическим занятиям по биологической химии. М., 1967.
7. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии. М., 1971.
8. Малофеева И. В. Микробиология, 48, 3, 411—417, 1979.
9. Силакова А. И., Труш Г. П., Являкова А. Вopr. химии, 8, 5, 538, 1962.
10. Попов Ю. Г., Чубарян С. В. В сб.: Вопросы биологии, вып. 2, 68—71, 1981.
11. Хайс И. М., Мацек К. Хроматография на бумаге. М., 1962.
12. Храмов В. А., Кондратьева Е. Н. Микробиология, 50, 5, 932, 1981.
13. Archibald R. M. J. Biol. Chem., 156, 1, 12, 1944.
14. Bauehor T., Elsdon S. R. J. Gen. Microbiol., 23, 457—460, 1960.
15. Bromar K., Larvers N., Stalon V., Wiane J. M. J. Bacteriol., 135, 3, 920—927 1978.
16. Friedrich B., Magasank B. J. Bacteriol., 133, 2, 680—685, 1978.
17. Jamanaka K., Hara T., Gino M. J. Fermentation Technology, 54, 12, 838—849, 1976.
18. Krebs H. A., Eggleston L. V., Knivett V. A. Biochem. J., 59, 2, 185, 1955.
19. Laishley E. J., Bernlohr R. W. J. Bacteriol., 96, 322, 1968.
20. Mitruka B. M., Costilow R. N. J. Bacteriol., 93, 1, 295—301, 1967.
21. Nakamura N., Fujita M., Kimura K. Agr. Biol. Chem., 37, 12, 2827—2833, 1973.
22. Ormerod J. G., Ormerod S. K., Gest H. Arch. Biochem. and Biophys., 94, 449, 1961.
23. Ratner S., Pappas A. J. J. Biol. Chem., 179, 1199, 1949.
24. Selingson D., Selingson H. J. Lab. Clin. Med., 38, 3 24, 1951.

25. Slade H. D. Arch. Biochem. Biophys., 42, 1, 204, 1953.
26. Soru E., Zaharia O. Revue roumaine de biochimie, 13, 1, 49—60, 1976.
27. Stalon V., Pierard A., Wlame J. M. Biochim. Biophys. Acta. 139, 1, 91—97, 1967.
28. Trüper H. G., Pfennig N. In The photosynthetic bacteria. Ed. R. K. Clayton W. R. Sistrom., Plenum Publishing Corp., 1978.
29. Weathers P. J., Chee H. L., Allen M. M. Arch. Microbiol., 118, 1, 1—6, 1978.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

УДК 575.2.23.576.6

СИМБИОТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЛИПЛОИДНЫХ ФОРМ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ

Е. Н. АВБАКУМОВА, М. В. ОВСЕПЯН

Изучены эффективность и некоторые цитохимические особенности полиплоидных форм клубеньковых бактерий гороха и люцерны в связи со специфичностью симбиоза с растением-хозяином.

Ключевые слова: полиплоидные формы, клубеньковые бактерии, симбиоз.

Получение стабильных полиплоидных форм бактерий связано с многими трудностями. Для закрепления свойств полиплоидии необходима мутация [10, 11].

В работах Имшенецкого и Кондратьевой [3, 5] есть указания на более частое возникновение мутаций у полиплоидных форм микроорганизмов по сравнению с гаплоидными.

Выделенные нами полиплоидные формы клубеньковых бактерий гороха и люцерны по многим признакам отличаются от исходных штаммов, что указывает на возможность возникновения мутаций и изменений симбиотических свойств. Об изменении специфичности клубеньковых бактерий в связи с мутациями имеются сообщения и в литературе [4, 12].

Целью настоящей работы было изучение симбиотических взаимоотношений полиплоидных форм клубеньковых бактерий гороха и люцерны с растением-хозяином.

Материал и методика. Для изучения симбиотических свойств клубеньковых бактерий использовались исходные и полиплоидные штаммы Rh. leguminosarum 5609—исходный, 5616—5621—полиплоидные, Rh. meliloti 5502—исходный и 5520, 5521—полиплоидные. В качестве растений-хозяев—горох (сортов Победитель, Виктория Мандорфская, Фёльгенгейн, местный) и люцерна (местная).

Вирулентность и эффективность полиплоидных штаммов изучались в стерильных вегетационных опытах. Растения гороха и люцерны выращивались в вегетационных сосудах, в песчаной культуре. В песок вносилась питательная смесь по Гельригелю с уменьшенным количеством азота. Семена перед посевом стерилизовались концентрированной серной кислотой, затем промывались стерильной водой и при посеве инокулировались соответствующими штаммами клубеньковых бактерий. Эффективность штаммов определялась по сухому весу инокулированных растений.

Для изучения цитохимических особенностей клубеньковых бактерий готовились препараты-отпечатки клубеньков, которые фиксировались и окрашивались: для выявления клеточной стенки и общей морфологии—по Гутштейну, гликоген—йодным раствором Люголя [6], поли-β-оксимасляная кислота (ПОМ)—суданом черным после предварительной экстракции липидов горячим ацетоном, пероксидаза—бензидиновым методом [7]. Препараты просматривались под световым микроскопом. Подсчитывалось количество клеток в популяции, имеющих положительную реакцию. Учитывалось от 500 до 1000 клеток.

Результаты и обсуждение. Полиплоидия у крупноклеточных мутантов клубеньковых бактерий была установлена по увеличенным размерам клеток и нуклеоидов, количеству ДНК и белка на клетку и другим косвенным признакам [2].

Среди полиплоидных форм удалось выявить штаммы *Rh. leguminosarum*, образовавшие клубеньки на чужом растении-хозяине—люцерне, и штаммы *Rh. meliloti*, образовавшие клубеньки на горохе. Из 10-ти изученных полиплоидных штаммов *Rh. leguminosarum* 8 культур образовали клубеньки на горохе и люцерне, 2—только на горохе. Из 14-ти полиплоидов *Rh. meliloti* 6 образовали клубеньки только на люцерне, 8—на люцерне и горохе. Таким образом, отдельные полиплоидные штаммы изменили или расширили свою видовую специфичность.

Изучение специфичности полиплоидных штаммов в вегетационных опытах позволило найти различия между ними не только по вирулентности, но и по эффективности (табл. 1).

Таблица 1

Влияние полиплоидных форм клубеньковых бактерий на урожай гороха и люцерны (вегетационный опыт)

Штаммы	ДНК, мкг/млрд клеток	Образование клубеньков на растении-хозяине	Сухой вес растений, %				
			горох (сорта)				люцерна
			Победитель	местный	Виктория Мандорфская	Фельгенгейн	средний за 5 лет
Контроль (без заражения)	—	—	100	100	100	100	100
<i>Rh. leguminosarum</i>							
5609 — исходный	3,6	горох	95,5	121,4	99,3	138,4	82,3
5616 — полиплоидный	6,5	горох	132,8	—	—	157,6	—
5617 — полиплоидный	8,5	горох, люцерна	125,4	124,1	108,14	137,2	130,9
5618 — полиплоидный	7,4	горох, люцерна	160,6	118,9	99,04	137,6	121,9
5619 — полиплоидный	15,9	горох, люцерна	114,3	133,3	117,4	—	118,6
5621 — полиплоидный	5,0	горох	99,5	—	—	—	101,1
<i>Rh. meliloti</i>							
5502 — исходный	2,6	люцерна	—	—	—	75,0	123,1
5520 — полиплоидный	11,4	люцерна	—	—	—	—	125,7
5521 — полиплоидный	15,0	люцерна, горох	—	—	—	119,0	89,2

Некоторые полиплоидные культуры *Rh. leguminosarum* оказались более эффективными по сравнению с исходным штаммом на своем хозяине—горохе и на новом—люцерне. Эти штаммы повысили вес инокулированных растений на 10—40%.

Все гороховые штаммы, исходный и полиплоидные, проявили сортовую специфичность по отношению к гороху. Повысив урожай одного сорта гороха, они слабо влияли на урожай другого сорта. Штамм 5609—исходный оказался эффективным для сортов местного и Фельгейна, повысив вес растений на 21 и 38%. Полиплоиды несколько изменили и расширили сортовую специфичность, положительно воздействуя на большее количество сортов. Так, штамм 5617 был эффективным для всех изученных сортов, штамм 5618—для 3 из 4-х сортов. Полиплоид 5621 испытывался на одном сорте гороха и оказался для него неэффективным.

Отдельные полиплоидные штаммы *Rh. leguminosarum* образовали клубеньки и на люцерне, увеличив ее урожай на 18—30%. Пятилетние опыты показали, что полиплоидный штамм клубеньковых бактерий гороха—5618—был более эффективным на люцерне, чем активный люцерновый штамм 5502. Положительный, эффективный симбиоз с новым растением-хозяином люцерной был отмечен и для гороховых штаммов 5618 и 5619.

Полиплоидные формы *Rh. meliloti* (табл. 1) также изменили специфичность к растению-хозяину и образовали клубеньки на горохе—новом хозяине. Штамм 5521, кроме того, еще и повысил вес растений по сравнению с контролем и с исходным штаммом 5502. В симбиозе со своим хозяином—люцерной этот штамм не был эффективным, хотя и образовал клубеньки. Другой полиплоидный штамм *Rh. meliloti*—5520, наоборот, был эффективным в симбиозе с люцерной, повысив вес растений почти на 26%, а на горохе клубеньков не образовал.

Изучение цитологических и цитохимических особенностей клубеньковых бактерий, исходных и полиплоидных форм в клубеньках растений-хозяев позволило найти некоторые различия в их морфологии и метаболизме. Штаммы клубеньковых бактерий гороха и люцерны в клубеньках специфичных для них растений, т. е. при эффективном симбиозе, образовали больше бактериоидных клеток, чем в клубеньках неспецифичных растений. Так, полиплоидные штаммы *Rh. leguminosarum*, изменившие свою специфичность, образовали бактериоидные формы в клубеньках нового для них хозяина—люцерны и не образовали их в клубеньках гороха, если симбиоз был неэффективным. Причем форма бактериоидов в клубеньках люцерны была характерной для люцерновых культур.

То же относится и к полиплоидным штаммам *Rh. meliloti* с измененной специфичностью. Этот признак (количество бактериоидов), коррелирующий с эффективностью симбиоза, характеризует специфичность взаимоотношений клубеньковых бактерий с растением-хозяином.

При определении количества бактерий в клубеньках, содержащих гликоген, поли- β -оксисмляную кислоту (ПОМ) и пероксидазу при специфичном (эффективном) и неспецифичном симбиозах, были найдены различия между ними (табл. 2). Количество гликогена и ПОМ в клетках бактерий клубеньков находится в обратной зависимости от эффективности, а следовательно, и специфичности симбиоза.

Штаммы 5618 и 5616, давшие наибольшую прибавку урожая гороха в период бутонизации, почти или совсем не содержали клеток с гликогеном. Штамм 5609—исходный и 5621—неактивный имели соответственно 63 и 81% клеток, содержащих гликоген. Не было найдено в клетках эффективных штаммов 5617, 5618 и поли-β-оксимасляной кислоты.

Таблица 2

Цитологические особенности полиплоидных форм клубеньковых бактерий в клубеньках гороха и люцерны*

Штаммы	Урожай, %	Горох			Урожай, %	Люцерна		
		Клетки с положительной реакцией, %				Клетки с положительной реакцией, %		
		гликоген	ПОМ	пероксидаза		гликоген	ПОМ	пероксидаза
Rh. leguminosarum								
560 — исходный	95,5	63,1	17,0	8,9	75,0	клубеньки не образовал		
5616 — полиплоидный	132,8	0	—	62,3	—	—	—	—
5617 — полиплоидный	125,4	5,7	0	59,7	125,2	14,3	0	4,6
5618 — полиплоидный	160,6	2,1	0	71,1	121,9	2,1	4,3	5,6
5621 — полиплоидный	99,05	81,1	—	23,1	100,0	клубеньки не образовал		
Rh. meliloti								
5502 — исходный	75,7	клубеньки не образовал			114,0	2,1	0	2,8
5520 — полиплоидный	—	—	—	—	125,6	1,8	0	16,6
5521 — полиплоидный	120,2	11,0	43,0	64,4	80,8	64,4	15,2	7,8

* 0—отсутствие клеток с положительной реакцией, —исследования не проводились.

Штаммы клубеньковых бактерий гороха, ставшие специфичными для люцерны, также имели небольшое количество клеток, содержащих гликоген и ПОМ (5617 и 5618) в клубеньках люцерны.

У люцернового полиплоидного штамма 5521 в симбиозе с новым хозяином—горохом гликогена было меньше (11%), чем в симбиозе с люцерной (64%). В отношении поли-β-оксимасляной кислоты такой закономерности для штамма 5521 не найдено. Возможно, этот штамм является малоэффективным для гороха и неэффективным для люцерны. Наличие или отсутствие гликогена и ПОМ в клетках бактерий клубеньков указывает на изменение эффективности, а следовательно, и специфичности у полиплоидных форм клубеньковых бактерий гороха и люцерны.

В фазы предбутонизации и бутонизации растений наибольшее количество зон пероксидазной активности наблюдается у полиплоидных штаммов. Среди полиплоидных культур клеток с пероксидазной активностью у эффективных штаммов больше, чем у неэффективных. Полиплоидные штаммы в симбиозе с горохом обладали большей пероксидазной активностью, чем в симбиозе с люцерной.

Подобная разница, возможно, зависит от продолжительности вегетационного периода этих культур и от степени азотфиксирующей активности, которая у многолетних растений бывает наивысшей на второй год жизни.

Таким образом, некоторые полиплоидные формы клубеньковых бактерий с изменением плоидности изменили свою специфичность к ра-

стению-хозяину, на что указывают и признаки, связанные с эффективностью симбиоза (наличие в клетках бактерий клубеньков гликогена, поли- β -оксимасляной кислоты, пероксидазы). О связи между количеством гликогена и поли- β -оксимасляной кислоты в клетках бактерий с эффективностью симбиоза сообщается и в литературе [1, 8, 9].

В результате исследований можно предположить, что наряду с изменением плоидности у клубеньковых бактерий произошли и некоторые мутации, изменившие их симбиотические особенности и закрепившие свойства полиплоидии.

Получение полиплоидных форм с измененной специфичностью дает возможность изучать вопросы симбиотических взаимоотношений клубеньковых бактерий с растением—хозяином, а также использовать признак полиплоидии для отбора эффективных штаммов для производства.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 16.IV 1982 г.

ՈՒՈՒԻ ԵՎ ԱՌՎՈՒՅՏԻ ՊԱՆԱՐԱՔԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՊՈԼԻՊԼՈԻԴ ԶԵՎԵՐԻ ՍԻՄԲԻՈՏԻԿ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ե. Ն. ԱՎԱԿՈՒՄՈՎԱ, Մ. Վ. ՆՈՎՍԵՓՅԱՆ

Ուսումնասիրված է ուրոի և առվույտի պալարաբակտերիաների պո-
լիպլոիդ ձևերի էֆեկտիվությունը և մի քանի ցիտոքիմիական առանձնահատ-
կություններ տեր բույսի նկատմամբ՝ կապված սիմբիոզի սպեցիֆիկության
փոփոխության հետ:

SYMBIOTIC PROPERTIES OF POLYPLOID FORMS OF ROOT NODULE BACTERIA *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* AND *RHIZOBIUM MELILOTI*

E. N. AVVAKUMOVA, M. V. OVSEPIAN

The effectivity and some cytochemical properties of polyploid forms of root nodule bacteria *Rh. leguminosarum* and *Rh. meliloti* are investigated in connection with the change of specificity of symbiosis with host plant.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аввакумова Е. Н., Шамцян М. Г., Пилосян В. С., Овсепян М. В. Вопросы микробиологии, 6, 62—72, Ереван, 1973.
2. Аввакумова Е. Н., Овсепян М. В., Степанян Т. У. Докл. АН СССР, 225, 4, 974—977, 1975.
3. Имшенецкий А. А., Кондратьева Т. Ф. Микробиология, 41, 3, 494—499, 1972.
4. Имшенецкий А. А., Парийская А. Н. Микробиология, 42, 2, 280—300, 1973.
5. Кондратьева Т. Ф. Успехи микробиологии, 12, 102—111, 1977.
6. Пешков М. А. Цитология бактерий, М., 1955.
7. Пирс Э. Гистохимия, М., 1962.
8. Романов В. И., Федюлова Н. Г., Цирмко В. И., Молчанов М. А., Кретович В. Л. Физиол. растений, 25, 4, 726—730, 1978.
9. Черменская И. Е., Петрова А. Н., Кретович В. Л. Докл. АН СССР, 215, 2, 481—483, 1974.
10. Kvetkas M. Y., Zelle M. R. Microbiol. Gen Bull., 27, 7, 1967.
11. Kvetkas M. Y., Krisch R. E., Zelle M. R. J. Bacteriol., 103, 399, 1970.
12. Schwinghamer E. A. Amer. J. Bot., 49, 269—277, 1962.

УДК 575.2.23.576.2.344

ЦИТОХИМИЯ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТНОЙ И ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ У ПОЛИПЛОИДНЫХ ФОРМ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ

М. В. ОВСЕПЯН, С. А. АРУТЮНЯН

Изучена АТФазная и пероксидазная активность у полиплоидных форм клубеньковых бактерий гороха и люцерны в связи с плоидностью и специфичностью штаммов.

Выявлены различия по содержанию ферментов между полиплоидными и исходными штаммами.

Ключевые слова: пероксидаза, АТФаза, полиплоидные формы клубеньковых бактерий.

Известно, что источником энергии для азотфиксации служит АТФ, синтез которого связан с процессом окисления субстратов и дыхания. Одним из ферментов, участвующих в окислительных реакциях и дыхании, является пероксидаза. У бактерий, особенно клубеньковых, пероксидаза изучена довольно слабо. Имеется сообщение о пероксидазной и цитохромпероксидазной активности у бактериоидов люпина и арахиса [7, 9]. С другой стороны, освобождение энергии АТФ для азотфиксации катализируется ферментом АТФазой, активность которой коррелирует с активностью азотфиксаций [5, 6, 8]; поэтому изучение ферментов, участвующих в процессе азотфиксации, у полиплоидных форм клубеньковых бактерий с измененной специфичностью было бы полезным для выяснения вопросов специфичности штаммов. Как известно, полиплоидные формы микроорганизмов обладают повышенной активностью ряда ферментов (дегидрогеназы, каталаза) по сравнению с гаплоидными штаммами [2, 3, 10].

Целью настоящей работы являлось изучение пероксидазной и АТФазной активности у полиплоидных форм клубеньковых бактерий гороха и люцерны с измененной и неизмененной специфичностью.

Материал и методика. Объектами для исследований служили исходные и полиплоидные штаммы клубеньковых бактерий *Rh. leguminosarum*—5609 (исходный), 5616—5621 (полиплоидные), *Rh. meliloti*—5502 (исходный), 5520, 5521 (полиплоидные), выращенные на бобовом агаре в течение 1, 3, 6, и 24-х сут.

АТФазная и пероксидазная активность определялась цитохимическими методами. С этой целью готовились препараты—мазки, которые фиксировались соответствующим способом: для определения АТФазы—в формалине (30 мин) с последующей промывкой в проточной воде, для определения пероксидазы—в 10%-ном спирт—формалине (2 мин), также с промывкой в проточной воде. АТФазную активность определяли по свинцовому методу Бахштейна и Мейзеля [4]. В качестве субстрата использовалась двунариевая соль АТФ. Пероксидазная активность изучалась бензидиновым методом. Субстратом служила перекись водорода. Контрольные варианты на АТФазу и пероксидазу инкубировали в среде без субстратов [4]. Перед просмотром препараты докрашивались раствором лихтриона или метиленовым синим. Окрашенные препара-

ты просматривались под световым микроскопом NU-Zeiss при $\times 1000$. Активность фермента определяли путем подсчета клеток в популяции, обнаруживающих зоны ферментативной активности.

Подсчитывалось от 500 до 1000 клеток в 10—15-ти полях зрения. Для проверки пloidности изучаемых штаммов определялись размеры клеток и количество ДНК на клетку по методу Дише в модификации Де Ляматера [1]. Размеры клеток определяли путем измерения на фотографиях, сделанных в одном увеличении. Объем рассчитывался по формуле для эллипсоида вращения.

Результаты и обсуждение. В клетках клубеньковых бактерий гороха и люцерны были выявлены наличие и локализация зон ферментативной активности.

Зоны пероксидазной активности в клетках обнаруживались в цитоплазматической мембране и внутри клеток в виде мелких гранул, окрашенных от синего до бурого цвета. Пероксидаза найдена не во всех клетках популяции. Количество клеток с зонами пероксидазной активности колебалось от 1,5 до 79% в зависимости от возраста культуры и от штаммовых особенностей (табл. 1). У всех штаммов клубеньковых бактерий, как гороха, так и люцерны, пероксидазная активность в одностуточных культурах выше, чем в трех- и шестистуточных. Таким образом, очевидно, что с увеличением возраста культуры активность пероксидазы снижается.

Таблица 1

Пероксидазная активность у полиплоидных форм клубеньковых бактерий

Штаммы	Показатели пloidности		Клетки в популяции с пероксидазной активностью, %		
	объем клетки, мкм ³	ДНК, мкг/млрд клеток	1 сут	3 сут	6 сут
<i>Rhizobium leguminosarum</i>					
5609 — исходный	0,23—0,68	3,6	46,0	31,5	1,5
5617 — полиплоидный	0,29—1,29	8,5	59,0	38,0	5,0
5619 — полиплоидный	0,47—1,71	15,9	76,3	60,0	8,0
5618 — полиплоидный	0,36—1,03	7,4	77,0	48,5	6,0
5620 — полиплоидный	0,39—2,18	9,2	73,2	40,0	4,5
5621 — полиплоидный	0,22—0,93	5,1	79,0	25,5	3,0
<i>Rhizobium meliloti</i>					
5502 — исходный	0,1—0,51	2,4	59,5	8,5	7,2
5520 — полиплоидный	0,29—0,84	3,5	66,0	20,1	7,2
5521 — полиплоидный	0,21—0,04	7,9	55,3	18,2	12,3

При сравнении штаммов в одностуточном возрасте клеток с зонами пероксидазной активности у полиплоидных штаммов люцерны и гороха наблюдается больше, чем у исходных. Если у исходного штамма 5609 клеток с пероксидазной активностью—46%, то у полиплоидных—59—79%. У штаммов *Rh. meliloti* исключение составляет штамм 5521, по содержанию пероксидазы близкий к исходному штамму 5502, что можно объяснить замедленным ростом этого штамма. В трех- и шестистуточных культурах активность фермента ниже, но наблюдаемая закономерность сохраняется, т. е. все полиплоидные штаммы *Rh. leguminosarum* по сравнению с исходным обладают более высокой пероксидаз-

ной активностью. На 6-е сутки пероксидазная активность у полиплоидных штаммов в 2—4 раза выше, чем у исходного. Исключение в этом случае составляет гороховый штамм 5621, который в 3-суточной культуре имеет меньшую пероксидазную активность по сравнению с исходным. Подобная же закономерность наблюдается у штаммов *Rh. meliloti*.

У клубеньковых бактерий в чистой культуре отмечается некоторая зависимость между пероксидазной активностью и пloidностью штаммов; чем больше ДНК на клетку, чем крупнее клетки, тем выше пероксидазная активность. Особенно четко заметна эта корреляция на 6-е сутки роста, когда у полиплоидных штаммов пероксидазная активность сохраняется в большей степени, чем у исходных. Как видно из данных табл. 1, штаммы клубеньковых бактерий гороха содержат больше клеток, обладающих пероксидазной активностью, чем люцерновые штаммы в трехсуточном возрасте. Это, возможно, связано с размерами клеток, которые у *Rh. leguminosarum* больше, чем у *Rh. meliloti*. При сравнении специфичности штаммов к растению-хозяину (табл. 2) и содержания клеток с пероксидазной активностью (табл. 1) не найдено зависимости между этими признаками.

Цитохимические исследования АТФазы показали, что зоны активности этого фермента в клетках бактерий проявляются по полюсам клеток или вдоль клеточной оболочки.

Аденозинтрифосфатазная активность так же, как и пероксидазная, обнаруживалась не во всех клетках популяции. Результаты определения количества зон АТФазной активности представлены в табл. 2. Ко-

Таблица 2

Аденозинтрифосфатазная активность у полиплоидных форм клубеньковых бактерий

Штаммы	Показатели пloidности		Специфичность к растению-хозяину	Клетки в популяции с АТФазной активностью, %		
	объем клеток, мкм ³	ДНК, мкг/млрд клеток		1 сут	4 сут	24 сут
Rhizobium leguminosarum						
5609 — исходный	0,23—0,68	3,6	горох	89,3	27,0	20,3
5616 — полиплоидный	0,61—1,79	6,5	горох	94,0	45,0	25,3
5617 — полиплоидный	0,29—1,29	8,5	горох, люцерна	93,4	43,0	25,4
5619 — полиплоидный	0,47—1,71	15,9	горох, люцерна	92,1	61,6	29,0
5618 — полиплоидный	0,36—1,03	7,4	горох, люцерна	96,8	71,4	25,4
5620 — полиплоидный	0,39—2,18	9,2	горох, люцерна	96,0	50,0	33,3
5621 — полиплоидный	0,22—0,93	5,1	горох	96,4	60,5	27,1
Rhizobium meliloti						
5502 — исходный	0,1 —0,51	2,4	люцерна	72,0	38,3	18,2
5520 — полиплоидный	0,29—0,84	3,5	люцерна	94,3	59,0	15,0
5521 — полиплоидный	0,21—1,04	7,9	люцерна, горох	83,1	39,0	32,5

личество клеток с АТФазной активностью находится в зависимости от возраста культур: чем моложе культура, тем выше АТФазная активность. Почти у всех полиплоидных штаммов она несколько выше, чем у

исходных, и эта разница увеличивается по мере старения культур. Наиболее четки различия между полиплоидными и исходными штаммами в 4-суточной культуре, где АТФазная активность исходного штамма 5609 составляет 27%, а у полиплоидных культур—43—71,4%. У *Rh. meliloti* АТФазная активность исходного штамма 5502 равна 38,3%, а полиплоидов этого штамма—39—59%. При определении АТФазы было замечено, что количество ферментсодержащих клеток не связано со специфичностью штаммов; у полиплоидных штаммов с измененной специфичностью активность АТФазы почти такая же, как у штаммов с неизменной специфичностью.

Замечена связь между АТФазной активностью и плоидностью штаммов, которая характеризуется количеством ДНК на клетку. Штаммы, содержащие большее количество ДНК, т. е. большей плоидности, имели и большее количество клеток с АТФазой 5619. Очевидно, увеличение размера клеток у полиплоидных штаммов ведет к увеличению зон ферментативной активности.

Исследования выявили общие закономерности по наличию пероксидазы и АТФазы у культур *Rh. leguminosarum* и *Rh. meliloti*.

Наибольшее количество клеток с зонами ферментативной активности выявлено в молодых культурах; по мере их старения активность эта снижается.

Пероксидаза и АТФаза у полиплоидных форм клубеньковых бактерий по сравнению с исходными во все сроки культивирования отличаются большей активностью.

Не найдена корреляция между активностью пероксидазы и АТФазы у клубеньковых бактерий гороха и люцерны в чистой культуре и специфичностью штаммов к растению-хозяину. Различия, очевидно, можно наблюдать только в симбиотических условиях.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 16.IV 1982 г.

ԱՐԵՆՈՉԻՆԵՌՖՈՍՖՈՐՍՏԱՆՈՒՄԻՆ ԵՎ ԳԵՐՕՔՍԻԴԱՆՈՒՄԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ
ՑԻՏՈՔՐՄԻՆԱՆ ՊԱՆՈՒՐԱԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՊՈԼԻՊԼՈԻԴ ՁԵՎԵՐԻ ՄՈՏ
Մ. Վ. ՀՈՎՍԵՓՅԱՆ, Ս. Հ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

Ուսումնասիրված է առվույտի և ոլոռի պալարաբակտերիաների պոլիպլոիդ ձևերի ԱԵՖ-ազային և գերօքսիդազային ակտիվությունը՝ կապված պոլիպլոիդ հատկության և սպեցիֆիկության հետ:

Ելային և պոլիպլոիդ ձևերի միջև բացահայտված են որոշակի տարբերություններ:

THE CYTOCHEMISTRY OF ATP-ase AND PEROXIDASE ACTIVITY OF POLYPLOID FORMS OF NODULE BACTERIA

M. V. OVSEPIAN, S. H. HARUTIUNIAN

The ATP-ase and peroxidase activity of polyploid forms of nodule bacteria of peas and alfalfa has been studied in connection with specificity of strains.

The presence of enzymes correlates with polyploid strains.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Де Ляматер Е. Р. Сб.: Анатомия бактерий, 237—288, М., 1960.
2. Имшенецкий А. А., Кондратеева Т. Ф. Микробиология, 37, 5, 784—787, 1968.
3. Имшенецкий А. А., Жильцова Г. К. Микробиология, 41, 5, 770—772, 1972.
4. Лилли Р. Д. Патологическая техника и практическая гистохимия, М., 1969.
5. Лисова Н. Е., Манорик А. В., Плахотник Л. В. Физиол. и биохим. культуры растений, 4, 2, 123—126, 1972.
6. Манорик А. В., Кругова О. Д., Лисова Н. Е. Докл. АН УССР, Б, 9, 848—851, 1973.
7. Райхинштейн М. В., Мелик-Саркисян С. С., Кретович В. Л. Микробиология, 45, 2, 210—218, 1976.
8. Сергеева Н. В., Брунь Г. А., Дроздова И. В. Бул. Акад. Молд. ССР, сер. биол. и хим., 5, 54—57, 1971.
9. Aufeuvre Marie—Anna. Lr. Akad. Sci. D., 277, 11, 921—924, 1973.
10. Laskowski W., Lochmann E., Wacker A., Stein W. Naturforsch., 15, 6, 11, 730, 1950.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

УДК 631.577.16

МИКРОФЛОРА ОРОШАЕМЫХ ЛУГОВО-БУРЫХ ПОЧВ АРАРАТСКОЙ РАВНИНЫ

Л. А. ХАЧИКЯН

Приведена микробиологическая характеристика интенсивно используемых орошаемых лугово-бурых почв Араратской равнины. Установлена определенная зависимость между составом почвенной микрофлоры и гумусового горизонта.

Ключевые слова: микрофлора, почва.

Орошаемые лугово-бурые почвы Араратской равнины сгруппированы в три подтипа: орошаемые влажно-лугово-бурые, остаточнo-лугово-бурые, лугово-бурые [6]. Реакция этих почв в основном слабощелочная (рН 8,0—8,5).

Многовековая земледельческая культура и искусственное орошение почвы, особенно возделывание многолетних трав, способствовали накоплению достаточного количества органических веществ (1,4—3,5%). Наиболее богаты ими влажно-лугово-бурые почвы, в которых гумус в значительных количествах обнаруживается и в глубоких горизонтах почвы. Эти почвы в основном карбонатные.

Орошаемые лугово-бурые почвы имеют сравнительно невысокую биологическую активность. Они обладают высокой активностью полифенолоксидаз и интенсивностью продуцирования СО₂. Активность гидролитических ферментов в них не очень высокая [2].

Микрофлора орошаемых лугово-бурых почв Араратской равнины систематически не изучалась, имеются лишь отдельные работы относительно распространения некоторых групп бактерий [1, 4, 5], поэтому

возникла необходимость более глубокого исследования микробиологической активности почв, интенсивно используемых под сельскохозяйственные культуры.

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

Материал и методика. Исследования проводились на основных почвенных разрезах отдела генезиса и географии почв, интенсивно используемых орошаемых, влажно-луговых бурых, лугово-бурых почвах Араратской равнины, занятых под овощные культуры, вишневые сады и абрикосовые сады в Эчмиадзинском, Октемберянском, Масиском, Арташатском районах.

В основу микробиологических исследований положен метод почвенных разведений с высевом на плотные и жидкие питательные среды. Посевы проводились из развоек свежих почвенных образцов глубинным способом. Учитывались следующие группы микроорганизмов: бактерии на крахмал-аммиачном и мясо-пептонном агаре, актиномицеты на крахмал-аммиачном агаре, грибы на сусло-агаре с молочной кислотой, азотобактер на агаре Эшби, споровые бактерии на мясо-пептонном агаре и сусло-агаре по Мишустину, нитрификаторы на жидкой среде Виноградского с мелом, целлюлозообразующие аэробные микроорганизмы на видоизмененном агаре Гетчинсона. Идентификацию выделенных и изученных нами культур проводили с помощью известных определителей бактерий, грибов и актиномицетов [3, 7].

Результаты и обсуждение. Микробиологические исследования показали, что орошаемые лугово-бурые почвы, развиваясь в условиях полупустынного климата, грунтового увлажнения и векового орошения, приобрели своеобразные биологические свойства. Многовековое воздействие человека привело к коренным изменениям микробиологических процессов, протекающих в почве.

Этим почвам свойственны определенные бактериальные и грибные группировки. Во всех микробных сообществах в изученных почвах преобладают бактерии, актиномицеты и грибы.

Сводные данные таблицы показывают, что питательный режим, содержание органических веществ и другие особенности этих почв в значительной степени определяют состав почвенной микрофлоры. Мощность гумусового горизонта и постепенное уменьшение содержания перегноя с глубиной четко отражают микробиологический профиль орошаемых лугово-бурых почв. Основным фактором, определяющим интенсивность микробиологических процессов, является вековое орошение.

Активность микроорганизмов обнаруживается до глубины двухметрового слоя и ниже в зависимости от равномерности распределения гумуса по профилю, что является результатом длительного воздействия корневых систем возделываемых сельскохозяйственных культур и орошения.

По численности бактерий подтипы орошаемых лугово-бурых почв отличаются друг от друга незначительно, но по сумме актиномицетов и грибов различия ощутимые.

В остаточнo-лугово-бурых почвах численность актиномицетов и целлюлозоразрушающих аэробных микроорганизмов больше, чем в лугово-бурых почвах (табл.).

В нижних слоях орошаемых влажно-лугово-бурых почв количество бактерий увеличивается за счет анаэробных споровых. Микрофлора

этих почв, особенно в нижней части профиля, носит своеобразный характер и отличается от микрофлоры других почв. Возрастание спор в нижних слоях является результатом близкого залегания грунтовых вод.

В орошаемых лугово-бурых почвах хорошо развиты спорообразующие бактерии и актиномицеты. Из бацилл здесь часто встречаются *Bac. mesentericus*, *Bac. megaterium*, *Bac. cereus*, что свидетельствует об энергичных минерализационных процессах и малом накоплении гумуса. Из актиномицетов часто встречаются *Act. griseus*, *Act. albus*. Орошаемые лугово-бурые почвы, особенно влажно-лугово-бурые в Арабатской равнине, богаты азотобактером. Из микроскопических грибов

Таблица

Микробиологическая характеристика орошаемых лугово-бурых почв
Арабатской равнины

Почва, местонахождение, культура	Горизонт, глубина, см	Гумус, %	Млн/г						
			бактерии	актиномицеты	грибы	спороносные бактерии	целлюлозоразрушающие	нитрификаторы	азотобактер, тыс./г
Орошаемая влажно-лугово-бурая, с. Меймандар, люцерна	Ап 0—33	3,4	14,65	1,74	0,23	3,33	0,82	1,25	12,65
	В 33—56	2,7	7,57	0,59	0,03	1,21	0,41	0,91	10,15
	С ₁ 56—85	1,4	1,49	0,13	нет	1,00	0,35	0,35	5,55
	С ₂ 85—127	0,7	1,94	нет	нет	5,97	0,25	0,35	5,19
	С ₃ 127—160	0,3	3,97	0,39	нет	2,79	0,05	0,05	4,05
	С ₄ 160—200	0,3	2,79	0,39	нет	2,79	0,04	0,04	нет
Орошаемая остаточно-лугово-бурая, г. Эчмиадзин, абрикосовый сад	Ап 0—36	2,6	16,82	3,18	0,09	0,68	0,35	1,29	9,65
	А 36—53	1,0	8,23	0,59	0,01	0,41	0,19	1,29	6,88
	В ₁ 53—72	0,7	5,83	0,23	нет	0,30	0,11	1,24	5,62
	В ₂ 72—84	0,6	4,67	0,23	нет	0,24	0,11	0,76	4,35
	С ₁ 84—107	0,5	4,59	0,23	нет	0,22	0,09	0,80	4,36
	С ₂ 107—123	0,3	3,35	0,73	нет	0,21	0,04	0,24	4,36
	С ₃ 123—180	0,3	2,95	нет	нет	0,15	0,03	0,15	1,59
	Д 180—237	0,3	1,97	0,07	нет	0,01	0,02	0,04	0,07
Орошаемая лугово-бурая, с. Овтамеч, ячмень	Ап 0—22	2,5	15,01	0,13	0,12	0,30	0,30	1,43	9,37
	А 22—42	0,9	12,59	0,14	0,13	0,30	0,27	1,28	4,15
	В ₁ 42—68	0,5	11,25	0,09	0,06	0,25	0,21	1,37	3,50
	В ₂ 68—145	0,4	5,82	нет	0,02	0,10	0,16	1,21	2,64
	СД 145—218	0,3	2,75	нет	0,01	нет	0,15	1,21	1,21
Орошаемая лугово-бурая, с. Дмитрово, овощные культуры	Ап 0—28	2,3	17,29	0,64	0,05	0,99	0,38	1,62	5,20
	В 28—54	2,1	13,11	0,51	0,03	0,79	0,31	1,62	4,80
	ВС 54—78	1,9	10,48	0,34	0,01	0,26	0,19	1,52	3,00
	С ₁ 78—105	1,3	8,49	0,15	нет	0,20	0,12	1,39	2,20
	С ₂ 105—127	0,9	4,27	0,31	нет	0,14	0,10	1,39	1,10

значительное место занимают грибы из рода *Aspergillus* и *Penicillium*.

Разложение целлюлозы происходит в основном в результате жизнедеятельности аэробных целлюлозоразрушающих актиномицетов и грибов, редко встречаются целлюлозоразрушающие бактерии из рода *Mucobacterium*.

Согласно нашим наблюдениям, по видовому составу микроорганизмов подтипы орошаемых лугово-бурых почв не различаются. В этих почвах качественный состав бактерий характеризуется наличием боль-

шого числа представителей родов *Bacillus*, *Bacterium*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*.

Результаты наших исследований позволяют дать микробиологическую характеристику исследуемых почв, выражающуюся в установлении определенной зависимости между почвенной микрофлорой и основным свойством почвенного профиля—мощностью гумусового горизонта. Орошаемые лугово-бурые почвы, находясь в зоне интенсивного использования и орошения, характеризуются сравнительно умеренной микробиологической активностью.

Институт почвоведения и агрохимии
МСХ Армянской ССР

Поступило 18.VI 1982 г.

ՕՐՐԱՐԱՏՅԱՆ ՀԱՐԹԱՎԱՅՐԻ ՄԱՐԳԱԳԵՏՆԱՅԻՆ ԳՈՐԾ ՈՌՈԳԵԼԻ ՀՈՂԵՐԻ ՄԻԿՐՈՅԼՈՐԱՅԻ ՄԱՍԻՆ

Լ. Ա. ԽԱՉԻԿՅԱՆ

Տրվում է Արարատյան հարթավայրի մարգագետնային գորշ ոռոգելի հողերի ենթատիպերի մանրէաբանական բնութագիրը:

Պարզվել է, որ այդ հողերում գոյություն ունի որոշակի կապ նրա միկրոֆլորայի հիմնական խմբակային կազմի և հումուսային հորիզոնների միջև:

ON THE MICROFLORA OF IRRIGATED MEADOW-BROWN SOILS OF ARARAT PLAIN

L. A. KHACHIKIAN

The microbiological characteristics of intensively used irrigated meadow-brown soils of Ararat plain has been presented. The presence of certain relationship between the composition of soil microflora and the humus horizons was shown.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Африкян Э. К. Вопр. с.-х. и промыш. микробиологии, вып. 1/7, 1953.
2. Галстян А. Ш. Ферментативная активность почв Армении. Ереван, 1974.
3. Красильников Н. А. Определитель бактерии и актиномицетов. М.—Л., 1949.
4. Паносян А. К., Меграбян А. А. Тр. НИ станции полеводства НКЗ АрмССР, вып. 1, Ереван, 1940.
5. Петросян А. П., Киракосян А. В., Мирзабекян Р. О., Меграбян А. А. Тр. НИ станции полеводства, НКЗ АрмССР, вып. 1, Ереван, 1940.
6. Почвы Армянской ССР. Ереван, 1976.
7. Bergeys manual of determinative bacteriology. 8th. ed., Baltimore, 1974.

УДК 591.134:591.46:595.752

ВЛИЯНИЕ ГОЛОДАНИЯ НА ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ АРАРАТСКОЙ КОШЕНИЛИ PORPHYRORHORA HAMELII BRANDT

Р. Н. САРКИСОВ, Л. П. МҚРТЧЯН, Л. С. ХЕЧОЯН

Изучалось влияние различных сроков голодания инцистированных личинок на эффективность спаривания и плодовитость взрослых особей.

Показано, что длительное голодание в значительной степени снижает воспроизводительную функцию араратской кошенили.

Ключевые слова: араратская кошениль.

В разведении араратской кошенили большое значение имеет знание условий, влияющих на воспроизводительную систему этого насекомого. При разработке методов разведения кошенили в искусственных условиях для получения стерильных самок, половозрелых самцов, сбора «урожая» насекомых на стадии цист [1, 3—5] и др. приходится работать с инцистированными личиночными формами, досрочно прекращая тем самым их питание на растениях.

Целью проведенных исследований было выяснение влияния различных сроков голодания инцистированных личинок на воспроизводительную функцию взрослых особей для изучения возможности использования их в разведенческих и селекционных целях.

Материал и методика. С первой декады июня до конца августа, т. е. вплоть до сроков естественного выхода из цист половозрелых самок в природе, еженедельно с поля привозили по 5 зараженных кошенилью кормовых растений (прибрежниц) каждое из которых хранилось изолированно в чашках Петри при температурах, сходных с температурами естественных условий обитания личинок в этот период. Такое хранение ведет к гибели растений и нарушению питания развивающихся на них личинок. Систематически по каждому растению регистрировали численность, пол и массу выходящих из цист насекомых.

Влияние различных сроков голодания на воспроизводительную функцию араратской кошенили определяли изучением анатомо-морфологического состояния половой системы на тотальных препаратах, эффективности спаривания самцов и средней плодовитости самок.

Для определения эффективности спаривания к каждому из исследованных самцов подсаживали контрольных самок, которых после спаривания вскрывали. По наличию семенных пучков в вагинах устанавливали процент осемененных самок.

Среднюю плодовитость изучали на 52-х подопытных самках разных сроков голодания, которых спаривали с самцами, привезенными с поля, с последующим учетом числа отложенных яиц.

Результаты и обсуждение. Как показали проведенные исследования, голодание инцистированных личинок резко сказывается как на массе выходящих из цист личинок самцов и взрослых самок, так и на их численности (табл.).

Таблица

Влияние голодания на массу и половую продуктивность араратской кошенили

Дата выкопки растений	Продолжитель- ность голодания личинки ♂♂, дни	Число вышедших личинки ♂♂	Средняя масса личинки ♂♂, мг	Средняя эффек- тивность спари- вания, %	Продолжитель- ность голодания ♀♀, дни	Число вышедших ♀♀	Средняя масса ♀♀	Средняя плодо- витость ♀♀
10/VI	63	—	—	—	85	—	—	—
18/VI	56	1	0,7	—	78	—	—	—
25/VI	49	8	1,1	23,0	71	—	—	—
2/VII	42	27	1,3	50,0	64	—	—	—
9/VII	35	44	2,3	58,3	57	—	—	—
16/VII	28	314	2,8	57,8	50	18	6,9	195,0
23/VII	21	211	2,6	68,0	43	14	6,6	189,0
29/VII	14	135	3,6	77,5	36	57	10,4	216,9
Естественный выход личинки ♂♂ в поле	6/VII	7	96	4,8	88,8	28	56	15,8
	13/VIII	—	81	4,8	87,4	21	58	13,9
	20/VIII	—	135	4,3	81,1	14	126	27,0
	27/VIII	—	174	4,1	85,3	7	120	17,5
С первых чисел сентября начина- ется естественный выход самок в природе								

Голодание на протяжении 56—49 дней приводит к выходу всего 1—8 личинок самцов при средней массе их 0,7—1,1 мг. По мере сокращения сроков голодания вплоть до 14-ти дней происходит нарастание числа выживающих личинок самцов и их массы, последующее уменьшение этого срока не ведет к дальнейшему росту массы личинок, достигших к этому времени величины, равной величине контрольных (привезенных с поля и не голодавших) особей, которые в природе начинают покидать цисты к середине августа. Сходная картина наблюдается и при выходе из цист взрослых самок, у которых масса стабилизируется и становится равной массе природных самок после привоза зараженных растений с поля в третьей декаде августа. Более поздний выход взрослых самок из цист и стабилизация их массы по сравнению с самцами объясняется естественным циклом развития этого насекомого [2, 7].

Из приведенных в таблице данных видно, что личинки самцов, как и самки, достигают максимальной массы за 14 дней до выхода из цист. Эти данные подтверждают полученные ранее сведения [6] и, по всей вероятности, говорят о том, что в норме за 2 недели до выхода из цист насекомых прекращается их питание, и личинки приступают к метаморфозу.

Изучение анатомо-морфологического строения половой системы самок и самцов показало, что различные сроки голодания отражаются лишь на величине половых органов, что связано с массой насекомых.

Уменьшение массы насекомых вследствие голодания сопровождается пропорциональным уменьшением размеров половых органов. Такая же прямая зависимость между массой тела и половыми органами отмечена у особей естественной популяции. Величина органов половой системы в свою очередь в значительной степени влияет на эффективность спаривания самцов и плодовитость самок.

Из данных табл. видно, что с укорочением сроков голодания и возрастанием массы личинок самцов нарастает и эффективность спаривания взрослых особей, которая сравнивается с нормой при достижении личинками максимальных размеров, т. е. в период, когда выкапывание растений уже не влияет на увеличение их массы (последние 2 недели перед выходом из цист личинок самцов).

Такая же закономерность наблюдается у самок. По мере сокращения сроков голодания и увеличения массы тела увеличивается и средняя плодовитость, которая становится равной норме в том случае, когда растения выкапываются не ранее 2-х недель до выхода из цист взрослых самок.

Таким образом, выкапывание растений за 14 и менее дней до выхода из цист насекомых не приводит к уменьшению массы развивающейся араратской кошенили и не влияет на ее половую потенцию, что дает возможность получать в этот период полноценный материал, легко разбиваемый по полу и могущий быть использованным для разведенческих и селекционных работ. Выкапывание растений раньше двухнедельного срока до выхода из цист насекомых ведет к уменьшению их массы и отрицательно сказывается на воспроизводительной функции араратской кошенили.

Институт зоологии АН Армянской ССР

Поступило 25.VI 1982 г.

ՔԱՂՅԱԾՈՒԹՅԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՐԱՐԱՏՅԱՆ ՈՐԴԱՆ ԿԱՐՄՐԻ
PORPHYROPHORA HAMELII BRANDT ՎԵՐԱՐՏԱԴՐՈՂԱԿԱՆ
ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԻ ՎՐԱ

Ռ. Ն. ՍԱՐԿԻՍՈՎ, Լ. Պ. ՄԿՐՏՉՅԱՆ, Լ. Ս. ԽԵՉՈՅԱՆ

Որդան կարմրի վերարտադրողական ֆունկցիան զգալիորեն նվազում է նրա թրթուրների երկարատև քաղցածությունից: Մինչդեռ ցիստերով պատված կերաբույսերի հեռացումը հողից 14 օրից ոչ շուտ, նախքան նրանցից միջատների դուրս գալը, չի նվազեցնում որդանի մասսան, չի փոխում նրա սեռական ունակությունը:

EFFECT OF STARVATION ON THE REPRODUCTIVE FUNCTION
OF ARARATIAN COCHINEAL *PORPHYROPHORA*
HAMELII BRANDT

R. N. SARKISOV, L. P. MKRTCHYAN, L. S. KHECHOYAN

It was shown that adults developed from the prolongly starved larvae of the Araratian cochineal possess a reduced reproductive function.

1. Мкртчян Л. П., Саркисян С. М., Саркисов Р. Н. Биолог. ж. Армении, 31, 9, 1978.
2. Саркисов Р. Н., Тер-Григорян М. А., Севумян А. А., Саркисян С. М., Мкртчян Л. П., Галфаян Х. К. Тез. докл. II совещания об охране насекомых. Ереван, 1975.
3. Саркисов Р. Н., Саркисян С. М. Биолог. ж. Армении, 32, 3, 1979.
4. Саркисов Р. Н., Саркисян С. М., Мкртчян Л. П. Биолог. ж. Армении, 33, 9, 1980.
5. Саркисов Р. Н., Мкртчян Л. П., Хечоян Л. С. Биолог. ж. Армении, 34, 1, 1981.
6. Саркисов Р. Н., Саркисян С. М., Севумян А. А. Биолог. ж. Армении, 35, 2, 1982.
7. Тер-Григорян М. А. Энтомол. обозрение, 55, 2, 1976.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 576.851.151

О ДИНАМИКЕ НИТРОГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ И СИНТЕЗА БЕЛКА В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ АЗОТОБАКТЕРА

В. Г. НИКОГОСЯН

Ключевые слова: азотобактер, нитрогеназная активность.

Исследования показали, что содержание белка в клетках азотобактера в значительной степени зависит от его видовой принадлежности, возраста и условий развития культуры. При этом выявлена большая разница в уровне белка в клетках азотобактера—25—61% [1, 2, 5, 7, 8]. Установлено также, что при старении культура азотобактера накапливает запасные белки, количество которых не обусловлено интенсивностью азотфиксации [1].

Ранее нами было показано, что нитрогеназная активность, в зависимости от возраста культуры, также претерпевает определенные изменения [4]. Однако вопросы коррелятивных взаимоотношений между нитрогеназной активностью и синтезом белка в клетках азотобактера, представляющие значительный теоретический и практический интерес для оценки активности культуры, не изучались. В настоящем сообщении приводятся результаты исследований этих вопросов.

Материал и методика. Исследования проводились на музейных культурах *Az. chroococcum* 6111, 6151, 6152, *Az. agilis* 6391, 6124, *Az. vinelandii* 6122, 6127, 6117, *Az. nigricans* 6306, 6303 (номера штаммов по коллекции культур ИНМИ АН Армянской ССР). Нитрогеназная активность определялась ацетиленовым методом при выращивании культур на агаровой среде Виноградского в пенициллиновых флаконах [3, 4]. Количество белка определялось методом Лоури [9] после предварительной обработки клеток 2 н NaOH при 37° в течение 24 ч [6].

Результаты и обсуждение. Исследования динамики нитрогеназной активности показали, что восстановление ацетилена начинается уже через 0,5—1 ч после заражения, т. е. в начале лаг фазы и достигает максимума через 24 ч (рис.). Далее нитрогеназная активность постепенно

падает, достигая минимума на четвертый день развития. Биомасса и содержание белка в клетках различных видов азотобактера достигают наибольшего уровня на третий день роста, когда активность нитрогеназы падает в два раза. Это, вероятно, объясняется интенсивным накоплением аммиака в ранней логарифмической фазе, которого клетка не

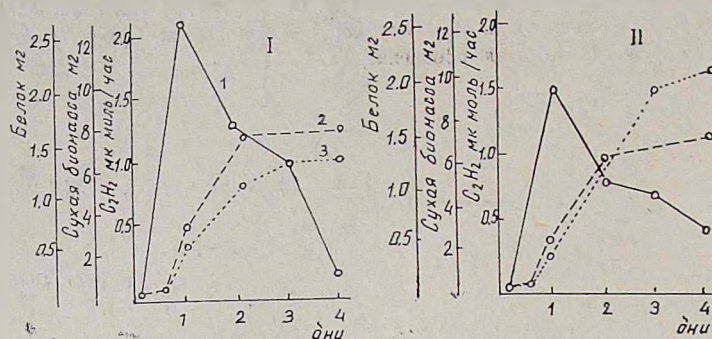


Рис. Динамика нитрогеназной активности, синтеза белка и биомассы в процессе развития культур азотобактера. I—*Az. chroococcum* 6111, II—*Az. vinelandii* 6127. 1—активность нитрогеназы, 2—сухая биомасса, 3—белок.

успевает ассимилировать, в результате чего подавляется активность нитрогеназы.

Результаты исследований показали также, что содержание белка и активность нитрогеназы у исследованных культур азотобактера в процессе развития изменяется не одинаково. У *Az. chroococcum* 6111 активность фермента в максимуме составляет 2,3 мк моль C_2H_2 /час, а количество белка—1,5 мг. Противоположная картина наблюдается у штамма *Az. vinelandii* 6127. При максимуме нитрогеназной активности—1,4 мк моль C_2H_2 /час количество белка составляет 2,1 мг. Содержание белка у исследованных культур азотобактера колеблется в довольно широком диапазоне—14,1—31,2% (табл.).

Таблица

Содержание внутриклеточного белка и нитрогеназная активность культур азотобактера

Культуры	Содержание белка, %					Активность нитрогеназы, мк моль C_2H_2 /час/мг белка				
						д н и				
	1/2	1	2	3	4	1/2	1	2	3	4
<i>Az. chroococcum</i> 6111	7,4	10,8	13,3	18,4	18,2	14,0	5,4	1,5	0,8	0,1
<i>Az. chroococcum</i> 6151	8,3	9,2	13,3	14,4	14,6	14,6	6,7	1,4	0,7	0,3
<i>Az. chroococcum</i> 6152	10,0	15,0	17,1	21,1	21,0	11,5	5,0	1,3	0,3	0,2
<i>Az. agilis</i> 6391	12,0	14,0	18,4	20,0	21,0	14,6	4,5	0,9	0,3	0,1
<i>Az. agilis</i> 6124	13,3	17,6	21,6	24,6	24,0	14,1	5,1	0,7	0,4	0,2
<i>Az. vinelandii</i> 6122	12,0	15,3	16,6	17,2	17,1	13,5	4,5	0,8	0,3	0,2
<i>Az. vinelandii</i> 6127	14,2	18,5	26,6	29,2	28,9	9,9	5,0	0,5	0,5	0,2
<i>Az. vinelandii</i> 6117	16,6	21,1	26,3	31,2	31,0	13,5	3,8	1,3	0,5	0,3
<i>Az. nigricans</i> 6306	10,0	11,0	18,8	25,0	24,6	9,9	5,0	2,1	0,8	0,2
<i>Az. nigricans</i> 6303	13,3	17,3	21,7	26,3	27,0	10,1	4,7	1,3	0,5	0,2

При пересчете нитрогеназной активности на мг. белка наибольшая активность обнаруживается у 12-часовых культур, а минимум активности фермента совпадает с максимумом содержания белка на третий—четвертый дни.

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что корреляции между нитрогеназной активностью и содержанием белка в процессе развития культур азотобактера не наблюдается.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 16.VII 1982 г.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Блинков Г. Н. Микробиология, 23, 4, 1954.
2. Зайцева Г. Н. Биохимия азотобактера, М., 1965.
3. Метод. рекоменд. по получению новых штаммов клубеньковых бактерий и оценка их эффективности, Л., 1979.
4. Никогосян В. Г. Биолог. ж. Армении, 34, 3, 1981.
5. Омельянский В. Л. Избр. тр., 1, М., 1953.
6. Яковлева В. И., Малофеева И. В., Зуева Н. Н., Андреева А. П., Губницкий Л. С., Щербакова Е. Н., Березин И. В. Прикладная биохимия и микробиология, 15, 3, 1979.
7. Allen L. A. Biochem. J., 35, 7, 1941.
8. Green R. Soil Sci., 39, 5, 1935.
9. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Furr A. L., Randall R. J. Biol. Chem., 193, 1951.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 615.779.9

МИКРОФЛОРА ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ ЕРЕВАНСКОЙ ПТИЦЕФАБРИКИ И ЕЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ

Г. А. ШАКАРЯН, Т. К. СЕВЯН, З. М. АКОПЯН

Ключевые слова: антибиотики.

Состояние здоровья птицы и ее продуктивность во многом зависят от санитарного состояния объекта, в котором она содержится, поэтому изучение бактериальной загрязненности воздушной среды птичников имеет немаловажное значение.

Нами изучены микрофлора воздушной среды Ереванской птицефабрики и ее чувствительность к антибиотикам.

Материал и методика. Микробная обсемененность воздуха птицефабрики исследовалась внутри инкубатора, в секциях выращивания (до 80—90-дневного возраста), затем в помещении кур-несушек, в пустом помещении—в отсутствие птиц спустя 2 дня после его очистки и дезинфекции, а также воздушной среды территории птицефабрики на расстоянии примерно 100 м от птичников.

В секциях выращивания и несушек птицы содержались в клеточных батареях (КБР-2) по 25—30 голов в каждой.

Исследования проводились методом Коха. Открытые бактериологические чашки с питательной средой ставили в 3-х разных местах помещения на 5 мин, после чего их закрывали крышками и переносили в термостат с температурой 37° на 24 ч.

Подсчет общего количества микробов в 1 м³ воздуха проводился методом Коха с применением формулы Омелянского.

Нами изучалась чувствительность 114 штаммов шаровидных и палочковидных микробов, выделенных из различных объектов птицефабрики, к антибиотикам: пенициллину, стрептомицину, хлортетрациклину, окситетрациклину и левомецитину.

Исследования проводились методом последовательных разведений на МПБ, рН—7,2—7,4. Степень чувствительности культур к антибиотикам определялась по схеме Кирби.

Результаты и обсуждение. Установлено, что микробная обсемененность воздуха изучаемых объектов в зимний, весенний и осенний периоды года намного выше, чем в летний период. Так, если в летний период общее количество микробов в секции кур-несушек составляет в среднем 174,5 тыс. микробных клеток в 1 м³ воздуха, то зимой, весной и осенью оно составляет соответственно 410,8, 387,2 и 256,9 тыс. мик. тел в 1 м³. Подобные данные получены и при исследовании секций выращивания и инкубатора, где общее количество микробов в летний период в 2 и 7 раз меньше, чем в остальные сезоны года. Очевидно, такое явление связано с климатическими условиями данного района. В наибольшей степени обсеменен микроорганизмами воздух секции кур-несушек; в среднем за год это составляет около 307,7 тыс./м³, что намного выше допустимых норм. В пределах нормы находится микробная загрязненность воздуха в секциях выращивания—141,6 тыс./м³ и инкубатора—117,4 тыс./м³, а в отдельные сезоны года (зима, осень) она даже ниже допустимых норм. Общее количество микробов в пустом продезинфицированном помещении, а также в наружном воздухе птицефабрики хотя и значительно ниже, чем в воздухе остальных исследованных секций, однако оно также довольно высокое—в среднем за год достигает 10,5 и 10,3 тыс./м³ соответственно.

Полученные данные говорят о том, что воздушная среда Ереванской птицефабрики значительно загрязнена микроорганизмами; следовательно, необходимо разработать санитарные мероприятия по уменьшению их количества как внутри птичников, так и в окружающей среде.

Для определения морфологического состава микроорганизмов, находящихся в воздушной среде птицефабрик, из выросших в чашках Петри колоний выделялись чистые культуры и устанавливались их особенности. Выявлено, что в воздушной среде птицефабрики независимо от сезона года преобладают в основном шаровидные формы микроорганизмов—в среднем за год 63,0%, а 37,0% составляют палочковидные формы микробов (табл.). Из последних преобладают не образующие споры палочки. Основная часть шаровидных микробов была из рода стафилококков—84,2%, остальные—монококки, диплококки и тетракокки. Из воздуха всех исследованных объектов птицефабрики была выделена кишечная палочка, причем в осенний период по сравнению с другими сезонами года количество *E. coli* было больше. Обнаружены также пигментобразующие бактерии и плесневые грибы.

На Ереванской птицефабрике с профилактической и лечебной целью применялись различные антибиотики, в результате чего, естественно, могли возникнуть устойчивые к тем или иным антибиотикам формы микробов.

Таблица

Основные формы микроорганизмов воздуха изученных объектов
Ереванской птицефабрики (данные за год)

Исследуемый объект	Всего изучено штаммов	Шаровидные		Палочковидные	
		всего	из них стафилококков	без спор	со спорами
Секция кур-несушек	512	349	288	103	60
Секция выращивания	322	217	185	62	43
Инкубатор	273	113	95	51	109
Пустое помещение	89	57	45	23	9
Внешний воздух	151	113	102	19	19

Заслуживают внимания наши исследования по вопросу выяснения чувствительности микроорганизмов, выделенных из воздуха птичников, к антибиотикам. Установлено, что как шаровидные, так и спорообразующие и необразующие споры палочковидные микробы в основном чувствительны к стрептомицину и хлортетрациклину, умеренно чувствительны к левомицетину и окситетрациклину и устойчивы к пенициллину.

По птицефабрике в целом примерно 31,7% шаровидных, 74,4% спорообразующих, 64,3% необразующих споры палочковидных микроорганизмов оказались устойчивыми к пенициллину. Около 67,8 и 33,9% шаровидных микроорганизмов были устойчивыми к окситетрациклину и хлортетрациклину соответственно. 45,8% шаровидных, 36,0% спорообразующих и 93,8% неспорообразующих палочек были умеренно чувствительны к левомицетину. В отношении стрептомицина—32,2, 13,0 и 18,7% соответственно. Высокий процент устойчивости культур к пенициллину объясняется систематическим применением этого антибиотика в данном хозяйстве.

Итак, из выделенных из воздуха различных объектов птицефабрики штаммов бактерий 47,0% были устойчивы к пенициллину, 42,1% — к окситетрациклину, 21,0% — хлортетрациклину, 12,2% — левомицетину и всего лишь 8,8% — к стрептомицину.

Приведенные данные показывают, что на Ереванской птицефабрике вследствие систематического применения различных антибиотиков возникли устойчивые к ним формы микроорганизмов. Следовательно, для повышения лечебной эффективности антибиотиков необходимо перед их использованием выяснить чувствительность к ним выделенных от павших птиц культур патогенных микробов. Кроме того, с целью профилактики или лечения можно на время полностью прекратить использование пенициллина, а также окситетрациклина и хлортетрациклина при кокковой инфекции кур.

УДК 616.34—008.314.4—078:579.842.11.083.12

ОБ ЭКОЛОГИИ ЭНТЕРОПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ ESCHERICHIA COLI

С. Т. МНАЦАКАНОВ

Ключевые слова: энтеротоксигенность, энтеропатогенность, *E. coli*.

В настоящее время большое внимание исследователей привлекают плазмиды—внехромосомные факторы наследственности бактерий, которые, не являясь обязательным элементом бактериальной клетки, детерминируют различные, подчас весьма важные в практическом отношении свойства микроорганизмов. К одной из таких плазмид относится плазида Ent, определяющая продукцию энтеротоксина у бактерий семейства Enterobacteriaceae и в частности у штаммов кишечной палочки. Сегодня роль энтеротоксигенных *Escherichia coli* в возникновении острых кишечных заболеваний у людей является общепризнанной [2]. До недавнего времени признавалось, что многие серовары этой группы бактерий способны к образованию энтеротоксина [10]; однако в последние годы появились сообщения, что энтеротоксигенные штаммы этих бактерий, выделенные при подобных заболеваниях, принадлежат к небольшому числу серогрупп или сероваров [4, 8, 9], ввиду чего, учитывая сложность определения энтеротоксина *in vitro* и *in vivo*, предлагают ограничиться серотипированием сыворотками, приготовленными к энтеротоксигенным штаммам отдельных серогрупп [7]. В то же время в некоторых работах [5, 6] взаимосвязь между энтеротоксигенностью и серотипом отрицается или же считается неполной [1].

Нами сделана попытка установить наличие корреляции между энтеротоксигенностью и типированием по О-антигену у штаммов *E. coli*, выделенных у проживающих в Армении здоровых и больных детей раннего возраста.

Материал и методика. Энтеротоксигенность была определена у 53-х и 14-ти культур, выделенных от больных диареей и практически здоровых детей, у которых не было отмечено никаких кишечных расстройств, в возрасте до 1 года. Изученные культуры принадлежали к серогруппам 09, 018, 020, 025, 026, 033, 044, 055, 086, 0101, 0111, 0114, 0119, 0124, 0125, 0127, 0139, «408». Принадлежность к той или иной серогруппе определялась с помощью набора из 40 О-сывороток производства МНИИВС им. Мечникова и Армавирской биофабрики. Определение энтеротоксина проводилось по общепринятой методике на лигированных отрезках тонкого кишечника кролика [3].

Результаты и обсуждение. При определении способности к образованию энтеротоксина у культур *E. coli*, выделенных от здоровых детей,

ни у одного из изученных штаммов не было отмечено наличия энтеротоксина, хотя они и принадлежали к патогенным серогруппам: 018—1 культура, 020—1, 055—2, 025—1, 086—1, 0119—2, 0125—3, 0,127—2, «408»—1. Однако, как показывают приведенные в таблице данные, у тех же серогрупп, но выделенных от больных, у 49,05% штаммов наблюдается образование энтеротоксина. В то же время у серогруппы 086 из 9-ти испытанных культур 7 являлись продуцентами энтеротоксина, а у серогруппы 0111 из 11-ти культур лишь 4 имели плазмиду Ent и были способны к образованию энтеротоксина. У остальных же серогрупп штаммы, как продуцирующие энтеротоксин, так и не обладавшие этим свойством, выделялись примерно одинаково.

Т а б л и ц а
Энтеротоксигенность у культур различных серогрупп *E. coli*, выделенных от больных детей

Серогруппа	Число исследуемых культур	Обнаружено	
		Ent ⁺ *	Ent ⁻ *
09	1	—	1
020	2	—	2
025	2	1	1
026	2	1	1
033	4	3	1
044	3	—	3
055	1	—	1
086	9	7	2
0101	2	1	1
0111	11	4	7
0114	3	3	—
0119	8	3	5
0124	2	1	1
0125	1	—	1
0139	1	1	—
«408»	1	1	—
Всего	53	26	27

Ent⁺ * — энтеротоксигенные штаммы.

Ent⁻ ** — неэнтеротоксигенные штаммы.

Таким образом, у 14-ти исследованных серогрупп из 18-ти были найдены энтеротоксигенные культуры, что свидетельствует о широкой распространенности плазмиды Ent среди различных O-групп эшерихий. Тем не менее сравнение способности энтеропатогенных штаммов *E. coli*, выделенных от больных и здоровых детей, к образованию энтеротоксина показывает, что во многом это свойство определяется источником выделения культуры. Иначе говоря, свойство образовывать энтеротоксин у эшерихий в большей степени зависит не от O-серогруппы, а от того, был ли выделен этот штамм от больного или здорового. Подобные результаты можно объяснить тем, что именно энтеротоксигенные эшерихии обладают большей способностью вызывать инфекционный процесс, чем неэнтеротоксигенные.

Представленные нами данные показывают, что между наличием

О-антигена и плазмиды Ent у *E. coli* нет прямой корреляции. В этой связи только выделение энтеропатогенных *E. coli* недостаточно для установления их этиологической роли в инфекционной патологии.

Армянский ордена Трудового Красного Знамени НИИ эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии им. А. Б. Алексаняна

Поступило 6.IX 1982 г.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Клеганов В. К. Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2, 70, 1982.
2. Табачник А. Л., Гиришович Е. С., Темпер Р. М. Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 3, 31, 1977.
3. De S., Chatterjee D. J. Path. Bact., 66, 559, 1953.
4. DeBoy J. M., Wachsmuth I. K., Davis B. R. Infect. and Immun., 29, 361, 1980.
5. Donta S. T. Clin. Med., 85, 21, 1978.
6. Khurana C. M., Levin S. Rev. latinoamer. microbiol., 21, 61, 1979.
7. Merson M. H., Black R. E., Gross R. J., Rowe B. Huq I., Eusof A. Lancet, 11, 222, 1980.
8. Orskov F. I., Orskov D. J., I. Evans D. J., Sack R. B., Sack D. A., Wadstrom T. Med. Microbiol. Immunol., 162, 73, 1976.
9. Rets M. H., Matos D. P., Pestana A. F., De Castro, Toledo M. R. F., Trabulsi L. Infect. and Immun., 28, 24, 1980.
10. Sack R. B. Rev. Microbiol., 29, 333, 1975.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 616.379—008.64]:616.453.616.441

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ И ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ

В. М. АРУТЮНЯН

Ключевые слова: диабет аллоксановый, кора надпочечников, щитовидная железа.

При диабете кора надпочечников и щитовидная железа претерпевают морфофункциональные изменения [3—6]. В наших предыдущих наблюдениях был показан факт активации функции коры надпочечников и щитовидной железы при диабете как в условиях клиники, так и в эксперименте [1, 2]. Однако эти исследования проводились разномысленно у отдельных лиц или у разных животных. Небезынтересным является вопрос функционального состояния коры надпочечников и щитовидной железы при диабете, т. е. как будут функционально реагировать другие эндокринные железы, в частности кора надпочечников и щитовидная железа, на инсулярную недостаточность поджелудочной железы.

Материал и методика. Опыты ставили на 24-х кроликах, которые по принципу аналогов были разбиты на опытную и контрольную группы по 12 голов в каждой. Функциональное состояние коры надпочечников определяли содержанием нейтральных—17—кетостероидов (по Дрекеру) и 17—оксикортикостероидов (по Сильберу и Портеру в модификации Н. А. Юдаева) в суточной экскреции мочи. Функциональное состояние щитовидной железы определяли по содержанию общего йода в крови каталитическим методом с применением титриметрического варианта (по Миллеру и Шнайдеру в модификации М. С. Степаняна) и по средней высоте клеток тиреоидного эпителия (СВКТЭ). С этой целью забивали по три животных из каждой группы. Для имитации диабета кроликам опытной группы внутривенно вводили 5%-ный раствор аллоксана в дозе по 150 мг/кг веса после суточного голодания. Развитие аллоксанового диабета определяли по уровню сахара в крови.

Тесты, характеризующие функциональное состояние коры надпочечников и щитовидной железы, определяли параллельно, до введения аллоксана и ежедневно—трижды после развития диабета.

Цифровой материал подвергнут статистической обработке и представлен в сводной таблице.

Результаты и обсуждение. Из данных таблицы видно, что после введения аллоксана наблюдается прогрессирующая гипергликемия, свидетельствующая о развитии диабета.

Таблица

Показатели, характеризующие функцию коры надпочечников и щитовидной железы при аллоксановом диабете, $M \pm m$, $P < 0,05$

Контрольная	Опытная	Группа животных	До опыта					10-й день				20-й день				30-й день			
			сахар, мг %	Н-17-КС, мг	17-ОКС, мг	общий йод (γ %)	СВКТЭ, микр.	сахар, мг %	Н-17-КС, мг	17-ОКС, мг	общий йод (γ %)	СВКТЭ, микр.	сахар, мг %	Н-17-КС, мг	17-ОКС, мг	общий йод (γ %)	СВКТЭ, микр.		
120,1±14,1	117,4±12,4																		
14,1±5,3	12,5±4,1																		
5,7±0,6	6,6±0,9																		
23,9±8,7	25,8±9,1																		
6,1±1,3	5,9±0,9																		
118,7±13,9	470,5±24,7																		
12,4±2,9	17,0±3,1																		
6,0±1,2	9,3±0,6																		
26,1±11,1	28,8±9,4																		
6,2±1,2	11,4±0,3																		
121,4±11,2	520,9±27,4																		
14,4±2,9	19,6±4,4																		
5,1±0,9	15,2±3,1																		
24,4±10,5	28,6±11,4*																		
5,9±0,4	8,7±0,9																		
119,6±15,1	410,6±29,3																		
12,6±2,3	18,9±4,7																		
4,9±1,3	14,0±2,5																		
22,2±4,3	24,0±5,4*																		
6,2±1,3	6,6±2,4*																		

* $P > 0,05$.

На 10-й день после введения аллоксана, по сравнению с контролем, достоверно ($P < 0,05$) увеличивается содержание в моче нейтральных 17-кетостероидов на 4,6 мг, а 17-оксикортикостероидов на 3,3 мг, т. е. наблюдается активация андрогенной и глюкокортикоидной функции коры надпочечников. Отмечается и достоверное повышение содержания общего йода в крови ($28,8 \pm 9,4 \gamma \%$) и средней высоты клеток тиреоидного эпителия ($11,4 \pm 0,3$ микр.), (в контроле $26,1 \pm 11,1$ и $6,2 \pm 1,2$

соответственно), что свидетельствует об активации и функции щитовидной железы. На 20-й день диабета у опытных животных содержание Н-17-КС было выше контроля на 5,2 МГ; 17-ОКС—на 10,1 МГ; общего йода в крови—на 2,2 γ%, а средняя высота клеток тиреоидного эпителия—на 28 микр (P<0,05). Эти данные указывают на то, что если функция коры надпочечников активизируется, то у функции щитовидной железы наблюдается тенденция к снижению активности.

На 30-й день аллоксанового диабета андрогенная и глюкокортикоидная функции коры надпочечников остаются повышенными, а функция щитовидной железы нормализуется. Не отмечается корреляции между активацией функций коры надпочечников и щитовидной железы при диабете. Если андрогенная и глюкокортикоидная функции в течение месяца после введения аллоксана повысились, то функция щитовидной железы в первой декаде активизировалась с последующей тенденцией к нормализации. В то же время, как в наших предыдущих наблюдениях, так и по данным литературы, при разномоментном определении функции коры надпочечников или щитовидной железы (у разных лиц или животных) отмечалось продолжительное повышение функции указанных эндокринных желез при диабете. Таким образом, при начальной стадии развития аллоксанового диабета функции коры надпочечников и щитовидной железы повышены. Функция коры надпочечников остается повышенной в течение месяца после введения аллоксана, а щитовидной железы—в первой декаде активизируется с последующей тенденцией к понижению активности.

Ереванский медицинский институт

Поступило 11.VIII 1981 г.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арутюнян В. М. Щитовидная железа и сахарный диабет, Ереван, 1979.
2. Арутюнян В. М. Ж. экспер. и клин. медицины, 5, 514—519, 1980.
3. Комиссаренко В. П., Кравченко В. И., Нешерет А. П. Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 4, 29, 1977.
4. Хомуло П. С., Хегай М. Д. Проблемы эндокринологии, 5, 97, 1977.
5. Dominguez A. Acta physiol. J. Amer; 19, 196, 1969.
6. Plager J., Matsui N., Arlogouschi J. Endocrinology, 84, 1450, 1969.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

РЕФЕРАТЫ

УДК 576.851.151

О БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЯХ АНТИБИОТИКУСТОЙЧИВЫХ МУТАНТОВ *Az. CHROOCOCCUM*

В. Г. НИКОГОСЯН

Исследовались морфофизиологические и биохимические особенности полученных нами стрептомицин- и тетрациклинустойчивых мутантов *Az. chroococcum*.

Установлено, что клетки стрептомицинустойчивых мутантов по форме и размерам не отличаются от исходной культуры. Иногда встречаются сравнительно мелкие клетки.

У тетрациклинустойчивых мутантов клетки сравнительно крупнее и имеют округлую форму. Расположены одиночно.

Исследованные мутанты образуют слабоослизненные колонии S или M типов. Колонии тетрациклинустойчивых мутантов в зрелой культуре окрашиваются в ярко-желтый, а иногда зеленоватый цвет. Стрептомицинустойчивые мутанты утрачивают типичную для азотобактера коричневую пигментацию.

По темпу роста мутантные формы отстают от исходной культуры.

Антибиотикустойчивые мутанты *Az. chgoosocsm* отличаются от исходной культуры и по интенсивности усвоения различных источников углерода (глюкоза, арабиноза, лактоза, глицерин и т. д.), а некоторые из них теряют способность усваивать лактозу и глицерин.

Исследования азотфиксирующей способности показали, что эти мутанты уступают исходной культуре по интенсивности восстановления ацетилену и по количеству связанного азота в среде.

Следует отметить, что некоторые авторы у клубеньковых бактерий наблюдают определенную связь между эффективностью и устойчивостью к антибиотикам. По аналогии можно предположить, что подобная связь имеется и у антибиотикустойчивых мутантов азотобактера.

9 с., табл. 2, ил. 2, библиогр. 16 назв.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 16.VII 1982 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

РЕФЕРАТЫ

УДК 633.86:581.9.479.25

КРАСИЛЬНЫЕ РАСТЕНИЯ ФЛОРЫ АРМЕНИИ

А. А. МУРАДЯН, М. А. МАНУЧАРЯН

На основании обследования флоры Армении, литературных данных и собственных испытаний нами составлен список красильных растений, включающий 232 вида, относящихся к 166-ти родам и 63-м семействам. Красильные растения представлены различными жизненными формами: травянистые составляют 158 (68%), в том числе 46 (20%) — однолетние, 12 (5%) — двухлетние и 100 (43%) — многолетние; древесные — деревья и кустарники — 74 (32%). Выделены некоторые семейства, содержащие наибольшее число растений-красителей — Asteraceae (16), Fabaceae (14), Polygonaceae (13), Boraginaceae (10), Labiatae (10), Euphorbiaceae (9), Rosaceae (8), Rubiaceae (8), Salicaceae (7), Chenopo-

diaceae (6), на долю которых приходится около 50% представленных в списке видов.

Установлено, что красящие свойства отдельных семейств обусловлены наличием в них характерных для представителей данного семейства пигментов; в зависимости от принадлежности к той или иной группе химических соединений (антрахиноны, нафтохиноны, флавоноиды, антоцианы, каротиноиды и т. д.) происходит их накопление в определенных органах и частях растения.

Отмечено, что многие из красильных растений Армении могут быть использованы в ковроделии для окраски шерсти. Одним из древних и лучших красителей шерсти является марена красильная, дающая с помощью различных протрав красный, бордовый, фиолетовый, оранжевый цвета и их оттенки. Для окрашивания ковровой пряжи в коричневый цвет и его оттенки хорошим сырьем являются околоплодник и листья грецкого ореха. Наземная часть молочаев, широко распространенных в Армении, окрашивает шерсть в прочный желтый цвет и «хаки». Из других красильных растений, которые могут быть использованы для окраски шерсти, следует отметить золотую резгу, дурнишник, душицу, мгилянник, лук и др.

В перечне приводятся также красильные растения Армении, применяемые в пищевой промышленности для подкраски масла, вин, ликеров, кондитерских изделий, и в парфюмерной—для изготовления таких предметов косметики, как краски для волос, румяна.

21 с., библиогр. 27 назв.

Институт ботаники АН Армянской ССР

Поступило 20.VII 1982 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 10, 1982

РЕФЕРАТЫ

УДК 581.6:633.879

О СОДЕРЖАНИИ ТАНИДОВ В НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЯХ ФЛОРЫ АРМЕНИИ

М. С. МУСАЕЛЯН, Л. В. РЕВАЗОВА, М. А. МАНУЧАРЯН

Обследованием танидоносных растений занималась довольно большая группа ученых, однако имеющиеся работы по флоре Армении представляются в основном как результат изучения частных вопросов и опубликованы в виде разрозненных статей в различных, порой труднодоступных изданиях. Необходимо отметить и то, что результаты исследований нередко несравнимы, так как авторами применялось более ста разных методик.

Основной задачей наших исследований было выявление и изучение танидоносных растений флоры Армении, качественное и количественное определение содержания дубильных веществ, локализованных в различных органах данного вида или же внутри одного вида, произрастающего в различных экологических условиях. Содержание дубильных веществ в растительном сырье определяли фотоэлектроколориметрическим методом Меерова, Морозовой и Троицкой, а для качественного определения использовали метод Долговой и Ладыгиной.

Качественному и количественному анализу подверглись собранные и изученные нами 50 видов флоры Армении, т. е. 170 образцов танидоносного сырья, относящихся к различным семействам, а также некоторые отходы производства (вторичное сырье). Помимо количественного и качественного определения дубильных веществ, нами учитывался процент (в пересчете на абсолютно сухое вещество) всех водорастворимых соединений (ВР), нетанидов (НТ), танидов (Т), а также устанавливалась их доброкачественность (Д), т. е. содержание танидов, выраженное в процентах от общего количества растворимых веществ.

Выяснен качественный состав: 12 образцов относятся к смешанному ряду, 34—пирогаллоловому. Наиболее представительным оказался пирокатехиновый ряд—124 образца. Следует отметить, что у некоторых видов различные органы содержат качественно разные дубильные вещества.

Установлено количественное содержание дубильных веществ, где меньше одного процента содержат 57 образцов (33,5% от общей суммы анализируемого материала), а больше одного процента—41, что составляет 24,12%. Сюда же можно отнести еще 29 образцов, содержащих два процента дубильных веществ; они составляют 17,05%. Очевидно, 127 образцов исследуемого сырья в дальнейшей нашей работе не будут представлять интереса, а остальные 43 образца с содержанием дубильных веществ от 3 до 21%, составляющие 35,3%, могут быть перспективными.

Как показали исследования, наиболее богатым по содержанию дубильных веществ (21%) оказался окоплодник дикого граната *Punica granatum* L., собранный в августе, по дороге Горис—Кафан; листья его содержат 11,23%, а побеги—5,45%. Посредством увеличения площади посадки этого вида совместно с лесхозами, лесомелиоративными станциями и т. д. можно одновременно решить две задачи—сохранения исчезающего вида и обеспечения народного хозяйства дубильно-экстрактивным сырьем пирогаллолового ряда, а пищевой промышленности—дополнительным сырьем для приготовления натурального сока и вина.

На основании проведенных исследований к числу эффективных растений, кроме *Punica granatum* L., следует отнести *Hippophae rhamnoides* L., *Cotinus coggygria* Adans., *Polygonum hydropiper* L., *Filipendula hexapetala* Gillb., *Polygonum bistorta* L., *Potentilla anserina* L., *Geum rivale* L., *Origanum vulgare* L., *Filipendula ulmaria* (L.) Max., *Salvia verticillata* L., *Tanacetum partenifolium* (Willd.) C. Koch., *Hypericum perforatum* L. и др.

19 с., табл. 1, библиогр. 43 назв.

Институт ботаники АН Армянской ССР

Поступило 20.V 1982 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНИТИ.

УДК 581.3

РЕФЕРАТЫ

ДИНАМИКА ПРОРАСТАНИЯ И СОХРАНЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН У НЕКОТОРЫХ СЕМЕЙСТВ ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ ПО ФАЗАМ ВЕГЕТАЦИИ

В. С. ТОВМАСЯН

Изучалась прорастаемость пыльцевых зерен *Ranunculus caucasicus* М. В., *Anemone fasciculata* L., *Adonis parviflora* Fisch. (Ranunculaceae), *Sophora* (— *Goebelia*) *alopecuroides* L., *Caragana grandiflora* (М. В.) DC., *Alhagi pseudalhagi* (М. В.) DSV. (Fabaceae), *Zygophyllum fabago* L., *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae).

Пыльцевые зерна прорастивались в 5, 10, 15, 20, 25%-ном растворе сахарозы с добавлением минеральных солей $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, MgSO_4 , KNO_3 и борной кислоты. Высокий процент прорастаемости наблюдается у зерен *Caragana* (96—98%) в фазе бутонизации на второй неделе при проращивании на свету в 20%-ном растворе сахарозы; 92—93% прорастаемости у пыльцевых зерен *Zygophyllum fabago* L.—в фазе цветения на второй неделе в условиях темноты в 20%-ном растворе сахарозы. Высокий процент прорастаемости проявили пыльцевые зерна *Peganum harmala* L.; наибольший процент—88 (в отдельные годы—90)—приходится на третью неделю при проращивании в 15%-ном растворе сахарозы на свету.

Низкую прорастаемость проявляют пыльцевые зерна видов растений из семейства Ranunculaceae; прорастаемость пыльцевых зерен *Ranunculus caucasicus* составила 29,0% (в фазе цветения, в 15%-ном растворе на свету). У *Adonis parviflora*—50% в фазах цветения и отцветания в 15,0%-ном растворе в темноте; у *Anemone fasciculata*—21,0% в фазе цветения на свету.

Низкую прорастаемость пыльцевых зерен у видов лютиковых можно объяснить, тем, что раствор сахарозы не является хорошей питательной средой, а также отрицательным влиянием их алкалоидов, как свойственно этому семейству; могут быть иные причины, связанные с их структурными особенностями.

Исследование показало, что самый низкий процент стерильности имеют пыльцевые зерна *Alhagi pseudalhagi* (0,2), *Peganum harmala* (0,3), *Caragana grandiflora* (1,0). Сравнительно высокий процент стерильности у пыльцевых зерен *Anemone fasciculata*—2,8.

Наибольшей жизнеспособностью обладают зерна *Peganum*, *Goebelia* (больше 9—10-ти недель в фазе цветения); наименьшей—виды из семейства лютиковых, особенно *Anemone fasciculata*,—две недели. Почти у всех видов отмечается общее явление—сравнительно ранняя потеря жизнеспособности пыльцевых зерен в фазе отцветания.

26 с., табл. 6, библиогр. 12 назв.

Армянский педагогический институт им. Х. Абовяна,
кафедра ботаники

Поступило 12.VIII 1982 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ.

ՊՐՈՖԵՍՈՐ ԱՎԵՏԻՔ ՏԵՐ-ՊՈՂՈՍՅԱՆԻ ՀԻՇԱՏԱԿԻՆ (1880—1954)

Մեզինք վաղուց հեռացած սիրելի ու անմոռանալի մարդկանց մեջ կա մեկը, որը հայ գիտնականների շարքում իր կենդանի, բարի ու պարզ կեցվածքով հիշեցնում է այն տարիները, երբ դասավանդում էր մեզ, և մենք ամեն օր հանդիպում էինք նրան Երևանի պետական համալսարանում՝ իր իսկ հիմնադրած կենդանաբանության ամբիոնում, իսկ ավելի ուշ՝ ՍՍՀՄ գիտությունների ակադեմիայի հայկական մասնաճյուղի կենսաբանական ինստիտուտի կենդանաբանության սեկտորում (հետագայում ՀՍՀՄ ԳԱ կենդանաբանության ինստիտուտ)։

Այդ մարդը պրոֆեսոր Ավետիք Գրիգորի Տեր-Պողոսյանն է։

Ա. Գ. Տեր-Պողոսյանը ծնվել է 1880 թ. Ստեփանավանի շրջանի Վարդաբուր գյուղում աշխատավոր գյուղացու ընտանիքում։ Նախնական կրթությունն ստացել է հայրենի գյուղի դպրոցում, ապա Թբիլիսիի քաղաքային դպրոցներից մեկում, որից հետո անցել է Ներսիսյան դպրոց, 1895 թ. Ներսիսյան դպրոցի 3-րդ դասարանից տեղափոխվել է էջմիածնի Գևորգյան ճեմարանը, որի լրիվ դասընթացն ավարտել է 1901 թ.։ Հետագա երկու տարիների ընթացքում դասավանդել է ճեմարանում, 1903 թ. Ա. Տեր-Պողոսյանը Մարբութի, ապա Լալպցիգի համալսարանների փիլիսոփայության ֆակուլտետի բնագիտական բաժնի ուսանող է։ Այստեղ նա իր ողջ ուշադրությունը նվիրում է կենդանաբանության (զոոլոգիայի) ուսումնասիրությանը։ Այդ համալսարաններում նա աշակերտել է աշխարհահռչակ գիտնականներ Քյունին, Կոռնելտին, Ջիմրոտին, Վոլտերեկին և այլոց։

1908 թ. համալսարանական դասընթացն ավարտելով՝ Ա. Գ. Տեր-Պողոսյանը ներկայացնում և Լալպցիգի համալսարանում հաջողությամբ պաշտպանում է իր պոդոների (խեցեմորթների) արտաթորության օրգանների ուսումնասիրությանը նվիրված դիսերտացիան՝ փիլիսոփայության ինստիտուտի գիտական աստիճան ստանալու համար։ Այն տպագրվել է 1909 թ. Լալպցիգում։

Էջմիածնի Գևորգյան ճեմարանում ստացած բարձրորակ հումանիտար և Գերմանիայում ասացած նույնքան բարձրորակ բնագիտական կրթությամբ վերված՝ Ա. Գ. Տեր-Պողոսյանը աշխատանքի է անցնում հայրենիքում։ Իրեն հատուկ եռանդով, ժանկավարժական տաղանդով, պատասխանատվության բարձր դրացումով և բարեխղճությամբ նա լծվում է այն ժամանակի Անդրկովկասում միակ հնարավոր աշխատանքին՝ ուսուցչությանը։ Նա մեծագույն հաջողությամբ դասավանդել է Գևորգյան ճեմարանում, Շուշիի թեմական, Ալեքսանդրապոլի (Լինինական) Արղուսյան դպրոցներում, Երևանի ուսուցչական սեմինարիայում, Թբիլիսիի Ներսիսյան դպրոցում և այլն։

Ուսանողական լայն ծավալ է ստանում Ա. Գ. Տեր-Պողոսյանի գործունեությունը Հոկտեմբերյան հեղափոխությունից հետո, երբ Հայաստանում սովետական կարգերի հաստատումից հետո 1920 թվին կազմակերպվում է Երևանի պետական համալսարանը և Ա. Տեր-Պողոսյանը հրավիրվում է նորաստեղծ համալսարան որպես կենսաբանական գիտությունների հիմնական դիսցիպլիններից մեկի՝ կենդանաբանության դասախոս։

Այդ նույն տարիներին (1922) համալսարանին կից կազմակերպվում է բնապատմական թանգարանը, որի ղեկավար կոմիտեի կազմում Ա. Բ. Շեկովիչիով, պրոֆ. պրոֆ. Հ. Ս. Քենչևի, Հ. Ղ. Բեգելյանի և գիտաշխատակից Ս. Տ. Տիգրանյանի հետ միասին գործում է նաև Ա. Տեր-Պողոսյանը։ Հետագայում՝ 1933 թվին, այս թանգարանի հետ միավորվում է նաև ռուս-դատնեսության միևնույնությանն առընթեր թանգարանի իր կոլեկցիաներով։ Այս նոր թանգարանի ղեկավարի գիտական գծով տեղակալ է նշանակվում Ա. Տեր-Պողոսյանը։ 1935 թ. ՍՍՀՄ գիտությունների ակադեմիայի հայկական ֆիլիալի կազմակերպման ժամանակ բնապատմական թանգարանը հիմք է ծառայում նորաստեղծ կենդանաբանության սեկտորի համար, որի առաջին կազմում աշխատում էր նաև Ա. Գ. Տեր-Պողոսյանը։ Նա շարունակում է իր աշխատանքը նաև հետագայում, երբ սեկտորը վերակազմվում է ՀՍՀՄ գիտությունների ակադեմիայի կենդանաբանության ինստիտուտի։

Ա. Տեր-Պողոսյանը շատ մեծ դեր է խաղացել գիտական կենդանաբանության կազմակերպման և զարգացման գործում։

Երևանի պետական համալսարանում Ա. Տեր-Պողոսյանը ստիպված էր գրեթե միայնակ հազմակերպել կենդանաբանության ամբիոնը (1921) և դասախոսություններին զուգընթաց վարել գործնական աշխատանքները։ Այդ ամբիոնը նա փոքր ընդմիջումներով ղեկավարել է երբևէ գործնական աշխատանքները։ Ուսումնառության ընթացքում ստացած խոր և բազմախորմանի կար տարիների ընթացքում, Ուսումնառության ընթացքում ստացած խոր և բազմախորմանի գիտելիքների շնորհիվ՝ նրա կարողացած կենդանաբանության դասընթացը համապատասխանում էր ժամանակակից գիտության պահանջներին ու մակարդակին։ Դասընթացն ընդգրկում էր գիտակարգերի մի ամբողջ շարք՝ բջջաբանություն, հյուսվածաբանություն, սաղմնաբանություն, գենետիկայի հիմունքներ, կենդանիների սխտեմատիկա։ Հետագայում՝ բարձր կուրսերում նա դասախոսություններ էր կարդում նաև դարվինիզմի և մարդու ծագման մասին։

Ովքեր բախտ են ունեցել աշակերտելու պրոֆ. Ա. Տեր-Պողոսյանին, գիտեն, թե որքան հետաքրքիր, նյութով հագեցված և գեղեցիկ լեզվով էին կարդացելու այդ դասախոսությունները։ Պետք է նշել, որ մինչև Ա. Տեր-Պողոսյանի դասախոսությունները արեւելահայ լեզվով այդ նյութի մասին չկային անհրաժեշտ ձեռնարկներ և տերմիններ, և նա ստիպված եղավ թե՛ իր դասախոսությունների ընթացքում, և թե՛ հետագայում իր կազմած ձեռնարկներում մշակել կենդանաբանության և ընդհանուր կենսաբանության տերմինները։ Այդ գործը նա կարողացավ փալտել կերպով կատարել նախ՝ շնորհիվ իր բարձրորակ հումանիտար կրթության, հատկապես հայոց լեզվի իմացության, որ նա ստացել էր ներսիսյան դպրոցում և Գևորգյան ճեմարանում, ապա՝ շնորհիվ իր բարձր ընդունակությունների լեզվաշինարարության բնագավառում։ Միաժամանակ պրոֆ. Տեր-Պողոսյանը կարողացավ կազմակերպել ամբիոնի գիտահետազոտական աշխատանքը և իր շուրջը համախմբել հետաքրքրասեր ուսանողիկայնր, որոնցից հետագայում ամենցին առաջին հայ կենդանաբանները։

Գիտական կենդանաբանության դարգացման գործը Հայաստանում անհրաժեշտ էր ոչ միայն կենսաբանական ֆակուլտետի համար, ոչլի հիմնադիր դասախոսներից էր պրոֆ. Ա. Տեր-Պողոսյանը, այլև գյուղատնտեսական և բժշկական ֆակուլտետների համար, ուր նա դասավանդում էր նույնպես երկար տարիների ընթացքում՝ անհրաժեշտ, տեսական, էվոլյուցիոն գիտելիքներ հաղորդելով այդ կարևոր պրակտիկ աշխատանքի համար պատրաստվող կադրերին։

Պրոֆ. Ա. Տեր-Պողոսյանի աճեցրած կադրերը աշխատում էին նաև նորաստեղծ անասնաբուժական-անասնաբուժական ինստիտուտում։ Իսկ ինքը՝ պրոֆեսորը, դասախոսություններ է կարդացել նաև Բաբելի մանկավարժական ինստիտուտում։

Ա. Տեր-Պողոսյանի հսկայածավալ աշխատանքը անկապ չմնաց, 1929 թվականի հոկտեմբերի 1-ին Լուսավորության ժողովրդական կոմիսարիատի որոշմամբ նրան շնորհվում է պրոֆեսորի կոչում։ Հետագայում՝ գիտամանկավարժական արդյունավետ աշխատանքի համար պրոֆեսոր Տեր-Պողոսյանը արժանանում է Հայկական ՍՍՀ գիտության վաստակավոր գործչի կոչման։

Պրոֆ. Ա. Տեր-Պողոսյանը մշտապես ձգտում էր իր անձնական գիտական աշխատանքը տանել այն ուղղությամբ, որն անհրաժեշտ էր ժողովրդական տնտեսության առաջադրած պահանջներին։ Սկզբնական շրջանում նրա ուսումնասիրությունները նվիրված էին ստորին խեցեմորթներին։ Այդ կենդանիները կեր են դառնում ձկների համար։ Այդ կապակցությամբ նրանց ուսումնասիրությունը Հայաստանի տարբեր ջրավազաններում (Սևան, Պարզ լիճ, Այլը լիճ) անհրաժեշտ էր։ Պրոֆեսորն անձամբ, իր աշխատակիցների և ուսանողների հետ հարուստ նյութ էր հավաքել, որը հիմք դարձավ այդ խմբերին նվիրված նրա մի շարք գիտական աշխատանքների համար։

Այնուհետև, ի պատասխան այն պահանջների, որ կյանքը շարունակ առաջադրում էր գիտությանը, պրոֆ. Ա. Տեր-Պողոսյանը անցավ գյուղատնտեսական բույսերի հեմատոգների ուսումնասիրությանը։

Ինչպես արդեն նշվեց, պրոֆ. Ա. Տեր-Պողոսյանը ղգալի ավանդ ունի նաև կենդանաբանական հիմնարկների՝ կենդանաբանության սեկտորի և կենդանաբանության ինստիտուտի ստեղծման և նրանց գիտական աշխատանքը կազմակերպելու գործում։ Այդ հիմնարկներում մեծ աշխատանք էր տարվում խոշոր տնտեսական նշանակություն ունեցող կենդանիների՝ կրծողների ուսումնասիրության գծով։ Պրոֆ. Տեր-Պողոսյանը հանձն առավ այդ աշխատանքի մի շատ պատասխանատու բաժինը՝ կրծողների հետ կապված տգերի ուսումնասիրությունը։ Ինչպես հայտնի է, այդ պարագիտների միջոցով են փոխանցվում մարդու և ընտանի կենդանիների ծանր հիվանդությունների որոշ հարուցիչներ։ Տղերին են նվիրված պրոֆ. Ա. Տեր-Պողոսյանի մի շարք արժեքավոր աշխատություններ։

Իր բազմամյա դասավանդման ընթացքում Ա. Տեր-Պողոսյանը կազմել է նաև մի շարք ձեռնարկներ և առաջադրանքներ բարձրագույն դպրոցների համար։ Դրանց մեջ պետք է նշել

«Բյւջարանութիւն և հարակից խնդիրներ» (1923), «Կենդանաբանութիւն, ընդհանուր մաս» (1935), 1932 թվին հետակա ուսուցման համար հրատարակված առաջադրանքները:

Պրոֆ. Ա. Տեր-Պողոսյանի վերջին աշխատութիւնը՝ «Բիոլոգիական մտքի զարգացումը Հայաստանում հնագույն ժամանակներից մինչև 18-րդ դար» հրապարակեց Երևանի համալսարանի հրատարակչութիւնը հեղինակի մահվանից հետո՝ 1960 թվին: Այդ գրքի հանձնարարականում ՍՍՀՄ գիտութիւնների ակադեմիայի թղթակից անդամ պրոֆ. Եզրաս Հասրաթյանը գրում է. «...մենագրութիւնը ընթերցումը համակուծ է այն համոզմամբ, որ պրոֆ. Ավետիք Տեր-Պողոսյանը գրեթե եղակի հեղինակ էր այդօրինակ դժվարին գործի համար: Ինձ հայտնի չէ մեր ժամանակակիցներից զեթ մեկը, որ նրա նման երջանիկ ղուգադիպութիւնը համատեղեր իր մեջ հմուտ գրաբարագիտութիւնը, հայ ժողովրդի բազմամյա պատմութիւնն ու մշակութիւնը քաջամասնօք լինելը և լայն ու խոր գիտելիքներն՝ ինչպես պատմութիւն, այնպես էլ նրա արդի վիճակի մասին, այսինքն՝ բոլոր անհրաժեշտ նախադրյալները նմանօրինակ գիտական գործ հայտնութիւնը ի կատար ածելու համար: Դրան կարելի է ավելացնել նաև այն, որ պրոֆ. Ա. Տեր-Պողոսյանը անհրաժեշտ խոր և լայն գիտելիքներ ունէր նաև ժամանակակից ընդհանուր կենսաբանութիւնը բնագավառում:

Պրոֆ. Ա. Տեր-Պողոսյանը հանդես է եկել մամուլում կենդանաբանութիւնը ընդհանուր հարցերին վերաբերող բազմաթիւ դասախոսութիւններով և հոդվածներով, որոնցից հիշենք «Դարվիւնը և նրա ուսմունքը» (1909, 1947), «Կյանքի ծագումը» (1919), «Պատմաստը կենդանական աշխարհում» (1912), «Կյանքի տեղութիւնը» (1913):

Պրոֆ. Ա. Տեր-Պողոսյանն ունեցաւ բազմաթիւ աշակերտներ, որոնք աշխատում էին և դեռ աշխատում են տարբեր բնագավառներում և միշտ սիրով ու հարգանքով են հիշում իրենց ուսուցչին: Երևանի պետական համալսարանում նրան աշակերտել են ՍՍՀՄ գիտութիւնների ակադեմիայի ակադեմիկոս Մ. Ք. Չալայանը, թղթակից-անդամ Ե. Հ. Հասրաթյանը, Հայկական ՍՍՀ գիտութիւնների ակադեմիայի իսկական անդամներ Գ. Խ. Աղաջանյանը, Հ. Ք. Բունիսթյանը, Վ. Հ. Գուրբանյանը, Գ. Ս. Դավթյանը, Վ. Հ. Ղազարյանը և շատ ուրիշներ: Ա. Տեր-Պողոսյանի բազմաթիւ աշակերտներից շատերը դեռ շարունակում են աշխատել գիտութիւն և ժողովրդական տնտեսութիւն տարբեր բնագավառներում:

Առանձնապիսի պետք է նշել պրոֆ. Ա. Տեր-Պողոսյանի այն աշակերտներին, որոնք աշխատել են կենդանաբանութիւնը բնագավառում և զրանց մեջ առաջին հերթին Երևանի համալսարանի, իսկ հետագայում նաև գիտութիւնների ակադեմիայի կենդանաբանութիւնը ինստիտուտի երկարամյա աշխատակիցներ Հ. Ե. Պողոսյանին և Ա. Ռ. Պողոսյանին:

Դժվար է այսպիսի կարճ ակնարկում բազմակողմանիորեն ներկայացնել ոչ միայն գիտնականին, այլև մարդուն: Իր այժմ արդեն հանգուցալ աշակերտուհու Ա. Ռ. Պողոսյանի խոսքերով՝ «ամենուրեք նա աչքի է ընկել որպէս ժողովրդական կրթութիւնը գործին նվիրված գործիչ և հմուտ մանկավարժ»: Դրան կուղեկայինք ավելացնել նաև, որ պրոֆ. Ա. Տեր-Պողոսյանը լիովին ունէր այն յարձր արժանիքները՝ մեծ հայրենասիրութիւն, լիակատար նվիրվածութիւն իր աշխատանքին և հատկապես Երևանի պետական համալսարանին, մշտական սլատրաստակամութիւն օգնել նրանց, ովքեր պահանջ ունէին այդ օգնութիւն, որոնք անհրաժեշտ են գիտական և հասարակական գործչի զրական բնութագրութիւնը համար:

Հ. Ս. ԱՎԵՏԻԱՆ
Մ. Ե. ՏԵՐ-ՄԻՆԱՍՅԱՆ