

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
Հ Ա Ն Դ Ե Ս

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
Ж У Р Н А Л
АРМЕНИИ

Издается с 1946 года

Айастані кенсабанакан андес,

выходит 12 раз в год

на армянском и русском языках

Խմբագրական կոլեգիա՝ Ծ. Մ. Ավագյան, Վ. Ե. Ավետիսյան, է. Գ. Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Հ. Գ. Բակլավադջյան, Ա. Ե. Գալստյան (գլխ. խմբագրի տեղակալ), Փ. Ի. Հակոբյան, Ե. Ս. Հարությունյան (պատ. քարտուղար), Վ. Հ. Ղազարյան, Ս. Հ. Մովսիսյան:

Խմբագրական խոցեուրդ՝ Ն. Ն. Ակրամովսկի, Վ. Ե. Աղաբաբյան, Հ. Ս. Ավետիսյան, է. Գ. Աֆրիկյան (խորհրդի նախագահ), Դ. Ն. Բաբայան, Ա. Լ. Թախտաջյան, 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. Акоян, Е. С. Арутюнян (ответ. секретарь), Э. К. Африкян, (главный редактор), О. Г. Баклаваджян, А. Ш. Галстян (зам. главного редактора), В. О. Казарян, С. О. Мовсисян.

Редакционный совет. А. С. Аветян, В. Ш. Агабабян, Н. П. Акрамовский, Э. К. Африкян (пред. совета), Д. Н. Бабаян, 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.

Հոտ 407

ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱՐԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆՐԱՆՈՒՄ

Հիմնադրվել է 1946 թ.

Հրատարակվում է տարեկան 12 անգամ

Համար XXXVII, № 10

ԵՐԵՎԱՆ

Հոկտեմբեր, 1984 թ.

Բ Ո Վ Ա Ն Դ Ա Կ Ո Ւ Թ Յ ՈՒ Ն

Փորձառական

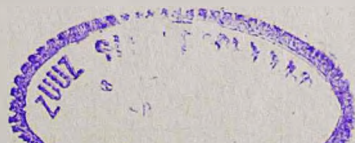
Մախանյան Վ. Ա. Բակտերիալ սրագմիդների ռեպլիկացիան	807
Աբրիկյան Է. Գ. Մանրևարանական հղանակով սննդամթերքների և կերային նյութերի ստացման որոշ խնդիրները	825
Պալանյան Ա. Հ., Կաբադյան Է. Ա., Վանյան Պ. Ա. $F_1 \cdot F_2 \cdot H$ -Անթ-ազային կոմպլեքսի ֆունկցիայի օսմոտիկական կարգավորումը Escherichia coli-ի մոտ	836
Տեր-Պապարյան Ս. Շ. Կաթնաթթվային բակտերիաների էկոլոգիան՝ կախված նրանց խմորման ակտիվությունից	843
Երզնկյան Լ. Հ., Ակոպովա Ա. Բ., Ֆիրուսկյա Մ. Ի., Պամարցևա Ն. Վ. Յուդորդի կաթնաթթվային բակտերիաների վրատման սինթեզի ունակությունը	847
Կուրանդյան Ա. Շ., Վաթիբյան Ա. Յու. Պալարարակտերիաների մուտանտային ձևերի սպիտակուցային կազմի ուսումնասիրությունը էլեկտրոֆորեզի մեթոդով	850
Մանրաշյան Է. Ա., Դավթյան Մ. Ա. Լեմնաթթուների մետաբոլիկ պոլի և պրոլինօքսիդազայի սինթեզը խմորասնկերում	853
Հովհաննիսյան Բ. Հ., Վարդանյան Հ. Ա., Գյուգալյան Մ. Գ., Կարապետյան Հ. Հ., Մուրադյան Վ. Մ. Սեանա լճի հյմնական վտակների հիդրոֆիզիկական բնութագրերը և հետևորոշող բակտերիաների բուսակը	858
Ասրադյան Ն. Ն., Ավայան Բ. Պ. Դեղձենու ալգու հրդի պահպանման սիստեմի ազդեցությունը նրա միկրորիզոգիական ակտիվության վրա Արարատյան հարթավայրի նախալեռնային գոտու պայմաններում	863
Մուրադյան Վ. Մ., Բուսատյան Ք. Ս. Գիհիների վերականգնումը շաշատանում	868
Մարգարյան Վ. Ա., Գյուլյանյան Մ. Ա. Ծխախոտի ցենոտիպական վարիանսի բուզապրամաբերը և մի քանի քոնակական հատկանիշների ժառանգելիությունը	872
Պազույան Ն. Լ., Արշալյան Ա. Վ., Բականյան Ա. Վ. Ստրևտրային փետրափոխության ազդեցությունը քոնակի թաղանթների պայմանական ռեֆլեկտոր պորժունեություն վրա	878

Համառոտ հաղորդումներ

Էմինյան Բ. Ս., Իրիգորյան Բ. Ս., Դավթյան Մ. Ա. Միկրոէլեմենտների պարունակության փոփոխությունը սպիտակ առնետների ներքին օրգաններում «Արզնի» հանրային ջրի ազդեցության ներքո	883
Շիկազույան Վ. Գ. Ազոտաբույսերի տարրեր առնակների ներարկենազային ակտիվության մասին	886
Դալաշյան Բ. Մ., Դավթյան Ա. Բ., Հաբադյանյան Ժ. Շ., Հակոբյան Մ. Ա. Ֆիտոպաթոգեն բակտերիաների կ'նստոնակության պահպանման մասին	888
Մելիքոնյան Ա. Ա. Աղուտի կուտակումը ինտենսիվ տիպի խաղողի նոր սորտերում՝ կախված թվերի ծանրարևոնվածությունից	890

Ունիտարներ

Ալեկսանյան Ն. Ռ., Մարկոսյան Է. Ս. Սպիտակուցի, բետա-մրգաֆուրանոզիդազայի և պիրմենայի կենսասինթեզը Aureobasidium pullulans-ը ֆոսֆորի տարրեր ազդեցության վրա աճեցնելիս	892
--	-----



Զանժբեկովա Վ. Գ., Առլանյան Ս. Գ. <i>Corynebacterium glutamicum</i> վերամշակման ֆերմենտների ակտիվությունը՝ կապված լիզինի բիոսինթեզի հետ	553
Կուզնեցովա Ե. Ի., Խաչատրյան Ա. Ա. Նոր պսիխոֆիլ սպորազոյացնող բակտերիաները և նրանց հատկությունները	554
Բուդաղյան Ե. Ղ., Գալաշյան Ռ. Մ., Հուրուբյուկյան Ժ. Շ., Դավթյան Ա. Ռ. Ֆիտոպաթոգեն բակտերիաների ազատ ամինաթթուների կազմը	555
Ալեքսանյան Ա. Պ. Առվույտի պալարաբակտերիաների աուքսոտրոֆ մուտանտների արդյունավետությունը և ազոտֆիքսող ակտիվությունը	556

СОДЕРЖАНИЕ

Саконян В. А. Репликация бактериальных плазмид	807
Африкян Э. К. Некоторые проблемы микробиологического получения пищевых и кормовых продуктов	825
Тричунян А. А., Карагулян Э. А., Ванян П. А. Осмотический контроль функции H^+ — АТФ-азного комплекса F_1-F_0 у <i>Escherichia coli</i>	836
Тер-Казарян С. Ш. Экология молочнокислых бактерий в свете их бродительной активности	843
Ерзинкян Л. А., Акопова А. Б., Цибульская М. И., Поморцева Н. В. Витамин-синтезирующая способность молочнокислых бактерий йогурта	847
Налбандян А. Д., Гарибян А. Ю. Электрофоретическое изучение белкового состава мутантов клубеньковых бактерий	850
Манташян Э. А., Давтян М. А. Пропионоксидазная активность и изменение метаболического пула аминокислот в условиях индуцированного синтеза фермента дрожжами <i>Saccharomyces vini</i>	853
Оганесян Р. О., Варбоян Г. С., Гезалян М. Г., Карапетян А. А., Мурадян В. М. Гидрофизическая характеристика и численность гетеротрофных бактерий притоков озера Севан	858
Саркисян Е. Е., Авакян Б. П. Влияние системы содержания почвы персикового сада на микробиологическую активность в условиях предгорья Араратской равнины	863
Мурадян В. М., Бусатын К. С. Постоперационное восстановление древовидных можжевельников в Армении	868
Маркарян В. А., Гюльхасян М. А. Компоненты генотипической вариабельности и наследуемость некоторых количественных признаков у табака	872
Погосян Н. Л., Аршакян А. В., Восканян А. В. Влияние стрессорной линьки на условнорефлекторную деятельность домашней птицы	878

Краткие сообщения

Эминян Р. С., Григорян Р. А., Давтян М. А. Изменение содержания микро-элементов во внутренних органах белых крыс под влиянием минеральной воды «Арзни»	883
Микогосян В. Г. О нитрогеназной активности различных видов азотобактера	885
Галачьян Р. М., Давтян А. Р., Арутюнян Ж. Ш., Акопян М. А. О сохранении жизнеспособности фитопатогенных бактерий	888
Мелконян А. А. Накопление азота у новых сортов винограда интенсивного типа в зависимости от нагрузки кустов	890

Рефераты

Александрян Е. Р., Маркосян Л. С. Биосинтез белка, бета-фруктофуранозидазы и пигмента при культивировании <i>Aureobasidium pullulans</i> на различных источниках фосфора	892
--	-----

Джанибекова В. Г., Аслаян С. Г. Активность ферментов переаминирования <i>Corynebacterium glutamicum</i> в связи с биосинтезом лизина	85
Кузнецова Е. И., Хачатурян А. А. Новые психрофильные спорообразующие бактерии и их свойства	89
Будагян Е. Г., Галачян Р. М., Арутюнян Ж. Ш., Давтян А. Р. Состав свободных аминокислот фитопатогенных бактерий	89
Алексян А. П. Эффективность и азотфиксирующая активность ауксотрофных мутантов клубеньковых бактерий люцерны	89

CONTENTS

Experimental

<i>Sakanyan V. A.</i> Replication of Bacterial Plasmids	807
<i>Afrtkian E. G.</i> Some Problems of the Microbiological Production of Food and Feed Products	825
<i>Trchountan A. A., Karagullian E. A., Vantian P. A.</i> Osmotic Control of the Function of $F_1F_0 H^+$ -ATP-ase Complex in <i>Escherichia coli</i>	836
<i>Ter-Ghazarian S. Sh.</i> Ecology of Lactic Acid Bacteria in the Light of Their Fermentative Activity	843
<i>Yerznkian I. H., Akopova A. B., Tstbul'skaya M. I., Pomortseva N. V.</i> Vitamin Synthesizing Ability of Yogurt Lactobacteria	847
<i>Nalbandian A. Dz., Gharibian A. Yu.</i> Electrophoretic Protein Patterns of Nodule Bacteria Mutants	850
<i>Muntashian E. A., Davtian M. A.</i> Metabolic Pool of Amino Acids and Proline Oxydase Synthesis in Yeasts	853
<i>Hovhannitsyan R. H., Vardanyan H. S., Gyozalyan M. G., Karapetyan H. H., Muradyan V. M.</i> Some Hydrophysical, Hydrochemical and Microbiological Characteristics of the Lake Sevan Main Influxes: Arpa, Gavaraget, Masrik and Makenis	858
<i>Sargsian E. E., Avagian B. P.</i> Peach Garden Soil Preservation System Influence on the Microbiological Activity under Conditions of the Ararat Valley Foot-Hills	863
<i>Muradian V. M., Busatlian K. S.</i> Renewal of Junipers with Shoots in Armenia	868
<i>Margarian V. A., Glukhasian M. A.</i> Components of the Genotypical Variance and the Heritability of Some Quantitative Characteristics in Tobacco	872
<i>Poghosian N. L., Arshakian A. V., Voskanian H. V.</i> Influence of Stress Fade on the Conditioned Reflex Activity of Domestic Poultry	878

Short Communications

<i>Eminian R. A., Grygorian R. A., Davtian M. A.</i> Dynamics of Some Microelements Changes in White Rats Several Organs under the Influence of Internal Receiving of Carbonic Chloride—Hydrocarbonate Sodium Siliceous Boron—Containing "Arzni" Mineral Water	883
<i>Nikoghosian V. G.</i> On Nitrogenase Activity of Different Kinds of Azotobacter	886
<i>Galuchian R. M., Davtian A. R., Harutunian Zh. Sh., Hakobian M. A.</i> On the Preservation of Phytopathogenous Bacteria Viability	888
<i>Melkonian A. A.</i> Accumulation of Asote in New Sorts of Intensive Type Grape in Dependence on the Bushes Loading	890

Abstracts

<i>Aleksanian E. R., Markosian L. S.</i> Biosynthesis of Protein, Beta—Fructofuranosidase and Pigment during the Cultivation of <i>Aureobasidium pullulans</i>	892
<i>Jantbecova V. G., Aslanian S. G.</i> <i>Corynebacterium glutamicum</i> Reamination Enzymes Activity in Connection with Lysine Biosynthesis	893

<i>Kouznetsova E. I., Khachatourian A. A. New Psychrophilic Sporeforming Bacteria and Their Properties</i>	894
<i>Budaghian E. Gh., Galachian R. M., Harutiunian Zh, Sh., Davtian A. R. Free Amino Acids Composition of Phytopatogenous Bacteria</i>	895
<i>Aleksanian A. P. Efficiency and Nitrogen—Fixing Activity of Alfalfa Nodule bacteria uxotrophic Mutants</i>	896

УДК 577.213:579.252.5

РЕПЛИКАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПЛАЗМИД

В. А. САКАНЯН

Обобщены литературные данные о механизмах репликации ДНК и генетической организации репликационных систем многокопийных и малокопийных плазмид. Имеющиеся данные рассмотрены в свете моделей «позитивного» и «негативного» контроля репликации.

Ключевые слова: плазмиды бактериальные, репликация, инициация репликации, контроль репликации, несовместимость плазмид, ДНК.

Плазмиды присутствуют в бактериальной клетке в виде физически разделенных от хромосомы хозяина кольцевых молекул ДНК. Репликация плазмидной ДНК идет полуконсервативно с фиксированной точки, называемой началом вегетативной репликации или *origin*. Репликация исследованных плазмид ColE1, R1, F'lac, λ dv и NR1 осуществляется в течение всего клеточного цикла, и плазмидные матрицы для репликации в клетке отбираются случайным образом. Автономность и способность плазмид стабильно наследоваться в клетках при строго определенном числе копий предполагает, что собственно репликация ДНК и распределение плазмид в дочерние клетки подвержены регуляции. Анализ делеционных мутантов и рекомбинантных производных различных плазмид показывает, что для автономной репликации и контроля числа копий необходим небольшой участок генома, включающий *origin* и прилегающие к нему последовательности ДНК. Этот факт имел принципиальное значение для проведения прецизионных исследований, так как отсутствие несущественных районов в анализируемой плазмидной ДНК снимает нежелательное влияние их генетического фона.

Организация репликационной системы плазмид. Наиболее хорошо изучена репликационная система плазмиды ColE1, имеющей молекулярную длину 6,4 тысячи пар оснований (т. п. о.). Участок ДНК величиной всего 580 пар оснований (п. о.) необходим для автономной репликации плазмиды pBR345—mini-производной плазмиды ColE1 [4, 8]. Репликация ДНК ColE1 иницируется в районе *origin*, идет однонаправленно и завершается в течение двух минут [50, 70]. В обычных условиях плазмидная ДНК присутствует в клетках в 20—30 копиях, но при инкубации клеток с хлорамфениколом может амплифицироваться до 3000 копий [11]. Плазмидная репликация происходит также в обработанных хлорамфениколом клетках при их инфекции гибридными *fac-ColE1* репликаонами [19, 35] и в бесклеточных экстрактах, полученных из бесплазмидного штамма [87]. Эти данные свидетельствуют о том, что как в условиях *in vivo*, так и *in vitro* в синтезе ДНК ColE1 не-

участвуют позитивно действующие полипептиды, кодируемые самой плазмидой. Однако описаны *ts* мутации, нарушающие репликацию плазмиды ColE1 [13, 37]. Поэтому можно полагать, что в репликации ColE1 участвует все же белок, кодируемый плазмидой, либо такие *ts* мутации возникли в результате нарушения вторичной структуры молекул РНК, участвующих в репликации ДНК (см. дальше).

Генетические и биохимические исследования показывают, что в репликации плазмиды ColE1 большое значение имеют продукты, кодируемые хромосомой хозяина. Репликация плазмиды ColE1 в клетках и бесклеточных экстрактах зависит от ДНК-полимеразы I [38, 74]. Синтез ДНК ColE1 чувствителен к рифампицину, в условиях *in vitro* требует всех четырех рибонуклеотид-трифосфатов и полностью блокируется антителами к РНК-полимеразе [12, 36]. В синтезе ДНК ColE1 участвует также РНК-аза H [32]. Этот фермент образует 3'-ОН концы в результате эндонуклеотического расщепления РНК в РНК/ДНК гибридах [7]. Плазмида ColE1 испытывает потребность в ДНК-полимеразе I, РНК-полимеразе и РНК-азе H на ранних этапах репликации ДНК [32]. Это позволило предположить и в последующем доказать, что инициация репликации ColE1 осуществляется через образование РНК-затравок.

РНК-полимераза катализирует на Н-нити образование уникального транскрипта, расположенного в районе ДНК до *origin* репликации. (В синтезе ДНК ColE1 тяжелая Н-нить является ведомой, а легкая L-нить—ведущей). Синтез транскрипта идет в том же направлении, в котором движется репликационная вилка (рис. 1). После процессинга транскрипта с помощью РНК-азы H образуется продукт длиной 555

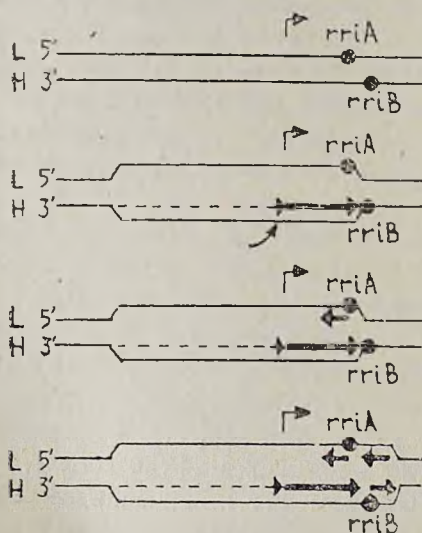


Рис. 1. Инициация репликации ДНК ColE1. Пунктирной стрелкой обозначена РНК-затравка для ДНК-полимеразы I; изогнутой стрелкой—завершение процессинга РНК-затравки РНК-азой H; длинной толстой стрелкой—6S L-фрагмент; короткой толстой стрелкой—дискретные РНК-затравки для ДНК-полимеразы III; прямоугольной стрелкой—*origin* и направление репликации.

нуклеотидов, который служит затравкой для ДНК-полимеразы I при синтезе по крайней мере первых 100 нуклеотидов [33]. Точка на ДНК, соответствующая переходу РНК в ДНК, собственно является сайтом *origin*, как это показано в опытах *in vitro* [5]. Синтезируемая промежуточная форма репликационной нити известна под названием 6S L-

фрагмента [65]. Синтез ведущей нити далее элонгируется с помощью ДНК-полимеразы III [74].

На ранних стадиях синтеза ДНК важно также участие ДНК-гиразы [24]. Если реакция протекает на открытых кольцевых молекулах ДНК ColE1 в присутствии РНК-полимеразы, РНК-азы H и ДНК-полимеразы I, но без ДНК-гиразы, синтеза ДНК не наблюдается [32].

Образование однонитевого 6S L-фрагмента [65] и тот факт, что после формирования РНК-затравки репликация становится устойчивой к рифампицину и синтез ДНК приобретает прерывистый характер [75], позволили предположить участие в репликации ColE1 еще одного механизма, аналогичного превращению однонитевой ДНК некоторых фагов *E. coli* в двунитевую молекулу ДНК.

Известно, что конверсия ДНК фага ΦX174 является рифампицин-устойчивым процессом и происходит с участием праймосомы, состоящей из семи белков—продуктов генов *dnaG* (праймазы), *dnaB*, *dnaC*, а также полипептидов *p*, *p'*, *p''* и *i* [44]. Праймосома формируется в специфическом месте однонитевой ДНК в результате иницирующего взаимодействия *p'* белка с определенной последовательностью фаговой ДНК. Двигаясь вдоль ДНК, праймосома генерирует короткие РНК-затравки.

L- и H-нити ДНК плазмиды ColE1 и ее производного pBR322, клонированные на однонитевых ДНК-содержащих фагах, оказались способными превращаться в двунитевую ДНК [60, 94]. Конверсия ДНК иницируется с двух специфических сайтов на L- и H-нитях, обозначенных *rrfA* (rifampicin resistant initiation) и *rrfB* соответственно. Существование двух иницирующих сайтов на противоположных нитях ДНК ColE1 позволяет предположить значительную независимость инициации двух нитей. Возможно, по ходу синтеза 6S L-фрагмента расплетается ДНК и открывается сайт *rrfA* на L-нити (рис. 1). Праймосома связывается с этим сайтом и генерирует синтез коротких РНК-затравок H-нити. Поскольку 3'-ОН конец 6S L-фрагмента перекрывает район локализации *rrfB* сайта в H-нити, то этот сайт в свою очередь может иницировать связывание праймосомы с последующим синтезом РНК-затравок L-нити.

Элонгация синтеза ДНК ColE1 осуществляется с помощью ДНК-полимеразы III [74]. По достижении ДНК-полимеразы III терминирующего участка ДНК, которым является все тот же район *origin*, она возможно, участвует в удалении РНК-затравки. После достраивания бреши в L-нити с помощью ДНК-полимеразы I концы нитей соединяются ДНК-лигазой [29]. Терминация репликации представляется более сложным процессом, который еще требует детального изучения.

Ряд данных говорит против участия иницирующих сайтов *rrfA* и *rrfB* в *in vivo* вегетативной репликации плазмиды ColE1. Делеционные мутанты плазмиды pBR322, лишенные этих сайтов, несмотря на 3-кратное уменьшение числа копий, стабильно наследуются в дочерних клетках [92]. Предполагается, что при плазмидной репликации *p'*-контактирующими сайтами могут выступать и менее специфические последовательности. Возможно, *rrfA* и *rrfB* являются сайтами конверсии мо-

биллизованной однокитевой ДНК плазмиды ColE1 в двукитевую форму ДНК в реципиентной клетке [60].

Особый тип плазмид представлен в виде конъюгативного R-фактора R6K. Формально R6K может рассматриваться как промежуточная форма между многокопийными и малокопийными плазмидами. Несмотря на большой размер (38 т. п. о.), эта плазида представлена в клетках в 20—30 копиях. Плазида R6K характеризуется необычным типом репликации. В клетках плазида R6K реплицируется преимущественно с одного origin—*oriA*, несмотря на присутствие в геноме еще двух участков—*oriB* и *oriY* [17, 51]. Точки начала репликации расположены на расстоянии ~1 т. п. о. друг от друга, причем *oriY* занимает центральное положение между двумя другими origin. Репликация ДНК R6K идет однонаправленно в сторону асимметрично расположенного по отношению к *oriA* уникального терминирующего сайта. Затем репликация следует в другом направлении из того же origin и завершается в сайте терминации [16, 51]. Такой последовательно двунаправленный тип репликации, возможно, характерен только для плазмиды R6K, так как клонированный в составе ColE1 терминирующий участок ДНК не придает репликации этой плазмиды двунаправленного характера, хотя наблюдается задержка в движении репликационной вилки [41].

Фрагмент ДНК размером 2,5 т. п. о., содержащий сайты *oriA*, *oriB* и *oriY*, может быть выделен в виде автономного репликона [42]. Для репликации ДНК R6K *in vitro* необходим транс-действующий фактор, так как синтез ДНК протекает только в присутствии экстракта из R6K-штамма. Более того, если экстракт получен из штамма, содержащего *ts* по репликации плазмиды R6K, то и *in vitro* синтез ДНК будет носить температурочувствительный характер [30]. Этот позитивно действующий фактор был идентифицирован как белок с молекулярным весом 35.000 и обозначен π [40]. Ген *pi*, кодирующий белок π , локализуется рядом с *oriY*. Ген *pi*, будучи в клонированном состоянии, обеспечивает автономную репликацию фрагмента ДНК, который содержит только *oriY*, но не *oriA* или *oriB* [43]. Зависимость инициации репликации в участках *oriA* и *oriB* от присутствия в ДНК участка *oriY* предполагает наличие цис-активного события, происходящего в районе *oriY*. Это может быть транскрипция РНК в направлении *oriA* и *oriB* с промоторов, локализованных в районе *oriY*. Образующиеся транскрипты или опосредованные ими процессы могут запускать вегетативную репликацию с *oriA* и/или *oriB*. При отсутствии участков *oriA* и *oriB* или в обычных условиях с низкой частотой инициация репликации осуществляется непосредственно и с *oriY* [15, 31].

Другие крупные плазмиды также имеют сложную организацию репликационной системы. В геноме F-фактора (94 т. п. о.) имеется два района, способных автономно существовать в виде mini-репликона. Один из них расположен в районе 32,6—35,4 F [47], другой в районе 40,3—49,4 F карты плазмиды F [49]. (Для координат карты F-фактора принято обозначение F). Наследование mini-F репликона, несущего район 32,6—35,4 F, характеризуется нестабильностью, зависимостью от ДНК-полимеразы I и устойчивостью к акридиновому окрасу [47]. По-

видимому, этот район определяет вторичные репликационные функции, тогда как аналогичный район в геноме ColV-K94 выступает как первичный репликон [55].

Детальный анализ mini-F репликона, несущего район 40,3—49,4 F, показал, что он содержит два участка origin. Один из них—ori-1, или oriV, локализован при 42,6 F [21], а другой—ori-2, или oriS,—при 45,1 F [36]. Как ori-1, так и ori-2 функциональны в клетках [21]. Делетированием участка ori-1 из mini-F репликона получен более маленький репликон величиной всего 2,3 т. п. о., который охватывает район ДНК с координатами 44,1—46,4 F и содержит участок ori-2 [36, 59]. Участок ori-2 поддерживается во фрагменте величиной 1140 п. о. в автономном состоянии, если в клетке присутствует транс-действующий фактор, кодируемый сцепленным с ori-2 сегментом ДНК [84]. Этим фактором может быть белок с мол. весом 29.000 дальтон, который в клетках синтезируется в небольшом количестве [59].

В геноме R-фактора R6-5 (100 т. п. о.) также обнаружено три участка—герА, В и С, которые определяют функции наследования и поддержания плазмидной ДНК [82]. Однако для автономной репликации плазмиды достаточен небольшой участок ДНК, несущий герА, origin и ген *ser*, контролирующий число копий [81].

Способность ряда плазмид стабильно наследоваться в неродственных бактериях свидетельствует о независимости их репликационных функций от функций бактерии-хозяина и/или биологической адаптации их репликационных систем к различному цитоплазматическому окружению. К таким плазмидам с широким спектром хозяев относятся представители Inc P, Q и W-групп грам-отрицательных бактерий, а также некоторые плазмиды грам-положительных бактерий. Наиболее хорошо изучена репликационная система Inc P плазмиды RP4 или RK2.

В отличие от всех описанных плазмид у RP4 в районе origin не сгруппированы все функции, необходимые для автономной репликации [66, 78]. Минимальный район ДНК, который может быть изолирован из генома RP4 в виде автономного репликона без прерывания естественного хода жизненно важных участков ДНК, имеет величину 8 т. п. о. [2]. Он включает в себя два ранее идентифицированных участка—oriV, с которого начинается односторонняя репликация ДНК [52], и *trfA* (trans-acting replication function), который кодирует транс-действующий продукт, необходимый для автономной репликации mini-плазмид, содержащих только район origin величиной около 400 п. о. [22, 79]. Информация, кодируемая этими двумя участками, достаточна для наследования плазмидного генома не только в клетках *E. coli*, но и в клетках таких неродственных бактерий, как *Pseudomonas* и *Rhizobium* [2, 67]. Разбросанный характер генов репликационной системы показан и для других Inc P плазмид—R751 [53] и R906 [1]. Возможно, это является особенностью плазмид с широким спектром хозяев.

В отличие от плазмид с узким спектром хозяев инициация репликации IncQ плазмиды с широким спектром хозяев RSF1010 (8,9 т. п. о.) в системе *in vitro* не зависит от РНК-полимеразы клетки хозяина. Кро-

ие того, добавление к бесклеточным экстрактам *P. aeruginosa* ДНК-полимеразы I и ДНК-гиразы *E. coli* частично восстанавливает репликацию плазмиды ColE1 [18]. Возможно, именно различие в специфичности этих ферментов у грам-отрицательных бактерий ограничивает спектр репликации ColE1-подобных плазмид с узким спектром хозяев в пределах Enterobacteriaceae и родственных микроорганизмов.

Регуляция репликации плазмидной ДНК. Впервые существование активного механизма регуляции репликации было продемонстрировано Жакобом с соавт. [34]. Они выдвинули концепцию репликона, согласно которой молекула ДНК является регуляторной единицей репликации. В контроле репликации участвуют два различных компонента — структурный ген, кодирующий транс-действующий белок-инициатор, и цис-активный оператор репликации (репликатор), который специфически узнается инициатором. Эта гипотеза, известная под названием модели «позитивной» регуляции репликации, предполагает также существование специфической связи между реплицирующейся ДНК (в участке гена инициатора) и мембраной. Из-за присутствия на мембране строго определенного числа таких сайтов в клетке одновременно может находиться только ограниченное число копий одной и той же плазмиды. Две родственные плазмиды, конкурируя за эти сайты, исключают репликацию друг друга, что фенотипически выражается в их несовместимости.

Предложена также модель «негативной» регуляции репликации ДНК [64], по которой ключевая роль принадлежит белку-репрессору (или другому транс-действующему элементу). Репрессор специфически соединяется с оператором и ингибирует инициацию синтеза ДНК. Во время клеточного роста снижается критический уровень репрессора (поэтому модель еще называют «моделью разведения репрессора»), и иницируется новый раунд репликации. Структурный ген для репрессора располагается непосредственно за точкой репликации, и он сразу же активируется после дупликации ДНК. Родственные плазмиды имеют одинаковый ген репрессора и одинаковую мишень для него. Поэтому при соответствующей концентрации репрессора ингибируется синтез ДНК одной из плазмид, что также фенотипически выражается в их несовместимости.

Исследования, проведенные на различных плазмидах, показывают, что действительная картина регуляции репликации ДНК значительно сложнее. Не вызывает лишь сомнения (как это следует из обеих моделей), что плазмидный репликон кодирует информацию, функционально значимую для своей репликации в цис- и транс-положениях.

Два участка генома ColE1 кодируют информацию, необходимую для регуляции репликации. Один из них расположен до origin репликации и входит в состав минимального района ДНК, способного обеспечить автономную репликацию плазмиды [28]. Этот участок промоторирует синтез транскрипта РНК I длиной 108 нуклеотидов [48]. Транскрипция РНК I начинается с сайта, расположенного в L-нити и терминируется тесно с сайтом инициации транскрипции РНК-затравки для ДНК-полимеразы I [56]. Таким образом, кодирующая РНК I после-

доказательность ДНК полностью перекрывается на противоположной нити с кодирующей РНК-затравку последовательностью. Анализ кодирующих возможностей района расположения РНК-затравки и РНК I показывает, что этот район не транслируем из-за присутствия терминирующих кодонов трансляции в обоих направлениях и во всех трех рамках считывания [62]. Это позволило предположить, что регуляция инициации репликации плазмиды ColE1 происходит с участием РНК I [14].

Доказательство участия РНК I в регуляции репликации ДНК ColE1 основано на биохимических и генетических данных. Во-первых, очищенный транскрипт РНК I в условиях *in vitro* блокирует созревание РНК-затравки для ДНК-полимеразы I образованием РНК/РНК гибрида [88]. Во-вторых, мутации, изменяющие число копий ColE1, картируются в кодирующей РНК I последовательности ДНК [14, 45, 58, 85]. Спонтанная реверсия, вернувшая число копий одного из инсерционных высококопийных мутантов на прежний уровень, связана с потерей вставки и синтезом нормального транскрипта РНК I [14].

Некоторые высококопийные мутации плазмиды ColE1 оказались транс-рецессивными в отношении плазмиды дикого типа [57, 69]. Снижение числа копий высококопийных мутантов в присутствии ингибирующего продукта, кодируемого плазмидой дикого типа, является доказательством негативного характера регуляции репликации ДНК ColE1. Увеличение числа кодирующих РНК I последовательностей путем клонирования соответствующего участка ДНК в несущественном районе плазмиды ColE1 приводит к пропорциональному снижению числа плазмидных копий. При этом пропорционально увеличивается и количество транскрибируемых молекул РНК I [57]. Такая зависимость числа копий плазмиды от числа кодирующих РНК I последовательностей свидетельствует о значении «критического уровня» РНК I транскриптов в негативной регуляции репликации.

Чтобы выделить транс-доминантные мутанты плазмиды ColE1, имеющие измененную мишень для потенциального репрессора плазмидной репликации, Цезарени с сотрудниками разработали изящный подход [9, 45], используя для этой цели так называемую фазмиду—гибрид, полученный *in vivo* интеграцией в геном фага λ плазмиды, содержащей att сайт. Такая молекула упаковывается в головку фага λ , и соответственно плазмидные последовательности ДНК могут быть внесены в различные бактерии в результате фаговой инфекции. Фазмида способна размножаться на гомоиммунном лизогене вследствие тигрования фагового репрессора (в клетке имеются дополнительные копии оператора λ , возникающие в результате репликации гибрида с плазмидного origin). Присутствие в лизогенном штамме резидентной плазмиды той же группы несовместимости предотвращает литическое развитие фазмиды, так как ее репликация ингибируется репрессором резидентной плазмиды. Следовательно, только фазмида с мутировавшей мишенью для репрессора будет спасаться от ингибирования и она будет вирулентна по отношению к клеткам, содержащим резидентную плазмиду. По этой схеме были получены svir мутанты (supervirulent).

Если мутанты способны существовать в виде автономного репликона, то плазмидную часть можно эксцизировать из фазмиды в клетках с конститутивным синтезом λ -интегразы.

О локализации мутаций в мишени для репрессора плазмиды ColE1 говорит тот факт, что многокопийные *svi^r* варианты транс-доминантны—число их копий не уменьшается в присутствии в клетке плазмиды дикого типа. В то же время *svi^r* мутанты совместимы с плазмидой дикого типа и друг с другом, но несовместимы в отношении собственного репликона. Следовательно, у *svi^r* мутантов изменена не только мишень для репрессора, но каждый из них синтезирует к тому же измененный репрессор, который неактивен в отношении мишени родительской плазмиды и других *svi^r* мутантов, но активен в отношении собственной мишени [9]. Аналогичное заключение сделано и на основании анализа высококопийных производных плазмиды ColE1, предварительно выделенных как *inc⁻* мутанты [85]. Мутации *inc⁻* и *svi^r* оказались кластрированными в двух местах кодирующей РНК I последовательности ДНК [45, 85].

Таким образом, мутация в мишени вызывает комплементарное изменение самого репрессора. Однако при таком изменении специфичности механизма контроля числа копий и несовместимости сам механизм контроля остается функциональным. Это является примером биологической адаптации плазмидного генома—несмотря на эволюцию, геном обеспечивает сохранение своей функции [45].

Каким же образом РНК I выполняет роль репрессора в регуляции репликации? Возможный механизм был подсказан первичной структурой самого транскрипта [45]. РНК I имеет высокую степень внутренней симметрии [56], которая в нормальных физиологических условиях может придать молекуле форму тРНК—структуры с тремя двуниевыми стеблями и тремя однонитевыми петлями (рис. 2). Такая же структура может формироваться в комплементарной РНК I области предшественника РНК-затравки. Структура «клеверного листка» способна к активному взаимодействию с нуклеиновой кислотой по типу «кодон—антикодон» взаимодействия между тРНК и мРНК.

Важность вторичной структуры РНК I в осуществлении ингибирующего действия транскрипта на инициацию репликации вытекает из следующих наблюдений. Большинство одиночных мутаций, приводящих к повышению числа копий ColE1-производных, затрагивают петли и представляют собой трансзицию Г-Ц→А-Т [45, 46, 85]. Известно, что свободная энергия водородных связей между А и У нуклеотидами слабее, чем между Г и Ц. Поэтому у мутантов можно ожидать снижение контактирующей способности петель. Действительно, у высококопийных мутантов изменения, затрагивающие петли «клеверного листка», снижают способность РНК I ингибировать формирование РНК-затравки и снижают чувствительность самой затравки к ингибирующему действию РНК I [85]. Причем следует отметить, что ингибирующее влияние РНК I не связано с воздействием на инициацию или элонгацию транскрипции предшественника РНК-затравки, а обусловлено нарушением формирования РНК/ДНК гибрида между затравкой и

матрицей ДНК [88] из-за нарушения процессинга РНК-затравки [86].

Петли транскрипта РНК I имеют разную функциональную значимость, так как транс-рецессивные высококопийные мутации картируются в районе расположения петли III [57, 69], тогда как транс-доминантные мутации—в центральной петле II [45, 46]. Это можно объяснить только тем, что мутации в петле III влияют на способность репрессора ингибировать репликацию, но не влияют на чувствительность РНК-затравки к действию транскрипта РНК I, а мутации в петле II комплементарно отражаются как на свойствах репрессора, так и на мишени для него. Возможно, всего 7 оснований определяют специфичность взаимодействия между РНК I-репрессором и РНК-затравкой—5 оснований в петле II и 2 основания в петле III «клеверного листка» [46].

Последовательность ДНК, соответствующая стеблю и петле I «клеверного листка», гомологична обратному ориентированному участку в кодирующей РНК-затравку последовательности ДНК. Этот участок ДНК отстоит от основания стебля петли I приблизительно на 70 нуклеотидов в сторону *origin*. Спаривание оснований между указанными гомологичными участками предшественника РНК-затравки может привести к образованию более стабильной структуры с петлей IV (рис. 2).

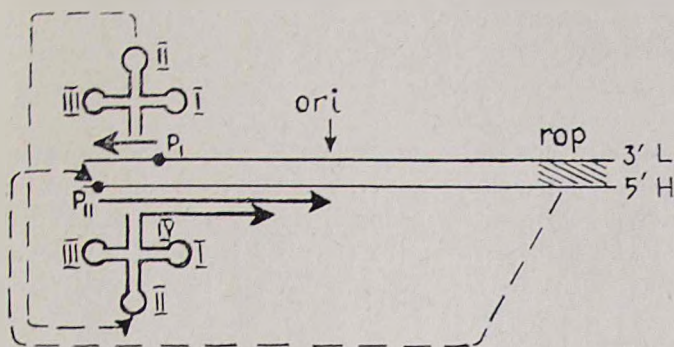


Рис. 2. Модель негативной регуляции инициации репликации плазмиды ColE1. Сокращения обозначают: P_I —промотор для транскрипта РНК I; P_{II} —промотор для РНК-затравки; I, II, III—петли в РНК I и предшественнике РНК-затравки; IV—расположение петли IV в последовательности предшественника РНК-затравки.

чем стебель петли I. Не исключено, что именно спаривание РНК I с предшественником РНК-затравки блокирует образование потенциально более стабильной структуры в самом предшественнике, которая важна для созревания РНК-затравки [85].

Другой участок, вовлеченный в регуляцию репликации ColE1, расположен в несущественном для плазмиды районе. Делеции, затрагивающие участок ДНК на расстоянии приблизительно 600 п. о. за районом *origin* репликации, приводят к увеличению числа копий [90]. Это повышение копийности комплементируется родственной плазмидой дикого типа, что говорит о кодировании в делетированном участке диффундирующего продукта, негативно регулирующего репликацию в транс-положении. Продукт соответствующего гена, обозначенного *rop* (repressor of primer) ингибирует транскрипцию с клонированного про-

мотора предшественника РНК-затравки, но не транскрипта РНК I [10]. В *mini*-клетках *E. coli* удалось идентифицировать продукт гена *gor*. Им оказался небольшой полипептид из 63 аминокислот с мол. весом 6.500 дальтон. Однако в физиологических условиях белок, возможно, присутствует в виде димера.

Ингибирующим действием на транскрипцию предшественника РНК-затравки плазмиды ColE1 обладают также *Rop* белки плазмиды pMB1 (в большей степени) и плазмид ColK и CloDF 13 (в меньшей степени). Нуклеотидные последовательности генов *gor* плазмид ColE1 и pMB1 очень похожи, они отличаются лишь 11 одиночными заменами, расположенными в третьей позиции кода, что не изменяет кодируемую аминокислоту [10].

Таким образом, плаزمид ColE1 обладает двумя механизмами регуляции инициации репликации (рис. 2). Оба механизма осуществляются по принципу негативной регуляции с участием двух различных по природе веществ—молекулы РНК и молекулы низкомолекулярного полипептида. Биологический смысл такой дублированной регуляции и порядок функционирования регуляторных механизмов репликации пока остается неясным.

Поскольку репликация многокопийных плазмид типа ColE1 подвержена действию механизмов строгой регуляции, то используемый относительно таких геномов термин «плазмиды с ослабленным контролем регуляции» лишен смысла.

Минимальный репликон плазмиды R6K состоит из двух компонентов—гена *rig*, кодирующего позитивно-действующий белок π , и участка *ori π* , являющегося потенциальной мишенью для белка π [43]. Дополнительно можно отметить, что синтез ДНК R6K в условиях *in vitro* ингибируется избытком плазмидной ДНК [30]. Следовательно, активность белка π снижается из-за его титрования в результате связывания с большим количеством мишеней. С другой стороны, число копий *ori π ⁺*-плазмид *in vivo* не зависит от того, присутствует ли *rig* ген в одной копии, когда он интегрирован в хромосоме хозяина, или во многих копиях в составе многокопийной плазмиды [43]. Значит, концентрация белка π определяет копийность *ori π ⁺*-плазмид, что говорит об ауторегулируемом механизме экспрессии π белка. Эти данные позволили предположить двойственную функцию белка π —участие как в инициации репликации, так и в контроле числа копий плазмидной ДНК.

В участке *ori π* -плазмиды R6K обнаружено 8 прямых повторов, состоящих из 22 п. о. каждый (рис. 3), 7 из которых расположены друг за другом, а между ними находятся другие, более короткие повторы из 13 п. о. каждый [71, 72, 76]. Общее число коротких повторов достигает 14, два из которых располагаются в промоторе *rig* гена [25, 76]. Эти повторы отсутствуют в участках *ori α* и *ori β* [40]. Делеция одного из повторов в большом кластере приводит к снижению копийности репликона, тогда как при более протяженной делеции жизнеспособного репликона не образуется. Следовательно, повторы участвуют в регуляции репликации ДНК [40].

Повторы плазмиды R6K участвуют непосредственно в инициации репликации и регуляции инициации репликации с участием белка π [76 и Д. Хелински, личное сообщение]. Во-первых, такие же корот-

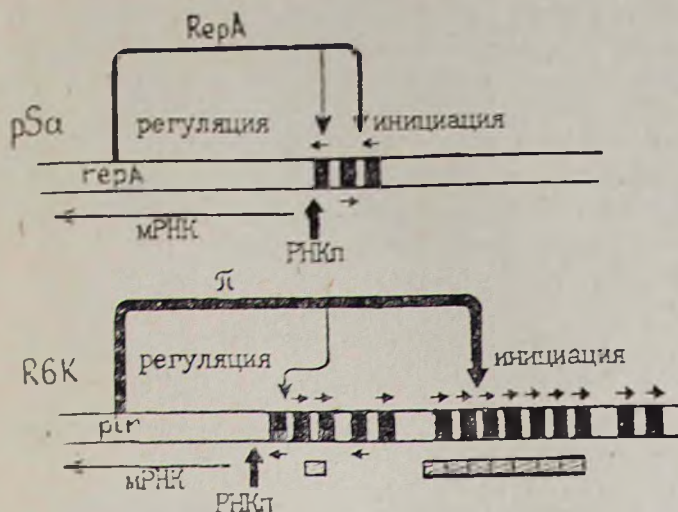


Рис. 3. Организация участка origin плазмид pSa и R6K. Черными прямоугольниками обозначены повторы из 13 п. о., короткие стрелки отмечают их ориентацию. Локализация 8 повторов из 22 п. о. отмечена заштрихованными прямоугольниками. Толщина стрелок отражает эффективность функционирования белков-инициаторов у двух плазмид.

кие повторы обнаружены в районе origin малокопийной плазмиды pSa, и плазмиды R6K (скорее кодируемый ею белок π) комплементирует дефектную по репликации гера мутацию родоотцовской плазмиды pSa. Во-вторых, мутации в прямых повторах влияют на связывание π белка с ДНК и инактивируют репликационную функцию origin репликона R6K. Различное число коротких повторов в origin плазмид pSa и R6K может отражать различную аффинность этих участков в отношении плазмидо-кодируемых белков-инициаторов репликации—RepA и π , соответственно, копияность этих плазмид. Предполагается, что в низких концентрациях белок π связывается с прямыми повторами и иницирует репликацию ДНК. В высоких же концентрациях белок связывается с повторами промотора своего же гена и препятствует связыванию РНК-полимеразы. Кроме того, белок π в высоких концентрациях может остановить непосредственно и репликацию ДНК, связываясь с повторами, участвующими в инициации репликации (Д. Хелински, личное сообщение).

Участие палиндромов и прилежащих последовательностей ДНК в регуляции инициации репликации показано и для F-фактора. В участке ori-2 имеется два взаимно обратно ориентированных кластера прямых повторов. Один кластер состоит из 4 повторов, каждый из которых содержит 19 п. о., другой—из 5 аналогичных повторов, по 22 п. о. (рис. 4). Между кластерами имеется кодирующая последовательность для белка в 29.000 дальтон и 3 последовательности с откры-

тыми рамками считывания для кодирования гипотетических белков в 9.000 дальтон [59, 83]. В этом же участке кроме *ori-2* находятся локусы *inc*, *cop* и *aos*⁺ (чувствительность к акридиноранжу). *Cop*-мутанты *mini-F* репликона можно разделить на два класса [68]: химически индуцированные мутации, которые картируются вне повторов, повышают копиюность более чем в 10 раз, не влияя на чувствительность к акридиноранжу и оказывают негативное действие на экспрессию локусов *incB* и *incC*; индуцированные транспозоном *Tn3* мутации, локализующиеся непосредственно в правом кластере повторов, приводящие к небольшому повышению копиюности, вызывающие устойчивую к акридиноранжу репликацию и инактивирующие функции локуса *incC*. Такое различие между копиюными мутантами говорит в пользу присутствия в указанном участке двух *cop* генов (рис. 4).

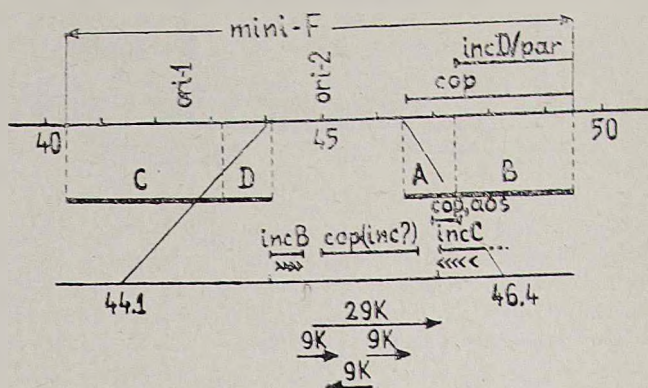


Рис. 4. Структура *mini-F* репликона. Открытыми стрелками отмечены прямые повторы, состоящие из 19 п. о. и 22 п. о. А, В, С, D—идентифицированные белки; 29 К—белок в 29.000 дальтон; 9 К—гипотетические белки в 9.000 дальтон.

Повышение числа копий *mini-F* репликона наблюдается и при удалении всех 5 повторов правого кластера [89]. Более того, соединение правого кластера повторов с остатком автономного репликона в любой из двух ориентаций в геноме *pBR322* приводит к уменьшению числа копий плазмиды при отключении *ColE1*—репликационных функций. Значит, правый кластер повторов участвует в контроле числа копий *mini-F* репликона независимо от ориентации [89].

Возможно, в регуляции числа копий плазмиды *F* участвует также район ДНК с координатами 46,2—49,2 F, так как делеция этого района приводит к повышению копиюности в 1,5—2 раза [68].

Несмотря на большую информацию о структурной организации жизненно важных участков генома *F*, тонкие механизмы регуляции репликации плазмидной ДНК во многом еще неясны. С одной стороны, в нем участвует транс-комплементирующий участок ДНК, кодирующий белок в 29.000 дальтон (возможно, действие белка позитивное). Будучи интегрированным в хромосому или в *F* репликоне, этот участок поддерживает число копий *ori-2*⁺ плазмид на уровне, характерном для

родительской плазмиды. Из трех представителей inc F I группы—R386, R778 и R455—только последний частично комплементирует функции транс-действующего фактора [84]. Интересно, что плазмиды R386 и R778, в отличие от R455, не имеют гомологии с транс-активным участком F-фактора [63]. С другой стороны, гены плазмиды дикого типа в транс-положении комплементируют cor^- мутации, что является свидетельством негативного контроля репликации плазмиды F [39]. Репрессором инициации репликации может быть один из гипотетических полипептидов с мол. весом 9.000 дальтон.

Негативный контроль репликации показан и для плазмиды R1 как в комплементационном тесте cor^- мутантов с плазмидой дикого типа [91], так и по ингибированию репликации многокопийных amb^+ мутантов в присутствии в клетке строгого amb^+ супрессора [26]. Существование среди так называемых «безудержных» («runaway») ts^- мутантов (они реплицируются без регуляции числа копий при высокой температуре) inc-доминантных вариантов говорит о том, что регуляция репликации плазмиды R1 осуществляется по принципу действия репрессора на мишень репликации, а не по принципу ауторегуляции [27].

У плазмиды с широким спектром хозяев RP4 мишенью для позитивно действующего фактора, кодируемого trfA участком, является oriV . Возможно, синтез этого фактора осуществляется по принципу ауторегуляции, так как trfA участок, будучи представленным одной копией в хромосоме бактерии, тем не менее обеспечивает репликацию oriV^+ реплика на уровне 4—5 копий, характерном для плазмиды RP4 [77].

В участке origin плазмиды RP4 обнаружено 8 прямых повторов, состоящих из 17 пар оснований каждый, которые сгруппированы в два кластера по 3 и 5 повторов [73]. Между этими кластерами обнаружены последовательности, специфичные для транскрипции РНК (рис. 5).

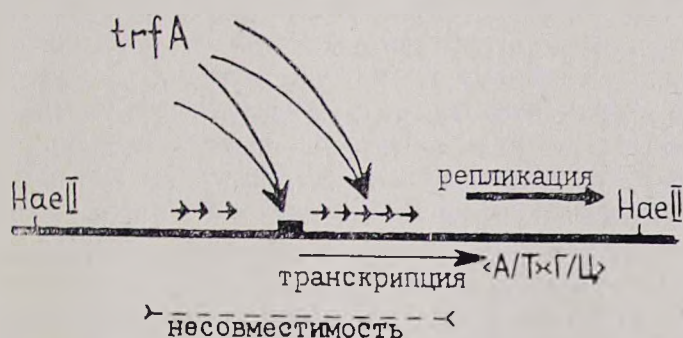


Рис. 5. Возможная роль последовательностей района origin плазмиды RP4. Короткие стрелки показывают положение прямых повторов; темный прямоугольник—положение Прибину-бокса; А/Т и Г/Ц—положение богатых этими нуклеотидами участков. Большие стрелки показывают возможные мишени действия транс-действующих продуктов гена trfA .

Возможно, аналогично плазмиде ColE1 (см. выше) синтезируемый транскрипт после процессинга выступает в качестве затравки для синтеза ДНК, или аналогично ДНК фага λ [20] осуществляет транскрип-

ционную активацию дальше отстоящего участка, вовлеченного в инициацию репликации. Во всяком случае, делеция в Г-Ц богатой последовательности, идентифицированной в этом участке, отражается на репликационных свойствах плазмиды.

Отсутствие разработанных *in vitro* систем репликации для крупных плазмид является серьезным препятствием для проверки многих предположений о механизмах инициации репликации и регуляции репликации плазмидной ДНК.

Несовместимость плазмид. Феномен несовместимости лежит в основе общепринятой классификации плазмид по группам несовместимости, так как предполагает родственность плазмидных репликонов. Согласно гипотезам «позитивного» и «негативного» контроля репликации, несовместимость должна реализовываться теми же механизмами, которые контролируют число копий.

Плазмиды ColE1, p15A, RSF1030 и CloDF13 имеют гомологию в жизненно важных участках генома и характеризуются рядом общих свойств, вплоть до регуляции образования РНК-затравки для репликации ДНК. Тем не менее эти плазмиды относятся к разным группам несовместимости.

Показано, что РНК I транскрипты этих плазмид не способны взаимно ингибировать образование РНК-затравок [88]. Следовательно, репрессор РНК I ColE1-подобных плазмид характеризуется строгой специфичностью. Эта специфичность определяется петлями «клеверного листка», так как мутации, влияющие на свойства несовместимости, затрагивают структуру петель [45, 57, 85]. Более того, как отмечалось выше, единственная замена нуклеотида в структуре центральной петли репрессора РНК I приводит к изменению специфичности плазмиды — появлению мутанта со свойствами новой группы несовместимости [45, 85]. Интересно, что появление новой группы несовместимости не обязательно сопровождается повышением числа копий плазмидной ДНК. Однако это не означает, что изменение свойств несовместимости произошло без участия механизма контроля числа копий плазмиды ColE1. Единственная описанная такая мутация вызывает трансацию А-Т → Г-Ц. Следовательно, эта мутация приводит к более строгому ингибированию образования РНК-затравки в результате более эффективного контакта между нуклеотидами РНК-затравки и репрессора РНК I и, соответственно, вместо ослабления — к усилению контроля числа копий [9, 45].

Как ни странно, продукт гена *gor* ColE1-подобных плазмид не участвует в экспрессии несовместимости. Плазмиды ColE1 и ColK, синтезируя перекрестно-действующие репрессоры транскрипции РНК-затравки, тем не менее полностью совместимы [10, 90].

Таким образом, несовместимость ColE1-подобных плазмид определяется специфичностью взаимодействия ингибитора РНК I с мишенью предшественника РНК-затравки, и для ColE1-подобных плазмид несовместимость не отражает существующую их родственность.

Более сложными представляются организация и функционирование генов, участвующих в экспрессии несовместимости крупных плазмид.

мид. Предполагается, что несовместимость у крупных плазмид связана с функциями специального механизма распределения. Однако, в отличие от «позитивного» контроля репликации, сайты распределения не связаны с репликационной системой плазмид, и распределение плазмидных реплик в дочерние клетки происходит в результате случайного выбора [61].

В F-факторе идентифицировано несколько локусов, функции которых отражаются на свойствах несовместимости. На рис. 4 видно, что в кластерах прямых повторов участка *ori-2* картируются локусы *incB* и *incC*. Как отмечалось ранее, прямые повторы непосредственно участвуют в регуляции репликации. Правый кластер, охватывающий локус *incC*, будучи клонированным на разных векторах, в зависимости от числа копий детерминирует разный уровень несовместимости [89]. Возможно, локусы *incB* и *incC*, являясь специфическими сайтами связывания, определяют свойства несовместимости через титрование репликационных компонентов или через блокирование репликационных сайтов. В таком случае несовместимость выступает как некое последствие истинных функций этих локусов.

Вне участка жизненно важных генов репликона *mini-F* обнаружен еще один локус—*incD*. Небольшой размер этого локуса (всего 0,3 т. п. о.) предполагает, что ни один из четырех идентифицированных полипептидов для *mini-F* репликона [93] не ответствен за активность *incD*. Этот локус проявляет инс-доминантность в отношении функций поддержания многокопийного вектора, в котором он клонирован. Рекombинантные плазмиды, несущие *incD* локус, теряются из дочерних клеток с более высокой частотой, чем исходный вектор [23]. Причина этого эффекта не установлена, однако это наблюдение, наряду с другими данными, позволяет предположить, что локус *incD* участвует в процессе распределения плазмидных реплик в дочерние клетки.

Результаты гибридизационного анализа подтверждают сложность организации и функционирования *inc* генов плазмид FI группы. Как ни странно, наиболее общим для этих плазмид является локус *incE*, расположенный в участке вторичного репликона [47], тогда как другие *inc* локусы встречаются у различных плазмид в разных комбинациях [6].

Результаты изучения плазмид других групп подтверждают, что несовместимость может реализоваться не только через механизмы контроля репликации, но и механизмы распределения плазмидных реплик, как и другие, пока неидентифицированные процессы [3, 54, 80].

Таким образом, репликация ДНК является одним из важнейших процессов, определяющих стабильное наследование и поддержание в бактериальных клетках плазмидного генома. Различные плазмиды характеризуются уникальными особенностями как в отношении организации репликационных систем, так и в регуляции инициации репликации ДНК. Многие стороны репликации плазмид остаются неясными, и можно надеяться, что с разработкой *in vitro* систем репликации для крупных плазмид будет яснее биологический смысл организации и функционирования плазмидных репликонов.

Репликация бактериальных плазмид осуществляется по тем же фундаментальным принципам, что и репликация геномов более развитых организмов. Более того, в районе origin хромосом некоторых бактерий обнаружены палиндромные структуры, идентичные плазмидным палиндромам. Это предполагает существование общих регуляторных элементов у репликонов разного уровня организации. Поэтому изучение репликации на модели бактериальных плазмид имеет большое значение, тем более что небольшой молекулярный вес плазмид, легкость манипулирования с ними способствуют изучению таких сторон репликации ДНК, которые невозможны на других объектах. Выяснение молекулярных основ регуляции репликации плазмидной ДНК важно также с точки зрения конструирования усовершенствованных векторов для генной инженерии.

Автор благодарен доктору Д. Хеллински (США) за предоставление неопубликованных данных.

Научно-исследовательский технологический
институт аминокислот, г. Ереван

Поступило 20.IV 1984 г.

ԲԱԿՏԵՐԻԱԿ ՊԼԱԶՄԻԴԱՆԵՐԻ ՌԵՊԼԻԿԱՑԻԱՆ

Վ. Ա. ՍԱԲԱՅԱՆ

Հոդվածում ընդհանրացված են գրական տվյալները բազմաօրինակ և քիչ օրինակ պլազմիդների ԴՆԹ-ի ռեպլիկացիայի և ռեպլիկացիոն սխեմաների գենետիկական կառուցվածքի մասին: Եղած տվյալները վերլուծված են պլազմիդների ռեպլիկացիայի և անհամատեղելիության ֆենոմենի «պոզիտիվ» և «նեգատիվ» կոնտրոլի մոդելների հիման վրա:

REPLICATION OF BACTERIAL PLASMIDS

V. A. SAKANYAN

Literature data on the mechanisms of DNA replication and genetical organization of replication systems of plasmids have been presented. Data are discussed from the point of view of modes of replication for "positive" and "negative" control and the expression of incompatibility of bacterial plasmids.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Азарян Н. Г., Саканян В. А. Биолог. ж. Армения, 36, 836—841, 1983.
2. Добровольски П., Рябченко Л. Е., Чернышева И. П., Саканян В. А., Алиханян С. И. Докл. АН СССР, 268, 700—705, 1984.
3. Саканян В. А., Крупенко М. А., Рябченко Л. Е., Пермогоров В. И., Алиханян С. И. Генетика, 15, 972—983, 1979.
4. Backman K., Betlach M., Boyer H. W., Yanofski S. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 43, 69—76, 1978.
5. Bastia D. Nucleic Acids Res., 4, 3123—3142, 1977.

5. Bergquist P. L., Lane H. E. D., Malcolm L., Dornard R. A. J. *Gen. Microbiol.*, 123, 223-240, 1952.
7. Berkower L., Lelt J., Hurreitz J. J. *Biol. Chem.*, 248, 5914-5921, 1973.
8. Bellvar F., Bellach M. C., Heyneber H. L., Shine J., Rodriguez R. L., Boyer H. W., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74, 5255-5269, 1977.
9. Cesareni G. *Mol. Gen. Genet.*, 184, 40-45, 1981.
10. Cesareni G., Muesing M. A., Polisky B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79, 6313-6317, 1982.
11. Clewell D. B. *J. Bacteriol.*, 119, 667-675, 1972.
12. Clewell D. B., Evenchick B., Cranston Y. W. *Nature New Biol.*, 237, 29-31, 1972.
13. Collins J., Yanofsky S., Hellinski D. R. *Mol. Gen. Genet.*, 167, 21-28, 1978.
14. Conrad S. E., Campbell J. L. *Cell*, 18, 61-71, 1979.
15. Croa J. H. *J. Biol. Chem.*, 255, 11075-11077, 1980.
16. Croa J. H., Luttropp L. K., Falkow S. *J. Mol. Biol.*, 124, 443-453, 1978.
17. Croa J. H., Luttropp L. K., Falkow S. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 43, 111-120, 1979.
18. Diaz R., Staudenbauer W. L. *Nucleic Acids Res.*, 10, 4587-4702, 1982.
19. Donoghue D. J., Sharp P. A. *J. Bacteriol.*, 133, 1287-1294, 1978.
20. Dove W. F., Inokuchi H., Stevens W. F. *The bacteriophage lambda*, Hershey A. D. (ed.), 747-760, Cold Spring Harbor, New York, 1971.
21. Elchenlaub R., Fligurski D., Hellinski D. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74, 1138-1141, 1977.
22. Fligurski D. H., Hellinski D. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 1648-1652, 1979.
23. Gardner R. C., Malcolm L., Bergquist P. L., Lane H. E. D. *Mol. Gen. Genet.*, 183, 345-352, 1982.
24. Gellert M., O'Dea M. H., Itoh T., Tomizawa J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 73, 4474-4478, 1976.
25. Germino J., Bastia D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79, 5475-5479, 1982.
26. Gustafsson P., Nordstrom K. *Plasmid*, 1, 134-144, 1978.
27. Gustafsson P., Drelstg H., Molin S., Nordstrom K., Uhlin B. E. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 43, 419-425, 1979.
28. Hashimoto-Gotoh T., Inselburg J. *J. Bacteriol.*, 139, 638-649, 1979.
29. Hobom G. *Current Topics in Microbiol. and Immunol.*, 82, 93-142, 1981.
30. Inuzuka M., Hellinski D. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75, 5381-5385, 1978.
31. Inuzuka N., Inuzuka M., Hellinski D. R. *J. Biol. Chem.*, 255, 11071-11074, 1980.
32. Itoh T., Tomizawa J. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 43, 409-417, 1979.
33. Itoh T., Tomizawa J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 2451-2454, 1980.
34. Jacob F., Brenner S., Cuzin F. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 28, 329-348, 1963.
35. Kahn M., Hellinski D. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75, 2250-2254, 1978.
36. Kahn M. L., Fligurski D., Ito L., Hellinski D. R. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 43, 93-103, 1979.
37. Kingsbury D. T., Hellinski D. R. *Genetics*, 76, 1-16, 1973.
38. Kingsbury D. T., Hellinski D. R. *J. Bacteriol.*, 114, 1116-1123, 1973.
39. Kline B. C., Seelke R. W. *Mol. Gen. Genet.*, 187, 218-224, 1982.
40. Kotter R. *Plasmid*, 5, 2-9, 1981.
41. Kotter R., Hellinski D. R. *J. Mol. Biol.*, 124, 425-441, 1978.
42. Kotter R., Hellinski D. R. *Plasmid*, 1, 571-580, 1978.
43. Kotter R., Inuzuka M., Hellinski D. R. *Cell*, 15, 1199-1203, 1978.
44. Kornberg A. *DNA replication*. W. A. Freeman and Company, San Francisco, 1980.
45. Lacatena R. M., Cesareni G. *Nature*, 294, 623-626, 1981.
46. Lacatena R. M., Cesareni G. *J. Mol. Biol.*, 170, 635-650, 1983.
47. Lane D., Gardner R. C. *J. Bacteriol.*, 139, 141-151, 1979.
48. Levine A. D., Rupp W. D. *Microbiology-1978*, Schlessinger D. (ed.), 163-166, Washington, D. C., American Society Microbiology, 1978.
49. Lovett M. A., Hellinski D. R. *J. Bacteriol.*, 127, 982-987, 1976.

50. Lovett M. A., Katz L., Helinski D. R. *Nature*, 251, 337—340, 1974.
51. Lovett M. A., Sparks R. B., Helinski D. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72, 2905—2909, 1975.
52. Meyer R., Helinski D. R. *Biochem. Biophys. Acta*, 478, 109—113, 1977.
53. Meyer R. J., Shapiro J. A. *J. Bacteriol.*, 143, 1362—1373, 1980.
54. Meyer R., Hinds M. J. *Bacteriol.*, 152, 1078—1090, 1982.
55. Mitra G., Palchaudhuri S. *Mol. Gen. Genet.*, 193, 349—357, 1984.
56. Morita M., Oka A. *Eur. J. Biochem.*, 97, 435—443, 1979.
57. Moser D. R., Campbell J. L. *J. Bacteriol.*, 154, 809—818, 1983.
58. Muesing M., Tamm J., Shepard H. M., Polisky B. *Cell*, 24, 235—242, 1981.
59. Murotsu T., Matsubara K., Sugisaki H., Takanami M. *Gene*, 15, 257—271, 1981.
60. Nomura N., Low R. L., Ray D. S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79, 3153—3157, 1982.
61. Novick R. P., Schwesinger M. *Nature*, 262, 623—626, 1976.
62. Oka A., Nomura N., Morita M., Sugisaki H., Sugimoto K., Takanami M. *Mol. Gen. Genet.*, 172, 151—159, 1979.
63. Palchaudhuri S., Maas K. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74, 1190—1194, 1977.
64. Pritchard R. H., Barth P. T., Collins J. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, 19, 263—297, 1968.
65. Sakakibara Y., Tomizawa J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71, 1403—1407, 1974.
66. Sakanyan V. A., Yakubov L. Z., Alikhanian S. I., Stepanov A. I. *Mol. Gen. Genet.*, 165, 331—341, 1978.
67. Schmidhauser T. J., Filutowicz M., Helinski D. R. *Plasmid*, 9, 325—330, 1983.
68. Seelke R. W., Kline B. C., Trawick J. D., Ritts G. D. *Plasmid*, 7, 163—179, 1982.
69. Shepard H. M., Gelfand D. H., Polisky B. *Cell*, 18, 267—275, 1979.
70. Sherratt D. J., Helinski D. R. *Eur. J. Biochem.*, 37, 95—99, 1973.
71. Stalker D. M., Kolter R., Helinski D. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 1150—1154, 1979.
72. Stalker D. M., Kolter R., Helinski D. R. *J. Mol. Biol.*, 161, 33—43, 1982.
73. Stalker D. M., Thomas C. M., Helinski D. R. *Mol. Gen. Genet.*, 181, 8—12, 1981.
74. Staudenbauer W. L. *Mol. Gen. Genet.*, 149, 151—158, 1976.
75. Staudenbauer W. L., Lanka E., Schuster H. *Mol. Gen. Genet.*, 162, 243—249, 1978.
76. Tait R. C., Kado C. I., Rodriguez R. L. *Mol. Gen. Genet.*, 192, 32—38, 1983.
77. Thomas C. M. *Plasmid*, 5, 10—19, 1981.
78. Thomas C. M., Meyer R., Helinski D. R. *J. Bacteriol.*, 141, 213—222, 1980.
79. Thomas C. M., Stalker D. M., Helinski D. R. *Mol. Gen. Genet.*, 181, 1—7, 1981.
80. Timmis K. N., Andres I., Slocombe P. M. *Nature*, 273, 27—32, 1978.
81. Timmis K. N., Cabello F., Cohen S. N. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72, 2242—2246, 1975.
82. Timmis K. N., Cabello F., Cohen S. N. *Mol. Gen. Genet.*, 162, 121—130, 1978.
83. Tolun A., Helinski D. R. *Cell*, 24, 687—694, 1981.
84. Tolun A., Helinski D. R. *Mol. Gen. Genet.*, 186, 372—377, 1982.
85. Tomizawa J., Itoh T. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78, 6096—6100, 1981.
86. Tomizawa J., Itoh T. *Cell*, 31, 575—583, 1982.
87. Tomizawa J., Sakakibara Y., Kakefuda T. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72, 1050—1054, 1975.
88. Tomizawa J., Itoh T., Selzer G., Som T. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78, 1421—1425, 1981.
89. Tsutsui H., Fujiyama A., Murotsu T., Matsubara K. *J. Bacteriol.*, 155, 337—344, 1983.
90. Twigg A. J., Sherratt D. *Nature*, 283, 216—218, 1980.
91. Uhlin B. E., Nordstrom K. *J. Bacteriol.*, 124, 641—649, 1975.
92. Van der Ende A., Teertstra R., Weisbeek P. J. *J. Mol. Biol.*, 167, 751—756, 1983.
93. Wehlmann H., Eichenlaub R. *Mol. Gen. Genet.*, 180, 205—211, 1980.
94. Zipursky S. L., Mariani K. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 6521—6525, 1980.

УДК 576.8

НЕКОТОРЫЕ ПРОБЛЕМЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ПОЛУЧЕНИЯ ПИЩЕВЫХ И КОРМОВЫХ ПРОДУКТОВ

Э. К. АФРИКЯН

Освещено современное состояние микробиологического получения пищевых и кормовых продуктов. С учетом местных ресурсов и условий представлены некоторые пути решения этой проблемы в Армении.

Ключевые слова: микробные кормовые и пищевые продукты, микробный белок.

Успехи микробиологии, в значительной мере определившие современные достижения биотехнологии, открыли новые перспективы высокоэкономичного промышленного производства кормовых и пищевых продуктов, эффективного решения актуальных проблем биоэнергетики, интенсификации технологических процессов во многих отраслях промышленности и организации безотходных производств. В СССР организовано и успешно развивается крупнотоннажное производство кормового белка, микробиологических средств защиты растений, ферментов и многих других биологически активных веществ. Учитывая важное значение этих производств для реализации Продовольственной программы, микробиологическая промышленность включена в агропромышленный комплекс.

Около четверти населения нашей планеты, главным образом слаборазвитых стран, страдает от недостатка пищи. По официальным данным [8], для обеспечения роста населения к 2000 году до 7 млрд человек производство пищевых продуктов должно быть увеличено в 1,7 раза, соответственно выработку зерна необходимо удвоить, а кормовых продуктов для животноводства—увеличить в 2,5 раза. Для восполнения все увеличивающегося дефицита в пищевых и кормовых продуктах, в особенности белка, в последние годы исключительно большое значение придается использованию микробиологических методов.

Использование микроорганизмов для получения кормовых и пищевых продуктов включает широкий круг проблем, связанных с микробиологическим производством белков, жиров, углеводов, витаминов и других питательных веществ. Фактически, эта область знания восходит к глубокой древности и имеет отношение к выработке хлебных и кисломолочных продуктов, а также к различным бродильным производствам, существующим и поныне.

Успехи микробиологии и технологии микробиологических производств обеспечили развитие новых направлений промышленного ис-

пользования микроорганизмов для получения пищевых и кормовых продуктов. В настоящее время во многих странах создано крупнотоннажное производство так называемого одноклеточного белка, представляющего собой биомассу культур различных микроорганизмов.

Именно в нашей стране были разработаны научные основы микробиологического получения одноклеточного белка на углеводородах, организовано самое крупное промышленное производство его и проведен широкий комплекс медико-биологических испытаний дрожжевого белково-витаминного концентрата на жидких парафинах [5].

Создание и развитие крупнотоннажного микробиологического производства одноклеточного белка пищевого и кормового назначения знаменует собой новый этап развития науки и промышленности с большими социально-экономическими последствиями. Достижения в этой области позволяют решить проблему получения пищевых и кормовых продуктов наиболее экономичным индустриальным путем на несельскохозяйственной основе. Возможности использования практически неисчерпаемых возобновляемых ресурсов лигно-целлюлозного и крахмалистого сырья открывают неограниченные перспективы развития этой отрасли промышленности.

Технология производства и консервации традиционных пищевых и кормовых продуктов, как правило, включает определенные микробиологические процессы.

Существенно важно, что при этом происходит переработка исходного продукта с повышением его питательной ценности и накоплением новых веществ более высокой усвояемости. Так, из существующих методов хранения и длительной консервации пищевых продуктов, за исключением высушивания, копчения и стерилизации, издавна практикуемые соление и молочнокислородное брожение обеспечивают хорошую сохранность продуктов с повышением его пищевой ценности. Добавление к свежим овощам 2—2,5% поваренной соли стимулирует анаэробное молочнокислородное брожение и развитие галофильных дрожжей, обеспечивающих в маринованном продукте значительно большее содержание белков и витаминов. Производство сыра является, пожалуй, наилучшим примером разумного использования микроорганизмов для целей консервации и обогащения молочных продуктов более усвояемыми пищевыми соединениями. Хорошей иллюстрацией сказанному являются различные кисломолочные продукты (кефир, мацони, йогурт, кумыс и др.), используемые у различных народов с незапамятных времен и обладающие не только более высокой пищевой ценностью, чем молоко, но также и определенными лечебно-профилактическими свойствами.

В результате многолетних исследований Л. А. Ерзникяна и его сотрудников в Институте микробиологии АН АрмССР выделены и подробно изучены культуры молочнокислых бактерий, обладающие ценными лечебно-диетическими свойствами [4]. В нашей республике и во многих районах нашей страны широкой популярностью пользуется молоко «Нарине», вырабатываемое с применением определенных культур

молочнокислых бактерий и обладающее лечебно-профилактическим действием при кишечных заболеваниях, в особенности в детском возрасте.

В разных отраслях бродительной промышленности широко используется ферментативная активность микроорганизмов для переработки и обогащения растительных продуктов аминокислотами, белками и витаминами. В ряде стран, в особенности жаркого климата, из кукурузы и сорго вырабатывается пиво с использованием крахмал-гидролизующих грибов *Aspergillus oryzae* и дрожжей *Endomycopsis burtonii*, причем полученный конечный продукт с содержанием алкоголя до 8% не фильтруется во избежание удаления из напитка питательных веществ. В Японии широко распространенными пищевыми продуктами являются соевый соус и соевая паста (мизо). Ферментативная обработка ведется с использованием закваски из *Aspergillus soyaе* и *A. oryzae*, выращенных на отрубях риса и пшеницы. После ферментативного гидролиза в субстрат добавляется соль и закваска галофильных дрожжей *Saccharomyces rouxii* и молочнокислых бактерий, развивающихся при наличии поваренной соли, до 14%. Самобытным национальным блюдом в Японии является натто, представляющий бобы (соя, фасоль, конские бобы и др.), обильно зараженные культурой спорообразующей бактерии из группы сенного бацилла (*Bac. natto*). Указанные виды микроорганизмов обладают широким спектром ферментативной активности, благодаря чему осуществляется гидролиз крупномолекулярных соединений—белков, крахмала, липидов в более усвояемые формы, что обеспечивает более высокую питательность конечного продукта.

Процессы силосования и дрожжевания кормов являются их микробиологической и ферментативной переработкой с обогащением белком, витаминами и другими более усвояемыми соединениями.

В последние годы достигнуты большие успехи в области микробиологической переработки растительного сырья для получения пищевого и кормового белка и других соединений.

Первостепенное значение в этом отношении придается лигно-целлюлозному сырью, возобновляемые ресурсы которого огромны и составляют на нашей планете около 10—15 т в год на человека. Выделен и подробно изучен ряд активных продуцентов целлюлаз. Методом генетической инженерии созданы перспективные рекомбинанты-продуценты, в том числе из дрожжевых организмов [2]. С использованием целлюлолитических микроорганизмов в ряде стран налаживается производство глюкозы и глюкозо-фруктозного сиропа, а также дрожжевой биомассы пищевого и кормового назначения. В этой области имеется еще много нерешенных проблем, как-то: разработка оптимальных и экономичных условий предобработки целлюлозного сырья, получение активных продуцентов кислых и термофильных целлюлаз, термофильных дрожжей и грибов пищевого назначения и т. п.

Значительно более завершенной может быть признана проблема обогащения и получения пищевого и кормового белка на крахмалном сырье. Выделены и подробно изучены высокопродуктивные штам-

мы крахмалгидролизующих организмов с высоким выходом кормовой биомассы. Ряд производственных фирм разработал с применением подобных микроорганизмов, в первую очередь грибов и дрожжей, эффективную технологию получения кормового белка и обогащения им крахмалистых продуктов, например, картофеля, ка사вы. При применении подобных штаммов удастся повысить содержание белка в таких крахмалсодержащих продуктах в 4—5 раз. Вместе с тем остаются нерешенными существенные вопросы экономического характера, прежде всего себестоимости производимого кормового и пищевого белка.

В этом отношении, пожалуй, наибольший интерес представляют разработки в области так называемой твердофазной ферментации [3, 7]. Преимуществом ее является то, что эта технология достаточно проста, неэнергоемка и может быть реализована в условиях мелких хозяйств. Процесс выращивания микроорганизмов и накопления кормового белка конверсией целлюлозного и крахмалистого сырья осуществляется в нестерильных условиях и в одну стадию. Эффективная технология твердофазной ферментации разработана во Франции (ОРСТОМ, ИНРА). Фактически указанные разработки и в целом твердофазная ферментация традиционно восходят к принятой в Японии и некоторых других странах Юго-Восточной Азии технологии микробиологической переработки и консервации кормовых и пищевых продуктов.

По французской технологии твердофазной ферментации, высушенный растительный субстрат (касава, картофель, банан) предварительно обрабатывается в ферментере паром в течение 10 мин при 75°. После охлаждения масса перемешивается с водой до 60%-ной общей влажности, причем добавляемая вода должна содержать источники азотного питания микроорганизма (мочевина, сульфат аммония), минеральные соли и 20 млн. спор на г сухого субстрата мицелиальных амилотических грибов (*Aspergillus hennebergii*). При слабом перемешивании инокулированный субстрат самопроизвольно принимает гранулированную форму величиной частиц 1—2 мм, через которые свободно проникает увлажненный воздух. Температура автоматически контролируется прерывистой аэрацией, механическим перемешиванием и распылением воды, используемой также и для регулирования pH и влажности. Инкубация происходит в течение 24 ч при 36—40°, после чего конечный продукт содержит, в среднем, 20% истинного протеина и 25% остаточных сахаров.

Твердофазная ферментация представляет большой производственный интерес для обогащения белком растительных субстратов, и ведущая по биотехнологии во Франции фирма Спейхим намечает реализацию ее в крупном промышленном масштабе.

Технико-экономическая эффективность твердофазной ферментации

очевидна. При урожайности картофеля (или казавы и банана) з 40 т/га она позволяет обогатить исходный продукт белком до 20% и получать с одного га 1,7 т сырого протеина, т. е. почти в 3 раза больше, чем при выращивании сои. Неоспоримым преимуществом твердофазной ферментации является ее безотходность.

Для микробиологического обогащения белком крахмалистого сырья первостепенное значение имеют грибы и дрожжи. Среди гидролизующих крахмал дрожжей наибольший интерес представляет род *Lipomyces*, в частности *L. kononenkoae*, подробно изученный в Португалии Н. Ван Уденом и его сотр. Выход биомассы дрожжей этого вида при выращивании на крахмале составляет 50—60% и превышает в 5—10 раз таковой с применением культур *Candida*, *Hanseniaspora* и других дрожжей (табл. 1). В результате совместных работ нашего инсти-

Таблица 1
Выход биомассы дрожжей на крахмале (в г конечной биомассы/г внесенного крахмала)

Род, вид	Количество видов	Биомасса, г
	штаммов	
<i>Bullera alba</i>	1	0,11
<i>Candida</i>	11/11	0,07—0,37
<i>Cryptococcus</i>	8/9	0,09—0,24
<i>Debaryomyces</i>	6/6	0,13—0,34
<i>Endomycopsis fibuligera</i>	3	0,05—0,06
<i>E. pilatypodis</i>	1	0,16
<i>Hansenula</i>	4/5	0,14—0,35
<i>Lipomyces anomalus</i>	1	0,1
<i>L. kononenkoae</i>	2	0,58—0,59
<i>L. lipofer</i>	4	0,34—0,39
<i>L. starkeyi</i>	6	0,43—0,55
<i>L. tetrasporus</i>	12	0,37—0,45
<i>Nematospora coryli</i>	1	0,06
<i>Pichia</i>	4/4	0,05—0,29
<i>Saccharomyces</i>	2/2	0,07
<i>Schwanniomyces</i>	1	0,37
<i>Torulopsis</i>	5/5	0,04—0,34
<i>Trichosporon</i>	5/5	0,05—0,39
<i>Wingea roberisii</i>	1	0,27

тута с португальскими учеными получены перспективные данные в области биоконверсии крахмала и крахмалистого сырья в дрожжевой белок [1]. С использованием высокопродуктивного штамма крахмалусеивающих дрожжей в Институте микробиологии были подробно изучены условия выращивания этих дрожжей на крахмале и получены опытные партии их биомассы. Проведенные под руководством С. К. Каранетяна 3-летние испытания выявили высокую кормовую ценность этих продуктов в птицеводстве. Использование их в рационе цыплят и кур, взамен общепринятых кормовых дрожжей, повышает привесы (табл. 2), продуктивность и качество яиц.

Динамика привесов цыплят при вскармливании их биомассой *L. kononenkoae* шт. 5608

Варианты	60 дней				Сохран- ность по- головья, %
	курычки	петушки	средняя, вес	привес, %	
Рацион + 2,85% кормовых дрожжей (контроль)	704	829	766	100	92
P + 1,5% опытной биомассы	672	792	732	94	95
P + 2,5% опытной биомассы	717	888	777	102	98
P + 3,5% опытной биомассы	739	883	811	107	94

Из микроорганизмов, используемых в целях обогащения белком растительного сырья и получения одноклеточного белка, несомненно, ведущее место принадлежит дрожжевым организмам.

По содержанию сырого протеина дрожжи уступают другим группам микроорганизмов, однако по аминокислотному составу имеют ряд преимуществ. При этом немаловажное значение имеет низкое, по сравнению с бактериальными организмами, содержание нуклеиновых кислот, в частности РНК. Существенно важно отметить, что содержание протеина дрожжей, выращенных на крахмале, характеризуется высокими показателями состава незаменимых аминокислот. Дрожжи содержат немало ценных углеводов. В определенных условиях выращивания они обладают высокой липидообразующей способностью, причем у отдельных групп содержание жиров доходит до 50—60% от общей биомассы. Не менее ценным свойством дрожжей является их высокая биосинтетическая способность к образованию витаминов группы В. Все изложенное доказывает высокие кормовые и пищевые свойства дрожжевой биомассы при их выращивании на различных субстратах, в особенности на целлюлозных и крахмалистых остатках, а также на углеводородах.

Для получения дрожжевого белково-витаминного концентрата (биомассы) на углеводородах применяются культуры *Candida tropicalis*, *C. lipolytica*, *C. maltosa*, *Lodderomyces elongisporus*, *Pichia* и некоторых других видов. Более разнообразным является состав дрожжей, применяемых для производства дрожжевого белка на углеводах в глубинных условиях ферментации на жидких средах, однако, наиболее предпочтительными являются *Candida utilis*, *C. tropicalis*, *C. scottii*, *Endomycopsis fibuliger*, *Kluyveromyces fragilis*.

Существенным осложнением при промышленном производстве дрожжевой, а также в определенной мере и грибной биомассы является необходимость отвода тепла в процессе ферментации. В этой связи значительный интерес представляют поиски термотолерантных дрожжей, в частности из рода *Rhodotorula*, характеризующихся температурными параметрами роста в пределах 28—35°, высокой интенсивностью размножения (период деления 2—2,5 ч), способностью развиваться при pH 3,5—5,0. Для изыскания термоустойчивых форм срав-

нительно более перспективны грибы, в частности некоторые виды *Sporotrichum*, *Paecilomyces*.

В последние годы отмечается повышенный интерес к широкому использованию грибных организмов как для переработки растительных остатков и обогащения их белком, так и получения биомассы кормового и пищевого назначения. Во многих странах хорошо организовано производство высших грибов на индустриальной основе. В последние годы достигнуты большие успехи по выращиванию этих организмов в чистой культуре на жидких питательных средах методами глубинной ферментации.

Некоторые культуры грибов, в том числе их несовершенные формы, находят сейчас промышленное применение в ряде стран. На основе термостойкого штамма *Chaetomium cellulolyticum* — активного продуцента целлюлаз — в Канаде разработан процесс получения одноклеточного белка (процесс Ватерлоо). На сульфитных стоках с этой целью в Финляндии используется культура *Paecilomyces variotii*. Для получения кормовой биомассы на целлюлозных остатках применяются штаммы *Trichoderma viride*, *T. reesei* и родственных видов, на крахмалистом сырье — *Asp. fumigatus*, *Rhizopus oligosporus* и некоторые другие. Использованию гибридных организмов должны предшествовать всесторонние исследования по исключению образования микотоксинов.

Наряду с указанными группами, отмечается тенденция к расширению использования других форм микроорганизмов, в особенности бактерий и микобактерий. Особый интерес представляют перспективы практического применения экстремальных форм микроорганизмов, в первую очередь термофилов, ацидофилов и галофилов, использование которых позволяет в нестерильных условиях обеспечить направленные процессы переработки различных субстратов.

В области микробиологического получения одноклеточного белка, часто называемого нетрадиционным, и соответственно нетрадиционных пищевых и кормовых продуктов коренной перелом намечался 20 лет назад, после установления возможности промышленной выработки дрожжей на углеводородах. В СССР были развернуты крупные научно-производственные работы, в результате которых в стране была создана промышленность, вырабатывающая на углеводородах ежегодно около миллиона тонн дрожжевой биомассы. Выработка этого продукта на нормальных парафинах организована и в других странах, однако в некоторых из них крупные производственные мощности не были введены в эксплуатацию. Наступивший в 1973 г. нефтяной кризис и удорожание нефти оказали отрицательное влияние на развитие этой отрасли промышленности. Существенную роль сыграла и большая кампания обладателей соевого рынка против производства микробного белка, создавшая в печати негативное общественное мнение по этому вопросу. Намечившееся в последнее время снижение цен на нефть и одновременное повышение стоимости соевой муки делают дрожжевой белок конкурентоспособным с растительным.

Большие успехи достигнуты в производстве микробного белка на метаноле. Для этих целей используются штаммы метилотрофных бак-

рий *Methylophilus methylotrophus* (Англия) и *Methylomonas clara* (ФРГ).

Исключительно важным достижением генетической инженерии в этой области явилось клонирование глутаматдегидрогеназы от кишечной палочки в производственный штамм метилотрофной бактерии [9]. Необходимо подчеркнуть, что биомасса метилотрофных бактерий обстоятельно изучена и показана полная возможность использования ее в качестве как кормового, так и пищевого продукта. В целом, можно заключить, что лимитирующим фактором развития производства микробного белка на углеводородах, метаноле и других сырьевых источниках являются, в основном, экономические проблемы. Важным условием удешевления себестоимости продукта является крупнотоннажное производство и создание крупных заводов с прогрессивной технологией.

Огромный интерес для производства кормовых и пищевых продуктов, равно как для получения биотоплива и органических удобрений, представляют микроводоросли. Эти одноклеточные организмы весьма богаты белком и витаминами, характеризуются высокой интенсивностью роста и развиваются в неприхотливых условиях при наличии солнечного света и углекислого газа.

В оптимальных условиях выращивания микроводорослей в открытом грунте выход их биомассы составляет в день 15—30 г/см², а иногда до 40—45 г. На гектар земельной площади выход их биомассы достигает в год до 60—70 т, что в пересчете на получаемый белок (содержание 55—65%) превышает почти в 50—100 раз продуктивность по белку с подобной территории сои и пшеницы.

В последние годы отмечается тенденция к широкому использованию микроводорослей родов *Spirulina*, *Coelastrum*, *Scenedesmus* взамен хлореллы, белок которой слабо утилизируется из-за плотной оболочки клеток. Наибольший интерес представляет Спирulina, которая широко используется с древних времен как пищевой продукт народами ряда стран Африки и Латинской Америки [6, 10]. Преимуществом этой микроводоросли является и то, что, благодаря сравнительно крупным размерам, она отделяется простой фильтрацией без обычных трудоемких процессов сепарации микробной биомассы. Усвояемость белка биомассы при этом составляет 80—90%.

Во многих странах осуществляются крупные проекты по организации крупнотоннажного производства кормовых и пищевых продуктов из микроводорослей. Причем признается, что выращивание микроводорослей является наиболее эффективным и перспективным путем освоения пустынных и залежных почв, особенно в странах с жарким климатом. Особый практический интерес приобретает использование фотосинтезирующих бактерий и микроводорослей для очистки сточных вод с одновременным получением биомассы на корм и органическое удобрение. В ряде стран с высокой солнечной радиацией для этих целей созданы крупные промышленные установки, эксплуатация которых показала высокий технико-экономический эффект.

Исключительно важны перспективы использования азотфиксирующих фотосинтезирующих микроорганизмов, в частности, высокопродуктивных азотфиксирующих мутантов фототрофов, не теряющих ни-

тропенной активности в сложнорганических средах. В этой области мы находимся, по-видимому, на пороге революционных открытий, сделанных с помощью метода генетической инженерии.

Нельзя не отметить весьма многообещающего направления в области изучения ассоциации *Azolla*—*Anabaena*—высокоактивной системы фиксации молекулярного азота,—благодаря специфическому сожительству растений и синезеленых водорослей. Интерес к этой области вполне оправдан в связи с возможностями конструирования высших растений, в том числе и злаковых, обладающих азотфиксирующей активностью.

Сбалансированный по аминокислотам, в первую очередь по лизину, корм позволяет значительно повысить продуктивность животноводства с увеличением привесов до 15% и немалой экономией кормовых компонентов. В нашей стране организовано крупнотоннажное производство кормового лизина, широкое практическое использование которого должно быть осуществлено наиболее эффективным и рациональным путем. В этой связи большой и весьма полезный опыт накоплен в Латвии. Особый практический интерес представляют данные по использованию в комбикормовой промышленности различных концентратов лизинового производства (ЖКЛ, ККЛ), а также отходов (ампиобактерии, биомасса и др.). Совместно с Министерством заготовок АрмССР Институт микробиологии разработал рекомендации по технологии ввода в комбикорма жидких продуктов лизина, вырабатываемых на Чаренцаванском заводе Арм ПО «Лизин». Реализация этих предложений в комбикормовой промышленности республики обеспечит удешевление стоимости кормов не менее чем на 4 млн. руб. в год со значительной экономией расхода зерна и получением дополнительных привесов животных, составляющих не менее 8%. Предстоит большая работа по созданию на комбикормовых заводах установок для приема, дозирования и ввода в комбикорма лизинового продукта в соответствии с разработанной проектно-технологической документацией.

Наряду с аминокислотами, микробиологическая промышленность в настоящее время вырабатывает широкий ассортимент кормовых антибиотиков, витаминов, гормонов и других биостимуляторов, число которых все более возрастает [5].

В нашей республике имеются необходимые предпосылки для развертывания широкого комплекса научно-производственных работ в перспективных областях микробиологического получения белково-витаминных продуктов пищевого и кормового назначения.

В соответствии с Постановлением ЦК КП Армении и Совета Министров Армянской ССР от 24 июля 1964 г. в республике проведена большая работа по созданию и развитию микробиологической промышленности и комплекса научных исследований в этой области. Созданы и введены в эксплуатацию Чаренцаванский завод лизина и Абовянский завод биохимических препаратов. Организован Армянский филиал ВНИИгенетика, на базе которого недавно образован ВНИИ технологии аминокислот. В г. Абовяне создан крупный научно-производственный комплекс Института микробиологии АН АрмССР. Значительно

расширены исследования в области общей и прикладной микробиологии во многих других научных учреждениях республики.

Не вызывает сомнений, что широкое использование современных достижений микробиологии и биотехнологии может в значительной степени обеспечить успешное решение кормовой и пищевой проблемы в Армянской ССР.

Прежде всего необходимо подчеркнуть перспективы организации в Армении производства кормового белка и белково-витаминных продуктов на основе фотосинтезирующих микроорганизмов.

Постановлением Совета Министров АрмССР в 1977 г. предусматривалось создание в республике установок для выращивания хлореллы на кормовые цели. Эксплуатация подобной установки в Наиринском животноводческом комплексе показала хорошие результаты. Накопленный в нашей стране (Средняя Азия) опыт свидетельствует о высокой кормовой ценности хлореллы и других микроводорослей. К сожалению, у нас, в республике, работ с более перспективными видами микроводорослей и по широкому их внедрению в производство не проводилось. Вместе с тем в Армении имеется необходимая научно-производственная база по изучению многих фототрофных микроорганизмов (Институт гидропоники и агрохимических проблем, Институт микробиологии АН АрмССР).

В Институте микробиологии АН АрмССР разработаны и созданы установки по выращиванию перспективных микроводорослей и фототрофных бактерий в замкнутых системах. Весьма обнадеживающие результаты получены (М. Н. Малатян) при выращивании фотосинтезирующих бактерий на углекислых минеральных водах, что позволяет значительно интенсифицировать и удешевить процесс выращивания этих организмов.

В результате проведенных работ (С. К. Карапетян с сотр.) установлена эффективность использования биомассы фототрофных бактерий в птицеводстве в дозах 0,1—1% взамен такого же количества кормовых дрожжей: яйценоскость кур-несушек повышается на 8,6%, расход корма на кг яичной массы уменьшается на 17%, вдвое увеличивается содержание каротина в желтке, удлиняется период яйценоскости.

В условиях Армении, отличающейся большим количеством солнечных дней в году, весьма перспективным следует считать создание установок по выращиванию фотосинтезирующих микроорганизмов, в первую очередь Спирулины, на углекислых минеральных источниках, а также на солончаках в Араратской равнине.

Нелишне отметить, что еще в 50-х годах была разработана проектно-техническая документация на строительство в Армении завода по производству кормовых дрожжей на сырьевой основе гидролизатов виноградных обрезков мощностью 50 тыс. т в год. В стадии промышленного внедрения находятся работы по использованию в качестве кормовых добавок дрожжевой гущи (Б. П. Авакян). В республике ежегодно образуется значительное количество лигно-целлюлозного сырья (солома, виноградные обрезки, остатки герани и др.), при умелой и рациональной микробиологической переработке которых возможно су-

нecessarily восполнить кормовой дефицит в республике. В этом отношении особый практический интерес представляют разработки по обогащению кормовым и пищевым белком растительных остатков, в особенности крахмалистого сырья, методами твердофазной ферментации. Многообещающим представляется внедрение этой технологии в комбикормовой промышленности.

Несомненная перспективность метанового брожения для получения кормовых продуктов, биогаза и органических удобрений на основе микробиологической переработки органических остатков. Особенно большой технико-экономический эффект дает оно при обезвреживании и утилизации отходов животноводства. Институтом микробиологии АН АрмССР в этом направлении проделана определенная работа и подготовлены необходимые проектно-технологические разработки. Создание в республике установок метанового брожения при животноводческих хозяйствах позволит, одновременно с получением метана и обезвреживанием отходов, получить значительное количество кормовых продуктов.

Ценным и перспективным сырьем для микробиологического производства сахаристых продуктов, микробного белка и этилового спирта является топинамбур (земляная груша), который можно широко возделывать в республике на залежных и малоплодородных землях. Безусловно, микробиологические методы имеют большое будущее для создания безотходных производств. Особенно важно их внедрение у нас для утилизации и обезвреживания отходов и других отходов химической промышленности. В этом отношении значительный интерес представляет организация производства кормового белка и белково-витаминных концентратов водородокисляющих бактерий на основе утилизации водородсодержащих отходов НПО «Наирит».

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 14.III 1984 г.

ՄԱՆԻԲԱՐԱՆԱԿԱՆ ԵՂԱՆԱԿՈՎ ՍՆՆԴԱՄԹԵՐՔՆԵՐԻ ԵՎ ԿԵՐԱՅԻՆ ՆՅՈՒԹԵՐԻ ՍՍՍՅՄԱՆ ՈՐՈՇ ԿՆԻՐՆԵՐԸ

Է. Գ. ԱՖՐԻԿՅԱՆ

Ամփոփված են մանրէաբանական եղանակով կերային և սննդային մթերքների ստացման հիմնական ուղիները, ներկայացված է հարցի արդի վիճակը: Հաշվի առնելով տեղական պայմանները և հումքային բաղան քննարկված են մանրէաբանական եղանակով կերային սպիտակուցի ստացման և նրանով բուսական մնացորդների հարստացման առավել հեռանկարային ուղիները:

SOME PROBLEMS OF THE MICROBIOLOGICAL PRODUCTION OF FOOD AND FEED PRODUCTS

E. G. AFRIKIAN

Up-to-date situation of the microbiological production of food and feed is reviewed. Some perspectives of this problem in Armenia based on local resources and conditions have been discussed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Африкян Э. Г. (Afrikian E. G.). Symposium Noprot—81, 147—149, Lisbon, 1983.
2. Баев А. А., Алиханян С. Н., Таняшин В. Н., Винецкий Ю. П., Дебабов В. Г. Ж. Всесоюзн. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева, 2, 122—219, 1984.
3. Бекер М. Е. Вестн. АН СССР, 6, 89, 1983.
4. Ерзинкян Л. А. Биологические особенности некоторых рас молочнокислых бактерий. Ереван, 1971.
5. Рычков Р. С., Огарков В. Н., Матвеев В. Е., Катруш Р. В., Мирзаянова Э. Г., Дебабов В. Г., Бекер М. Е., Бекер В. Ф., Крылов Ю. В., Карпов А. М., Калунянц К. А., Складнев А. А., Егоров А. М., Ананичев А. В. Ж. Всесоюзн. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева, 6, 613—687, 1982.
6. Ciferi O. Microbiol. Revs., 551—578, 1983.
7. Senez J., Raimbault M., Deschamps F. Animal Rev., FAO, 35, 36—39.
8. Senez J. C. Sci. et Technol., 94, 20—24, 1983.
9. Windas J., Wossey M., Piott P., Barth P., Atherton K., Dart E., Byrom D., Powell K., Senior P. Nature (London), 287, 396—401, 1980.
10. Venkataraman L. V. Bluegreen alga Spirulina. Mysore (India), 1983.

«Биол. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

УДК 577.352.

ОСМОТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ФУНКЦИИ H⁺-АТФ-АЗНОГО КОМПЛЕКСА F₁-F₀ У ESCHERICHIA COLI

А. А. ТРЧУНЯН, Э. А. КАРАГМЛЯН, П. А. ВАНЯН

Изучен осмотический контроль функции H⁺-АТФ-азного комплекса F₁-F₀ у бактерий *Escherichia coli*. N,N'-дициклогексилкарбодимид (ДЦКД) — чувствительная секретируемая 2H⁺ через F₁-F₀ и поглощение 1K⁺ через TrkA систему у бактерий в анаэробных условиях в присутствии глюкозы чувствительны к изменению осмотического давления среды. Осмоочувствительность обоих процессов утрачивается у uncB мутанта при дефекте в субъединице с молекулярным весом 24000 д. протонного канала F₀. Найдена «конкуренция» между ДЦКД и осмотическим давлением среды за ингибирование, или отключение функции F₁-F₀. Осмотическая чувствительность секретируемой 2H⁺ через F₁-F₀ исчезает у сферопластов бактерий. Обсуждается возможность регуляции функции F₁-F₀ с помощью периплазматического «белка-клапана».

Ключевые слова: H⁺-АТФ-азный комплекс, грамотрицательные бактерии, осмотический контроль.

Грамотрицательные бактерии *Escherichia coli* поддерживают высокое тургорное давление благодаря накоплению K⁺ [8, 9]. Они поглощают K⁺ с помощью различных транспортных систем: Kdp, TrkA и TrkF [18, 19]. Установлено, что скорость поглощения K⁺ через эти системы возрастает при увеличении осмотического давления среды [18].

В анаэробных условиях в присутствии глюкозы TrkA система образует суперкомплекс с H⁺-АТФ-азным комплексом F₁-F₀, который функционирует как H⁺—K⁺-насос и обменивает 2H⁺ клетки на 1K⁺

среды [3, 4, 7, 11, 13, 14], причем такой обмен чувствителен к осмотическому давлению среды [6, 11]. При этом TrkA система не имеет собственного регуляторного механизма [3, 4, 13].

В настоящей работе излагаются результаты исследований, показывающие, что регуляция тургорного давления и поглощения K^+ через TrkA систему у бактерий *E. coli* осуществляется через H^+ -АТР-азный комплекс; тем самым допускается более сложная роль $F_1 \cdot F_0$ в жизнедеятельности этих бактерий: он является не только генератором разности электрохимических потенциалов H^+ , но и регулятором внутриклеточной концентрации K^+ и тургора клетки.

Материал и методика. В исследованиях использовали культуры бактерий *E. coli* K 12 (λ) и мутант ТК 509, дефектный по TrkA системе [17], последний был получен от проф. В. Эпштейна (Чикагский университет, США). В работе применяли пептон (Фармахим, Болгария), лизоцим (Реанал, Венгрия), калиевую соль пенициллина (Саранский завод медпрепаратов), ДЦКД (Сигма, США), тетрафенилфосфоний (ТФФ+) бромистый (Хемапол, Чехословакия).

Бактерии выращивали в пептонной среде с глюкозой [6] до логарифмической (2—3 ч) или стационарной (16—20 ч) стадии при 37°. В остальном методика подготовки бактерий к эксперименту не отличалась от изложенной ранее [6]. Титр бактерий определяли подсчетом колоний после посева на твердые питательные среды.

Сферопласты получали при обработке клеток лизоцимом или пенициллином [2, 10], что контролировалось под микроскопом.

В ряде экспериментов бактерии подвергали обработке этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) и последующему осмотическому шоку для высвобождения периплазматических белков [16].

Перенос ионов у бактерий изучали по изменению их активности в среде, измеряемой с помощью ион-селективных электродов [6]. Вклад величины ДЦКД-чувствительных потоков ионов определяли либо в параллельном эксперименте с обработкой бактерий ДЦКД [7], либо по перегибам на кинетических кривых секреции H^+ [11]. Результаты подвергали статистической обработке. Величину мембранного потенциала определяли по распределению ТФФ+ между клеткой и средой, концентрацию которого в среде измеряли с помощью ТФФ+-селективного электрода [1].

Результаты и обсуждение. $H^+ - K^+$ -обмен и осмотическая чувствительность. Ранее нами было показано, что поглощение K^+ у бактерий *E. coli* в анаэробных условиях в присутствии глюкозы происходит в две фазы [11, 12]. В первой фазе осуществляется обмен $2H^+$ клетки на $1K^+$ среды [7, 11], который ингибируется при помощи ДЦКД и чувствителен к осмотическому давлению среды [6, 7, 11].

Характер $H^+ - K^+$ -обмена у мутанта ТК 1001, в котором функционируют TrkA и TrkF системы [19], оказался подобным таковому у дикого типа *E. coli* K 12 (λ) и свидетельствовал о том, что поглощение K^+ в первую фазу осуществляется при участии TrkA системы [12]. При этом кажущиеся K_m и V_{max} поглощения K^+ в первую фазу, определенные по методу Лайнуивера-Бэрка, равны 2,0 мМ и 0,60 мМ/г мин соответственно (не показано), что хорошо согласуется с литературными данными о кинетических свойствах TrkA системы [19].

С другой стороны, ДЦКД-зависимый и осмочувствительный обмен $2H^+$ клетки на $1K^+$ клетки отсутствует, как было нами показано, у мутантов AN 120 [13] и AN 718 [15], имеющих дефект в α субъединице АТР-азы $F_1 H^+$ -АТР-азного комплекса и, следовательно, нефункциони-

рующую АТР-азу [5], что указывает на связь осмочувствительного обмена 2H^+ на 1K^+ с работой $\text{F}_1\cdot\text{F}_0$. Можно предположить, что TgkA система не обладает чувствительностью к осмотическому давлению среды, и только связь потоков H^+ через $\text{F}_1\cdot\text{F}_0$ и K^+ через TgkA регулируется осмотическим давлением среды, но опосредованно, через $\text{F}_1\cdot\text{F}_0$.

Анализ характера $\text{H}^+ - \text{K}^+$ -обмена у мутантов AN 382 [13] и AN 719 [15] с uncB мутацией показал, что у этих мутантов с дефектом в субъединице с молекулярным весом 24000 д в протонном канале F_0 утрачивается осмочувствительность обмена 2H^+ на 1K^+ . Эти данные говорят о том, что H^+ -АТР-азный комплекс действительно обладает чувствительностью и к ДЦКД, и к осмотическому давлению среды, т. е. как ДЦКД-зависимость, так и осмочувствительность поглощения K^+ через TgkA систему связаны не с самой TgkA системой, а с функционированием $\text{F}_1\cdot\text{F}_0$.

«Конкуренция» между ДЦКД и осмотическим давлением среды за ингибирование функции $\text{F}_1\cdot\text{F}_0$. Приведенные данные свидетельствуют о том, что функционирование $\text{F}_1\cdot\text{F}_0$ прекращается как при действии ДЦКД, так и при уменьшении осмотического давления среды. ДЦКД ковалентно связывается с кислыми остатками глутаминовой и аспарагиновой кислот в субъединице с молекулярным весом 8400 д протонного канала F_0 [20], а уменьшение осмотического давления среды, как предполагается [3, 4], зажимает периплазматический белок между F_0 и клеточной стенкой, закрывая вход в F_0 . Тогда ДЦКД может ингибировать функционирование $\text{F}_1\cdot\text{F}_0$ только при увеличении осмотического давления среды и не будет оказывать влияния на него при снижении осмотического давления среды. Действительно, при снижении осмотического давления среды введение ДЦКД не ингибирует $\text{F}_1\cdot\text{F}_0$, препарат подавляет его работу лишь после повышения осмотического давления среды, включающего обмен 2H^+ на 1K^+ с участием $\text{F}_1\cdot\text{F}_0$ и TgkA системы (рис. 1, кр. 2; табл.). При обработке клеток ДЦКД до снижения осмотического давления среды подобного эффекта не наблюдается (рис. 1, кр. 3). Следовательно, нам удалось показать, что существует «конкуренция» между ДЦКД и осмотическим давлением среды за подавление функции $\text{F}_1\cdot\text{F}_0$. Поскольку ДЦКД является гидрофобным реагентом и, по-видимому, вступает в связь с F_0 в гидрофобной части мембраны [20], можно допустить также, что «конкуренция» между ДЦКД и «белком—клапаном» происходит косвенно, через изменение конформации F_0 .

Осмотическая чувствительность $\text{F}_1\cdot\text{F}_0$ и периплазматическое пространство. Если осмочувствительность $\text{F}_1\cdot\text{F}_0$ у грамотрицательных бактерий связана с наличием у них периплазматического пространства, то она должна исчезнуть у их сферопластов.

Сферопласты *E. coli* K 12(λ), полученные при обработке клеток лизоцимом [2, 10], осуществляют обмен H^+ на K^+ со стехиометрией ДЦКД-чувствительных потоков ионов, равной 2H^+ клетки на 1K^+ среды (рис. 2; табл.). Наблюдаемый обмен продолжителен во времени, перегиб на кривой секреции H^+ , свидетельствующий об отключении протонного насоса [4, 11], выявляется позднее, на 6—8-й минуте. Как

следовало ожидать, включение этого обмена происходит и при снижении осмотического давления среды (рис. 2, кр. 3). Обмен 2H^+ на 1K^+ не наблюдается у сферопластов, дефектного по TgkA системе мутанта ТК 509 [17], полученных обработкой клеток лизоцимом (не показано).

При обработке клеток *E. coli* K 12(λ) ЭДТА и последующем осмотическом шоке происходит высвобождение периплазматических белков [16]. Такая обработка не влияет на обмен 2H^+ на 1K^+ (табл.), однако он теряет чувствительность к осмотическому давлению среды (не показано).

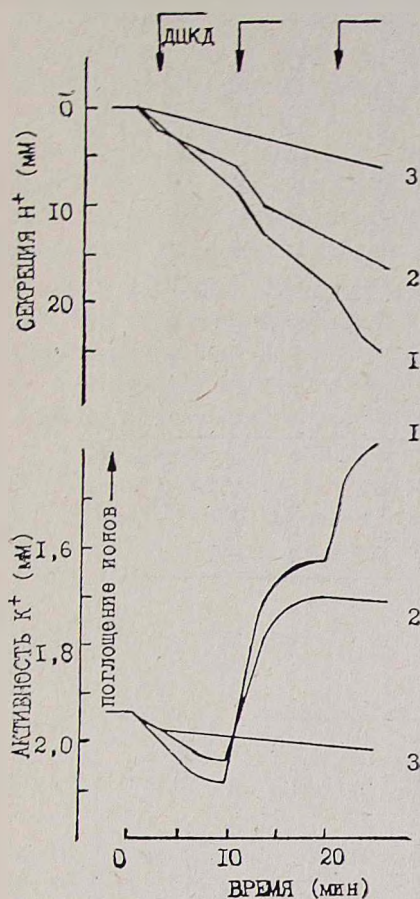


Рис. 1.

Рис. 1. Конкуренция между ДЦКД и осмотическим давлением среды за ингибирование функции F_1F_0 и TgkA системы у *E. coli* K 12(λ). 1—бактерии отмыты в растворе с осмотичностью 800 мосМ, созданной с помощью сахарозы, и перенесены в экспериментальный раствор с осмотичностью 570 мосМ; 2—тот же эксперимент, но введен ДЦКД (стрелка) в концентрации 5×10^{-4} М; 3—бактерии отмыты в растворе с осмотичностью 800 мосМ, созданной с помощью сахарозы, в присутствии ДЦКД в концентрации 10^{-4} М и перенесены в экспериментальный раствор; глюкоза в концентрации 50 мМ, рН 7,8, осмотические шоки (стрелки) величиной 150 мосМ созданы введениями сахарозы.

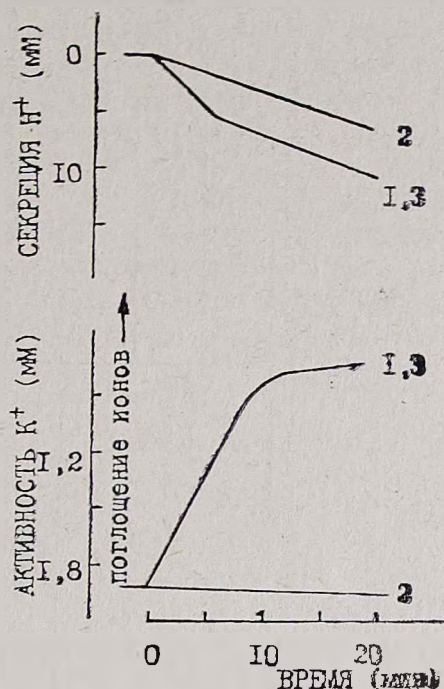


Рис. 2.

Рис. 2. Кинетика секреции H^+ и поглощения K^+ у сферопластов *E. coli* K 12(λ), полученных при обработке клеток лизоцимом. 1—сферопласты отмыты в растворе с осмотичностью 400 мосМ, созданной с помощью сахарозы, и перенесены в экспериментальный раствор с осмотичностью 830 мосМ; 2—тот же эксперимент в присутствии ДЦКД в концентрации 10^{-4} М; 3—сферопласты отмыты в растворе с осмотичностью 400 мосМ, созданной с помощью сахарозы, и перенесены в экспериментальный раствор с осмотичностью 270 мосМ; глюкоза в концентрации 50 мМ, рН 7,8.

Таблица

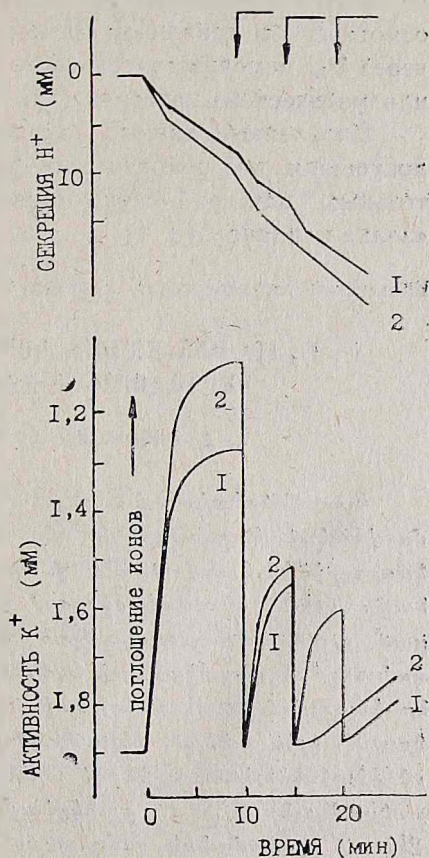
Скорости переноса H^+ и K^+ в период работы $F_1 \cdot F_0$ и TgkA системы у бактерий *E. coli* K 12 (λ) в анаэробных условиях в присутствии глюкозы

Условия эксперимента	Количество экспериментов	Скорости переноса ионов, мМ/мин				Отношение ДЦКД-чувствительных скоростей H^+/K^+
		суммарные		ДЦКД-чувствительные		
		H^+	K^+	H^+	K^+	
При вторичном увеличении осмотического давления среды (рис. 1)	5	$1,66 \pm 0,18$	$0,17 \pm 0,02$	$0,34 \pm 0,03$	$0,17 \pm 0,02$	$2,0 \pm 0,2$
Сферопласты, полученные при обработке клеток лизоцимом: по перегибам на кинетических кривых (рис. 2)	5	$1,27 \pm 0,16$	$0,29 \pm 0,03$	$0,59 \pm 0,06$	$0,29 \pm 0,03$	$2,0 \pm 0,1$
В параллельном эксперименте:						
при увеличении осмотического давления среды	3	$0,65 \pm 0,06$	$0,21 \pm 0,03$	$0,42 \pm 0,04$	$0,21 \pm 0,03$	$2,0 \pm 0,1$
при уменьшении осмотического давления среды	5	$0,80 \pm 0,09$	$0,23 \pm 0,02$	$0,45 \pm 0,04$	$0,23 \pm 0,02$	$2,0 \pm 0,1$
При обработке клеток ЭДТА в концентрации 10^{-2} М с последующим осмотическим шоком	5	$0,38 \pm 0,04$	$0,03 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,00$	$0,08 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,2$

Весьма неожиданным оказался характер переноса H^+ и K^+ у сферопластов *E. coli* K 12 (λ), полученных при обработке клеток пенициллином [10]. У сферопластов с секрецией H^+ , чувствительной к ДЦКД, наблюдается лишь выход K^+ из клеток (не показано), что говорит не только об отсутствии связи с осмотическим давлением среды, но и о нарушении функции TgkA системы. При этом на кривой секреции H^+ наблюдается перегиб, свидетельствующий об отключении протонного насоса [4, 11], выход же K^+ уменьшается как с возрастанием активности K^+ в среде, так и с уменьшением pH среды (не показано). «Пенициллиновые» сферопласты генерируют мембранный потенциал величиной—150 мВ, включающей ДЦКД-чувствительную компоненту (не показано). Бактерии, реверсированные из этих сферопластов, осуществляют типичный осмочувствительный обмен $2H^+$ на $1K^+$ (не показано). Пенициллин, являясь ингибитором активности ряда ферментов, обладает способностью ковалентно связываться с белками. Возможно, он неспецифически воздействует либо на TgkA систему, либо на ее связь с $F_1 \cdot F_0$, но его присутствие не сказывается на функции $F_1 \cdot F_0$.

Совокупность результатов указывает на участие периплазматического пространства в осмотической регуляции функции $F_1 \cdot F_0$. Вместе с тем отключение функции $F_1 \cdot F_0$ при потере осмочувствительности (перегиб на кривой секреции H^+ у сферопластов) говорит о наличии

Рис. 3. Влияние величины первичного осмотического шока на характер переноса H^+ и K^+ у *E. coli* K 12(λ). Бактерии отмыты в дистиллированной воде и перенесены в экспериментальный раствор с осмотичностью 570 мосМ (1) и 870 мосМ (2); глюкоза в концентрации 50 мМ, pH 7,8, осмотические шоки (стрелки) величиной 150 мосМ созданы введениями сахарозы в KCl.



инного, возможно внутриклеточного, пути отключения, но не включения $F_1 \cdot F_0$.

Внутриклеточный контроль функции $F_1 \cdot F_0$. При насыщении клеток ионами калия теряется чувствительность $F_1 \cdot F_0$ к осмотическому давлению среды. $F_1 \cdot F_0$ и TrkA система, с большой скоростью осуществляющие обмен $2H^+$ на $1K^+$, при накоплении K^+ в клетке путем неоднократного включения $F_1 \cdot F_0$ с помощью увеличения осмотического давления среды даже при сохранении исходной активности K^+ в среде не включается при последующем увеличении осмотического давления среды (рис. 5, кр. 2). Это подтвердилось и при увеличении величины первичного осмотического шока и последующем увеличении осмотического давления среды (рис. 3, кр. 1). Эти результаты свидетельствуют о том, что увеличение внутриклеточной активности K^+ может ингибировать функции $F_1 \cdot F_0$. Согласно данным Радса и Эпштейна [18], активность TrkA системы подавляется высокой внутриклеточной концентрацией K^+ . Если $F_1 \cdot F_0$ и TrkA система жестко связаны в мембране и образуют транспортный суперкомплекс [3, 4, 13], то полученные результаты вполне объяснимы. Мы допускаем, что высокая внутриклеточная активность K^+ , возможно, способствует отключению $F_1 \cdot F_0$ через связанную с ним TrkA систему.

Таким образом, совокупность экспериментальных данных позволяет прийти к следующему заключению: функция $F_1 \cdot F_0$ регулируется осмотическим давлением среды; осмотический контроль осуществляется через F_0 , осмочувствительность $F_1 \cdot F_0$ исчезает при нарушении периплазматического пространства.

Полученные данные находят удовлетворительное объяснение при допущении, что осмотическая регуляция функции $F_1 \cdot F_0$ у грамотрицательных бактерий осуществляется с помощью периплазматического «белка-клапана» [3, 4].

Ереванский госуниверситет, кафедра биофизики

Поступило 16.II 1984 г.

$F_1 \cdot F_0$ H⁺ ԱՆՖ-ԱԶԱՅԻՆ ԿՈՄՊԼԵՔՍԻ ՖՈՒՆԿՑԻԱՅԻ ՕՍՄՈՏԻԿԱԿԱՆ ԿԱՐԳԱՎՈՐՈՒՄԸ ESCHERICHIA COLI-Ի ՄՈՏ

Ա. Հ. ԹՈՉՈՒՆՅԱՆ, Է. Ա. ԿԱՐԱԳՈՒՆՅԱՆ, Պ. Ա. ՎԱՆՅԱՆ

Ուսումնասիրված է $F_1 \cdot F_0$ H⁺-ԱՆՖ-ազային կոմպլեքսի ֆունկցիայի օսմոտիկական կարգավորումը E. coli բակտերիաների մոտ: Դիցիկլոհեկսիլ-կարբոդիմիդ-կախված $2H^+$ -ի արտամղումը $F_1 \cdot F_0$ միջոցով և $1K^+$ -ի կլանումը TrkA սխեմայի միջոցով բակտերիաների մոտ անաէրոբ պայմաններում, գլյուկոզայի առկայության դեպքում զգալուն են միջավայրի օսմոտիկական ճնշման փոփոխության նկատմամբ: Երկու պրոցեսների օսմոզգայնությունը կորչում է սոսբ մուտանտի մոտ F_0 պրոտոնային ուղու 24000 դ մոլեկուլար կշիռ ունեցող ենթամիավորում դեֆեկտի ժամանակ: Ցույց է տրված դիցիկլոհեկսիլկարբոդիմիդի և միջավայրի օսմոտիկական ճնշման միջև մրցակցությունը $F_1 \cdot F_0$ ֆունկցիայի արգելակման համար: $F_1 \cdot F_0$ միջոցով $2H^+$ -ի արտամղման օսմոզգայնությունը վերանում է սֆերոպլաստների մոտ: Քննարկված է պերիպլազմատիկ «սպիրտակուց-փականի» օգնությամբ $F_1 \cdot F_0$ ֆունկցիայի կարգավորման հնարավորությունը:

OSMOTIC CONTROL OF THE FUNCTION OF $F_1\cdot F_0$ H^+ -ATP-ASE COMPLEX IN *ESCHERICHIA COLI*

A. A. TRCHOUNIAN, E. A. KARAGULIAN, P. A. VANIAN

The osmotic control of H^+ -ATP-ase functioning was studied in whole cells of *E. coli*. DCCD-sensitive extrusion of $2H^+$ via $F_1\cdot F_0$ and concomitant accumulation of IK^+ by the TrkA transporter were sensitive to variations of osmolarity under anaerobic conditions in the presence of glucose. Osmosensitivity of both processes was absent in *uncB* mutants with an altered 24000 D of F_0 protein of the proton channel. DCCD did not inhibit H^+ -translocation by the ATP-ase during osmotic downshock. ATP-ase dependent extrusion of H^+ was insensitive to variations of osmolarity in spheroplasts. Regulation of $F_1\cdot F_0$ functioning by a periplasmic "protein-valve" was discussed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гринюс Л. Л., Даугелавичюс Р. Ю., Алькимавичюс Г. А. Биохимия, 45, 1609—1618, 1980.
2. Кушнарев А. П., Дуденкова Л. Г. Журн. эвол. биохим. и физиол., 2, 134—138, 1966.
3. Мартirosов С. М., Паноян Г. А., Трчунян А. А. Биофизика, 27, 249—252, 1982.
4. Bourd G. I., Martirosov S. M. Bioelectrochem. Bioenerg., 10, 315—334, 1983.
5. Dunn S. Biochem. Biophys. Res. Commun., 82, 596—602, 1978.
6. Durgaryan S. S., Martirosov S. M. Bioelectrochem. Bioenerg., 5, 554—560, 1978.
7. Durgaryan S. S., Martirosov S. M. Ibid. 5, 567—573, 1978.
8. Epstein W., Laimins L. Trends in Biochem. Sci., 5, 21—23, 1980.
9. Epstein W., Schults S. G. In: Microbial Protoplasts, Spheroplasts and L-form. Ed L. Guse, Baltimore, 186—193, 1968.
10. Kaback H. R. Methods in Enzymol., 22, 99—120, 1971.
11. Martirosov S. M., Trchounian A. A. Bioelectrochem. Bioenerg., 8, 25—32, 1981.
12. Martirosov S. M., Trchounian A. A. Ibid, 8, 597—603, 1981.
13. Martirosov S. M., Trchounian A. A. Ibid, 8, 605—611, 1981.
14. Martirosov S. M., Trchounian A. A. Ibid, 9, 459—467, 1982.
15. Martirosov S. M., Trchounian A. A. Ibid, 11, 29—36, 1983.
16. Oxender D. L. In: Biomembranes. Ep. L. A. Manson. N. Y., 5, 25—79, 1974.
17. Rhoads D. B., Epstein W. J. Biol. Chem., 252, 1394—1401, 1977.
18. Rhoads D. B., Epstein W. J. Gen. Physiol., 72, 283—295, 1978.
19. Rhoads D. B., Waters F. B., Epstein W. J. Gen. Physiol., 67, 325—341, 1976.
20. Sebald W., Hoppe J. Curr. Top. Bioenerg., 12, 1—64, 1981.

«Биолог. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

УДК 576.851.2+576.852.24:577.4

ЭКОЛОГИЯ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В СВЕТЕ ИХ БРОДИЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

С. Ш. ТЕР-КАЗАРЬЯН

Установлено, что по сводным данным о количестве штаммов молочнокислых бактерий, идентифицированных в лабораториях страны за последнее столетие, можно судить о распространенности отдельных видов. Распространенность видов коррели-

OSMOTIC CONTROL OF THE FUNCTION OF $F_1 \cdot F_0$ H^+ -ATP-ASE COMPLEX IN *ESCHERICHIA COLI*

A. A. TRCHOUNIAN, E. A. KARAGULIAN, P. A. VANIAN

The osmotic control of H^+ -ATP-ase functioning was studied in whole cells of *E. coli*. DCCD-sensitive extrusion of $2H^+$ via $F_1 \cdot F_0$ and concomitant accumulation of $1K^+$ by the TrkA transporter were sensitive to variations of osmolarity under anaerobic conditions in the presence of glucose. Osmosensitivity of both processes was absent in *uncB* mutants with an altered 24000 D of F_0 protein of the proton channel. DCCD did not inhibit H^+ -translocation by the ATP-ase during osmotic downshock. ATP-ase dependent extrusion of H^+ was insensitive to variations of osmolarity in spheroplasts. Regulation of $F_1 \cdot F_0$ functioning by a periplasmic "protein-valve" was discussed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гринюс Л. Л., Даугелавичюс Р. Ю., Алькимавичюс Г. А. Биохимия, 45, 1609—1618, 1980.
2. Кушнарев А. П., Дуденкова Л. Г. Журн. эвол. биохим. и физиол., 2, 134—138, 1966.
3. Мартиросов С. М., Пакосян Г. А., Триунян А. А. Биофизика, 27, 249—252, 1982.
4. Bourd G. I., Martirosou S. M. Bioelectrochem. Bioenerg., 10, 315—334, 1983.
5. Dunn S. Biochem. Biophys. Res. Commun., 82, 596—602, 1978.
6. Durgaryan S. S., Martirosou S. M. Bioelectrochem. Bioenerg., 5, 554—560, 1978.
7. Durgaryan S. S., Martirosou S. M. Ibid. 5, 567—573, 1978.
8. Epstein W., Laimins L. Trends in Biochem. Sci., 5, 21—23, 1980.
9. Epstein W., Schults S. G. In: Microbial Protoplasts, Spheroplasts and L-form. Ed L. Guse, Baltimore, 186—193, 1968.
10. Kaback H. R. Methods in Enzymol., 22, 99—120, 1971.
11. Martirosou S. M., Trchounian A. A. Bioelectrochem. Bioenerg., 8, 25—32, 1981.
12. Martirosou S. M., Trchounian A. A. Ibid, 8, 597—603, 1981.
13. Martirosou S. M., Trchounian A. A. Ibid, 8, 605—611, 1981.
14. Martirosou S. M., Trchounian A. A. Ibid, 9, 459—467, 1982.
15. Martirosou S. M., Trchounian A. A. Ibid, 11, 29—36, 1983.
16. Oxender D. L. In: Biomembranes. Ep. L. A. Manson. N. Y., 5, 25—79, 1974.
17. Rhoads D. B., Epstein W. J. Biol. Chem., 252, 1394—1401, 1977.
18. Rhoads D. B., Epstein W. J. Gen. Physiol., 72, 283—295, 1978.
19. Rhoads D. B., Waters F. B., Epstein W. J. Gen. Physiol., 67, 325—341, 1976.
20. Sebald W., Hoppe J. Curr. Top. Bioenerg., 12, 1—64, 1981.

«Биолог. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

УДК 576.851.2+576.852.24:577.4

ЭКОЛОГИЯ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В СВЕТЕ ИХ БРОДИЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

С. Ш. ТЕР-КАЗАРЬЯН

Установлено, что по сводным данным о количестве штаммов молочнокислых бактерий, идентифицированных в лабораториях страны за последнее столетие, можно судить о распространенности отдельных видов. Распространенность видов коррели-

рует с количеством сбраживаемых ими углеводов. Публикуемый инвентаризационный список обнаруженных в стране лактобацилловых и стрептококковых может быть положен в основу флоры молочнокислых бактерий СССР.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, экология.

На приспособленность бактерий и дрожжей к условиям внешней среды указывалось неоднократно [2, 3]. Одним из наиболее характерных свойств этих организмов является их способность к сбраживанию углеводов, и в биологическом плане наиболее вероятно, что их распространенность может зависеть от этих свойств. Подобная взаимосвязь предполагалась, однако, с оговоркой, что лишь «иногда сбраживание того или иного углеродсодержащего вещества можно связать с местобитанием микроорганизма» [1].

Задача исследования заключалась в том, чтобы на отечественном материале по молочнокислым бактериям вновь исследовать вопрос о наличии связи между способностью сбраживать углеводы и распространенностью видов молочнокислых бактерий.

Сведения о количестве штаммов молочнокислых бактерий, идентифицированных в лабораториях страны за последнее столетие, опубликованы нами ранее [7]. Эти данные с незначительными изменениями, вызванными уточнением номенклатуры [4], приведены в табл. 1 и 2. Данные о способности видов сбраживать углеводы, по-

Т а б л и ц а 1

Частота встречаемости и сбраживаемость углеводов видами
лактобацилловых бактофлоры СССР

Виды	Количество штаммов	Количество углеводов	Виды	Количество штаммов	Количество углеводов
<i>Lactobacillus</i>					
(<i>Thermobacterium</i>)	1901		(<i>Streptobacterium</i>)	1819	
acidophilus	1486	12—14	plantarum	1618	18—21
lactis	290	9	casei	201	14—18
leichmannii	56	11	(<i>Bifidobacterium</i>)	1017	
helveticus	22	4—5	fermentum	408	11—14
delbrueckii	17	4—5	brevis	388	8—11
bulgaricus	16	4	buchneri	165	9—12
salivarius	14	12—15	cellobiosus	55	15—16

Примечание: в скобках приводятся названия подродов.

черпнутые из руководства Берги [10], также приведены в указанных таблицах. Наличие ранговой корреляции между этими рядами вычисляли по формуле Спирмена с помощью методик, изложенных в руководствах [5, 6, 9]. В случаях, если число сопоставляемых пар было меньше пяти, имеющиеся данные удваивались или утраивались перед подсчетом с тем, чтобы возможно было оценить достоверность наличия связи. Материал в таблицах сгруппирован по родам и под родам, названия которых опубликованы ранее [8]. Данные по гноеродным стрептококкам (подрод стрептококков) не приведены, так как эти стрептококки связаны с больными животными, а не с растениями.

Сравниваемые ряды по лактобацилловым приведены в табл. 1, а по стрептококковым—в табл. 2. При подсчетах в табл. 1 не учитывались данные о слизистой и целлюброзной лактобациллах, так как они были введены лишь в 8-е издание Руководства Берги [10] и ко времени составления сводки [7] в стране еще не могло быть выполнено достаточного количества работ.

Таблица 2

Частота встречаемости и сбраживаемость углеводов
видами стрептококковых бактофлоры СССР

Виды	Количество штаммов	Количество углеводов	Виды	Количество штаммов	Количество углеводов
<i>Streptococcus</i>			<i>bovis</i>	242	10—16
(<i>Enterococcus</i>)	12699		<i>equinus</i>	28	4—8
<i>faecalis</i>	8504	13—17	<i>mitis</i>	7	3—5
<i>faecium</i>	4193	7	<i>salivarius</i>	4	6—8
(<i>Lactostreptococcus</i>)	3626		<i>Leuconostoc</i>	742	
<i>lactis</i>	2938	3—9	<i>mesenteroides</i>	492	9—18
<i>cremoris</i>	88	2—8	<i>dextranicum</i>	207	6—16
(<i>Viridostreptococcus</i>)	660		<i>oenos</i>	26	3—10
<i>thermophilus</i>	379	4—7	<i>cremoris</i>	15	2—4

Подсчеты показали, что во всех группах, кроме виридострептококков, имеется корреляционная связь на уровне вероятности 95%. В группе виридострептококков идентификация проводилась нередко с отступлениями. Так, к термофильному стрептококку были отнесены штаммы, растущие при 50° и не растущие при 2% соли. В большинстве работ, выполненных в стране, определялось лишь первое свойство и игнорировалось второе, поэтому многие штаммы отнесены к этому виду условно.

Можно предположить, что исследуемая связь не была раньше установлена лишь потому, что не было ясного представления о той величине, которую хотели связать со сбраживаемостью. Необходимо рассмотреть поэтому вопрос о понятии «частота встречаемости» в бактериологии. В ботанике это понятие общепринято, как и методика определения этого показателя. Как известно, частота встречаемости в ботанике определяется числом особей данного вида растений на данном участке местности по сравнению с общим числом растений. Участок местности применительно к бактериям—это чашки Петри с выросшими на них колониями и затем выделенными штаммами. Мы исходим из того, что частота встречаемости бактерий—это процент штаммов данного вида от общего количества штаммов. Как независимо от степени плодородия почвы делается вывод о частоте встречаемости растения, так и применительно к бактериям можно сделать это заключение независимо от состава примененной питательной среды.

Но если «частота встречаемости» получает такое толкование в отношении бактерий, то ранее опубликованные нами сводные данные о количестве идентифицированных в стране штаммов молочнокислых бактерий [7] можно расценивать не как лишь «исторические» (по оценке

ряда специалистов, участвовавших в дискуссии), а как данные о распространённости видов: если в руки исследователей попадали прежде всего виды, сбраживающие наибольшее количество углеводов, то сводные данные, как оказывается, зависят не от изученности, а от распространённости.

В табл. 1 и 2 приведены названия видов молочнокислых бактерий, обнаруженных лабораториями страны. По существу, это инвентарный список из 26-ти видов молочнокислых бактерий, обнаруженных в стране к 1974 году. Однако он тем более приближается к флоре, чем больше связывается распространение каждого вида с условиями внешней среды. Поскольку наличие такой связи представлено в данной работе, то публикуемый здесь список молочнокислых бактерий можно рассматривать как первый набросок флоры молочнокислых бактерий СССР.

Ереванский зооветеринарный институт,
сектор микробиологии проблемной
лаборатории технологии молока

Поступило 28.V 1984 г.

ԿԱԹՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԷԿՈԼՈԳԻԱՆ ԿԱԽՎԱԾ ՆՐԱՆՑ ԽՄՈՐՄԱՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐՑ

Ո. Շ. ՏԵՐ-ՂԱԶԱՐՅԱՆ

Երկրի լաբորատորիաներում վերջին հստակությամբ իդենտիֆիկացված կաթնաթթվային բակտերիաների շտամների քանակային տվյալներից ելնելով, կարելի է գաղափար կազմել նրանց տեսակների տարածվածության մասին: Ապացուցված է, որ տեսակների տարածվածությունը փոխկապակցված է նրանց ածխաջրերը խմորելու հատկության հետ:

Հաշտնաբերված լակտոբացիլայինների և ստրեպտոկոկայինների տալա-
պրոդ ցուցակը կարող է հիմք հանդիսանալ մեր երկրի կաթնաթթվային բակ-
տերիաների ֆլորայի համար:

ECOLOGY OF LACTIC ACID BACTERIA IN THE LIGHT OF THEIR FERMENTATIVE ACTIVITY

S. Sh. TER-KAZARIAN

According to the accumulated data on the amount of strains of lactic acid bacteria, identified at the laboratories of the country, it is possible to judge of the spread of certain species. The spread of the species is correlated with the amount of carbohydrates, fermented by them. The published inventory list of the Lactobacillaceae and Streptococcaceae found in the country can be laid in the basis of the flora of lactic acid bacteria of the USSR.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Квасников Е. И., Нестеренко О. А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. М., 1975.
2. Кудрявцев В. И. Систематика дрожжей. М., 1954.
3. Мишустин Е. Н. Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий. М.—Л., 1947.
4. Одобренные списки названий бактерий. Ереван, 1982.
5. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. Минск, 1967.
6. Снедекор Дж. У. Статистические методы в применении к исследованиям в сельском хозяйстве и биологии. М., 1961.
7. Тер-Казарьян С. Ш. В кн.: Проект международного кодекса номенклатуры бактерий. 157—198, Ереван, 1974.
8. Тер-Казарьян С. Ш. Научн. докл. высш. школы, биол. науки, 3, 82—88, 1975.
9. Урбах В. Ю. Биометрические методы. М., 1964.
10. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Baltimore, 1974.

«Биолог. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

УДК 576.85.224

ВИТАМИНСИНТЕЗИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ МОЛОЧНО-КИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ЮГОРТА

Л. А. ЕРЗИНҚЯН, А. Б. АКОПОВА, М. И. ЦИБУЛЬСКАЯ, Н. В. ПОМОРЦЕВА

Испытуемые неслизистые формы молочнокислых бактерий югорта обогащают кисломолочный продукт югорт рибофлавином на 50—61%, фолиевой кислотой на 67—85%, биотином на 5—20%.

Ключевые слова: югорт, молочнокислые бактерии, витамины.

В молоке и кисломолочных продуктах содержание витаминов варьирует в зависимости от времени года, корма животных, состава молока и других факторов [1, 5]. Содержание витаминов в молочных продуктах зависит также от способности молочнокислых бактерий синтезировать их. Различные группы молочнокислых бактерий для своего роста и развития нуждаются, в разной степени, в витаминах. Большинство видов этих бактерий (особенно палочковидных) остро нуждаются в них, чем и объясняется плодотворное влияние на их рост различных растительных экстрактов и дрожжевого автолизата, содержащих витамины [7].

Цель нашей работы заключалась в отборе молочнокислых бактерий, обладающих свойством синтезировать витамины и тем самым обогащающих молочный продукт ростовыми факторами. Отсутствие некоторых витаминов в молоке отрицательно сказывается на способности молочнокислых бактерий створаживать его [2, 3]. Так, при отсутствии аскорбиновой кислоты в среде потребность молочнокислых стрептококков в биотине увеличивается.

Среди молочнокислых бактерий, выделенных из молока и сыров, наряду с типичными, содержатся штаммы, потребность которых в витаминах варьирует и нередко зависит от состава среды [4, 7].

На потребность молочнокислых бактерий в витаминах влияют температура инкубации, pH, наличие углекислого газа и другие факторы. Так, при изменении температуры выращивания *L. helveticum* в пределах 3—4° реакция на внесенный рибофлавин меняется в пределах 25% [9].

Палладина и др. [6] нашли, что при низкой температуре сквашивания молока происходит медленное накопление промежуточных продуктов, которые значительно усиливают витаминонакопление. По мнению этих авторов, синтез витаминов связан с ферментами начальных стадий распада сахара, и витамины накапливаются значительно медленнее, чем молочная кислота; некоторые разновидности молочнокислых палочек *L. acidophilum* и *L. jurgurti* обладают свойством синтезировать в значительном количестве биотин и тиамин.

Материал и методика. Для эксперимента были отобраны 8 йогуртных культур молочнокислых бактерий, которые использовались для приготовления 8 вариантов йогурта: Л-11к и Л-32, представляющие собой монокультуры молочнокислых стрептококков; Л-11п и Л-7—монокультуры молочнокислых палочек; Л-11 и Л-30—зернистые молочнокислые палочки и молочнокислые стрептококки; те же культуры Л-11 и Л-30 с аспарогенными дрожжами; молочнокислые бактерии Л-11, Л-11к, Л-11п относятся к неслизистым, а культуры Л-30, Л-7, Л-32—к слизистым формам.

Инкубацию молочнокислых бактерий в молоке проводили при температуре 36° в течение 18 ч, а затем в течение трех часов выдерживали в холодильнике при 5°. Использовали летнее коровье молоко (июнь—июль). Микроскопическое наблюдение клеток осуществлялось перед определением витаминов в среде. Кислоотообразование определяли методом титрования, pH—потенциометрически. Извлечение свободных витаминов из молока и кисломолочных продуктов производили путем кислотного гидролиза при pH 3,5—4,0 на кипящей водяной бане в течение 50 мин с последующим охлаждением и трехкратным фильтрованием через бумажный фильтр.

Тиамин и рибофлавин определяли флуорометрическим методом, разработанным на кафедре молочного дела ТСХА. Метод основан на окислении тиамина в тиахром с последующей экстракцией органическим растворителем и измерением интенсивности флуоресценции на флуорометре.

Для анализа рибофлавина в пробирки из нефлуоресцирующего стекла приливали по 2 мл испытуемого фильтрата, добавляли по 8 мл дистиллированной воды, перемешивали и измеряли на флуорометре, по сравнению с эталонным раствором витамина.

Определение биотина и фолиевой кислоты проводили микробиологическими методами. Биотин определяли при помощи *L. plantarum* ATCC 8014 в модификации ВНИВИ, фолиевую кислоту с использованием *Strept. faecalis* ATCC 8043 [7].

Интенсивность размножения бактерий и соответственно содержание витаминов определяли по проценту светопропускания (при 540 нм) на фотоэлектроколориметре.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что йогуртные молочнокислые бактерии по уровню синтеза указанных витаминов различаются между собой. Так, под влиянием слизистых форм молочнокислых бактерий Л—30, Л—7, Л—32, Л—30+дрожжи в йогурте содержание рибофлавина по сравнению с контролем (молоко) увеличивается на 56—64%, а фолиевой кислоты—на 6—22%, причем монокультуры Л—7 и Л—32 больше продуцируют указанные витамины, чем при сов-

местном их выращивании (табл.). Что касается тиамина и биотина, то слизистые культуры йогурта лишь частично используют их для своего роста и развития, поэтому по сравнению с контролем в йогурте количество тиамина снижается на 5—23%, а биотина—на 48—55%.

Неслизистые культуры (Л—IIп, Л—IIк, Л—II, Л—II + дрожжи) способствуют увеличению содержания биотина на 5—20%, фолиевой кислоты на 14—85%, а рибофлавина на 50—61%. Что касается тиамина, то эти бактерии используют его для своего роста и развития, и содержание его в йогурте снижается на 28—49% (табл.).

Таблица

Содержание витаминов в молоке и кисломолочных продуктах йогурта

Витамины Продукты	Тиамин		Рибофлавин		Фолиевая кислота		Биотин	
	мкг/л	%	мкг/л	%	мкг/л	%	мкг/л	%
Молоко-контроль (предназначенное для продажи)	390	100	900	100	31,8	100	37,8	100
Опытные кисломолочные продукты на: неслизистых формах								
Л — II	200	51	1350	150	53,0	167	45,3	120
Л — IIп	280	72	1450	161	36,2	114	40,5	107
Л — IIк	280	72	1375	153	42,3	133	44,4	117
Л — II + дрожжи	240	62	1425	158	58,7	185	39,9	105
слизистых формах								
Л — 30	320	82	1400	156	31,6	99	20,8	55
Л — 7п	320	82	1475	164	36,2	114	18,4	49
Л — 32к	370	95	1450	161	38,7	122	20,8	55
Л — 30 + дрожжи	300	77	1400	156	33,8	106	18,2	48

Неслизистые культуры бактерий йогурта, в симбиозе молочнокислых палочек и кокков, синтезируют больше биотина и фолиевой кислоты, чем монокультуры тех же бактерий.

Исследуемые дрожжевые культуры в симбиозе с неслизистыми молочнокислыми бактериями в кисломолочном продукте увеличивают содержание фолиевой кислоты по сравнению с контролем на 85%, рибофлавина на 58%, биотина на 5,5%, содержание тиамина снижается на 38%.

Таким образом, неслизистые формы йогуртных молочнокислых бактерий обогащают йогурт рибофлавином на 50—61%, фолиевой кислотой—на 67—85%, биотином—на 5—20%.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 27.VI 1984 г.

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ՄԻՆԵՐԱԶԵՆԻՈՒ ՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ

Լ. Հ. ՆՐՋԻՎՅԱՆ, Ա. Բ. ԱԿՈՊՈՎԱ, Մ. Ի. ՏԻՐՈՒԼՍԿԱՅԱ, Ն. Վ. ՊՈՄՈՐՅԵԱՎ

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ յուղորդի լորձ շառաչացնող կաթնաթթվային բակտերիաները թթու կաթնամթերքները հարստացնում են հետև-

լալ զիտաճիւններով՝ քիթֆլաւինով (50—61 %), ֆոլաթթւով (67—85 %),
բիոտինով (5—20 %)։

VITAMIN SYNTHESIZING ABILITY OF YOGURT LACTOBACTERIA

L. H. YERZNIKIAN, A. B. AKOPOVA, M. I. TSIBULSKAYA, N. V. POMORTSEVA

The tested lactobacteria of yogurt enrichen the sour milk products with vitamins; ribophlavin by 50—61 per cent, pholeic acid by 67—85 per cent, biotin by 5—20 per cent.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Давидов Р. Б., Гулько Л. Е., Ермакова М. А. Основные витамины в молоке и молочных продуктах. М., 1956.
2. Ерзинкян Л. А., Акопян Л. Г. Изв. с/х. наук АрмССР, 7, 1971.
3. Ерзинкян Л. А. Биологические особенности некоторых рас молочнокислых бактерий. Ереван, 1971.
4. Квасников Е. И., Нестеренко О. А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. М., 1975.
5. Методика постановки зоотехнических и технологических опытов по молочному делу (под редакцией Давидова Р. Б.), 133, М., 1963.
6. Палладина О. К., Аношкина Л. А., Илюшина К. Н. Тр. ВНИИ жиров. 20, 1960.
7. Пушкинская О. И., Күцева Л. С. Сб. Витаминные ресурсы. 3, 133, М., 1955.

«Биолог. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

УДК 576.851.155:575.24:543.865:547.96

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКОВОГО СОСТАВА МУТАНТОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ

А. Д. НАЛБАНДЯН, А. Ю. ГАРИБЯН

Методом электрофореза в полнакриламидном геле был исследован белковый состав (водорастворимые белки) ауксотрофных и антибиотикчувствительных мутантов клубеньковых бактерий сон и люцерны. Показано, что мутантные формы клубеньковых бактерий сон и люцерны по белковому составу отличаются от исходных природных штаммов.

Ключевые слова: мутанты клубеньковых бактерий, электрофорез, белки.

Получение новых форм клубеньковых бактерий методом экспериментальной изменчивости представляет актуальную проблему в области изучения биологической фиксации атмосферного азота. Работ, проведенных в направлении получения мутантов клубеньковых бактерий и изучения их белкового состава, сравнительно немного, а результаты их неоднозначны.

Ряд авторов связывает изменение состава белков клеток клубеньковых бактерий с изменением их азотфиксирующей активности [2, 6].

Результаты работ одного из авторов настоящей статьи позволили сделать предположение, согласно которому различие в составе белковых компонентов мутантных форм и исходного штамма связано с изменением их специфичности [4]. Показано также, что клеточные белки активных штаммов *Rhizobium leguminosarum* обладают более низкой относительной электрофоретической подвижностью и более высоким молекулярным весом, чем белки малоактивных штаммов [1].

Цель настоящего исследования состояла в изучении белкового состава ауксотрофных и антибиотикчувствительных мутантов клубеньковых бактерий сои и люцерны.

Материал и методика. Исследовали ауксотрофные мутанты ($K_{21/6}$, $K_{21/11}$) клубеньковых бактерий люцерны и антибиотикчувствительные мутанты клубеньковых бактерий сои (Δ_3 , Δ_4 , Δ_{15}), полученные в лаборатории азотфиксирующих микроорганизмов Института микробиологии АН АрмССР. Метод получения мутантов описан ранее [5].

Медленнорастущие культуры клубеньковых бактерий сои выращивали в течение 72 ч на бобовом отваре с 2% маннита, а клубеньковые бактерии люцерны—на той же среде с 1% сахарозы в течение 48 ч на качалках при 28°. Культуральную жидкость штаммов, образующих большое количество внеклеточных полисахаридов, обрабатывали в гомогенизаторе (тип 302) при 4000 об/мин в течение 10 мин. Клетки осаждали центрифугированием при 10000 g в течение 30 мин и для освобождения от внеклеточных полисахаридов промывали в 0,01 M фосфатном буфере (pH 7,2). Затем их разрушали ультразвуком (22 кгц, 10 мин). Остатки разрушенных клеток удаляли центрифугированием при 10000 g в течение 15 мин.

Состав родорастворимых белков изучали методом диск-электрофореза в 7,5%-ном полиакриламидном геле, pH 8,3 [3]. На каждую трубку с гелем наносили по 250 мкг белка, определяемого по методу Лоури [7]. Разделение белков производили в течение 1,5—2 часов. Белки фиксировали 5%-ной трихлоруксусной кислотой и окрашивали амидочерным Б. Повторность анализов—2-кратная.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показали, что в составе белков мутантных форм клубеньковых бактерий сои и люцерны происходят некоторые изменения.

Как видно из данных табл. 1, по белковому составу мутантные формы клубеньковых бактерий сои отличаются друг от друга и от исходного штамма.

Наряду с белковыми компонентами, имеющимися у всех мутантных форм и исходного штамма (электрофоретическая подвижность (ЭП)—0,19; 0,39), отмечаются белки, присущие всем трем мутантам клубеньковых бактерий сои (ЭП—0,22; 0,48). Обнаружены также белки, отличающиеся от таковых исходного штамма, у мутантов Δ_{15} (ЭП—0,04; 0,59; 0,76) и Δ_4 (ЭП—0,66; 0,73). Некоторые белковые зоны утрачиваются у мутантов клубеньковых бактерий сои. Белковые зоны с электрофоретической подвижностью 0,70; 0,51; 0,42 и 0,31, обнаруженные на электрофореграмме исходного штамма, у всех мутантов отсутствуют.

Данные табл. 2 показывают, что у исследованных мутантов клубеньковых бактерий люцерны по сравнению с исходным штаммом появились дополнительные белковые зоны с низкой и средней электрофоретической подвижностью (ЭП—0,02; 0,23; 0,32 и 0,68). Дополнительная белковая зона с ЭП—0,68 очень интенсивно окрашена у му-

Таблица 1
Относительная электрофоретическая подвижность белков мутантных форм клубеньковых бактерий сон в полиакриламидном геле, pH 8.3

Исходный штамм 5784	Мутанты		
	Э ₃	Э ₄	Э ₁₅
—	—	0,96	0,96
0,94	0,94	—	—
—	—	—	0,76
—	—	0,73	—
0,70	—	—	—
—	—	0,66	—
0,64	0,64	—	0,64
—	—	—	0,59
0,57	—	0,57	—
0,53	0,53	0,53	—
0,51	—	—	—
—	0,48	0,48	0,48
0,44	—	0,44	0,44
0,42	—	—	—
0,39	0,39	0,39	0,39
0,36	0,36	—	0,36
0,32	0,32	0,32	—
0,31	—	—	—
—	—	0,29	0,29
0,27	0,27	0,27	—
0,25	0,25	0,25	—
—	0,22	0,22	0,22
0,21	0,21	—	—
0,19	0,19	0,19	0,19
0,14	—	0,14	0,14
0,12	—	0,12	0,12
0,10	—	—	0,10
0,06	0,06	—	0,06
—	—	—	0,04

Примечание: (—) — отсутствие белкового компонента.

Таблица 2
Относительная электрофоретическая подвижность белков мутантных форм клубеньковых бактерий люцерны в полиакриламидном геле, pH 8.3

Исходный штамм 5515	Мутанты	
	K _{21/6}	K _{21/11}
0,96	0,96	0,96
0,94	0,94	0,94
0,90	0,90	0,90
0,86	0,86	0,86
0,84	0,84	0,84
0,77	0,77	0,77
—	0,68	0,68
0,62	0,62	0,62
0,59	0,59	0,59
0,53	0,53	0,53
0,40	0,40	0,40
0,37	0,37	0,37
—	0,32	0,32
0,29	0,29	0,29
0,27	0,27	0,27
—	0,23	0,23
0,17	0,17	0,17
0,15	0,15	0,15
0,11	0,11	0,11
0,09	0,09	0,09
0,07	0,07	0,07
0,05	0,05	0,05
—	—	0,02

Примечание: (—) — отсутствие белкового компонента.

танта K_{21/11} и слабо — у K_{21/6}. Почти все белковые зоны у мутантов, в особенности у мутанта K_{21/11}, окрашены интенсивнее, чем у исходного штамма.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 11.VI 1984 г.

ՊԱՆԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՄՈՒՏԱՆՏԱՅԻՆ ՋԵՎՆՐԻ ՍՊԻՏԱԿՈՒՅԱՅԻՆ ԿԱԶՄԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ԷԼԵԿՏՐՈՖՈՐԵՏԻ ՄԵԹՈԴՈՎ

Ա. Զ. ՆԱԻԲԱՆԻՅԱՆ, Ա. ՅՈՒ ՂԱՐԻՅԱՆ

Էլեկտրոֆորեզի մեթոդով ուսումնասիրվել է սոյայի, կորնզանի և աուվույտի պալարաբակտերիաների աուքսոտրոֆ և հակաբիոտիկոգայուն մուտանտների սպիտակուցային կազմը (ջրալուծ սպիտակուցներ)։

Հաստատվել է, որ սոյայի և աուվույտի պալարաբակտերիաների մուտանտային ձևերը սպիտակուցային կազմով տարբերվում են ելային բնական շտամից։ Կորնզանի պալարաբակտերիաների մոտ նման տարբերություններ չեն բացահայտվել։

ELECTROPHORETIC PROTEIN PATTERNS OF NODULE BACTERIA MUTANTS

A. Dz. NALBANDIAN, A. Yu. GHARIBIAN

It has been established that the protein composition of the soy-bean and alfalfa nodule bacteria mutants differ from their original strains in their protein composition. No such changes have been detected in the protein composition of esparcet nodule bacteria.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бегишвили Ц. К., Магавариани М. З., Рамишвили Н. М. Сообщ. АН Груз. ССР, 86, 3, 697—699, 1977.
2. Желюк В. М., Лобова Н. А. Микробиология, 41, 3, 561—564, 1972.
3. Маурер Г. Диск-электрофорез, 13, М., 1971.
4. Налбандян А. Д., Алексанян А. П. Микробиология, 46, 4, 770—772, 1977.
5. Налбандян А. Д., Алексанян А. П. Биолог. ж. Армении, 31, 8, 799, 1978.
6. Шемаханова И. М., Олейников Р. Р. Докл. АН СССР, 200, 5, 1240, 1971.
7. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 1, 265—267, 1951.

«Биолог. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

УДК 582.282.23:547.466:577.15

ПРОЛИНОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ И ИЗМЕНЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПУЛА АМИНОКИСЛОТ В УСЛОВИЯХ ИНДУЦИРОВАННОГО СИНТЕЗА ФЕРМЕНТА ДРОЖЖАМИ SACCHAROMYCES VINI

Э. А. МАНТАШЯН, М. А. ДАВТЯН

Изучено влияние аминокислот группы глутаминовой кислоты, вносимых в питательную среду в качестве единственных источников азота, на активность пролиноксидазы и состав обменного аминокислотного фонда винных дрожжей. Выявлена прямая корреляция между концентрацией накапливаемого внутриклеточного пролина и активностью пролиноксидазы.

Ключевые слова: дрожжи, аминокислоты, пролиноксидаза.

Индукцированный синтез пролиноксидазы (L-пролин:НАД (Ф)-5-оксидоредуктаза КФ 1.5.1.2), рассматриваемый в аспекте утилизации аминокислот как источников азотного питания, неизбежно связывается со способностью усвоения аминокислот группы глутаминовой кислоты (цитруллина, орнитина, аргинина, пролина). В предыдущих работах рассматривались вопросы индукции пролиноксидазы пролином [3], орнитином [4] и их смесью, являющейся не менее эффективным индуктором, чем отдельная аминокислота [4].

ELECTROPHORETIC PROTEIN PATTERNS OF NODULE BACTERIA MUTANTS

A. Dz. NALBANDIAN, A. Ya. GHARIBIAN

It has been established that the protein composition of the soy-bean and alfalfa nodule bacteria mutants differ from their original strains in their protein composition. No such changes have been detected in the protein composition of esparcet nodule bacteria.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бегинили Ц. К., Магавариани М. Э., Рамшвили Н. М. Сообщ. АН Груз. ССР, 86, 3, 697—699, 1977.
2. Желюк В. М., Лобова Н. А. Микробиология, 41, 3, 561—564, 1972.
3. Маурер Г. Диск-электрофорез, 13, М., 1971.
4. Налбандян А. Д., Алексанян А. П. Микробиология, 46, 4, 770—772, 1977.
5. Налбандян А. Д., Алексанян А. П. Биолог. ж. Армении, 31, 8, 799, 1978.
6. Шемаханова И. М., Олейников Р. Р. Докл. АН СССР, 200, 5, 1240, 1971.
7. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 1, 265—267, 1951.

«Биолог. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

УДК 582.282.23:547.466:577.15

ПРОЛИНОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ И ИЗМЕНЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПУЛА АМИНОКИСЛОТ В УСЛОВИЯХ ИНДУЦИРОВАННОГО СИНТЕЗА ФЕРМЕНТА ДРОЖЖАМИ SACCHAROMYCES VINI

Э. А. МАНТАШЯН, М. А. ДАВТЯН

Изучено влияние аминокислот группы глутаминовой кислоты, вносимых в питательную среду в качестве единственных источников азота, на активность пролиноксидазы и состав обменного аминокислотного фонда винных дрожжей. Выявлена прямая корреляция между концентрацией накапливаемого внутриклеточного пролина и активностью пролиноксидазы.

Ключевые слова: дрожжи, аминокислоты, пролиноксидазы.

Индукцированный синтез пролиноксидазы (L-пролин:НАД (Ф)-5-оксидоредуктаза КФ 1.5.1.2), рассматриваемый в аспекте утилизации аминокислот как источников азотного питания, неизбежно связывается со способностью усвоения аминокислот группы глутаминовой кислоты (пирролизина, орнитина, аргинина, пролина). В предыдущих работах рассматривались вопросы индукции пролиноксидазы пролином [3], орнитином [4] и их смесью, являющейся не менее эффективным индуктором, чем отдельная аминокислота [4].

В настоящем сообщении приводятся данные, касающиеся вопросов влияния экзогенного аминокислотного питания на ферментную систему, ответственную за последующее окисление пролина.

Материал и методика. Объектом исследования служили интактные дрожжевые клетки вида *Saccharomyces vini*. Состав используемой питательной среды и способ культивирования опубликованы ранее [2, 3]. Биомассу дрожжей, находящихся в экспоненциальной фазе роста (18-часовая культура), ресуспендировали в свежей среде Ридер, содержащей в качестве источника азота либо одну из нижеуказанных аминокислот, либо сульфат аммония (1 мг/100 мл; дозы эквивалентны по азоту): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ —235; пролин—410; аргинин—310; цитруллин—235; орнитин—273; глутаминовая кислота—525. Инкубацию в этой среде продолжали в течение 60 мин, после чего клетки отделяли от культуральной жидкости центрифугированием, дважды промывали холодной водой, один раз—0,062 М калий-фосфатным буфером, pH 7.1. После последнего центрифугирования в одной партии определяли пролиноксидазную активность, в другой—спирторастворимую фракцию аминокислот (аминокислотный пул). Пролиноксидазную активность определяли по убыли пролина реакционной смеси и выражали в микромолах на 100 мг абсолютно сухих дрожжей. Для получения спирторастворимой фракции к одной порции дрожжей (инокулята) приливали 95%-ный этиловый спирт (гидромодуль 30:1) и экстрагировали в пробирках с обратным холодильником в течение часа при 75—80°. Остывший экстракт центрифугировали и использовали для количественного определения аминокислот. Другую порцию дрожжей (постинкубированная культура) аналогичным образом экстрагировали после 60-минутного инкубирования с аминокислотами. Для количественного определения аминокислот использовали метод распределительной бумажной хроматографии [8]. Проллин проявляли отдельно 1%-ным раствором пикнотина в этиловом спирте [1], орнитин—2%-ным раствором свежеприготовленного ванилина в н-пропиловом спирте [5], цитруллин—раствором п-диметилбензальдегида в этиловом спирте [5].

В статье приводятся средние результаты трех-пяти повторностей.

Результаты и обсуждение. 1. *Влияние аминокислотных добавок в питательную среду на синтез пролиноксидазы.* Согласно литературным данным, у ряда микроорганизмов синтез пролиноксидазы вызывается пролином и подавляется в присутствии аммония [7], что характерно и для многих других ферментов азотного катаболизма. Если для дрожжей рода *Saccharomyces* достоверно установлено, что синтез аргиназы и орнитинтрансминазы—первых двух ферментов катаболизма аргинина—вызывается аргинином, орнитином и их аналогами— α , γ -дiamiнобутиратом, лизином и гомоаргинином [6], то для синтеза дрожжевой пролиноксидазы такие индукторы не установлены. Принимая во внимание взаимосвязь обмена глутамата, аргинина, орнитина, цитруллина и пролина, мы выбрали в качестве возможных индукторов перечисленные аминокислоты и исследовали пролиноксидазную активность. Как видно из данных табл. 1, синтез пролиноксидазы индуцируется пролином, орнитином, значительно слабее (в 10 раз) глутаматом, аргинином и цитруллином. В присутствии ионов аммония фермент не синтезируется, и, по нашим данным, даже очень низкие концентрации аммония способны оказать репрессирующее действие [4].

2. *Влияние аминокислотных добавок в питательную среду на аминокислотный пул дрожжей*

В табл. 2 представлены данные, выражающие на примере пяти аминокислот величину приращения внутриклеточных аминокислот в

Таблица 1

Влияние аминокислот группы глутаминовой кислоты на индуцированный синтез дрожжевой пролиноксидазы, мкмоль пролина/100 мг дрожжей

Источник азота	Пролноксидазы	Источник азота	Проланоксидазы
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,16	Цитруллин	1,79
Глутаминовая кислота	1,34	Орнитин	12,57
Аргинин	1,56	Пролин	16,74

Таблица 2

Приращение аминокислот спирторастворимой фракции в постинкубированной на аминокислотах культуре *Sacch. vini*, мкг/100 мг дрожжей

Аминокислоты спирторастворимой фракции	Источники азота					
	NH_4^+	Про	Арг	Цитр	Орн	Глу
Глутаминовая кислота	173	311	311	—	—	356
Аргинин	240	30	477	—	21	—
Орнитин	5	23	—	—	214	37
Цитруллин	—	—	—	532	—	—
Пролин	9	730	204	37	554	62

Примечание: знаком (—) обозначено отсутствие приращения.

постинкубированной на аминокислотах культуре. Обращает на себя внимание высокий прирост глутамата (во всех вариантах, за исключением вариантов с экзогенными цитруллином и орнитинном), пролина, орнитина и цитруллина.

Данные табл. 3 показывают более подробно изменения, происходящие в аминокислотном составе дрожжей (инокулята) после 60-минутного контакта с аминокислотами (постинкубированная культура). Высокое содержание пролина (20% от суммарного аминокислотного состава) в варианте с экзогенным пролином и орнитинном и найденная там же максимальная пролиноксидазная активность наводят на мысль о существовании прямой корреляции между особенностями обмена клетки, обусловленными азотным питанием, и синтезом ферментов, прежде всего индуцированного происхождения (в данном случае пролиноксидазы).

При постинкубировании на аммонии аминокислотный состав не претерпевает существенных изменений и не вносит в дрожжевую клетку дополнительных количеств той или иной аминокислоты. В варианте с пролином резко падает (по сравнению с инокулятом) количество серина, несколько снижается количество валин-метионина, лейцина. Дополнительно синтезируются глицин, глутамат-треонин, тирозин. При постинкубации с аргинином в количественном отношении доминируют аргинин, пролин, глутамат, аспарат, глицин. В варианте с цитруллином обеднение аминокислотного состава отме-

Аминокислотный состав спирторастворимой фракции дрожжей *Saccharomyces vini*, мкг/100 мг дрожжей

Таблица 3

Аминокислоты пула	Инокулят		Инкубация инокулята с аминокислотами											
			NH ₄ ⁺		Про		Арг		Цитр		Ори		Глу	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Цистин	450,0	17,1	300,0	10,5	720,0	18,7	390,0	10,9	270,0	11,9	300,0	10,2	105,0	4,4
Орнитин	187,0	7,1	192,0	6,7	210,0	5,5	110,0	3,1	85,5	3,8	391,0	13,3	224,0	9,3
Лиз-гис	113,0	4,3	108,0	3,8	150,0	3,9	43,0	1,2	94,5	4,1	209,0	7,1	106,0	4,4
Аргинин	480,0	18,2	720,0	25,2	510,0	13,3	957,0	26,8	225,0	9,9	501,0	17,0	450,0	18,9
Аспаргат	123,3	4,7	123,3	4,3	164,4	4,3	460,3	12,9	82,2	3,6	82,2	2,8	123,3	5,2
Серин	212,8	8,1	202,2	7,1	80,9	2,1	85,1	2,4	212,8	9,4	61,7	2,1	106,4	4,5
Цитруллин	—	—	—	—	—	—	—	—	532,0	23,5	—	—	—	—
Глицин	76,9	2,9	76,9	2,7	102,6	2,7	128,2	3,6	76,9	3,4	76,9	2,6	102,6	4,3
Глу-тре	355,5	13,5	528,8	18,5	666,6	17,3	666,6	18,7	355,5	15,6	400,0	13,6	711,0	29,9
Аланин	288,8	11,0	296,2	10,4	242,2	6,3	279,5	7,8	76,4	3,4	223,6	7,6	201,2	8,5
Пролин	49,1	1,9	57,7	2,0	779,5	20,2	253,3	7,1	86,1	3,8	603,1	20,5	110,7	4,6
Валин	75,0	2,9	67,5	2,4	120,0	3,1	82,5	2,3	52,5	2,3	следы	—	75,0	3,2
Мет.	93,3	3,5	73,3	2,6	56,7	1,5	60,0	1,7	50,0	2,2	50,0	1,7	40,0	1,7
Дей	109,1	4,1	97,7	3,4	68,2	1,8	70,9	2,0	68,2	3,0	32,7	1,1	51,8	2,2
	2613,8		2843,6		3871,1		3586,4		2267,6		2931,2		2407,0	

Примечание: 1—концентрация аминокислоты; 2—процент от суммы.

чается за счет заметного снижения концентрации лизина + гистидина, аргинина, аланина, лейцина. В то же время при проявке хроматограмм специфическим проявителем, выявляющим цитруллин в виде единственного пятна, последний обнаруживается в обменном фонде исключительно в варианте с экзогенным цитруллином. Что касается накопления пролина в этом варианте, то его количество, хотя и возрастает, но не намного по сравнению с вариантами с пролином и орнитинном.

При постинкубации на орнитине наибольшая доля от суммарного аминокислотного состава приходится на синтезированные орнитин и пролин. Эти аминокислоты, а также аргинин, глутамат и цистин преобладают в фонде, в то время как остальные находятся в небольших количествах. В варианте с глутаматом отмечается обеднение фонда за счет снижения количества цистина, серина, валин-метионина, лейцина. Концентрация пролина повышается незначительно.

Обобщая полученные результаты, можно заключить, что индукция пролиноксидазы дрожжей вида *Sacch. vini* вызывается пролином и орнитинном. Активность пролиноксидазы предопределяется высоким содержанием свободного внутриклеточного пролина, который в условиях описанных экспериментов был найден при культивировании дрожжевых клеток на пролине или орнитине.

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

Поступило 11 I 1984 г.

ԱՄԻՆԱԹԻՐՈՆԵՐԻ ՄԵՏԱԲՈԼԻԿ ՊՈՒԼԸ ԵՎ ՊՐՈԼԻՆՕՔՍԻԴԱԶԻ ՍԻՆԹԵԶԸ ԿՄՐԱՍՆԿԵՐՈՒՄ

Է. Ա. ՄԱՆՏԱՇԻԱՆ, Մ. Ա. ԴԱՎԻՅԱՆ

Ստուգատարվել է գլուտամինաթթվի խմրի ամինաթթուների՝ որպես աճ-ման միջավայրում ազոտի միակ աղբյուրի ազդեցությունը խմորասնկային բջիջների պրոլինօքսիդազային ակտիվության և ամինաթթուների փոխանակու-թյան ֆոնդի վրա: Հաստատվել է ուղիղ կոռելյատիվ կապ կուտակված ներքջա-յին պրոլինի բանակության և պրոլինօքսիդազային ակտիվության միջև:

METABOLIC POOL OF AMINO ACIDS AND PROLINE OXYDASE SYNTHESIS IN YEASTS

E. A. MANTASHIAN, M. A. DAVTIAN

The effect of amino acids of the glutamate acid series as a sole source of nitrogen in growth medium, on the activity of proline oxydase and amino acids pool composition of yeast cells has been studied. A direct correlation between the concentration of intracellular proline and the activity of oxydase has been revealed.

1. Бритиков Е. А. Биологическая роль пролива. М., 1975.
2. Манташян Э. А. Межвузовск. сб. научн. тр. «Биология», вып. 1, 110. Ереван, 1979.
3. Манташян Э. А. Биолог. ж. Армении, 32, 8, 797, 1979.
4. Манташян Э. А. Биолог. ж. Армении, 37, 1, 46, 1984.
5. Хайс И. М., Мошек К. Хроматография на бумаге. М., 1962.
6. Dubois E. Revue des fermentations et des industries alimentaires, 30, 6, 1975.
7. Jayakumar A., Singh H. and Prasad R. BBA, 550, 144, 1979.
8. Lissitzky S., Laurent G. Buil. Soc. biol., 37, 1177, 1955.

«Биолог. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

УДК 577.472

ГИДРОФИЗИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЧИСЛЕННОСТЬ ГЕТЕРОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ ПРИТОКОВ ОЗЕРА СЕВАН

Р. О. ОГАНЕСЯН, Г. С. ВАРДАНЯН, М. Г. ГЕЗАЛЯН,
А. А. ҚАРАПЕТАН, В. М. МУРАДЯН

Впервые исследованы удельная электропроводность вод притоков оз. Севан и численность гетеротрофных бактерий в них. Приведены также данные о температуре воды и ее окисляемости. Установлены значительные различия в этих показателях между различными притоками и их участками.

Ключевые слова: притоки оз. Севан, удельная электропроводность, перманганатная и бихроматная окисляемость, гетеротрофные бактерии.

В связи с интенсификацией сельского хозяйства, развитием промышленности и строительством рекреационных объектов в бассейне оз. Севан, а также снижением уровня озера примерно на 19 м, изменившим соотношение объема воды притоков Большого Севана и его нынешнего объема вдвое (объем Большого Севана уменьшился с 39 до 21 км³, годовой приток по рекам составляет около 600 млн. м³, по Арпа-Севанскому водоводу—около 200 млн. м³), создались серьезные предпосылки усиления их эвтрофирующего действия на озеро. В свете сказанного приобретает особое значение комплексное изучение притоков оз. Севан. Мы задались целью исследовать распределение численности гетеротрофных бактерий с определением температуры, удельной электропроводности и окисляемости вод на ряде участков некоторых основных притоков оз. Севан: рр. Масрик, Макенис, Арпа и Гаварагет.

Материал и методика. Исследования проводились в мае—ноябре 1982 г. Пробы воды брали из четырех участков (станции С₁—С₄) р. Масрик, трех (С₅—С₇)—р. Макенис, из приустьевых участков притока р. Арпа и р. Гаварагет. При выборе местоположения станций исходили из того, чтобы они были наиболее показательными для характеристики антропогенного воздействия на водные массы.

Температуру воды измеряли ртутными термометрами.

Удельную электропроводность воды определяли как величину, обратную ее удельному электрическому сопротивлению, которую измеряли в пробах воды с помощью ячейки с платиновыми плоско-параллельными электродами и универсального моста электрических сопротивлений типа Р-577. Для предотвращения процессов поляризации измерения проводили на переменном токе частотой 1000 Гц. Величины удельной электропроводности рассчитывали на 18° с помощью таблицы Долгова [2]. Удельное сопротивление воды определяли сразу после отбора проб.

Перманганатную и бихроматную окисляемость воды определяли по общепринятой методике [1].

Численность гетеротрофных бактерий учитывали при посеве на питательную среду МПА методом поверхностного посева. Инкубацию проводили при 28° в течение 5—6 дней [3].

Приведена схематическая карта расположения станций

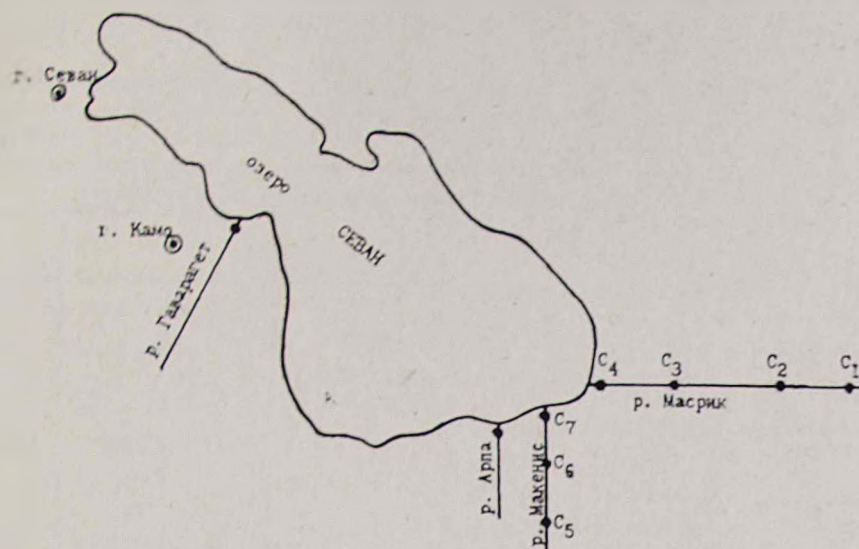


Рис. Схематическая карта расположения станций (пунктов отбора проб) на притоках оз. Севан.

Результаты и обсуждение. Некоторые данные, характеризующие исследованные притоки и станции, сведены в табл. 1.

Река Масрик. Результаты исследований показывают, что средние за июнь—ноябрь температуры постепенно возрастают от станции C₁ к станции C₄ (табл. 2), в то время как остальные параметры принимают максимальные значения на станции C₂. Средние значения удельной электропроводности на этой станции достигают 629 мк Сим/см, бихроматной окисляемости — 50,5 мг O₂/л, численности гетеротрофных бактерий — 142 тыс. кл/мл. Это следует объяснить сильным воздействием промышленного и бытового стоков населенного пункта Зод. На станции C₃ эти параметры характеризуются сравнительно низкими величинами, хотя пункт отбора проб находится в непосредственной близости от населенного пункта Мец Мазра. Средняя удельная электропроводность воды на этой станции ниже в два раза, окисляемость — примерно в пять раз, а численность гетеротроф-

Характеристика притоков оз. Севан

Притоки	Площадь водосборного бассейна, км ² *	Среднегодовой расход в 1982 г., м ³ /с	Станции	Расстояния станций от устьев, км
Масрик	685	3,7	C ₁ C ₂ C ₃ C ₄	38 35 10 0,1
Макенис	116	1,0	C ₅ C ₆ C ₇	14 4 0,1
Арпа	—	5,4	—	0,1
Гаварагет	—	2,9	—	0,1

* *Примечание:* приводятся по данным Армянского республиканского управления по гидрометеорологии и контролю природной среды.

Таблица 2

Температура, удельная электропроводность, бихроматная окисляемость воды и численность гетеротрофных бактерий в водных массах р. Масрик

Параметры	Станции				Средняя величина по реке
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	
Температура, °C	13,0	14,0	14,8	15,2	14,2
Удельная электропроводность, мкСм/см	426	629	236	249	400
Бихроматная окисляемость, мг O ₂ /л	6,9	50,5	10,7	14,2	20,6
Численность гетеротрофных бактерий, тыс кл./мл	28,2	142,0	70,2	78,4	80,2

* *Примечание:* приводятся средние данные за июнь—ноябрь 1982 г.

ных бактерий в два раза, чем на станции C₂. В устьевом районе реки (станция C₄) наблюдается некоторое повышение бихроматной окисляемости воды (на 40%) и численности гетеротрофных бактерий (на 10%), в то время как удельная электропроводность воды падает (на 16%). Это указывает на снижение интенсивности процессов минерализации на равнинной части реки между станциями C₃ и C₄.

Река Макенис. По средним данным за период исследований (табл. 3), температура воды от станции C₅ к станции C₇, а также удельная электропроводность постепенно повышаются, причем последняя увеличивается от станции C₅ до станции C₆ на 16%, а от станции C₆ до приустьевого района—на 56%. Бихроматная окисляемость и численность гетеротрофных бактерий в июне—ноябре достигают максимальных значений на станции C₆, а в приустьевом районе эти параметры характеризуются сравнительно низкими величинами—окисляемость падает более чем в два раза, количество сапрофитов—вчетверо. Анализ этих данных позволяет предположить повышенную интенсивность

Таблица 3

Температура, удельная электропроводность, бихроматная окисляемость воды и численность гетеротрофных бактерий в водных массах р. Макенис*

Параметры	Станции			Средняя величина по реке
	C ₅	C ₆	C ₇	
Температура, °C	9,4	11,8	12,5	11,2
Удельная электропроводность, мк См/см	71	62	126	94
Бихроматная окисляемость, мг O ₂ /л	5,5	16,8	7,6	10,0
Численность гетеротрофных бактерий, тыс. кл/мл	32,0	127,0	32,0	63,7

Примечание: приводятся средние данные за июнь—ноябрь 1982 г.

минерализации органических веществ на последнем четырехкилометровом участке этой реки (между станциями C₆ и C₇).

Приток Арпа. Водные массы этого притока отличаются низкой перманганатной окисляемостью и небольшим содержанием гетеротрофных бактерий. Эти параметры сравнительно высоких значений достигают лишь в мае (1,79 мг O₂/л и 44 тыс. кл/мл соответственно), в остальное время исследуемого периода они остаются на значительно более низком уровне, варьируя в пределах 0,48—0,97 мг O₂/л и 0,4—10,0 тыс. кл/мл соответственно (в среднем за май—ноябрь они соответственно составляли 0,87 мг O₂/л и 13,4 тыс. кл/мл). Особенности динамики этих величин, очевидно, следует объяснить тем, что в мае из Кечутского водохранилища, откуда берет начало этот приток, в озеро поступают паводковые воды с высоким содержанием органического вещества.

Река Гаварагет. Перманганатная окисляемость воды и численность гетеротрофных бактерий в этом притоке характеризуются высокими значениями, что является очевидным свидетельством повышенной интенсивности поступления органических веществ с расположенных поблизости населенных пунктов и сельскохозяйственных угодий. Максимум перманганатной окисляемости (9,05 мг O₂/л) отмечается в мае, численности гетеротрофных бактерий (192 тыс. кл/мл)—в августе. Минимальные значения этих показателей зарегистрированы в ноябре (1,29 мг O₂/л и 17 тыс. кл/мл соответственно). Средние за май—ноябрь величины соответственно составляли 4,03 мг O₂/л и 83,7 тыс. кл/мл.

Сопоставление средних величин исследованных параметров притоков оз. Севан показывает, что водные массы рек Гаварагет и Масрик характеризуются высоким содержанием органических веществ и гетеротрофных бактерий. Наименьшее содержание их—в притоке Арпа. Это объясняется тем, что водосборные бассейны рр. Масрик и Гаварагет в несколько раз больше, чем у других притоков (табл. 1); на этих реках имеются большие населенные пункты и обширные сельскохозяйственные угодья. Кроме того, несмотря на минерализацию определенной части органических веществ в водных массах Кечутского водохранилища, на протяжении 48 км водовода, воды притока

р. Арпа загрязняются в значительно меньшей степени по сравнению с другими исследованными притоками.

Отметим также, что в среднем количество гетеротрофных бактерий в рр. Масрик, Макенис и Гаварагет (последние графы табл. и 3) одинаково (63—84 тыс. кл./мл). Температура и удельная электропроводность водных масс реки Масрик значительно выше, чем р. Макенис, причем удельная электропроводность—в 4 раза, что указывает на высокое содержание подвижных ионов в воде и на повышенную интенсивность процессов самоочищения в р. Масрик.

Таким образом, на основании наших исследований можно заключить, что сравнительно большей чистотой характеризуются притоки рр. Арпа и Макенис.

Севанская гидробиологическая станция
АН Армянской ССР

Поступило 16.1.1984 г.

ՔԵՎԱՆԱ ԼՃԻ ՀԻՄՆԱԿԱՆ ՎՏԱԿՆԵՐԻ ՀԻԴՐՈՖԻԶԻԿԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ ԵՎ ՀԵՏԵՐՈՏՐՈՖ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՔԱՆԱԿԸ

Թ. Հ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Հ. Ս. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Մ. Գ. ԳՅՈԶԱԿՅԱՆ,
Հ. Ն. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Վ. Մ. ՄՈՐԱԴՅԱՆ

Առաջին անգամ հետազոտվել են Սևանա լճի վտակների ջրերի տեսակարար էլեկտրահաղորդականությունը և հետերոտրոֆ բակտերիաների քանակը Ուսումնասիրվել են նաև գետերի ջրերի ջերմաստիճանն ու օքսիդացման ունակությունը: Պարզվել է, որ զգալի տարբերություններ կան տարբեր վտակների ինչպես նաև նրանց առանձին մասերի ջրերի հիշյալ պարամետրերի մեծությունների միջև: Հետերոտրոֆ բակտերիաների ամենամեծ քանակությունը լճի օքսիդացման առավել մեծ ունակությունը հայտնաբերվել են Գավառագետի և Մասրիկ գետերի ջրային զանգվածներում:

SOME HYDROPHYSICAL CHARACTERISTICS AND HETEROTROPHIC BACTERIAL POPULATION OF THE LAKE SEVAN MAIN INFLUXES

R. H. HOVHANNISYAN, H. S. VARDANYAN, M. G. GYOZALYAN,
H. N. KARAPETYAN, V. M. MURADYAN

The specific electroconductivity and the quantity of heterotrophic bacteria of water mass of the rivers Arpa, Gavaraget, Masrik and Make-nis have been studied. The temperature, as well as the oxidability of the mentioned influxes waters have been investigated. There are significant differences between these parameters of the rivers, as well as between their different parts. The greatest quantity of heterotrophic bacteria and oxidability of waters have been found in Masrik and Gavaraget rivers.

1. Алексин О. А., Семенов А. Д., Словинский Б. А. Руководство по химическому анализу вод суши. Л., 1973.
2. Долгов В. Г. Определение удельной электропроводности в практике водных исследований. М., 1954.
3. Ринкина А. Г. Методы водной микробиологии. М.—Л., 1965.

«Биол. ж. Армения», т. 37, № 10, 1984

УДК 634.25.631.461 (479.25)

ВЛИЯНИЕ СИСТЕМЫ СОДЕРЖАНИЯ ПОЧВЫ ПЕРСИКОВОГО САДА НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ В УСЛОВИЯХ ПРЕДГОРЬЯ АРАРАТСКОЙ РАВНИНЫ

Е. Е. САРКИСЯН, Б. П. АВАКЯН

Изучено влияние травосмесей и удобрений на интенсивность микробиологических процессов в почве персикового сада. Выявлено, что наиболее эффективными приемами содержания почвы персикового сада в предгорье Араратской равнины являются черный пар и дерново-перегнойная система на фоне внесения полного минерального удобрения.

Ключевые слова: почва, микробиологическая активность, персиковый сад.

В литературе имеются данные о микробиологической активности почвы в садах под травами [3, 6, 8], а также о повышении ее при задернении. Ряд авторов считают, что минеральные удобрения активизируют жизнедеятельность микроорганизмов [4, 5]. В условиях каменистых полупустынных почв отмечено повышение микробиологической активности плодовых садов при сидеральном способе содержания и искусственном задернении почвы [2, 7]. Изучение влияния системы содержания почвы на фоне внесения минеральных удобрений в персиковом саду в условиях Предгорной зоны Армянской ССР будет способствовать разработке целенаправленных рациональных рекомендаций по повышению урожайности садов.

Цель настоящей работы заключалась в изучении микробиологической активности почвы и ризосферы молодого персикового сада в зависимости от системы содержания и выявления наиболее рациональной системы, способствующей активации микробиологических процессов и получению высоких урожаев.

Материал и методика. Исследования проводили в 1976—1979 гг. в совхозе Дзор-ли Аштаракского района в плодоносящем персиковом саду (сорт Наринджи). Почва опытного участка—темно-бурая, суглинистая, карбонатная. Опыт заложен на площади 4,5 га по схеме: контроль (целина), черный пар, черный пар+ $N_{150}P_{120}K_{100}$, гербицидный черный пар+ $N_{150}P_{120}K_{100}$, дерново-перегнойная система (ежа сборная и шадор), дерново-перегнойная система+ $N_{150}P_{120}K_{100}$.

Микробиологический анализ проводили по методике, принятой в лаборатории почвенных микроорганизмов Института микробиологии АН СССР [3]. Корневую микрофлору определяли по методике Березовой [1], количественный учет микроорганизмов осуществляли на различных агаризованных и жидких средах. Общее количество микроорганизмов учитывали на мясопептонном агаре (МПА) и крахмало-аммиачном агаре (КАА), споровые бактерии—на мясопептонном агаре и суесо агаре (МПА+СА), актиномицеты—на крахмало-аммиачном агаре КАА, олигонитрофильные микроорганизмы—на агаре Эшби, денитрификаторы—на жидкой среде Гильштайма, анаэробный фиксатор азота *Clostridium pasteurianum*—на жидкой среде Виноградского. Количество микробов учитывали при пересчете на 1 г сухой почвы.

Почвенные образцы отбирали в течение вегетации по фазам роста и развития растения на расстоянии 40 см от штамба дерева с глубины 0—50 см.

Результаты и обсуждение. Изучение микробиологической активности ризосферы почвы при различных системах содержания сада выявило, что наиболее богата микроорганизмами прикорневая зона (табл. 1). Сравнение данных о микробиологической активности по

Таблица 1

Динамика изменения микроорганизмов в период вегетации (средние данные трех лет, 1977—1979 гг.), млн на 1 г сухой почвы

Варианты опыта	МПА			КАА		
	массовое цветение	созревание плода	полная фи- зиологиче- ская зре- лость	массовое цветение	созревание плода	полная фи- зиологиче- ская зре- лость
Контроль						
ризосфера	0,720	1,063	0,78	0,98	1,23	0,80
прикорневая зона	1,240	1,461	1,24	1,38	1,34	0,98
Черный пар						
ризосфера	1,600	1,550	1,80	2,92	2,34	2,81
прикорневая зона	2,620	2,317	2,26	4,34	3,70	3,89
Черный пар+НРК						
ризосфера	2,235	2,725	3,00	3,90	3,16	3,51
прикорневая зона	8,956	5,774	4,84	8,39	4,16	5,94
Гербицидный черный пар+НРК						
ризосфера	3,638	2,615	2,79	3,45	2,15	3,24
прикорневая зона	7,070	5,055	4,52	6,72	2,98	4,63
Дерново-перегнойная система						
ризосфера	1,752	2,660	3,15	1,58	3,32	3,64
прикорневая зона	2,487	3,535	3,77	2,24	3,14	5,04
Дерново-перегнойная система+НРК						
ризосфера	7,920	4,716	3,32	8,58	3,32	3,06
прикорневая зона	12,215	6,167	5,30	13,43	4,94	5,84

вариантам показало, что черный пар способствует лучшему развитию микроорганизмов на МПА и КАА. Полное минеральное удобрение на фоне черного пара повышает численность микроорганизмов (ри-

Таблица 2

Динамика различных физиологических групп микроорганизмов в период вегетации (средние данные трех лет 1977—1979 гг.), млн на 1 г почвы

Варианты опыта	Актиномицеты			Олигонитрофильные			Споровые			Денитрификаторы			Clostridium pasteurianum		
	I	II	III*	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Контроль															
ризосфера	0,16	0,09	0,13	0,75	0,56	0,54	0,05	0,02	0,04	0,12	0,16	0,06	0,6	0,03	0,03
прикорневая зона	0,28	0,17	0,21	0,99	0,21	0,71	0,03	0,01	0,02	0,96	0,18	0,12	0,0	0,20	0,10
Черный пар															
ризосфера	0,11	0,004	0,16	2,39	2,05	1,04	0,15	0,3	0,09	1,41	0,72	1,20	1,2	0,13	0,16
прикорневая зона	0,44	0,40	0,30	2,69	2,35	2,55	0,11	0,11	0,09	0,98	0,01	0,20	0,9	0,13	1,16
Черный пар+NPK															
ризосфера	0,49	0,34	0,48	3,01	1,69	0,77	0,31	0,13	0,13	0,75	0,70	1,20	0,9	0,20	1,16
прикорневая зона	1,32	0,69	0,85	3,84	2,43	1,32	0,22	0,06	0,06	1,16	1,20	1,20	0,8	0,27	0,70
Гербицидный черный пар+NPK															
ризосфера	0,18	0,10	0,12	3,24	1,74	0,54	0,20	0,25	0,16	1,34	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20
прикорневая зона	0,22	0,14	0,18	3,95	2,10	1,01	0,14	0,16	0,12	1,80	1,18	0,30	1,40	0,03	1,37
Дерново-перегнойная система															
ризосфера	0,5	0,75	0,16	3,28	1,65	1,47	0,39	0,17	0,18	0,21	1,18	0,30	0,9	1,31	1,30
прикорневая зона	0,4	0,48	0,70	3,47	2,63	2,95	0,33	0,13	0,20	1,15	1,20	1,12	0,3	1,20	1,30
Дерново-перегнойная система+NPK															
ризосфера	0,5	0,88	0,94	3,96	3,18	2,42	0,41	0,21	0,23	0,21	1,30	1,20	0,9	1,20	1,20
прикорневая зона	0,3	0,72	0,84	4,51	4,01	2,87	0,21	0,17	0,14	1,21	1,30	1,20	1,20	1,30	0,07

* I—массовое цветение, II—созревание плода, III—полная физиологическая зрелость.

зосферных и прикорневых) по сравнению с контролем и аналогичным показателем в варианте с черным паром в 3—4 раза и более.

Гербицидный черный пар на фоне минеральных удобрений также стимулирует жизнедеятельность микроорганизмов, но в меньшей степени, чем полное минеральное удобрение по черному пару, что, по-видимому, связано с воздушным режимом почвы.

Микробиологическая активность при дерново-перегнойной системе незначительно отличалась от таковой парующей почвы. Внесение полного минерального удобрения при дерново-перегнойной системе значительно повышает численность микроорганизмов, растущих на МПА и КАА, по сравнению со всеми остальными вариантами опыта.

Таким образом, полное минеральное удобрение на фоне черного пара и дерново-перегнойной системы благодаря улучшению минерального питания способствует более значительному увеличению численности микроорганизмов, чем черный пар и дерново-перегнойная система в отдельности.

Изучение отдельных физиологических групп микроорганизмов при различных системах содержания почвы выявило аналогичную закономерность по зонам роста (табл. 2).

Численность актиномицетов в варианте с полным минеральным удобрением на фоне черного пара намного выше, чем в контроле и под черным паром, а также при дерново-перегнойной системе и дерново-перегнойной системе с $N_{150}P_{120}K_{100}$. Вероятно, задержание ухудшает воздушный режим почвы, что отрицательно сказывается на росте актиномицетов. Система содержания сада влияет также на численность олигонитрофильных микроорганизмов, которая была выше вдвое в варианте дерново-перегнойная система + $N_{150}P_{120}K_{100}$, чем при полном минеральном удобрении на фоне черного пара в фазе созревания плода. Денитрифицирующие микроорганизмы, являясь факультативными анаэробами, преобладают в прикорневой зоне в вариантах с гербицидным черным паром с $N_{150}P_{120}K_{100}$, дерново-перегнойной системой и дерново-перегнойной системой с $N_{150}P_{120}K_{100}$. Аналогично представлен анаэробный азотфиксатор *Clostridium pasteurianum*.

Динамика развития микрофлоры по фазам роста персикового дерева показала, что максимума развития микроорганизмы, растущие на МПА и КАА, *Clostridium pasteurianum* и споровые бактерии, достигают в фазе массового цветения; актиномицеты, олигонитрофильные микроорганизмы и денитрификаторы — в фазе созревания плода.

Таким образом, рост и развитие микроорганизмов обуславливается системой содержания почвы в саду. Наиболее эффективными вариантами содержания почвы в персиковом саду в Предгорье Арабатской равнины являются варианты с черным паром и дерново-перегнойной системой на фоне внесения полного минерального удобрения.

Институт виноградарства, виноделия и плодоводства

МСХ Армянской ССР

Поступило 22.VI 1984 г.

ԴՆԵՆՈՒ ԱՅԳՈՒ ՀՈՒՄ ԳԱՀՊԱՄԱՆ ՍԻՍՏԵՄԻ ԱՋԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՆՐԱ
ԻՐԿՐՈՒԹՅՈՒՆԳԻԱԿԱՆ ԱՆՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ ԱՐԱՐԱՏՅԱՆ ՀԱՐԹԱՎԱՅՐԻ
ՆԱԿԱԵՌՆԱՅԻՆ ԳՈՏՈՒ ԳԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ե. Ե. ՏԱՐԳՅԱՆ, Բ. Բ. ԱՎԱԳՅԱՆ

Ռատմնասիրված է ղեղձենու այգու պահպանման սխեմի ազդեցությունը հողի միկրոբիոլոգիական ակտիվության վրա Արարատյան հարթավայրի հասարակական գոտու պայմաններում: Պարզվել է, որ հողի միկրոբիոլոգիական ակտիվությունը բարձր է այգին սև ցելի տակ պահպանելու ղեպքում, յիարժեր հանքային պարարտանյութերի հետ մեկտեղ և էլ ափելի բարձր՝ ոչ-հաստի ու շարդարի ցանքսի ղեպքում, դարձյալ յիարժեք հանքային պարարտացման հետ մեկտեղ:

Դեղձենու այգու ափելի էֆեկտիվ պահպանման սխեմն է հանդիսանում սև ցելի և նմակայման սխեմներ՝ յիարժեք հանքային պարարտացման հետ մեկտեղ:

PEACH GARDEN SOIL PRESERVATION SYSTEM INFLUENCE
ON THE MICROBIOLOGICAL ACTIVITY UNDER CONDITIONS
OF THE ARARAT VALLEY FOOT-HILLS

E. E. SARGSIAN, B. P. AVAGIAN

The microbiological activity of the soil is high in case of preservation under bare fallow, together with full mineral fertilization, and still higher—in case of sowing of cocksfoot grass and shabdar, also with full mineral fertilization. A more effective preservation system of the peach garden is the system of bare fallow and turfing, together with full mineral fertilization.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Березина Е. Ф. Тр. ВНИИСК микробиологии, 2, 1951.
2. Вазняковская Ю. М. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, вып. 7, 1960.
3. Золотницев Д. Г., Асеева Н. В., Бабасова Н. Г., Мирчик Т. Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии, 223, М., 1980.
4. Литовченко Е. Т. Научн. тр. ВНИИС им. Н. В. Мичурина, вып. 15, Мичуринск, 1971.
5. Прушин Л. П. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1972.
6. Павленко В. Ф. Научн. тр. ВАСХНИЛ, южное отделение, Киев, 1978.
7. Фисиненко А. Н. Научн. тр. НИИ горного садоводства и цветоводства, вып. 18, Сухуми:Алипри, 1969.
8. Хачикян Л. А. Сб. мат-лов научн. конф. по абрикосу. 527, Ереван, 1970.
9. Шкварчук Н. М. Содержание почвы в садах. 251, Киев, 1963.

УДК 634.0.231.4(479.25)

ПОРОСЛЕВОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ ДРЕВОВИДНЫХ МОЖЖЕВЕЛЬНИКОВ В АРМЕНИИ

В. М. МУРАДЯН, К. С. БУСАТЯН

Впервые описывается восстановление древовидных можжевельников порослью. Показано, что порослевые деревья приступают к плодоношению в более раннем периоде жизни и быстрее растут, чем семенные. Однако в дальнейшем энергия роста, а также плодоношение и качество семян у таких деревьев резко снижаются.

Ключевые слова: можжевельник, поросль.

Поросль у хвойных пород—явление редкое и наблюдается в основном у молодых растений. Зарегистрированы единичные случаи появления поросли у ели, пихты и лиственницы [7]. Обнаружена поросль у сосны обыкновенной и крымской [3], а также смолистой [2].

Специальных работ, посвященных изучению способности восстановления можжевельников порослью, мы не встречаем. Имеются лишь единичные сообщения, которые ограничиваются констатацией этой способности у стланиковых форм можжевельников. Некоторые авторы [1, 4] считают, что «арча в природе возобновляется только семенным путем».

Изучением способности порослевого восстановления древовидного можжевельника, а также восстановления стволов его, частично за счет нижних ветвей, мы начали заниматься с 1962 года. В результате наблюдений и исследований, проведенных в 11 лесорастительных районах Армении, нами выявлены некоторые закономерности восстановления можжевельника.

Было установлено, что поросль древовидных можжевельников в основном развивается из верхушечных почек нижних сучьев, оставшихся на пнях. Крона можжевельников многоплодного и тяжелопадучего конусообразная, сучья их сохраняются близко у поверхности земли. После «удаления» ствола нижние ветви некоторое время (2—3 года) растут по поверхности земли, а затем вершина их загибается вверх, образуя порослевые стволы и формируя шаровидную крону. Часто после рубки главного ствола у таких деревьев растут три—четыре и более стволов. Встречаются порослевые деревья с 5—7 стволами. Это результат двукратной рубки. Нами измерены диаметры порослевых стволов и первичного ствола, сохранившегося в виде тумбы. В разданском районе (Арзаканское лесничество, квартал 70) на сухом склоне мы видели порослевое дерево можжевельника многоплодного с диаметром «тумбы» 2,5 м. Рубка была произведена 200—300 лет назад.

При повреждении верхней части стволика молодых деревьев (до 10 лет) она восстанавливается образованием главного ствола из

ближайших боковых ветвей. В таком случае в этом месте ствол имеет довольно заметный изгиб, который тем больше выражен, чем старше ветвь, заменившая ствол. Особенно часто поврежденный верхний побег замещается одной или несколькими ветвями верхушечной мутовки, в результате чего может образоваться двухвершинное или многовершинное дерево. Таким образом, порослевые деревья можжевельников как бы продолжают жизнь срубленного маточного дерева в определенном отрезке времени общего онтогенетического развития и роста.

Способность можжевельника многоплодного давать поросль из спящих и придаточных почек нами наблюдалась в мае 1977 года в Азизбековском лесхозе (Гер-Герское лесничество, урочище Арпа и Артаван) после позднеосенних заморозков (такие заморозки в можжевельном поясе Армении были зарегистрированы впервые). Поросль появлялась на вершинах деревьев, на средних их частях и у пней, вблизи места повреждения. Она появлялась из неразвившихся на ветви почек мутовок, почек второго, третьего кольца, из любой верхушечной почки побега, которые оставались неповрежденными.

Показано, что у древовидных можжевельников порослевое обилие зависит от материнского растения, от его биологической «силы» роста и мощности, возраста и состояния корневой системы, состояния надземной части. Установлено, что чем мощнее развиты надземная часть и корневая система срезанного дерева можжевельника, тем, при прочих одинаковых условиях, большее количество почек на нижних сучьях трогается в рост, в результате чего появляется больше порослевых побегов.

В условиях Армении только один вид (можжевельник низкорослый) укореняется ветвями (также размножается можжевельник казацкий). Можжевельник низкорослый широко распространен на вершинах гор, в субальпийских зонах Армении. У этого вида укореняются лежащие на земле ветви, образуя непроходимые заросли. Об этом нет упоминаний в литературе.

Наилучшим ростом и качеством отличается поросль, появляющаяся на пнях низкосрезанных деревьев. В возрасте до 20 лет поросль из боковых ветвей срубленного дерева можжевельника многоплодного растет довольно быстро в высоту и ширину. Однако в дальнейшем энергия роста их резко снижается. Из данных таблицы видно, что в пятилетнем возрасте высота поросли первого поколения после рубки ствола можжевельника многоплодного достигала $1,5 \pm 0,7$ м, второго поколения — $1,1 \pm 0,6$ м, т. е. в 3—4 раза больше у семенных деревьев естественного возобновления и в 1,2—1,6 раз больше у деревьев в наших опытных культурах, в тех же условиях.

В возрасте 60 лет семенные деревья достигали $12,5 \pm 0,8$ м, в 2 раза больше порослевых. Такая закономерность наблюдалась также в отношении диаметра семенных и порослевых деревьев.

Порослевым деревьям свойственна еще одна особенность: по сравнению с семенными они приступают к плодоношению в более раннем периоде жизни. В условиях Армении у можжевельника мно-

Таблица

Особенности роста и семенной продуктивности можжевельника многоплодного в зависимости от происхождения дерева*

Районы, высота над ур. м. и осадки в год, мм	Склон, почвенные условия и возраст деревьев	Происхождение деревьев	Средняя высота, м	Средний диаметр, см	Плодоношение, условные единицы, баллы**	Кол-во полнозернистых семян
Разданский, 1650 м 400—450 мм	ЮВ Темно-коричневая, хорошо гумусированная (до 4,8%) каменная почва, 5 лет	Семенное:				
		в естеств. возобновлении	$0,35 \pm 0,3$	$0,17 \pm 0,6$		
		в опыт. питомнике	$0,9 \pm 0,1$	$0,38 \pm 0,3$	3	68,5
		Порослевое:				
Бассейн озера Севан, 2150 м 350—400 мм	Ю Светло-коричневая, сильнокаменная эродированная, 20 лет	I поколение	$1,5 \pm 0,7$	$1,7 \pm 0,4$	2	31,6
		II поколение	$1,1 \pm 0,6$	$1,3 \pm 0,3$	1	17,5
		Семенное:				
		в естеств. возобновлении	$1,2 \pm 0,6$	$1,4 \pm 0,5$	4	56,7
Мегринский, 1400 м 300—350 мм	Ю Светло-коричневая, сухая, каменная почва, 60 лет	Порослевое:				
		I поколение	$4,5 \pm 0,7$	$8,6 \pm 0,3$	2	28,5
		II поколение	$3,4 \pm 0,5$	$7,7 \pm 0,6$	1	16,6
		Семенное:				
		в естеств. возобновлении	$12,5 \pm 0,8$	$28,5 \pm 0,7$	5	70,2
		Порослевое:				
		I поколение	$6,2 \pm 0,5$	$12,7 \pm 0,5$	2	20,3
		II поколение	$5,7 \pm 0,4$	$10,4 \pm 0,6$	1	9,6

* В каждом варианте измеряется 50 шт. модельных деревьев.

** Наилучшее плодоношение отмечено баллом 5, слабое—1.

плодного семени происхождения (при естественном возобновлении) плодоношение начинается в 15—20-летнем возрасте, у деревьев порослевого происхождения первого и второго поколений—в 4—5-летнем возрасте, почти так же, как семенные саженцы в поливных культурах и окрестностях Еревана (в 5—6-летнем возрасте). Однако плодоношение и качество семян порослевых деревьев по сравнению с семенными очень низкие. Количество полнозернистых семян семенных деревьев составляло 70,2%, а порослевых—9,6%. Причина этого явления подлежит детальному изучению.

Таким образом, продуктивность порослевых насаждений можжевельника далеко не соответствует естественно-историческим условиям их местопроизрастаний: условия местопроизрастания исследуемых насаждений в основном таят в себе большие возможности, которые расстроенные порослевые древостой очень слабо используют: накопление древесной массы и семенная продукция весьма за единицу времени незначительны.

Сведения о способности восстановления древовидных можжевельников за счет поросли, а также о динамике продуктивности потомства порослевых деревьев имеют важное значение для правильного ведения хозяйства в можжевеловых насаждениях [5, 6]. Можжевеловая проблема в настоящее время является одной из серьезных при решении задач лесной науки и производства.

Отдел охраны природы Армянского ВНИИ
охраны природы и заповедного дела МСХ СССР

Поступило 27 XII 1983 г.

ԳԵՂԵՆԻՐ ՎԵՐԱԿԱՆԳՆԻՄԵՐ ԸՆԶՅՈՒՂՆԵՐՈՎ ՀԱՅԱՍՏԱՆՈՒՄ

Վ. Մ. ՄՈՒՐԱԴԻԱՆ, Բ. Ս. ԲՈՒՍԱՏԻԱՆ

Պարզվել է, որ ծառանման գեղիները վերականգնվում են նաև բնձյուղներով: Սկզբնական շրջանում դրանք աճում են արագ և ազլի շուտ ևն անցնում պտղարերություն, բան ցանովիները: Սակայն հետագայում բնձյուղներից առաջացած ծառերի աճման էներգիան, ինչպես նաև պտղարերությունը և սերմերի որակը խիստ բնկնում են:

RENEWAL OF JUNIPERS WITH SHOOTS IN ARMENIA

V. M. MURADIAN, K. S. BUSATIAN

The renewal of tree-like junipers with shoots is described for the first time. The shoot trees start their fruit-bearing earlier than the seed plants. However, later on the growth energy, as well as the fruit-bearing and seeds quality of the shoot trees falls sharply.

1. Александровский Е. С. Мат-лы Первого Всесоюз. совещ. по «Арчевой проблеме». Ереван. 1976.
2. Альбенский А. В. Природа, 3, 1940.
3. Коваленко М. П. В кн.: Вегетативный лес. М., 1963.
4. Коннов А. А. Арчевые леса Таджикистана, Душанбе. 1974.
5. Мурадян В. М. Лесное хозяйство, 12, 1980.
6. Мурадян В. М. Арча Армении. Ереван. 1980.
7. Соколовская А. Тр. Ленинградского общ-ва естествоиспытателей, 1, 1927.

«Биолог. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

УДК 633.71:575.12

КОМПОНЕНТЫ ГЕНОТИПИЧЕСКОЙ ВАРИАНСЫ И НАСЛЕДУЕМОСТЬ НЕКОТОРЫХ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ У ТАБАКА

В. А. МАРКАРЯН, М. А. ГЮЛЬХАСЯН

На пяти межсортных гибридах табака изучены компоненты генотипической вариации и наследуемость шести хозяйственно-ценных количественных признаков. Доказана зависимость компонентов генотипической вариации и их соотношения от генотипа родительских сортов. У некоторых гибридных комбинаций проявление одних и тех же признаков обусловлено различным характером взаимодействия генов. Высокие показатели наследуемости в широком и узком смысле отмечены по признаку количества листьев. Остальные признаки имели низкие показатели наследуемости.

Ключевые слова: табак, генотипические варианты.

Выведение интенсивных сортов сельскохозяйственных культур в сравнительно короткие сроки требует дальнейшего развития теории селекции, создания новых и совершенствования существующих методов оценки селекционного материала в расщепляющихся гибридных поколениях. В этом аспекте определенное значение приобретают генетические параметры, характеризующие структуру, селекционную ценность популяции и позволяющие судить об интенсивности отбора.

Объективным критерием эффективности отбора у сельскохозяйственных растений считаются показатели наследуемости количественных признаков. Существуют понятия наследуемости в широком и узком смысле. Наследуемость в широком смысле определяют отношением генотипической вариации популяции к общей фенотипической, а наследуемость в узком смысле — отношением аддитивной вариации к общей фенотипической.

Результаты экспериментов на культуре табака показывают, что в зависимости от признака и особенностей скрещиваемых сортов компоненты генотипической вариации сильно варьируют, и характер

взаимодействия генов, обуславливающих проявление одноименных количественных признаков, неоднозначен [4—10]. На четырех комбинациях межсортовых скрещиваний табака показано, что различия между фенотипической выраженностью признака родительских сортов не всегда оказывают влияние на величину генотипической варiances [1].

Приведенные данные свидетельствуют о том, что фенотипическая выраженность признака не всегда может стать ориентиром при отборе в популяциях, так как равные показатели признаков могут быть обусловлены характером действия и взаимодействия генов.

Необходимость проведения подобных исследований на табаке продиктована недостаточной изученностью рассматриваемых выше вопросов на отечественных сортах.

В данной работе приведены результаты изучения компонентов генотипической варiances и наследуемости некоторых количественных признаков на пяти межсортовых гибридах табака.

Материал и методика. Исследование проводили на экспериментальной базе Армянской опытной станции по табаку НПО «Табак». В работе использовали следующие гибридные комбинации: Самсун 36×Самсун 959-11, Трапезонд 10×Трапезонд 42, Юбилейный×Остролист 44, Самсун 959-11×Остролист 44 и Самсун 36×Трапезонд 42. Родительские сорта (P_1 , P_2), гибриды первого и второго поколений (F_1 , F_2), а также гибриды от возвратных скрещиваний растений с родительскими сортами (B_1 , B_2) изучали в трехкратной повторности.

Каждая повторность состояла из пяти блоков. Блоки, а также варианты в блоках размещали по принципу полной рандомизации. Площадь учетных делянок занятых P_1 , P_2 , F_1 , B_1 и B_2 составляла 10,5 м², а F_2 —21 м². Все опытные растения были этикетированы. В дальнейшем, ежедневно до наступления осенних заморозков, проводили обследования растений для установления начала цветения. В день раскрытия первого цветка растение промеривали, учитывая следующие признаки: высоту растений, размеры листа среднего яруса, количество листьев, период от посадки растений до цветения, темп листообразования.

Выборки из родительских сортов, гибридов F_1 , F_2 и B_1 , B_2 составили соответственно 77—114 растений, 86—123, 229—255 и 127—148 растений.

Наследуемость определяли по генетической модели, подробно описанной Аалардом [3]. За общую фенотипическую варiances принимали варiances гибридов F_2 . Средний показатель варiances генетически однородных популяций P_1 , P_2 и F_1 принимали за паритипическую варiances. С помощью нижеприведенных формул вычисляли аддитивные и доминантные варiances:

$$V_{F_1} = \frac{1}{2} V_A + \frac{1}{4} V_D + V_E,$$

$$V_B = \frac{1}{4} V_A + \frac{1}{4} V_D + V_E,$$

$$V_A = 4 (V_{F_1} - V_B),$$

$$V_D = V_{F_1} - V_A - V_E,$$

$$V_E = \frac{V_{P_1} + V_{P_2} + V_{F_1}}{3},$$

где V_{F_1} —варiances F_2 , V_A —аддитивная варiances, V_D —доминантная варiances, V_E —паритипическая варiances, V_B —средний показатель варiances B_1 и B_2 , V_{P_1} —варiances P_1 , V_{P_2} —варiances P_2 , V_{F_1} —варiances F_1 .

Наследуемость в широком и узком смысле определяли по формулам:

$$H = \frac{V_{F_2} - V_E}{V_{F_2}}, \quad h = \frac{V_A}{V_{F_2}}.$$

Степень доминантности определяли по формуле:

$$\bar{h} = \frac{\sqrt{4V_D}}{\sqrt{2V_A}}.$$

Результаты и обсуждение. В таблице приведены средние показатели изучаемых признаков в F_2 , фенотипические и паратипические варiances, показатели наследуемости в широком и узком смысле, а также данные о средней степени доминантности.

Все изучаемые гибридные комбинации по высоте растений имели высокие показатели фенотипической варiances, причем у всех гибридов они превосходили в 2—3 раза средний показатель в F_2 , что сходится с данными других авторов [1, 9].

Большой интерес представляет то обстоятельство, что гибриды Ю.×О-44, С-959-11×О-44 и С-36×Т-42, несмотря на сравнительно одинаковые показатели признака в F_2 , резко отличаются друг от друга по всем изучаемым генетическим параметрам. Соотношение параметров V_A и V_D показывает, что у гибридов Ю.×О-44 и С-36×Т-42 аддитивная варiances намного больше доминантной, а у гибрида С-959-11×О-44, напротив, V_D в 3 раза превосходит параметр V_A . Однако, если у гибридов Ю.×О-44 и С-959-11×О-44 гены, контролирующие высоту растений, проявляют сверхдоминирование ($h > 1$), то для гибрида С-36×Т-42 характерно частичное доминирование признака ($\bar{h} < 1$). Высокими показателями наследуемости в широком и узком смысле характеризуется гибридная комбинация С-36×Т-42, а гибриды Ю.×О-44 и С-959-11×О-44 имеют низкие показатели наследуемости. В двух гибридных комбинациях (С-36×С-959-11, Т-10×Т-42) доминантный компонент генотипической варiances получился отрицательным, и в дальнейшем коэффициенты наследуемости в узком смысле и средние степени доминантности мы не вычисляли.

Обобщая данные о высоте растений, можно утверждать, что этот показатель признака не является критерием при отборе, так как одинаковые показатели признака являются результатом действия и взаимодействия разных генетических систем.

По длине листа низкими показателями коэффициентов наследуемости в широком и узком смысле характеризовались все гибридные комбинации. Это результат сильной паратипической изменчивости данного признака. У четырех гибридов паратипическая варiances превалировала над генотипической. Лишь у гибрида С-36×Т-42 генотипическая варiances была больше паратипической, и ее доля в общей фенотипической равнялась 51,17%. Соотношение компонентов генотипической варiances показывает, что у гибридов С-959-11×О-44 и С-36×Т-42 доминантная варiances превышает аддитивную, а у остальных гибридов аддитивный компонент больше доминантного. По всем гибридным комбинациям средняя степень доминантности

Таблица

Компоненты генотипической вариацы и показатели наследственности некоторых количественных признаков у гибридов табака

Гибриды	$\bar{X}$ для F_2	V_T	V_E	Компоненты генотипической вариации		Наследственность для F_2		Степень доминантности, $\bar{h}$
				V_A	V_D	H	h	
Высота растений								
C-36 × C-959-11	141,67	368,26	161,18	234,22	-7,14	0,585	—	—
T-10 × T-42	120,89	310,54	298,68	26,96	-9,12	0,056	—	—
Ю. × О-44	131,90	292,54	190,34	59,35	42,82	9,349	0,203	1,201
C-959-11 × О-44	133,53	229,66	161,58	18,80	49,28	0,296	0,082	2,290
C-36 × T-42	134,65	441,44	159,90	211,06	70,48	0,638	0,478	0,817
Длина листа								
C-36 × C-959-11	30,18	20,89	14,21	4,0	2,68	0,320	0,191	1,158
T-10 × T-42	49,89	26,21	14,41	7,24	4,56	0,459	0,276	1,122
Ю. × О-44	45,76	33,24	23,28	6,24	3,72	0,360	0,188	1,072
C-959-11 × О-44	40,44	25,25	14,93	2,0	6,32	0,409	0,079	2,865
C-36 × T-42	41,55	26,81	13,58	4,82	9,41	0,512	0,173	1,976
Ширина листа								
C-36 × C-959-11	17,61	7,84	5,96	0,64	1,24	0,240	0,082	1,969
T-10 × T-42	24,10	12,19	5,80	4,10	2,29	0,524	0,336	1,057
Ю. × О-44	21,23	9,55	5,98	1,04	2,54	0,374	0,109	2,210
C-959-11 × О-44	20,25	12,62	7,06	1,18	4,38	0,441	0,094	2,725
C-36 × T-42	22,15	11,13	7,75	2,90	0,48	0,304	0,261	0,576
Период посадки-цветения								
C-36 × C-959-11	101,76	107,84	48,62	50,34	8,88	0,549	0,467	0,594
T-10 × T-42	96,93	149,71	94,82	29,66	25,24	0,367	0,198	1,305
Ю. × О-44	98,07	160,25	80,26	69,94	10,05	0,479	0,436	3,399
C-959-11 × О-44	98,22	125,80	94,57	14,98	16,25	0,248	0,119	1,473
C-36 × T-42	99,45	146,22	61,13	45,72	39,37	0,582	0,313	1,312
Количество листьев								
T-36 × C-959-11	51,21	24,99	5,0	16,34	3,65	0,800	0,654	0,068
T-10 × T-42	34,15	14,85	4,71	9,40	0,74	0,683	0,633	0,397
Ю. × О-44	40,68	14,53	5,10	5,20	4,23	0,449	0,358	1,275
C-959-11 × О-44	44,67	22,17	5,97	15,12	1,08	0,731	0,682	0,378
C-36 × T-42	38,80	15,46	4,16	7,56	3,74	0,731	0,489	0,995
Темп листообразования								
C-36 × C-959-11	1,997	0,055	0,032	0,008	0,015	0,418	0,145	1,944
T-10 × T-42	2,846	0,103	0,095	0,004	0,004	0,078	0,039	1,416
Ю. × О-44	2,411	0,091	0,079	0,008	0,004	0,132	0,088	1,000
C-959-11 × О-44	2,206	0,133	0,052	0,100	-0,019	0,609	—	—
C-36 × T-42	2,591	0,100	0,070	0,026	0,004	0,300	0,260	0,553

была больше единицы, и поэтому можно говорить о сверхдоминировании признака.

Сходные данные были получены при анализе ширины листа. По всем комбинациям паратипическая вариаца была значительно боль-

ше, а коэффициенты наследуемости—невысокими. Исключение составил гибрид Т-10×Т-42, у которого генотипическая варiances превосходила паратипическую, и по сравнению с остальными гибридами эта комбинация имела высокий показатель наследуемости как в широком, так и узком смысле.

Ближкие показатели этого признака в F_2 имели гибриды Ю.×О-44, С-959-11×О-44 и С-36×Т-42. Но необходимо отметить, что генетическая обусловленность ширины листа в данном случае неодинакова. У гибрида С-36×Т-42 гены, ответственные за ее проявление, характеризовались неполным доминированием, и аддитивная варiances превосходила доминантную. Однако у гибридов Ю.×О-44 и С-959-11×О-44 гены, контролирующие ширину листа, проявили сверхдоминирование, о чем свидетельствуют высокие показатели средней степени доминантности.

Таким образом, размеры листа у табака характеризуются низкими показателями наследуемости в широком и узком смысле и, следовательно, жесткую браковку с F_2 необходимо перенести на более старшие поколения, так как браковка в F_2 может привести к неоправданным потерям ценных генотипов.

Высокими показателями фенотипической варiances характеризовались все гибридные комбинации по признаку продолжительности периода от посадки рассады до цветения. Как и по высоте растений, фенотипическая варiances превалировала над средним значением этого признака в F_2 . Гибриды имели также большие величины паратипической варiances и низкие показатели наследуемости. У гибридов С-36×С-959-11 и С-36×Т-42 генотипическая варiances была больше паратипической, и ее доля в общей фенотипической составила 54,91% и 58,19%. Только у этих гибридов аддитивные компоненты превосходили доминантные. Гены, контролирующие анализируемый признак, проявили сверхдоминирование. Исключение составила комбинация С-36×С-959-11, у которой имело место неполное доминирование признака.

Наиболее ценным компонентом продуктивности табака является количество листьев на растении. Данный признак контролируется действием генов, ответственных за проявление признаков продолжительности периода посадки-цветения и темпа листообразования [1, 2]. У всех гибридов аддитивный компонент генотипической варiances превосходил паратипическую и доминантную варiances, доля генотипической варiances в общей фенотипической составила 61,9—79,99%. Для этого признака характерно неполное доминирование, о чем свидетельствуют низкие показатели $\bar{h}$. Исключение составил только гибрид Ю.×О-44, у которого гены, контролирующие количество листьев, проявляли сверхдоминирование. По сравнению с остальными исследуемыми признаками количество листьев характеризуется высокими показателями наследуемости в широком и узком смысле. Следовательно, отбор лучших генотипов и строгую браковку рекомендуется начать в F_2 .

Важное селекционно-генетическое значение имеет генетический анализ признака темпа листообразования, который определяли как отношение продолжительности периода от посадки рассады до цветения к количеству листьев. Результаты исследования установлено, что этот признак весьма изменчив, о чем свидетельствуют и высокие показатели паратипической варiances, которые по всем гибридным комбинациям превосходили генотипическую варiancy. Этим и объясняются низкие показатели наследуемости данного признака как в широком, так и в узком смысле. Соотношение компонентов генотипической варiances показывает, что лишь у двух гибридов аддитивный компонент превосходил доминантный ($Ю. \times О-44$, $С-36 \times Т-42$). Последний имел более важное значение у гибрида $С-36 \times С-959-11$, а в комбинации $Т-10 \times Т-42$ оба компонента имели равные показатели. В трех гибридных комбинациях гены, контролирующие данный признак, проявили сверхдоминирование, и лишь у гибрида $С-36 \times Т-42$ имело место неполное доминирование. Так как у гибрида $С-959-11 \times О-44$ доминантная варiances имела отрицательное значение, коэффициент наследуемости в узком смысле и среднюю степень доминантности не вычисляли.

Таким образом, по высоте растений и ширине листа фенотипическая выраженность признака не является объективным критерием эффективного отбора, так как равные показатели одноименных признаков являются результатом действия и взаимодействия разных генетических систем. Получены высокие показатели наследуемости в широком и узком смысле по количеству листьев и рекомендуется проводить браковку в F_2 . Ввиду получения низких коэффициентов наследуемости по остальным признакам, предлагается начинать строгую браковку в поздних гибридных поколениях, так как браковка в F_2 может привести к потере ценного селекционного материала. Гены, контролирующие изучаемые количественные признаки, в основном проявляли сверхдоминирование. Исключение составило количество листьев, где имело место неполное доминирование.

Армянская опытная станция по табаку НИО «Табак»,

Армянский сельскохозяйственный институт

Поступило 28.II 1984 г.

ՆԵՆՆՈՏԻ ԳԵՆՈՏԻՓԱԿԱՆ ՎԱՐԻԱՆՍԻ ԲԱԶԱԴՐԱՄԱՍԵՐԸ ԵՎ ՄԵ ՔԱՆԻ ԲԱՆԱԿԱԿԱՆ ՀԱՏԿԱՆԻՇՆԵՐԻ ԺԱՌԱՆԳԵԼՈՒԹՅՈՒՆԸ

Վ. Ա. ՄԱՐԿԱՐԶՅԱՆ, Դ. Ա. ԳՅՈՐԴՅԱՆՅԱՆ

Սխախառնի հինգ միջսորտային հիբրիդների մոտ ուսումնասիրվել են զենոտիպական վարիանտի բազադրամասերը և տետեսական կարևոր վեց բանական հատկանիշների մատանգելիությունը: Հետազոտությունն արգլունքներն ապացուցել են զենոտիպական վարիանտի բազադրամասերի և նրանց հարաբերակցությունը կախումը ծնողական սորտերի գենոտիպից: Մի բանի հիբրիդների մոտ համառուն հատկանիշների զրոկորումը պայմանավորվել է գենների տարրեր ազդեցությամբ: Բոլոր հիբրիդների մոտ տերենների բանակը բնութա-

գրվել է ժառանգելիության գործակցի (լայն և նեղ իմաստով) բարձր ցուցանիշներով: Մյուս հատկանիշների գծով հիբրիդներն ունեցել են ժառանգելիության գործակցի ցածր ցուցանիշներ, որոնք ընդհանուր գենոտիպական վարիանսով պարատիպական փոփոխականության ավելի մեծ բաժնի արդյունք են:

COMPONENTS OF THE GENOTYPICAL VARIANCE AND THE HERITABILITY OF SOME QUANTITATIVE CHARACTERISTICS IN TOBACCO

V. A. MARGARIAN, M. A. GIULKHASIAN

The results of investigations have shown the dependence of genotypical variance components and their correlation on the genotype of parental varieties. In some hybrid combinations the display of the same characteristics is conditioned by different actions of the genes. The quantity of leaves of all hybrids is characterized by high indices of heritability. According to other features the hybrids have a low heritability index, which is the result of a higher portion of paratypical variability in the total genotypical variance.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Нерсисян П. М. Генетика, 18, 6, 993—998, 1982.
2. Нерсисян П. М., Саскян Ж. Г. Биолог. ж. Армении, 23, 1, 26—33, 1970.
3. Allard R. W. Principles of plant breeding, New-York, London, 485, 1960.
4. Gopinath D. M., Lakshminarayana R., Narayana C. L. Euphytica, 16, 293—299, 1967.
5. Legg P. D., Collins G. B. Theor. and Appl. Genet., 45, 6, 264—268, 1975.
6. Matzinger D. F., Mann T. J., Robinson H. F. Agron. J., 52, 8—11, 1960.
7. Matzinger D. F., Mann T. J. Tobacco Sci., 6, 125—132, 1962.
8. Murthy B. R., Murthy G. S., Pavate M. V. Züchter, 32, 361—369, 1962.
9. Povilaitis B. Canad. J. Genet. and Cytol., 6, 4, 472—479, 1964.
10. Robinson H. F., Mann T. J., Comstock R. E. J. Heredity, 8, 365—376, 1954.

«Биолог. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

УДК 591.169.1+513

ВЛИЯНИЕ СТРЕССОРНОЙ ЛИНЫКИ НА УСЛОВНОРЕФЛЕКТОРНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ДОМАШНЕЙ ПТИЦЫ

Н. Л. ПОГОСЯН, А. В. АРШАКЯН, А. В. ВОСКАНЯН

Изучалась высшая нервная деятельность кур ереванской породы при прохождении стрессорной линьки. Показано значительное ослабление основных нервных процессов, особенно на первых этапах становления временной связи, когда доминирует подкорковый гипоталамический тип замыкания условных рефлексов.

Ключевые слова: домашняя птица, условные рефлекс, стрессорная линька.

Механизмы реализации искусственной линьки вызывают особый интерес у ученых и практиков-птицеводов в связи с большим экономическим эффектом индукции искусственной линьки в промышленном птицеводстве и теоретической ценностью изучения адаптационно-защитных приспособлений этого процесса. Можно считать также вполне обоснованным мнение, согласно которому в основе протекания как естественной, так и искусственной линьки лежат одни и те же механизмы [11], особенно, если учесть то обстоятельство, что индукция принудительной линьки по классическим программам проводится под действием стресс-факторов, адекватных изменениям в природных условиях [10].

Довольно подробно разработана проблема гормональной регуляции процесса искусственной линьки, изучены роль гипоталамо-гипофизарной системы, симпато-адреналового комплекса, различных желез внутренней секреции, а также биохимические механизмы адаптации [1, 9, 12—14, 16]. Установлено также [14], что в период стрессорной линьки резко угнетается работа гипоталамо-гипофизарного механизма репродуктивной функции; показано [2, 3, 6, 8, 15, 17] активирующее влияние гипоталамуса на кору больших полушарий; воздействие некоторых нейротропных веществ на динамику сброса пера у кур [4]. Известно также, что психотропные фармакологические агенты ускоряют ход линьки, а транквилизаторы замедляют его, что подтверждает участие центральных структур головного мозга в реализации процесса линьки.

Интересные результаты были получены при исследовании кожной чувствительности и ее проекций в центральной нервной системе у перепарных кур при стрессорной линьке [5]. Расширение при этом зоны отведения вызванных фокальных потенциалов и нейрональных реакций в медиальной области каудального неостриатума (п. *epibasalis centralis* по Куленбеку [8]) также свидетельствует об участии конечного мозга кур в реализации линьки со стороны центральной нервной системы.

В связи с вышесказанным, нам представлялось целесообразным исследование высшей нервной деятельности кур при линьке, т. е. теста, наиболее полно выявляющего адаптационно-защитные изменения, происходящие в организме при индукции стресса, что имеет как теоретическое, так и большое практическое значение, особенно при организации производственных процессов в интенсивном промышленном птицеводстве.

Материал и методика. Опыты ставились на перепарных курах ереванской породы по оптимизированной нами программе классического метода индукции стрессорной линьки. Опытные куры подвергались пищевой депривации в течение 12 суток, затем в последующие 19 суток давался корм, начиная с 20 г/сут. на 1 голода, который к 31-му дню опыта восстанавливался до нормы. Световой день в течение этого месяца был сокращен до 6 час/сут. Поеение не ограничивалось. Под опытом находилось 1200 голов птиц, которые проходили программу линьки в производственных условиях с учетом продуктивности и сохранности в течение 10-ти месяцев. Средняя яйценоскость опытных кур за месяц составляла 15,7, контрольных—4,6, т. е. в 3,4 раза больше.

Для исследования высшей нервной деятельности было взято 8 голов птиц из опытного поголовья. Условнорефлекторная деятельность изучалась по двигательнo-пищевой методике. Условными раздражителями служили звуковые сигналы, условным рефлексом—выработанное движение: нажим клавишем на подвижный диск. Положительные

и отрицательные раздражители чередовались через 1-минутные интервалы 4 раза в опыте. Раздражитель действовал 10 с, в случае отсутствия в течение этого времени условной двигательной реакции действие его продолжалось до ее совершения, но не более 30 с. Пищевое подкрепление подавали сразу после условного сигнала. О свойствах основных нервных процессов судили по величине условного рефлекса, скорости образования и упрочения положительных и тормозных рефлексов и скорости двусторонней переделки сигнальных значений ассоциативной пары условных раздражителей.

Результаты и обсуждение. Анализ скорости выработки пищевого двигательного условного рефлекса показал, что условнорефлекторная деятельность птиц, прошедших искусственную линьку по программе классического метода индукции стрессорной линьки, отличалась рядом особенностей, которые выражались в усилении общей двигательной активности, хаотических движениях, беспокойстве. Ориентировочные и оборонительные рефлексы у этих птиц стойко удерживались в течение 3—4 дней, после чего начинали постепенно угасать. Выработка условных рефлексов была крайне затруднена (табл.). Условный рефлекс на по-

Таблица

Скорость выработки пищевого двигательного условного рефлекса у опытных и контрольных птиц

Группы птиц	Положительный условный рефлекс		Дифференцировка		Переделка сигнальных значений			
	появление	упрочение	появление	упрочение	+ в —		— в +	
					появление	упрочение	появление	упрочение
Опытная	29	67	15,7	42	12	25	7	15
Контрольная	11,3	53	5,5	33	4	10	6	12

ложительный раздражитель впервые наметился в среднем после 29-ти и стабилизировался лишь после 67-ми сочетаний условного раздражителя с безусловным. О состоянии тормозного процесса судили по выработке дифференцировочного торможения. Дифференцировка слухового анализатора появилась с 15-го применения отрицательного сигнала и упрочилась после 42-х неподкреплений. В ходе ее отмечалось длительное последовательное торможение, которое выражалось либо в полном отсутствии пищевого двигательного рефлекса, либо в сильном увеличении латентного периода (рис. 1).

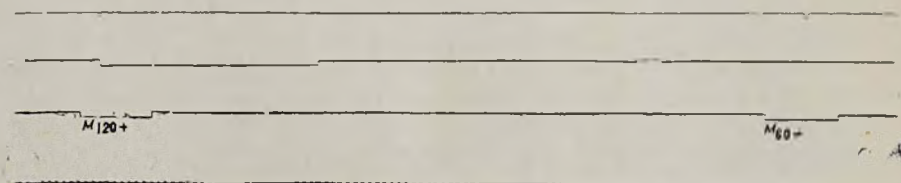


Рис. 1. Двигательный пищевой условный рефлекс и дифференцировка у опытных кур. Сверху вниз: двигательная пищевая условная реакция; действие условного раздражителя; подача кормушки; отметка времени.

Контрольным птицам для выработки положительных и отрицательных условных рефлексов потребовалось значительно меньше сочетаний. (рис. 2). Примерно такая же разница наблюдалась в показателях подвижности нервных процессов. На новый положительный сигнал реакция возникла и закрепилась в первый день опыта, т. е. почти в три раза быстрее, чем у опытных.

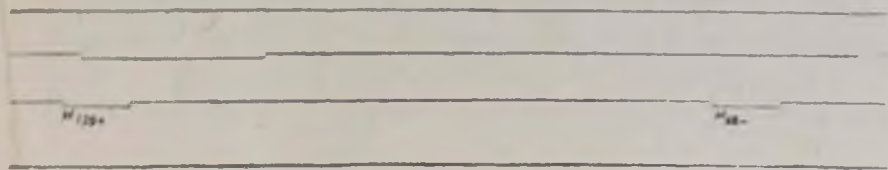


Рис. 2. Двигательный пищевой условный рефлекс и дифференцировка у контрольных птиц. Обозначения те же, что и на рис. 1.

Реакция птиц на изменения окружающей среды (пищевая депривация, укорочение светового дня) сильно выражена, ибо известно, что уравновешивание организма с внешней средой происходит при помощи нервной системы. Искусственная линька кур сопровождается обратными морфологическими и функциональными изменениями органов и систем, сменой перьевого покрова, снижением живой массы, временным угнетением репродуктивной функции. Обнаруженное нами угнетение функционального состояния высших отделов центральной нервной системы птиц в период искусственной линьки и даже полное выпадение и последующее восстановление нарушенной функции в связи с приспособлением к новой обстановке имеют определенную закономерность и согласуются с имеющимися литературными данными [7]. Как известно [14], в начальном периоде проявления стрессорной линьки резко угнетается работа гипоталамо-гипофизарного механизма репродуктивной функции и активируется система, ответственная за регуляцию смены перьевого покрова. Работами ряда авторов и данными нашей лаборатории [2, 3, 6, 8, 15, 17] показано активирующее влияние гипоталамуса на большие полушария. Значительное ослабление основных свойств нервных процессов, особенно в первый период становления условных рефлексов, можно объяснить подавлением тонизирующего влияния гипоталамуса на высшие отделы головного мозга, в том числе на структуры, участвующие в замыкании условных рефлексов.

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

Поступило 10.XI 1983 г.

Ն. Լ. ՊՈԳՈՍՅԱՆ, Ա. Վ. ԱՐՇԱԿՅԱՆ, Ա. Վ. ՈՍԿԱՆՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է երևանյան ցեղի հավերի պայմանական ռեֆլեկտոր գործունեությունը ստրեստային փետրափոխության ընթացքում: Պարզվել է, որ ակտիվ փետրափոխության շրջանում հավերի մոտ նկատվում է նյարդային ուղեղենների հիմնական հատկանիշների զգալի թուլացում՝ հատկապես պայմանական ռեֆլեքսների ձևավորման առաջին շրջանում, երբ գերակշռում է ժամանակավոր կապերի միացման ենթակեղևային հիպոթալամիկ տիպը:

INFLUENCE OF STRESS FADE ON THE CONDITIONED REFLEX ACTIVITY OF DOMESTIC POULTRY

N. L. POGHOSIAN, A. V. ARSHAKIAN, A. V. VOSKANIAN

High nervous activity of the Yerevan breed hens has been studied during stress fade. During intensive fade hens have considerable weakening of main properties of nervous processes, especially during the first period of temporary connection formation, when the undercortical hypothalamic type of conditioned reflexes connection dominates.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аврутина А. Я., Шинкарева В. П., Воинов Н. О., Фролова Е. Г. Докл. ВАСХНИЛ, 4, 8—12, 1976.
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. Восканян А. В. Биолог. ж. Армении, 33, 2, 204—207, 1980.
5. Восканян А. В. Мат.-лы III конф. мол. физиологов Закавказья, 45—51, Баку, 1981.
6. Калужный Л. В. Успехи совр. биологии, 68, 3, 361—380, 1969.
7. Карапетян С. К. Биолог. ж. Армении, 27, 7, 3—8, 1974.
8. Карапетян С. К., Аришакян А. В., Погосян Н. Л. Биолог. ж. Армении, 35, 10, 777—783, 1982.
9. Катрич Н. Н. Тр. Кубанского СХИ, 193 (221), 64—70, Краснодар, 1980.
10. Квиткин Ю. П., Федорченко Н. Г. Обзорная информация ВНИИТЭНСХ, 34, М., 1975.
11. Коронакис П., Селье Г. Сб.: Актуальные проблемы общей патологии и патофизиологии, М., 1976.
12. Мошков Е. А. XIII съезд Всесоюз. физиол. об-ва им. И. П. Павлова, 1, 460, Алма-Ата, 1979.
13. Новиков Б. Г. Сб.: Нейрогормональные основы повышения воспроизводительной функции с.-х. животных и механизмы регуляторной деятельности мозга, 203—210, Ереван, 1978.
14. Новиков Б. Т., Гарматина С. М. ДАН УССР, серия «Б», 8, 757, 1978.
15. Соллертинская Т. Н. Физиол. ж. СССР, 50, 5, 546—556, 1964.
16. Сухомлин К. Г., Катрич Н. Н., Дмитриенко С. Н., Фролова Е. А. Всесоюз. съезд физиол. об-ва им. И. П. Павлова, 462, Алма-Ата, 1979.
17. Чернышев И. А. Ж. высш. нервн. деятельности, 10, 6, 896—902, 1960.
18. Kuhlénbeck H. J. Comp. Neurol., 71, 2, 361—387, 1939.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

ДК 616.36+616.411+616.33

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ ВО
ВНУТРЕННИХ ОРГАНАХ БЕЛЫХ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ
МИНЕРАЛЬНОЙ ВОДЫ «АРЗНИ».

Р. С. ЭМИНЯН, Р. А. ГРИГОРЯН, М. А. ДАВТЯН

Ключевые слова: микроэлементы, арзницкая минеральная вода.

В настоящей работе приводятся результаты одновременного изучения сдвигов в содержании микроэлементов в различных органах и тканях организма крыс под влиянием углекислой (CO_2 —1,2), средне-минерализованной (M —8,3 г/л), слабокислой (pH —6,8), холодной (T —21°), хлоридной гидрокарбонатной натриевой кремнистой борсодержащей минеральной воды «Арзни».

Формула химического состава минеральной воды «Арзни» CO_2 1,2 M 8,3 $\frac{\text{Cl } 69 \text{ HCO}_3 \text{ 24}}{\text{Na } 66}$.

Материал и методика. Исследования проводили на 120 белых крысах-самках массой 200—220 г, находившихся на стационарном пищевом режиме и разделенных на 2 группы: контрольная—60 крыс, получавших водопроводную воду и опытная—60 крыс, получавших минеральную воду по 8—10 мл в течение 25 дней из специальных поилок, подвешенных в клетке. Голодавших в течение 16—18 ч животных, по 10 из каждой группы, декалантировали на 5, 10, 15, 20, 25-й дни приема минеральной воды «Арзни» и спустя 10 дней после окончания курса.

Содержание микроэлементов в желудке, тонкой кишке, печени, селезенке, почках определяли методом полного приближенно-количественного спектрального анализа [4, 12]. Проведена статистическая обработка результатов на ЭВМ—«Минск-32».

Содержание микроэлементов, согласно нашим данным спектрохимического анализа, следующее (в мг/л): Al —1,06, Mn —1,2, Si —140, Cu —0,40, Fe —7,70, Li —1,5, Sr —6,18, B —19,7, Ni —0,0008, Ag —0,00025, Co —0,0005, Mo —0,0002.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что курсовое внутреннее применение арзницкой минеральной воды приводит к количественным и качественным сдвигам в содержании биологически активных микроэлементов в органах и тканях организма, носящим полнообразный характер (рис.). У крыс II группы, по сравнению с контролем, во все сроки исследования в желудочной ткани повышается уровень кремния, марганца, меди, магния, висмута, бора, железа, фосфора. Динамика изменения количества алюминия, кальция в течение всего эксперимента носит фазный характер. На 20-й день появляется титан и барий в виде следов. На 25-й день уровень титана повышается, хром выявляется в виде следов.

В микроэлементном составе кишечной ткани также выявлены сдвиги: повышается содержание кремния, марганца, меди, бора, железа, магния, фосфора во все сроки эксперимента и появляется се-

серебро. Динамика изменения содержания алюминия и кальция носит волнообразный характер. Отмечено появление кобальта и никеля в определенные сроки эксперимента. В печени снижается уровень ме-

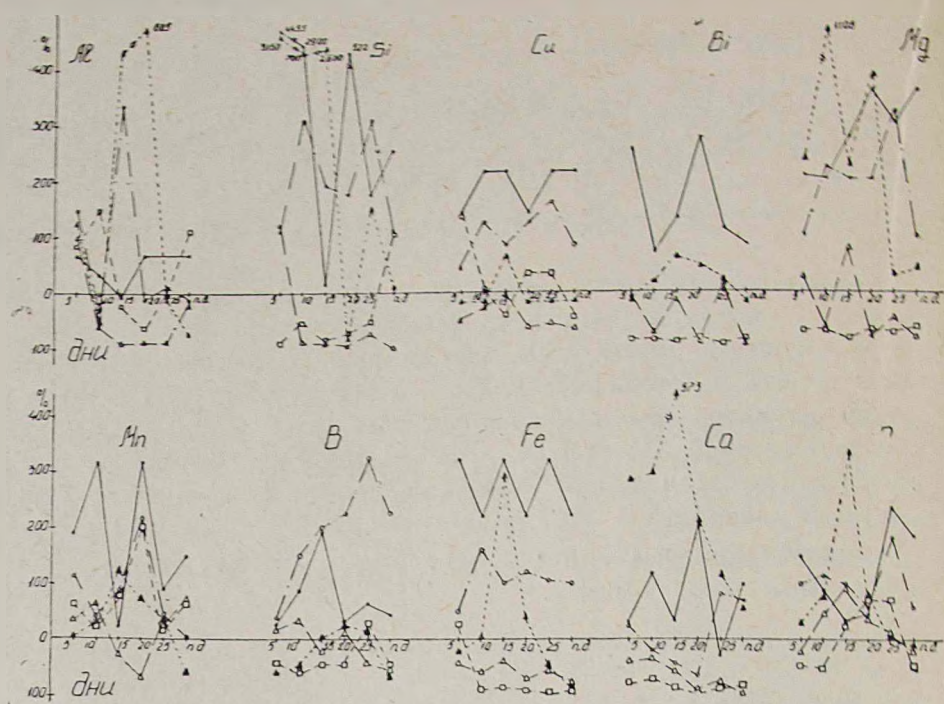


Рис. Динамика изменения содержания (в %) химических элементов в различных органах при курсовом внутреннем приеме минеральной воды Арзни.

Условные обозначения:

● — — — ● желудок, ○ — — — ○ тонкая кишка, △ — — — △ печень, □ — — — □ селезенка, ▲ — — — ▲ почки, п. д. — период после действия.

ди, железа, молибдена, кальция. Динамика изменения кремния, алюминия, марганца, бора, магния, висмута, фосфора носит волнообразный характер. Отмечено появление кобальта, серебра, никеля во все сроки эксперимента и титана — в определенные периоды. В селезенке во все сроки эксперимента выявлено повышение уровня никеля и снижение содержания кремния, магния, кальция, висмута, серебра, кобальта. Появляется литий. Изменение количества алюминия, железа, марганца, фосфора, бора, меди носит фазный характер.

В почках повышается содержание марганца, кремния, кальция, магния, фосфора, уменьшается количество лития, серебра. Динамика содержания алюминия, бора, меди, железа, висмута, молибдена носит фазный характер. Отмечено появление кобальта, никеля, титана в разные сроки эксперимента.

Резюмируя полученные данные, можно заключить, что при внутреннем курсовом приеме арзнинской минеральной воды отмечается направленная динамика — повышение кремния, меди, магния, марган-

ца, бора, железа, фосфора в тканях желудка и тонкой кишки, висмута в желудочной ткани, магния, кальция в почках, марганца в селезенке; снижение висмута, магния, бора в селезенке, железа, меди в печени, кальция в селезенке, печени; появление бария, хрома, титана в желудочной ткани, никеля, кобальта в тонкой кишке, печени, почках, серебра в тонкой кишке, печени, титана в почках, печени, лития в селезенке.

Таким образом, сопоставляя данные о количественных и качественных изменениях микроэлементного состава изучаемых органов при приеме арзинской минеральной воды, мы обнаружили более заметные сдвиги в тканях желудка, кишечника и органах, непосредственно контактирующих с минеральной водой.

Полученные данные выявляют динамику всасывания, распределения и накопления макро- и микроэлементного состава минеральной воды Арзни в организме при внутреннем курсовом применении.

Изменение содержания микроэлементов в органах и тканях может привести к ряду биохимических, ферментативных, гормональных и физиологических сдвигов в организме, что в свою очередь может отразиться на интенсивности и направленности метаболизма в клетке [1—3, 5—11].

НИИ курортологии и физиотерапии им. А. А. Аюбяна

МЗ Армянской ССР

Поступило 15.VI 1984 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабенко Г. А. Микроэлементы в экспериментальной клинической медицине. Киев, 1965.
2. Беренштейн Ф. Я. Всесоюз. съезд физиол., биохим., фармакол., 8. Тез. докл., 71. М., 1955.
3. Войнар А. О. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. М., 1977.
4. Клер М. М. Приближенно-количественный спектральный анализ. М., 1959.
5. Мирзоян С. А., Довлатян С. В. Сб. трудов Ин-та кур. и физ. метод. лечения, Ереван, 1958.
6. Мирзоян С. А., Григорян Р. А. ДАН АрмССР, 23, 2, 1961.
7. Мирзоян С. А., Григорян Р. А. Ж. курортологии и физиотерапии, 5, 1966.
8. Мирзоян С. А., Моисеян Т. Г. Вопросы курортологии, физиотерапии и физической культуры, 4, 1966.
9. Моисеян Т. Г., Эмилян Р. С. Мат-лы II Всесоюз. конф. по экспериментальной курортологии и физиотерапии, Ялта, 1969.
10. Ноздрихина Л. Р. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. М., 1977.
11. Нейко Я. В. Физиологическая роль и практическое применение микроэлементов, Рига, 1976.
12. Эмилян Р. С. Тез. докл. Респ. научно-тех. конф. по повышению эффективности спектрального анализа, Ереван, 1977.

УДК 576.851.151

О НИТРОГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ
ВИДОВ АЗОТОБАКТЕРА

В. Г. НИКОГОСЯН

Ключевые слова: азотобактер, нитрогеназная активность, азотфиксация.

Имеющиеся в литературе данные об азотфиксирующей способности разных видов азотобактера разноречивы. Слабо изучена нитрогеназная активность в динамике роста азотобактера в зависимости от видовых и штаммовых особенностей. Настоящее сообщение посвящено исследованию указанных вопросов.

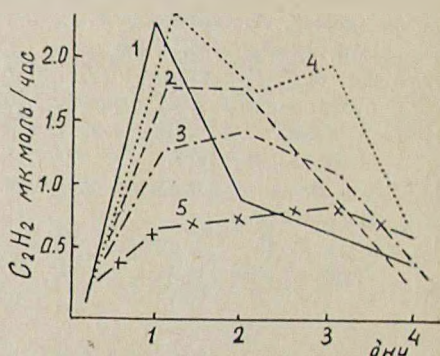
Материал и методика. Исследования проводили на 52-х культурах *Az. chroococcum*, *Az. agile*, *Az. vinelandii*, *Az. nigricans* из коллекции культур микроорганизмов Института микробиологии АН АрмССР (ИММИА).

Культуры выращивали на агаризованной питательной среде Виноградского (3 мл) в пенициллиновых флаконах и ежедневно в течение 4-х дней определяли нитрогеназную активность ацетиленовым методом [7]; подробное описание нами представлено ранее [4]. При расчетах пользовались коэффициентом соотношения ацетилена к азоту 3:1 [2]. Состав среды (г/л): K_2HPO_4 —0,3, $MgSO_4$ —0,3, $NaCl$ —0,3, $MnSO_4$ —0,005, $FeSO_4$ —0,005, $(NH_4)_2MoO_4$ —0,005, $CaCO_3$ —3,3, сахара—20, агар-агар—20.

Содержание белка в клетках определяли по Лоури [8] после предварительной их обработки 2N NaOH в течение 24-х часов при 37° [6].

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что у 68% изученных культур *Az. chroococcum* нитрогеназная активность достигает своего максимума в первый день роста, а у 30% культур—спустя двое суток. Лишь у незначительной части (2%) в течение первых двух дней нитрогеназная активность сохраняется на одинаковом уровне (рис.). Большинство штаммов (60%) *Az. nigricans* максимум азотфиксации проявляет на третьи сутки роста.

Рис. Динамика нитрогеназной активности различных видов азотобактера. *Az. chroococcum*—1—шт. 6111; 2—шт. 6155; 3—шт. 6132; *Az. vinelandii*—4—шт. 6121; *Az. agile*—5—шт. 6403.



У значительной части штаммов *Az. vinelandii* и *Az. agile* динамика азотфиксации аналогична таковой у культур *Az. chroococcum*, однако среди них наблюдаются определенные отклонения.

Таблица 1

Нитрогеназная активность различных видов азотобактера,
на моль C_2H_2 /час/1 мг белка

Виды и номера штаммов	Активность, сутки				
	12 ч	24 ч	48 ч	72 ч	96 ч
<i>Az. chroococcum</i> 6111	14,0	5,4	1,5	0,5	0,1
<i>Az. agile</i> 6403	14,6	4,5	0,9	0,3	0,1
<i>Az. vinelandii</i> 6127	9,9	5,0	0,5	0,5	0,2
<i>Az. nigricans</i> 6306	9,9	5,0	2,1	0,8	0,2

Так, у штамма 6403 *Az. agile* наибольшая азотфиксирующая активность обнаруживается на третий день развития, что характерно для медленнорастущих культур азотобактера, а у штамма *Az. vinelandii* 6121 наблюдается два максимума нитрогеназной активности, на первые и третьи сутки. После третьего дня развития нитрогеназная активность у исследуемых культур заметно падает. Несмотря на различный характер динамики нитрогеназной активности у изученных культур азотобактера, максимум активности фермента, рассчитанный на 1 мг белка, приходится на 12 часовую культуру (табл. 1). В дальнейшем активность нитрогеназы непрерывно падает, до незначительного уровня на 4-е сутки роста.

Учитывая сказанное, нитрогеназная активность культур рассчитывалась в виде суммарной активности за все дни роста и определялось количество связанного азота по восстановленному ацетилену. Показано, что исследованные культуры фиксируют 0,47—1,3 мг азота, что в расчете на 1 г внесенного источника углерода составит 7,8—21 мг азота соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Количество фиксированного азота различными видами азотобактера

Виды	Количество штаммов	Фиксированный азот, мг	
		в флаконе	на 1 г внесенной сахарозы
<i>Az. chroococcum</i>	4	0,60—0,73	10,0—12,1
	18	0,80—0,95	13,1—15,8
	6	1,00—1,25	16,6—20,1
<i>Az. agile</i>	3	0,60—0,69	10,0—11,4
	3	0,95—1,04	15,8—17,3
<i>Az. vinelandii</i>	2	0,60—0,67	10,0—11,1
	3	1,08—1,30	18,0—21,0
<i>Az. nigricans</i>	2	0,47—0,59	7,8—9,8
	3	0,74—0,89	12,3—14,5
	6	0,93—1,08	15,5—18,0
	2	1,17	19,5

Отметим, что результаты определения азотфиксирующей активности описанным нами способом согласуются с аналогичными данными, ранее полученными для отдельных культур азотобактера. Так,

показано, что *Az. chroococcum* при благоприятных условиях развития фиксирует 16—18 мг. а иногда—30 мг азота [1, 3, 5]. Наиболее высокой нитрогеназной активностью среди изученных нами культур характеризуются штаммы: *Az. chroococcum* 6153, 6150, 6162, *Az. vinelandii* 6121, 6118 и *Az. nigricans* 6306, 6313, 6314, которые в этом отношении превосходят известный штамм 53 (ИНМНА—6111) *Az. chroococcum*.

Полученные результаты позволяют заключить, что различные виды азотобактера, выращенные на агаризованной среде Виноградского, отличаются по характеру динамики нитрогеназной активности в процессе роста, а уровень азотфиксации обусловлен штаммовыми особенностями, что необходимо учитывать при использовании ацетиленового метода.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 17.11 1984 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. М.—Л., 1949.
2. Методические рекомендации по получению новых штаммов клубеньковых бактерий и оценка их эффективности. Л., 1979.
3. Мишустин Е. Н., Шилиникова В. К. Биологическая фиксация атмосферного азота. М., 1968.
4. Никогосян В. Г. Биол. ж. Армении, 34, 3, 1981.
5. Сандрак Н. А. Внеклеточные метаболиты азотобактера. Кишинев, 1978.
6. Яковлев В. И., Малюфеев Н. В., Звеза Н. Н., Андреева А. П., Губницкий Л. С., Щербакова В. Н., Березин И. В. Прикладная биохимия и микробиология, 15, 3, 1979.
7. Hardy R. W., Holsten R. D., Jochson E. K., Burns R. C. Plant Physiol., 43, 1185, 1968.
8. Lowry O. H., Rosenbraugh D. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.

«Биол. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 576.8;579.6

О СОХРАНЕНИИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Р. М. ГАЛАЧЬЯН, А. Р. ДАВТЯН, Ж. Ш. АРУТЮНЯН, М. А. АКОПЯН

Ключевые слова: бактерии фитопатогенные.

Одним из способов хранения коллекционных культур микроорганизмов является содержание их под минеральным маслом (вазелиновое, парафиновое) [1,2,4].

Пумпянская [3] изучила хранение около 600 различных культур под слоем вазелинового масла в течение 5-ти лет и показала, что

при этом у них не снижалась энергия размножения и не утрачивались морфофизиологические свойства. Фатеева [5] указывает на возможность хранения коллекционных культур дрожжей под вазелиновым маслом.

Материал и методика. Объектами исследования служили 70 культур фитопатогенных бактерий (табл.).

Таблица
Культуры фитопатогенных бактерий, сохранившие физиологические свойства при хранении под маслом

Виды	Кол-во исследованных штаммов	Гидролиз крахмала	Редукция нитратов	Гидролиз желатина	Образование		
					аммиака	индола	сероводорода
<i>Rhizobium tumefaciens</i>	5	—	—	—	+	+	+
<i>Pseudomonas lachrymans</i>	10	—	—	—	—	—	—
<i>Pseudomonas tabacum</i>	7	—	—	+	—	+	+
<i>Xanthomonas beticola</i>	5	—	+	+	+	—	+
<i>Xanthomonas malvacearum</i>	4	+	—	—	—	—	—
<i>Xanthomonas campestris</i>	4	+	—	+	+	+	+
<i>Xanthomonas vesicatoria</i>	6	+	—	—	—	+	—
<i>Corynebacterium fascians</i>	5	—	—	—	+	—	+
<i>Corynebacterium michiganense</i>	11	—	—	—	—	—	+
<i>Erwinia aroidea</i>	6	+	+	—	—	+	+
<i>Erwinia carotovora</i>	7	+	+	—	—	+	+

Культуры выращивались на мясопептонном агаре, агаризованной среде Лиске, бобовом и картофельном отваре с агаром. После роста бактерий среда заливалась стерильным вазелиновым маслом в асептических условиях. В каждую пробирку наливали по 0,5 мл масла и хранили при комнатной температуре. Затем периодически, через каждые 6 месяцев, проверяли выживаемость и сохранность морфофизиологических свойств этих культур путем пересевов их на соответствующие питательные среды.

Результаты и обсуждение. Результаты опытов показали, что культуры фитопатогенных бактерий под вазелиновым маслом сохраняли жизнеспособность после хранения в течение 5-ти лет. При содержании под вазелиновым маслом все изученные культуры сохраняли основные признаки — окраску по Граму, цвет колоний, подвижность и форму клеток, а также исследованные физиолого-биохимические свойства.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 6.III 1981 г.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Данилова М. В., Надирова Н. М., Кудрявцев В. Н. Методы хранения коллекционных культур микроорганизмов. М., 1967.

2. Кудрявцев В. И. Микробиология, 34, 3, 556—562, 1966.
3. Пушлянская Л. В. Микробиология, 33, 6, 1085—1090, 1964.
4. Троцкий В. Л. Лабораторная практика, 6, 8—10, 1929.
5. Фатеева М. В. В сб.: Методы хранения коллекционных культур микроорганизмов, М., 1967.

«Биол. ж. Армении», т. 37, № 10, 1981

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 581.19.634.8

НАКОПЛЕНИЕ АЗОТА У НОВЫХ СОРТОВ ВІНОГРАДА ІНТЕНСИВНОГО ТІПА В ЗАВИСИМОСТІ ОТ НАГРУЗКИ КУСТОВ

А. А. МЕЛКОНЯН

Ключевые слова: виноград, формы азота, нагрузка кустов.

Азотистые вещества играют важную роль в продуктивности и жизнедеятельности виноградного куста. Влияя на цвет, аромат, вкус и стабильность продукции [1], они в то же время оказывают действие на одревеснение побегов, перезимовку кустов и устойчивость к неблагоприятным факторам среды [2].

В настоящем сообщении приводятся результаты изучения изменения содержания форм азота в побегах и корнях новых сортов винограда интенсивного типа в зависимости от степени нагрузки кустов.

Материал и методика. Исследования проводились на однолетних побегах сортов Ириени и Интенсив селекции АрмСХН, взятых перед сокодвижением (в начале вегетации). Опыты были поставлены в шести вариантах: 40, 50, 60, 70, 80, 90 глазков на куст. Количество общего, белкового и небелкового азота определялось (после экстракции и сжигания) спектрометрически при волне 413 НМ после окрашивания реактивом Несслера.

Результаты и обсуждение. Результаты изучения изменений форм азота одновременно в надземных и подземных частях куста в начале вегетации приведены в таблице.

Из таблицы видно, что содержание общего азота в зависимости от степени нагрузки кустов в побегах сорта Ириени колеблется в пределах 9,6—11,5 мг, а в корнях—9,14—15,2 мг, у сорта Интенсив эти показатели соответственно составляют 8,2—12,0 и 8,2—14,4 мг. Эти данные показывают, что количественные сдвиги в содержании общего азота в зависимости от нагрузки кустов у обоих сортов были выраженные в корнях, чем в надземных органах.

Таблица 1

Влияние нагрузки куста на содержание азота в побегах и корнях винограда в начале вегетации, мг/г сухого вещества

Нагрузка куста глазками	Содержание азота					
	в побегах			в корнях		
	общий	белковый	небелковый	общий	белковый	небелковый
Сорт Нитескив						
40	9,0	6,2	2,8	13,5	7,6	4,5
50	8,2	5,3	2,9	11,4	6,9	4,5
60	8,2	5,4	2,8	14,4	9,9	4,5
70	10,0	7,2	2,8	11,4	9,0	2,4
80	12,0	10,0	2,2	14,4	10,8	3,6
90	10,5	9,1	1,4	8,2	5,5	2,7
Сорт Нрени						
40	9,76	6,64	3,12	15,16	10,48	4,68
50	9,57	6,83	2,74	15,16	10,48	4,68
60	9,57	6,83	2,74	12,77	8,66	4,40
70	10,07	8,13	1,94	9,78	7,44	2,34
80	11,56	8,41	3,12	8,58	6,24	2,34
90	11,34	6,66	4,68	9,14	6,32	2,82

Известно, что от мощности и жизнедеятельности корневой системы виноградного куста [3, 4] зависит активность почти всех физиологических процессов. Корневое питание является основой, с помощью которой можно активно влиять на рост, развитие и продуктивность растения. В корнях происходит интенсивное поглощение азота и его дальнейшие превращения. Однако вопрос о влиянии степени нагрузки куста на накопление и превращение азота в корнях винограда изучен недостаточно. Наши исследования показали, что увеличение нагрузки куста от 40 до 60 глазков у растений винограда обоих сортов не вызывает существенных изменений в содержании общего и белкового азота. Увеличение нагрузки до 80 глазков на куст приводит к заметному сдвигу в количестве общего азота в побегах. Аналогичная закономерность выявлена и в содержании белкового азота.

Интересно, что в корнях сорта Нрени (по сравнению с побегами) наблюдается обратная зависимость: количество общего и белкового азота с увеличением нагрузки кустов не возрастает, а снижается. При нагрузке 40—60 глазков содержание общего азота в корнях составляло 12,7—15,1 мг, а при нагрузке 70—90 глазков—8,5—9,7 мг, белковый азот соответственно составлял 8,6—10,4 и 6,3—7,4 мг. Приведенные данные показывают, что у сорта Нрени между побегами и корнями имеет место обратная связь. Следовательно, увеличение нагрузки кустов у этого сорта усиливает приток всех фракций азота из корней в побеги.

У сорта Нитескив между уровнем накопления азота в побегах и корнях, наоборот, отмечается прямая связь. Здесь с увеличением нагрузки до 80 глазков возрастает количество общего и белкового азота одновременно и в побегах, и корнях, что говорит об усилении оттока его в побеги и поглощения из почвы. При увеличении наг-

рузки до 90 глазков на куст количество азота несколько снижается.

Таким образом, у сортов Нриени и Интенсив при нагрузках 70—80 глазков на куст в тканях побегов и корней накапливается больше общего и белкового азота, что является оптимальной предпосылкой для обеспечения нормального раскрытия почек, роста побегов и постэмбриональной дифференциации элементов урожая.

Армянский ордена «Знак Почета»
сельскохозяйственный институт

Поступило 16.VIII 1984 г.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кишковский З. Н., Скуризин И. М. Химия вина. 311, М., 1976.
2. Марутян С. А. Биохимические аспекты формирования и диагностики морозоустойчивости виноградного растения. 137, Ереван, 1978.
3. Мелконян А. С. Регуляция жизнедеятельности кустов винограда. 259, Ереван, 1973.
4. Стоев К. Д. Садоводство, виноградарство, виноделие Молдавии. 5, 61—62, 1973.

«Биолог. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

РЕФЕРАТЫ

УДК 577.154

БИОСИНТЕЗ БЕЛКА, БЕТА-ФРУКТОФУРАНОЗИДАЗЫ И ПИГМЕНТА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ AUREOBASIDIUM PULLULANS НА РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКАХ ФОСФОРА

Е. Р. АЛЕКСАНИЯ, Л. С. МАРКОСЯН

Установлено, что максимальный синтез β -фруктофуранозидазы имеет место при использовании однозамещенных солей фосфорной кислоты, которые способствуют сокращению на сутки срока достижения максимального уровня активности фермента. Отрицательное влияние на процесс синтеза фермента оказывал двузамещенный фосфорнокислый аммоний, вызывая непрерывное снижение β -фруктофуранозидазной активности в процессе роста культуры.

Исследованные источники фосфора играют очень важную роль в процессе биосинтеза биомассы, обуславливая ее различный выход, чего не было обнаружено у другого продуцента β -фруктофуранозидазы—*Aspergillus awamori* 16. Ионы HPO_4^- обеспечивали значительно большее образование биомассы, чем ионы H_2PO_4^- (при их введении в виде калиевых или натриевых солей). Максимальное количество биомассы наблюдается при внесении в среду двузамещенного фосфорнокислого аммония. При этом происходит наиболее резкое снижение pH среды по сравнению с остальными вариантами.

Натриевые и калиевые соли фосфора способствуют образованию пигмента, тогда как в случае с $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ этого не происходит.

Максимальный выход бесклеточного белка наблюдается при использовании двузамещенного фосфорнокислого аммония.

Таким образом, наиболее эффективными для максимального синтеза фермента и бесклеточного белка являются однозамещенные соли фосфорной кислоты. Фосфорнокислый аммоний, хотя и способствует заметному увеличению биомассы, однако подавляет синтез β -фруктофуранозидазы и образование пигмента.

7 с., рис. 1, библиогр. 14 назв.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 2.XII 1983 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ

«Биологическая Армения», т. 37, № 10, 1984

РЕФЕРАТЫ

УДК 577.157+576.8

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ПЕРЕАМИНИРОВАНИЯ *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM* В СВЯЗИ С БИОСИНТЕЗОМ ЛИЗИНА

В. Г. ДЖАНИБЕКОВА, С. Г. АСЛАНЯН

Изучена трансаминазная активность продуцента лизина гомосе-
ринового мутанта *Corynebacterium glutamicum* шт. 8, выделенного
в институте микробиологии АН АрмССР, в процессе роста в связи
с биосинтезом лизина.

Трансаминазную активность определяли в бесклеточных экстрак-
тах по образованию глутаминовой кислоты в инкубационной смеси,
содержащей в качестве донора аминных групп одну из следующих
аминокислот: лейцин, аспарагиновую кислоту, валин, аланин. В ка-
честве акцептора—нейтрализованную α -кетоглутаровую кислоту. Об-
разовавшуюся глутаминовую кислоту, а также выделенный в среду
лизин определяли методом бумажной хроматографии. Активность
ферментного препарата оценивали по количеству образовавшейся
глутаминовой кислоты в мг на мг белка. Активность ферментов, рост
клеток и количество лизина определяли через 24, 48 и 72 ч фермен-
тации.

Установлено, что из исследованных трансаминаз наибольшей ак-
тивностью обладает аспартат-трансаминаза, несколько слабее она у
валин- и лейцин-трансаминаз, и наименьшая—у аланин-трансаминазы.
Активность трансаминаз зависит от возраста продуцента: в начале рос-

та культуры она низкая, затем повышается, достигая максимума на 48—52-м часу ферментации.

Сопоставление уровня трансаминазной активности с уровнем биосинтеза лизина показало, что пики этих процессов сдвинуты во времени с некоторым запаздыванием биосинтеза лизина. Однако на 48—52-м часу ферментации наблюдается корреляция между трансаминазной активностью и биосинтезом лизина.

5 с., рис. 1, библиограф. 10 назв.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 2 XII 1983 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ

«Биолог. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

РЕФЕРАТЫ

УДК 576.80.85

НОВЫЕ ПСИХРОФИЛЬНЫЕ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ БАКТЕРИИ И ИХ СВОЙСТВА

Е. И. КУЗНЕЦОВА, А. А. ХАЧАТУРЯН

За последние годы особенно возрос интерес к изучению экстремальных, в частности, психрофильных форм микроорганизмов, обусловленный особенностями их развития, а также их практическим значением для пищевой и других отраслей промышленности.

Таксономическое положение психрофильных бактерий до настоящего времени не является достаточно ясным. Ранее считалось, что психрофильный рост—реакция специфическая, и к ней способны лишь немногие неспороносные бактерии. Позднее были описаны и бациллярные формы. В настоящее время дискутируется вопрос о классификации психрофильных бактерий в зависимости от их отношения к температурным пределам роста и экологического распространения.

Объектами исследования явились 10 штаммов психрофильных спорообразующих бактерий, выделенных из различных природных субстратов вне зависимости от экологических условий.

Для выделения психрофильных бацилл разработана схема опыта с применением питательных сред с различными значениями pH.

Для предотвращения замерзания питательной среды при понижении температуры в качестве антифриза использовали глицерин с конечной концентрацией в среде 2, 5, и 10%.

Температурные пределы роста выделенных культур определялись при глубинном культивировании и на твердой питательной среде с учетом величины колоний, изменения оптической плотности культуральной жидкости и накопления биомассы в среде, а также по их

морфологии при различных температурах. Установлено, что максимальная температура роста для этих микроорганизмов равна 25°—30°, минимальная—0° и ниже, оптимальная температура находится в пределах 15°—18°.

Идентификация выделенных штаммов проводилась на основании сравнения с психрофильными культурами, описанными Ларкиным и Стоксом, и по определителю Берге. На основании ряда специфических признаков выделенные культуры определены как новые разновидности психрофильных спорообразующих бактерий. Штаммы 4454, 4458 и 4459 выделены в разновидность *Bacillus psychrosaccharoliticus* subspecies *caucasicus* subsp. nov. на основании их способности образовывать кислоту из ряда сахаров.

Культуры 4450, 4451, 4452, 4456 отнесены к разновидности *Bac. psychrophilus* subspecies *citricus* subsp. nov. по способности усваивать пнитрат как источник углерода.

Способность расти при высоких концентрациях поваренной соли объединяет культуры 4453, 4455, 4457 в разновидность *Bacillus psychrophilus* subspecies *halodurans* subsp. nov..

14 с., табл. 4, библиогр. 17 названий.

Институт микробиологии АН Армянской ССР

Поступило 10 I 1981 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ

«Биолог. ж. Армении», т. 17, № 10, 1984

РЕФЕРАТЫ

УДК 576.8.577.15.07

СОСТАВ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Е. Г. БУДАГЯН, Р. М. ГАЛАЧЬЯН, Ж. Ш. АРУТЮНЯН, А. Р. ДАВТЯН

Исследован качественный состав и количественное содержание свободных внеклеточных и внутриклеточных аминокислот фитопатогенных бактерий, относящихся к родам *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Corynebacterium*, выделенных из различных регионов Армянской ССР и хранящихся в коллекции культур микроорганизмов Института микробиологии АН АрмССР.

В качестве питательных сред использовали среды Чапека и Асан. Определение аминокислот проводили методом бумажной и тонкослойной хроматографии.

Свободные внеклеточные аминокислоты определяли в центрифугате культуральной жидкости, свободные внутриклеточные амино-

кислоты—в спиртовых экстрактах, полученных после обработки клеток в кипящем растворе 60% этанола в течение часа.

В результате проведенных исследований идентифицировано до 17 свободных внеклеточных и 13 внутриклеточных аминокислот: цистин, лизин, гистидин, аргинин, аспарагиновая кислота, серин, треонин, глицин, аланин, валин, лейцин, метионин, оксипролин, пролин, тирозин, фенилаланин, глутаминовая кислота.

Установлен различный качественный состав и количественное содержание свободных внеклеточных и внутриклеточных аминокислот у разных родов и видов фитопатогенных бактерий. Заметных различий в качественном составе аминокислот у культур внутри вида не выявлено.

Наиболее широкий набор аминокислот характерен для культур родов *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, наименее — *Corynebacterium*.

Качественный состав аминокислот *X. beticola*, *X. malvacearum*, *X. campestris* различен, причем содержание их у *X. beticola* выше. У представителей рода *Pseudomonas*, *Ps. tumefaciens*, *Ps. tabacum*, *Ps. Lycopersicum* количественное содержание аминокислот в пределах сравнения. У представителей рода *Erwinia* не обнаружены серин, треонин, валин, метионин, оксипролин, пролин, фенилаланин, преобладает цистин, лизин. Незначительное содержание аминокислот характерно для *Corynebacterium*.

Отмечена определенная связь между активностью фитопатогенных бактерий, в частности *Pseudomonas*, *Xanthomonas* по биосинтезу гиббереллинов и ауксинов, развитием опухолей растений и соотношением продуцируемых аминокислот.

6 с., табл. 2, библиогр. 8 назв.

Институт микробиологии АН Армянской ССР
Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ.

Поступило 22.XI 1983 г.

«Биолог. ж. Армении», т. 37, № 10, 1984

РЕФЕРАТЫ

УДК 576.851.155.095:575:24

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И АЗОТФИКСИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ АУКСОТРОФНЫХ МУТАНТОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ЛЮЦЕРНЫ

А. П. АЛЕКСАНЯН

С использованием нитрозогуанидина получены ауксотрофные мутанты клубеньковых бактерий люцерны и изучена их азотфиксирующая активность.

Вирулентность мутантов проверяли в условиях стерильного лабораторного опыта на среде Пенсена в 4-кратной повторности. Об эффективности ауксотрофных мутантов судили по сухой массе растений и ацетиленредуктазной активности.

Ацетиленредуктазную активность определяли в интактных растениях на газожидкостном хроматографе Цвет-4 (колонок с окисью алюминия АСК 0,25, температура—50°, детектор—пламенноионизационный) методом колпачков.

Из 5625 клонов выделено 13 мутантов, 5 из которых оказались стабильными. Частота спонтанных реверсий остальных мутантов оказалась высокой (10^{-3} — 10^{-5}) в связи с чем их азотфиксирующая активность не изучена.

Выявлено, что эффективность и нитрогеназная активность у мутантов, нуждающихся в метионине или цистине, а также в адеanine с тиаминном, выше, чем у исходного штамма. Мутанты, ауксотрофные к метионину и рибофлавину, оказались неактивными.

7 с., табл. 3, библиогр. 12 назв.

Институт микробиологии АН Армянской ССР
Подлинный текст статьи депонирован в ВИНТИ

Поступило 2.XII 1983 г.