

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ  
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ  
Հ Ա Ն Դ Ե Ս

БИОЛОГИЧЕСКИЙ  
Ж У Р Н А Л  
АРМЕНИИ

Журнал издаётся с 1946 г., выходит 12 раз в год  
на армянском и русском языках.  
Авастани кенсабанаки индес

«Հայաստանի կենսաբանական ճանաչարձ» նշանակվում է Հայկական ՍՍՀ Գիտությունների ակադեմիայի կողմից և ստորագրում է ճեղքածներ բուսաբանության, կենդանաբանության, ֆիզիոլոգիայի, կենսաֆիզիայի, կենսաֆիզիոլոգիայի, սանեկարանության, գենետիկայի և ընդհանուր և կիբառական կենսաբանության այլ բնագավառների վերաբերյալ:

Բաժանորդագրին է ծ ու 40 կ. Բաժանորդագրությունն ընդունվում է Այլազդիկաթի բոլոր յաժանմաններում:

*«Биологический журнал Армении» — научный журнал, издаваемый Академией наук Армянской ССР, публикует краткие научные статьи по ботанике, зоологии, физиологии, биохимии, биофизике, микробиологии, генетике и другим отраслям общей и прикладной биологии.*

*Подписная цена за год 8 руб. 40 коп. Подписку на журнал можно присылать во всех отделениях Союзпочты.*

Խմբագրական կազմի մեջ է Վ. Արթուրյան (գլխավոր խմբագիր), Ս. Ս. Ավագյան, Վ. Ե. Ավետիսյան, Յոս. Ս. Արևուստյան, Հ. Գ. Բախրադյան, Ս. Ա. Գաբրիելյան, Փ. Բ. Զեփրյան, Ե. Ս. Զարգարյան (պատասխանատու բարձրագույն), Բ. Մ. Զարմիստյան, Վ. Հ. Կոչարյան, Պ. Ա. Կանդեղյան, Կ. Կ. Կարապետյան, Ս. Ս. Սաֆարյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ):

Խմբագրական խորհուրդ՝ է. Գ. Արթուրյան (նախագահ), Ե. Ե. Արամյան, Վ. Հ. Արարյան, Հ. Ս. Ավետիսյան, Հ. Ս. Կարապետյան, Ա. Ա. Կոչարյան, Ա. Լ. Քարամուշյան, Պ. Ա. Կոչարյան, Մ. Գ. Զեփրյան, Հ. Լ. Զարգարյան, Հ. Լ. Զարգարյան, Վ. Ա. Սաֆարյան, Ս. Ե. Զարգարյան, Կ. Ա. Չախրյան:

**Редакционная коллегия:** Э. К. Африкян (главный редактор), Ц. М. Авакян, В. Е. Аветисян, Ж. П. Аюбян, Ю. Т. Алексанян, Е. С. Арутюнян (ответственный секретарь), Р. М. Арутюнян, О. Г. Бакановичян, Н. А. Гандилян, М. А. Давтян, В. О. Казарян, К. Г. Карапетян, С. О. Манасян (заместитель главного редактора).

**Редакционный совет:** Э. К. Африкян (председатель), А. С. Аветян, В. Ш. Агабабян, Н. Н. Акрамовичян, Э. П. Габриелян, А. А. Галоян, Л. С. Гамбарян, А. А. Матевосян, М. Г. Оганесян, Л. Л. Осипян, К. С. Погосян, А. Մ. Тахтаджян, Н. А. Хуршудян, М. Х. Чайлазян.

Ответственный за номер *Արթուրյան Վ. Գ.*

Технический редактор *Ալիбабյան Դ. Ա.*

Сдано в набор 409 1988 г. Подписано к печати 403 1988 г. ВФ 05351.

Бумага № 1, 70×108<sup>0</sup>/<sub>16</sub>. Высокая печать. Пол. лист. 5,5—1 экз. Усл. печ. лист. 7,88.

Уч.-изд. 6,28. Тираж 925. Заказ 1. Подат. 7319.

Издательство Академии наук Армянской ССР, Ереван,

пр. Маршала Баграмяна, 24-г

Типография Издательства АН АрмССР, Ереван-19,

пр. Маршала Баграмяна, 24.

ՀՈՒՎԱԾՆԵՐ

Սարկիսովա Մ. Մ., Չայլայան Մ. Խ. Ֆիզիոլոգիական ակտիվ իրացությունների զերր խա-  
ղողի ողիությունների և պտուղների ձևավորման մեջ . . . . . 93

Զախարյան Ի. Ա., Թաղևոսյան Յու. Վ., Ազարյան Ն. Դ., Ղաթաղյոզյան Կ. Գ. Դս-ՌնԹ-ի  
կողմից *E. coli* տրանսֆորմացիայի պրոզևի ակտիվացման մեխանիզմի շուրջ . . . . . 99

Արևասեյան Ե. Թ., Սարկոսյան Լ. Ս. *Aureobasidium pullulans*-ի բնուս-ֆրոկտոֆորա-  
նոզիցազայի իմունոլիզացիան սիտերոմ C-80-ի վրա . . . . . 105

Բալայան Ա. Մ., Արևյան Վ. Հ., Մարկոսյան Լ. Ս. Օսլայի ֆերմենտատիվ հիդրոլիզը Քեր-  
մախի բացիի միջոցով . . . . . 108

Ուզինկյան Լ. Ա., Սարտիսանյան Յ. Կ., Հիլազյան Ս. Ա., Սևոյան Ա. Գ., Ստեփանյան Մ. Լ.  
Կիրառիկ շաքարանեկների ստացումը չիմոնոթրֆի արտազրույթյան ֆիլտրատի վրա  
Ավվակումովա Ս. Ն., Հարությունյան Ս. Պ. Քույսի նրմաստմարիկների լեկտինի կոմպո-  
նենտների պատասխան ունակցիան պալարարակներհանրով վարակման մամոնուկ  
Տափերզյան Ն. Ա., Հովհաննիսյան Ս. Ս., Զիլիյան Ա. Վ. Միկրոնեմոցիթրկոլոչյացիայի մու-  
ֆոֆունկցիոնալ ընտրվածիբր փոքրարտուկան անտերր-անրոք ինտերֆայի զնայում  
Ղազարյան Կ. Ա., Քարյան Մ. Վ., Հակոբյան Ն. Գ., Գունուսյան Ա. Դ., Նիկիտենկո Մ. Ի.,  
Արևասեյան Յու. Թ. Բրեմեայի կուկուրիտացիոնների զրկազրեների ազդեցությունը  
կենցանիների իմունոակտիվության վրա . . . . . 126

Ազնաուրյան Ա. Ե., Բախչինյան Մ. Զ., Հակոբյանյան Հ. Ս., Առանցյան Ն. Ա. Լյարդի և  
փայծաղը Հակոբյանյան անտիգենային ինքանման պայմաններում . . . . . 129

Կասպարյան Գ. Հ., Կեղիբոյան Ն. Մ. Տեղային մակուկային կախիկային խտությունը որպես  
բարեկեցիկ պրոֆիլեզացիան Տակոզ դորոն . . . . . 133

Սարգսյան Գ. Մ., Խուրդույան Ն. Գ. Հանրային ճյուխտի պրիստեկտոնեկա (Scirpus la-  
cutis L.) . . . . . 132

ՀԱՄԱՌՈՍ ՀԱՂՈՐԳՈՒՄՆԵՐ

Հակոբյան Հ. Ս., Հայրուպետյան Ա. Ա., Բարսյան Ժ. Թ. Նիքոնոզի գինեթթուս որպես երր  
մանրէասպան և ախտահանիչ միջոց . . . . . 142

Կարիբյան Ա. Յու., Կանկյա Ս. Մ., Խարանդյան Ա. Դ. Պալարարակներհանրի ԿՌԹ-ի  
համալոգիայի մասին . . . . . 145

Նալբանդյան Ա. Կ., Ավետիսյան Վ. Ա. Նիտրազիների պրեպարատիվ ներքի ստացման մե-  
խոդները . . . . . 147

Սնացականով Ս. Տ., Հարությունյան Ն. Մ. Ախտածին նատուրթյունների ձևավորումը  
*Escherichia*-ի և *Klebsella*-ի մաս իմ ՎՄԻՑ . . . . . 160

Կոստյան Ա. Ե., Բաղդամյան Ա. Ն., Արաքանյան Ս. Ա. Ազնեխեղեղամինազայի ակտի-  
վության որոշումը հողում . . . . . 152

Կենտուրյան Կ. Գ. | Սահակյան Թ. Դ. Խաղողի ողիույզի որակական ցուցանիշները՝ կախ-  
ված նատրիումի պարունակությունից մեկնորացված հողերում . . . . . 154

Խաչիկյան Լ. Ա., Հովհաննեսյան Ն. Ա. Հայրական ՍՄՀ Արարատյան զետուտոտի ինսուսիվ  
զգուսզործվող հողերի կրկաթվերականզուզ ակտիվությունը . . . . . 156

Տաթևյան Ս. Խ., Քեյլարյան Ն. Գ. Գիրերկիների ազդեցությունը ցորենի աճի, գորզուցման  
և արդյունավետության վրա . . . . . 158

ԻՆՑԼՈՒՍՆԵՐ

Նալբանդյան Ա. Դ., Մարկոսյան Տ. Ս. Պալարարակներհանրի կուլտուրանների պատումը  
նատրիումի ջրիբիղի լուծույթում . . . . . 162

Արևյան Վ. Ա., Մելիքեթյան Վ. Ս. Լ-ասպարագինային թթվի ֆերմենտատիվ-միկրոբիո-  
լոգիական ստացումը I . . . . . 163

Արևյան Վ. Ա., Մելիքեթյան Վ. Ս. Լ-ասպարագինային թթվի ֆերմենտատիվ-միկրոբիո-  
լոգիական ստացումը II . . . . . 164

Կոլոզյան Կ. Ս., Սարգսյան Ա. Ս., Դիլանյան Զ. Խ. Բակտերիալ շտամների բնորոշությունը  
մերանում Ռասիսո դիետիկ աջիզոֆիլ պանրի համար . . . . . 165

Սիմոնյան Ս. Ա., Խաղատուրյան Ռ. Վ. Սևանա լճի ավազանի ալրացուցային սնկերը (*Ery-  
sipthaceae* ընտ.) . . . . . 166



Хачикян Л. А., Оганесян Н. А. Железовосстанавливающая активность интенсивно используемых почв Араратской котловины Армянской ССР	156
Таджирян О. Х., Бесларян Н. П. Действие гиббереллина на рост, развитие и продуктивность пшеницы	159

## РЕФЕРАТЫ

Ицбандян А. Д., Матевосян О. С. Хранение культур клубеньковых бактерий в растворе хлоридного натрия	162
Абелян В. А., Меликсетян В. С. Ферментативно-микробиологическое получение L-аспаргиновой кислоты. I. Аспартазная активность интактных клеток бактерий	163
Абелян В. А., Меликсетян В. С. Ферментативно-микробиологическое получение L-аспаргиновой кислоты. II. Выделение и характеристика внутриклеточной аспартазы <i>Erwinia asoiidea</i>	164
Гузелян К. С., Савоян А. С., Дилчян З. Х. Подбор бактериальных штаммов в закваску для диетического ацидофильного сыра «Мякес»	165
Симолян С. А., Ланатурия Р. В. Мучнисторосяные грибы (сем. <i>Erysiphaceae</i> ) бассейна оз. Севан	165
Соцкид О. П., Саркисова Г. М., Шихбатын Ш. Л., Чухиджян Г. А. Некоторые показатели обмена гликофинголипидов в тканях крыс при длительном введении церебролизина	167
Вирабян Г. Л., Арутюнян В. М., Вирабян Л. Т., Еганян Г. А. Концентрация катехоламинов в желудочном соке при язвенной болезни	167
Рысков Г. Г. Модуляция ионных токов, обеспечивающих генерацию потенциалов действия на мембране нейронов улитки, осмотическим градиентом	169
Осаян Э. Л., Асоян Л. Л., Бардянян Г. С. О видовом составе оомицетов оз. Севан, развивающихся на икре рыб	170

## КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Симолян С. А. Brand Uve. A monograph of the <i>Erysiphales</i> (powdery mildews). Behefte zur Nova Hedwigia, Heft 89, Berlin—Stuttgart, 1987, 700 p., 316 plates.	171
---	-----

## CONTENTS

### ARTICLES

Sarkisova M. M., Chulikhian M. K. Role of Physiologically Active Compounds in the Development of Grape Clusters and Fruits	93
Zakarian R. A., Tadevosian Yu. V., Azarian N. G., Karageuzian K. G. To the Mechanism of Activation of <i>E. coli</i> Transformation Process by ds-RNA	99
Alexanian E. R., Markosian L. S. Immobilization of 3-Practolactamase from <i>Aureobasidium pullulans</i> on Sylochrom C-80	104
Balayán A. M., Abelian V. A., Markossian L. S. Enzymatic Hydrolysis of Starch with Thermophillic Bacillus	108
Yerzinkian L. A., Sarukhanian F. G., Etiazian A. A., Sevoyan A. G., Stepanian M. L. Receipt of Padder Yeasts on the Filtrate of Citric Acid Production	113
Аввакумова Е. Н., Харатунян С. А. Response Reaction of Lectine Components of Root Hairs of Plant on the Infection with Nodule Bacteria	117
Tarverdian N. A., Hochannistan S. S., Zulfian A. V. Morphological Characteristics of Microhemocirculation during Experimental Anaerobic—Aerobic Infection	122
Ghazarian K. A., Taitan M. V., Hakobian N. G., Panosian A. G., Nikishchenko M. N., Alexanian Yu. T. Influence of Glicosides of Cucurbitacines of Bryony on the Immunoreactivity of Animals	126
Aznayrtan A. V., Buchshinyan M. Z., Hakopjanian E. S., Artemyan N. A.	

Macrophages of Liver and Spleen under Conditions of Antigen Stimulation . . . . .	129
<i>Gasparian G. H., Grigorian R. M.</i> Initial Density of Cell Culture as a Factor Controlling the Cell Proliferation . . . . .	133
<i>Surgtsian G. M., Khurshudian N. P.</i> Architectonics of Lake Reed ( <i>Scirpus lacustris</i> L.) . . . . .	137

#### SHORT COMMUNICATIONS

<i>Hakobian G. S., Hairapetian A. A., Babayan Zh. R.</i> Synthetic Tartaric Acid as a New Bactericidal and Desinfecting Agent . . . . .	142
<i>Gharibian A. Yu., Lisenko A. M., Naibandian A. D.</i> On the Homology of DNA of Nodule Bacteria . . . . .	145
<i>Naibandian A. D., Avetisyan V. A.</i> Methods of Production of Preparative Forms of Nitragin . . . . .	147
<i>Mnatzakanov S. T., Arutyunyan N. M.</i> Formation of Pathogenic Properties in <i>Escherichia</i> and <i>Klebsiella</i> <i>in vitro</i> . . . . .	150
<i>Gulstian A. Sh., Baghramian A. N., Abrahamian S. A.</i> Determination of Activity of Adenylsuccinylase in the Soil . . . . .	152
<b>Petrosian G. T.</b> , <i>Sahakian R. G.</i> Qualitative Indices of Grape—Vine in Dependence on the Content of Sodium in Meliorated Soils . . . . .	154
<i>Khachikyan L. A., Oganessian N. A.</i> Iron—Reducing Activity of the Intensively Utilized Soils of Ararat Hollow of the Armenian SSR . . . . .	156
<i>Tajirian O. Kh., Beglarian N. P.</i> Influence of Gibberellin on the Growth, Development and Productivity of Wheat . . . . .	159

#### ABSTRACTS

<i>Naibandian A. D., Matevosian F. S.</i> Storage of Cultures of Nodule Bacteria in the Solution of Sodium Chloride . . . . .	162
<i>Abelian V. A., Meliksetian V. S.</i> Fermentative—Microbiological Receipt of I.—Asparagine Acid, I. . . . .	163
<i>Abelian V. A., Meliksetian V. S.</i> Fermentative—Microbiological Receipt of I.—Asparagine Acid, II. . . . .	164
<i>Gyozallan K. S., Sagoyan A. S., Dilanian Z. Kh.</i> Selection of Bacterial Strains in Ferment for Dietle Acidophyllite Cheese "Masis" . . . . .	165
<i>Simonyan S. A., Khachatryan R. V.</i> Powdery Mildew Fungi (family <i>Erysiphaceae</i> ) of the Lake Sevan Basin . . . . .	165
<i>Sotski O. P., Sarktsova G. M., Shakhbalian Sh. L., Chukhajian G. A.</i> Some Indices of Glicosphingolipids Metabolism in Rats Tissues during Longitudinal Administration of Cerebrosides . . . . .	167
<i>Virabian T. L., Harutjunian V. M., Virabian L. T., Egonian G. A.</i> Catecholamine Concentration in Gastric Juice in Case of Ulceral Disease . . . . .	167
<i>Richkov G. E.</i> Modulation of Ionic Tones. Providing Generation of Potentials of Action of Membrane of Snail Neurons by Osmotic Gradient . . . . .	169
<i>Osipian L. L., Hakobian L. A., Vardanian G. S.</i> On the Species Composition of Oomycetes of the Lake Sevan, Developing on the Fish Caviar . . . . .	170

#### CRITICS AND BIBLIOGRAPHY

<i>Simonian S. A. C. A.</i> Braun Uve. A monograph of the Erysiphales (powdery mildews). <i>Beihette zur Nova Hedwigia</i> , Heft 39, Berlin—Stuttgart, 1987, 700 p., 316 plates . . . . .	171
--	-----

ՀՈԴՎԱԾՆԵՐ • СТАТЬИ

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 2, 1988

УДК 581.1/04:634.8(479.25)

РОЛЬ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ  
В ФОРМИРОВАНИИ ЯГОД И ГРОЗДЕЙ ВИНОГРАДА

М. М. САРКИСОВА, М. Х. ЧАПЛАХЯН

Институт виноградарства, виноделия и плодоводства Госагропрома АрмССР, Ереван,  
Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева АН СССР, Москва

Выявлено специфическое действие отдельных фитогормонов и ретардантов на различных сортах винограда, обусловленное особенностями их химической природы и функциональной роли.

Обнаружено новое свойство пуринов—участие в регуляции запыливания, роста и развития ягод как у функционально женских, так и у обоеполых сортов винограда.

Հայտնաբերված է տոանձին ֆիտոհորմոնների և ռետարդանտների առանձնահատուկ ազդեցությունը խաղողի տարբեր տրտերի վրա, որը պայմանավորված է երանց ջիմիական բնույթի և ֆունկցիոնալ դերի առանձնահատկությամբ: Հայտնաբերված է պուրինների նոր հատկություն՝ երանց մասնակցությունը պարարկացման կարգավորմանը, պտույթների աճին ու զարգացմանը, ինչպես ֆունկցիոնալ իգական, այնպես էլ երկսեռ խաղողի տրտերի համար:

Several phytohormones and retardants have specific effect on different grape varieties, which is conditioned by the peculiarities of their chemical characteristics and functional role. A new characteristics of purines has been found out: they have certain effect on fruitset regulation, fruit growth and development of both feminine and bisexual grape varieties.

*Растение винограда—физиологически активные соединения.*

Несмотря на многочисленные исследования, посвященные выяснению действия физиологически активных соединений на рост, развитие и плодоношение целого ряда сельскохозяйственных культур, диапазон этих соединений еще полностью не изучен. Много вопросов, связанных с ростом и плодоношением виноградного растения, по настоящее время остаются малозучеными. Это в первую очередь относится к действию таких гормональных соединений, как цитокинины, (кинетины и 6-бензил-аминопурин).

Как известно, цитокинины относятся к классу фитогормонов, стимулирующих клеточное деление (цитокинез). Они оказывают значительное влияние на процессы дифференциации клеток, снимают дей-

ствие апикального доминирования, оказывают защитное действие при повышении и понижении температуры, обезвоживании, грибной и вирусной инфекции и химических воздействиях [2, 8, 12, 14].

Важную роль играют цитокинины и в мобилизации и притяжении питательных веществ к местам их локализации (растущие плоды, семена, клубни). Наиболее эффективно действие цитокининов при взаимодействии с другими фитогормонами, особенно с ауксинами, как например, в культуре *In vitro* при микроклональном размножении декоративных, лекарственных и др. культур.

После открытия цитокининов процессы роста и развития растений рассматривались уже с точки зрения взаимодействия трех фитогормонов стимулирующего действия—ауксинов, гиббереллинов и цитокининов.

В растительных органах имеются также фитогормоны ингибирующего действия, к которым относятся этилен и абсцизовая кислота. Этилен подавляет ряд метаболических процессов, активируемых ауксинами [9, 13], обладает способностью снижать активность фитогормона или непосредственно подавлять рост, тормозя его через обмен веществ. Свойством торможения ростовых процессов обладает также абсцизовая кислота.

Среди синтетических регуляторов, тормозящих рост-ретардантов, наиболее хорошо изучен ретардант ССС (хлорхоллхлорид).

Из всех упомянутых физиологически активных соединений ауксины, гиббереллины и ретарданты наиболее широко испытывались на виноградной лозе и нашли практическое применение в виноградарстве. Сравнительно меньше исследований посвящено действию цитокининов и этилена. Имеются данные, согласно которым цитокинины индуцируют завязывание ягод и способствуют увеличению массы грозди [11, 15]. Исследования австралийских ученых Сринивасана и Муллинса показали, что под действием 6-(бензиламино)-9-(тетрагидропиридил)-9-Н-пуррина из усиков гермафродитного винограда (сорт Мускат Александрийский) могут образоваться соцветия, а в дальнейшем и плодоносящие грозди. Показано также, что обработанные цитокинином грозди, листья, побеги и корни притягивают больше  $C^{14}$  меченых ассимилятов, чем необработанные органы. Высказывается гипотеза, согласно которой цветение винограда регулируется взаимодействием гиббереллина и цитокинина [16]. Что касается этилена, то имеются данные о действии этрела—этиленпродуцента на виноградную лозу [10]. При обработке растений этрелом в фазу бутонизации, цветения и начального периода ягодообразования наблюдалось раннее созревание ягод, увеличение урожая, активное накопление сухого вещества, снижение кислотности.

Ранее нами и Агамяном [1, 5] было показано положительное влияние этрела на формирование ягод и гроздей у бессемянных и семенных сортов винограда и их стимулирующее действие на женскую генеративную систему—формирование крупных семенных рудиментов у бессемянных сортов и увеличение массы семян у семенных. Усиление формирования семенных рудиментов у бессемянных сортов винограда было получено не только при обработке этрелом, но и цитокининами [4].

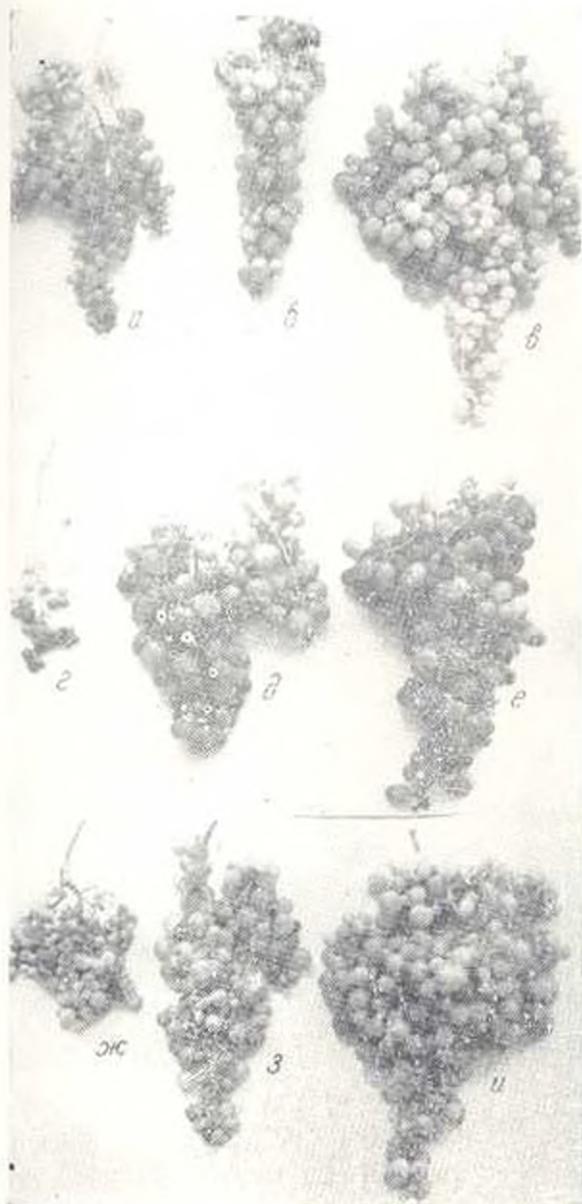
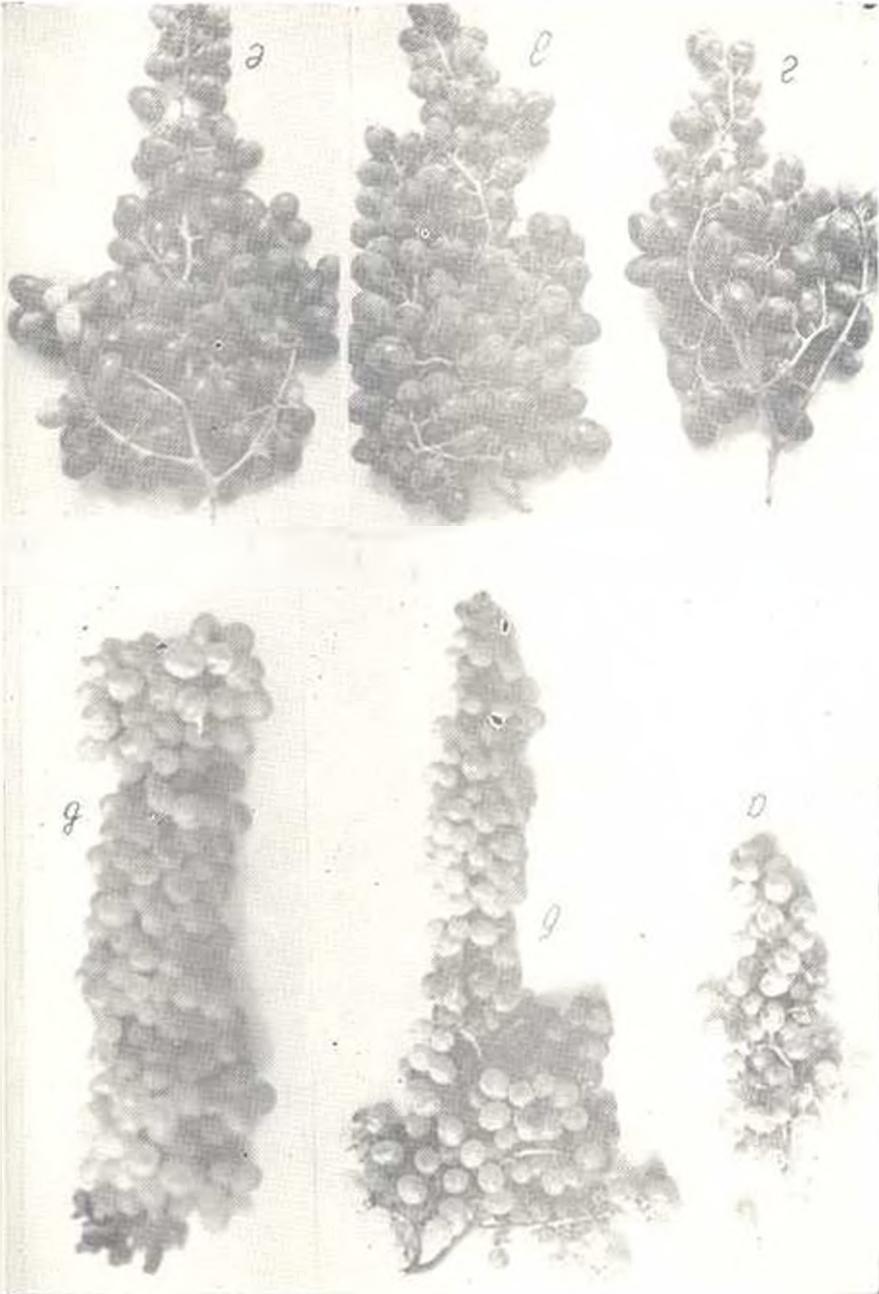


Рис. 1. Влияние гибб релатива на завязывание ягод у винограда с функционально женским типом цветка. Сорт Пимранг: а — контроль с искусственным опылением; б — контроль со свободным опылением; в — обработка соцветий в условиях строгой изоляции. Сорт Арагани: г — контроль без опыления; д — контроль со свободным опылением; е — обработка соцветий гибберелином. Сорт Катта Курган: ж — контроль со свободным опылением; з — контроль с искусственным опылением; и — обработка соцветий 6 БАН в условиях строгой изоляции.

К ст. М. М. Саркисовой и М. Х. Чачадзян,

Fig. 2. Bunches of grapes of the variety 'Kishinevskiy' (Kishinev) from the vineyard of the Institute of Horticulture, Academy of Sciences of the Moldavian SSR. The bunches are shown in the photograph in the order of their ripening: a) 10.08.57, b) 15.08.57, c) 20.08.57, d) 25.08.57, e) 30.08.57, f) 05.09.57.



В настоящей работе приведены новые данные о влиянии цитокининов и этрела на формирование ягод и гроздей винограда.

*Материал и методика.* В опытах использовали две группы сортов: сорта с функционально женским типом цветка, на которых изучалась возможность нормального завязывания ягод под влиянием указанных выше физиологически активных соединений и сравнении с таковыми при искусственном опылении (Нимранг, Катта Курган, Арагаши, Сев Айгени) и обоеполые сорта (Наири, Мускат Венгерский, Венгерка, Гибрид 261/32, Севан, Шаумяни), в опытах с которыми была предпринята попытка устранения таких биологических недостатков, как осыпаемость цветков и завязей, клейстогамный тип опыления цветков и ломкость гроздевой лозы и гребня. Для сравнения исследовались уже испытанные фитогормоны (ауксины и гиббереллины) и ретарданты.

Соцветия винограда в зависимости от цели исследования обрабатывали гиббереллином (ГК), кинетином, 6-бензиламинопурином (6-БАП), этрелом, хлорхлоридхлоридом (ССС) тремя методами—смачиванием, опрыскиванием, наложением пластыря с физиологически активным соединением—в два срока за 10—15 дней до цветения и в период массового цветения. Повторность опыта—10-кратная. До обработки соцветия индентифицировали пергаментными мешочками с указанием названия сорта, варианта, порядкового номера соцветия, а также даты обработки. Этикетки с такими же надписями прикрепляли к каждой гроздевой лозе. После окончания цветения и заметного разрастания завязей мешочки снимали и в лабораторных условиях подсчитывали количество осыпавших с данного соцветия бутонов, цветков и мелких завязей. Затем по методу Лазаревского [3] определяли процент осыпания, или процент завязывания ягод. После созревания ягод определяли механический состав и механические свойства гроздей и ягод. В соке ягод определяли содержание сахаров, титруемой кислоты и сухого вещества (при помощи рефрактометра).

*Результаты и обсуждение.* Одним из наиболее интересных аспектов изучения действия физиологически активных соединений на сорта винограда с функционально женским типом цветка представляется завязывание ягод в грозди. Установлено, что на процесс завязывания ягод оказывают влияние все испытанные соединения, в той или иной степени в зависимости от времени и способа обработки, а также от сорта. Наиболее оптимальным сроком обработки является период бутонизации, а действенным методом ее—обмакивание соцветий в раствор препарата. На рис. 1 показаны грозди винограда сортов Нимранг и Арагаши с функционально женским типом цветка, обработанные в условиях строгой изоляции гиббереллином.

Обработка гроздей винограда кинетином методом смачивания способствовала такому же повышению завязываемости ягод у сорта Нимранг. У сорта Арагаши кинетин, напротив, ни при одном из методов обработки не оказывал подобного действия.

Значительному повышению процента завязываемости ягод у функционально женских сортов Нимранг и Катта Курган способствовала обработка соцветий 6-бензиламинопурином методом смачивания. Наложение же пластыря приводило к снижению эффекта препарата. Видимо, это связано с избыточным количеством препарата, приходящегося на долю одного соцветия при этом способе обработки. Обмакивание соцветий винограда в раствор 6-БАП способствовало сильному разветвлению гроздей, в результате чего гроздь приобретала округлую форму.

Таким образом, у сортов с функционально женским типом цветка Нимранг, Катта Курган и Арагаши гиббереллин и 6-БАП в одинаковой

мере увеличивают завязываемость ягод даже в условиях, неблагоприятных для опыления цветков. Это весьма важное свойство указанных соединений можно использовать в практике виноградарства для получения нормального урожая в годы с неблагоприятными погодными условиями во время цветения. Осуществление поставленной задачи будет зависеть от правильного выбора регулятора роста, от сорта, фазы развития растения и метода обработки. Обработка соцветий этими соединениями отрицательного влияния на качество ягод винограда не оказывает. Из табл. 1 по сорту Нимранг видно, что грозди и ягоды, обработанные ГК и 6-БАП, по механическим и химическим показателям выгодно отличаются от контрольных. Аналогичные результаты, за отдельными исключениями, получены и на остальных сортах.

Интересно отметить, что эти фитогормоны, обладая определенной специфичностью действия, оказывают одинаково положительное воздействие на сорта винограда с функционально женским типом цветка. Оба вещества способствуют увеличению процента завязываемости ягод, размеров гроздей, повышению урожая. Однако специфичность действия, обусловленная различиями в химической природе и функциональной роли, при этом не утрачивается. Так, если при воздействии гиббереллином у винограда с функционально женским типом цветка формируются крупные грозди с бессемянными ягодами, где имеются как крупные ягоды, так и горошащиеся, то при воздействии 6-БАП образуются разветвленные грозди с нормальными ягодами, имеющими приплюснутую форму и содержащими рудименты семян. При обработке гиббереллином процент сухого вещества и сахаров в ягодах несколько ниже, чем в контроле, а в варианте с 6-БАП эти показатели, наоборот, выше. Очевидно, что эти соединения, проявляя свои специфические качества, и то же время влияют на какой-то общий эндогенный гормональный механизм, обуславливающий одинаковую реакцию их.

Сорта винограда с обоеполым типом цветка, как показали исследования, более чувствительны к указанным соединениям. Ранее нами была выявлена отрицательная реакция этих сортов винограда на действие гиббереллина при обработке их смачиванием и наложении пластика как в период бутонизации, так и в период массового цветения, выражающаяся в формативных изменениях и ростовых аномалиях грозденочек, гребня и ягод. Грозденочки и гребни сильно разрастаются в толщину, до размеров однолетнего побега, на котором росла эта гроздь.

Положительную реакцию обоеполых семенных сортов винограда вызывает обработка соцветий 6-БАП, кинетином, этрелом и ретардантом ССС в период массового цветения, исключение составляют сорта с клейстогамным типом опыления, обработку которых проводили в период бутонизации за 10—15 дней до раскрытия цветков.

Установлено, что наиболее эффективное действие на завязывание ягод у сортов указанной группы оказывают этрел и ретардант ССС, способствующие также увеличению размера и массы ягод и гроздей, повышению содержания сахаров и сухого вещества. Так, у сорта Напри процент завязываемости ягод в грозди при обработке этрелом и ретардантом ССС составлял соответственно 171,0 и 151,7, а средняя масса

Таблица 1. Влияние гиббереллина и 6-бензиламинопурина на завязывание ягод и некоторые показатели механической и химической структуры гроздей и ягод винограда сорта Пятранг

Варианты обработки	Процент завязывания ягод (M±m)	Размеры ягод, см (M±m от 1,2 до 1,9)		Масса грозди, г (M±m)	Масса гребня, г (M±m)	Масса одной ягоды, г (M±m)	Масса семян в одной ягоде, г	Процент сухого вещества (M±m)	Процент сахаров (M±m)
		длина	ширина						
Контроль	100,0±4,3	21,8	10,5	185,8±4,8	9,5±1,6	1,52±0,3	0,8	20,5±0,08	20,4±0,02
ГК	303,0±4,9	28,5	15,3	462,5±3,6	21,3±1,7	2,05±0,4	—	20,5±0,06	20,4±0,03
6-БАП	216,2±3,5	25,8	14,8	342,5±4,2	13,8±1,1	1,61±0,6	0,5	22,0±0,08	21,7±0,01

Таблица 2. Влияние физиологически активных соединений на завязывание ягод и некоторые показатели механического и химического состава у сортов винограда с обоечным типом цветка

Варианты опыта	Процент завязывания ягод (M±m)	Размеры грозди, см (M±m) от 1,1 до 2,8)		Масса грозди, г (M±m)	Масса гребня, г (M±m)	Масса одной ягоды, г (M±m)	Масса семян из 10) ягод, г	Процент сухого вещества (M±m)	Процент сахаров (M±m)
		длина	ширина						
Сорт Севан									
Контроль	100±3,8	26	14	314±2,5	7,2±0,1	4,13±0,1	11,6	19,3±0,01	18,7±0,003
6-БАП	128±2,6	26	15	431±3,8	9,9±1,8	4,54±0,3	13,8	21,4±0,03	20,4±0,03
Кинетин	126,9±3,8	29	14	421±4,3	10,1±1,2	4,25±0,4	15,1	19,3±0,01	18,7±0,01
Этрел	155±3,2	27	18	575±4,0	11,4±1,5	4,75±0,1	14,2	21,5±0,03	20,4±0,05
ССС	137±4,3	30	13	440±3,9	10,0±1,1	4,10±0,3	15,8	20,0±0,05	19,4±0,01
Сорт Шаумян									
Контроль	100±4,7	33	13	344±3,3	4,7±1,6	4,4 ±0,7	8,4	15,2±0,07	15,1±0,04
6-БАП	151±3,9	29	18	521±4,3	8,4±1,3	4,4 ±0,3	10,2	15,4±0,06	15,4±0,06
Кинетин	129±6,0	33	16	444±3,2	8,3±2,0	4,4 ±0,6	9,2	15,9±0,04	15,8±0,07
Этрел	149±3,8	35	18	580±4,1	9,6±1,4	4,98±0,3	12,0	15,9±0,05	15,8±0,08
ССС	175±4,1	35	17	618±5,4	11,0±1,3	4,51±0,4	13,0	16,0±0,07	15,7±0,05

грозди—209,0, 193,0 г (против контроля 100% и 117,4 г соответственно).

У сортов винограда, характеризующихся ломкостью грозденожки и гребня (Севан и Шаумяни), обработка соцветий этрелом вызывала такое разрастание и утолщение этих органов, что отрывать гроздь от побега возможно было только с помощью острого секатора. Контрольные же грозди отрывались легким прикосновением к грозденожке. Вместе с тем, несмотря на то, что эти сорта не отличаются ни клейстогамным типом опыления, ни осыпаемостью цветков и завязей, физиологически активные соединения вызывали у них повышение завязываемости ягод и увеличение массы гроздей (табл. 2, рис. 2).

Отчетливо проявляются как общность, так и специфичность действия этрела и 6-БАП на формирование ягод и гроздей у обоеполого сорта Шаумяни: значительно увеличивая массу грозди, эти фитогормоны по-разному влияют на формирование ягод и грозди. Данные табл. 2 показывают, что все испытанные соединения—6-БАП, кинетин этрел, ретардант ССС—в отличие от гиббереллина вызывают увеличение ягод и гроздей и повышают процентное содержание сухого вещества и сахаров у обоеполых сортов Севан и Шаумяни.

Проведенными исследованиями выяснено, что обработку соцветий у сортов винограда с обоеполым типом цветка, отличающихся различными физиологическими недостатками (клеистогамией, осыпаемостью цветков и завязей, ломкостью грозденожки и гребня), целесообразно производить методом смачивания в период массового цветения. Устранению указанных недостатков способствуют в той или иной степени все испытанные нами соединения, кроме гиббереллина. Кинетин, 6-БАП, этрел и ретардант ССС отрицательного влияния на вкусовые качества ягод не оказывают (рис. 2 а, б, в).

Проявляя свои специфические свойства, физиологически активные соединения в то же время способствуют устранению биологических недостатков у обоеполых сортов винограда, хотя действие каждого из этих соединений на отдельные сорта совсем не идентично. Можно предположить, что действие физиологически активных соединений тесно связано с биологическими особенностями сорта, обменом эндогенных гормональных факторов, а также с регуляцией притока и активацией питательных веществ.

Таким образом, проведенные нами исследования позволили выявить специфичность влияния указанных физиологически активных соединений, обусловленную различием химической природы и функциональной роли их при применении на различных сортах винограда. При этом обнаружено новое свойство пуринов—участие в регуляции завязывания, роста и развития ягод как у функционально женских, так и у обоеполых сортов винограда. Действие пуринов проявляется как в условиях изоляции, так и при свободном опылении. У сортов винограда с функционально женским типом цветка обработка ГК и 6-БАП способствует нормальному завязыванию ягод даже в условиях строгой изоляции с помощью пергаментных мешочков.

Показано, что 6-БАП, кинетин, этрел и ретардант ССС способствуют устранению таких биологических недостатков, как клейстогамия, осыпание цветков и завязей, ломкость гроздевой лозы и гребней у сортов винограда с обоеполым типом цветка

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Агамян Л. Б. Канд. дисс., Тбилиси, 1981.
2. Кулаева О. Н. Цитокинины, их структура и функция. М., 1973.
3. Лазаревский М. А. Изучение сортов винограда. Ростов, 1963.
4. Миллева Э. Л., Смирнова И. К., Чайлахян М. Х. ДАН СССР, 1, 1983.
5. Саркисова М. М., Чайлахян М. Х. ДАН АрмССР, 80, 2, 92—95, 1985.
6. Чайлахян М. Х., Саркисова М. М. Регуляторы роста у виноградной лозы и плодовых культур, Ереван, 1980.
7. Bangerth F., Götze G. Wein—Wiss. 30, 3, 121—128, 1975.
8. Das N., Patil K., Skoog F. Physiol. plantarum, 9, 1956.
9. Jackson M. B., Osborne D. Z. Nature, 225, 1019, 1967.
10. Martinez H. D., Diaz M. D., Ruggert G. Agrociencia, 21, 13—23, 1975.
11. Nelson J. M., Sharples G. C. Hort. Science. Sec., 1, 9, 6, 598—600, 1974.
12. Nitsch I. In Biochemistry and physiology of plant growth substances. Ottawa, 1968.
13. Osborne D. In Biochemistry and physiology of plant growth substances. Ottawa, 1968.
14. Richmond A. A., Lang A. Science, 125, 3219, 1958.
15. Weaver R. J., Van Overbeek J., Pool R. M., Nature 206, 952—953, 1965.
16. Weaver R. J., Stindly N. W., Klizner N. M. Plant Physiol., 44, 183—188, 1969.

Поступило 13.X 1987 г.

Биолог. ж. Армении. т. 41, № 2, 1988

УДК 577.1

### К МЕХАНИЗМУ АКТИВАЦИИ ПРОЦЕССА ТРАНСФОРМАЦИИ *Escherichia coli* ds-RНК

Р. А. ЗАХАРЯН, Ю. В. ТАДЕВОСЯН, Н. Г. АЗАРЯН, К. Г. КАРАГЕЗЯН

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван

Показано, что ds-RНК существенно повышает степень трансформации у *E. coli*. Появление свободных ненасыщенных жирных кислот и промежуточных в ходе высвобождения последних лизоформ фосфолипидов являются факторами, в условиях воздействия ds-RНК повышающими проницаемость клеточной мембраны бактерий, способствующими переносу ДНК в клетку и трансформации.

Ցույց է տրվել, որ ds-RНК-ն զգալիորեն բարձրացնում է տրանսֆորմացիայի աստիճանը *E. coli*-ի մոտ: Ազատ չնսպիտակ նստաբյուրերի և լիզոլիզների անջատման ընթացքում միջանկյալ ֆոսֆոլիպիդների լիզոֆորմերի ի հայտ գալը այնպիսի գործոններ են, որոնք ds-RНК-ի ազդեցության պայմաններում բարձրացնում են բակտերիայի թղջային թաղանթի թափանցելիությունը և նպաստում են ԴՆԹ-ի փոխադրմանը բջջի ներս և տրանսֆորմացիան:

The obtained data demonstrate that ds-RNA essentially elevates the level of *E. coli* transformation. The appearance of free nonsaturated fatty acids and mediatory lysoforms of phospholipids under the action of ds-RNA appears to be the factor which provides the increasing of bacterial cells membrane permeability and promotes the DNA transport into the cells.

Мембрана—трансформация—ds-RНК—фосфолипиды.

Перенос ДНК через плазматическую мембрану клеток прокариот обеспечивается в конечном итоге процессе их генетической трансформации. Обычно частота трансформации — величина достаточно низкая, свидетельствующая о том, что в популяции клеток только незначительная часть «компетентна» к трансформации. Состояние «компетентности» клеток определяется стадией жизненного цикла и, как предполагают, может наступать также в результате подавления катаболитной репрессии [8]. и-АМФ способна подавлять катаболитную репрессию, в значительной степени она способствует развитию компетентности, в частности, у *Haemophilus influenzae* [13]. Установлено, что состояние «компетентности» в клетках прокариот индуцируется специфическими активаторами белковой природы, взаимодействующими со структурами плазматической мембраны и формирующими на поверхности плазматической мембраны периплазматические везикулы, с которыми трансформирующая ДНК образует резистентный к ДНКазе комплекс. Формирование комплекса достаточно специфично, обеспечивается взаимодействием реенторных ДНК-связывающих белков с определенной первичной структурой [7].

Состояние относительно высокой компетентности, в частности, для грамотрицательной бактерии *E. coli* достигается предварительной обработкой ионами  $Ca^{2+}$  [5]. Предполагается, что  $Ca^{2+}$  повышает проницаемость либо уже существующих пор в мембране, либо индуцирует образование новых; при этом рассматриваются такие биофизические изменения в мембране, как снижение устойчивости гидрофобных связей ( $10^\circ$ ,  $Ca^{2+}$ ) со структурными перестройками в мембране или индукция фазового перехода алифатных радикалов жирных кислот фосфолипидных молекул из жидкого состояния в кристаллическое, сопровождающееся дестабилизацией и локальными нарушениями бислоя [11]. Ранее нами [1] было показано, что в присутствии двуспиральной РНК низкой молекулярной массы из дрожжей у микроорганизмов достигается достаточная степень «компетентности» к трансформации, конъюгации и трансфекции. Полученные данные свидетельствуют о том, что эти биофизические представления о механизмах переноса ДНК через плазматическую мембрану являются не единственными и что, скорее, на мембране разыгрывается комплекс событий, сопряженных также с изменением биохимизма плазматической мембраны. Подобное представление подтверждается наличием у компетентных микроорганизмов повышенной способности к частичному автолизу клеточной мембраны [9, 10].

В связи с вышеизложенным нами было изучено включение [ $^{14}C$ ] олеиновой кислоты в фосфолипиды *E. coli* в условиях индукции состояния компетентности клеток дс-РНК, а также влияние последней на обменяемость фосфолипидов *E. coli*, предварительно преникубированных с [ $^{14}C$ ] олеиновой кислотой.

**Материал и методика.** Введение [ $^{14}C$ ]олеиновой кислоты в фосфолипиды *E. coli* осуществляли по методу Вейса и соотр. [12].

*E. coli* в количестве  $10^7$  клеток инкубировали в среде с 0,05 М трис-НСI буфера (рН 7,0), содержащей 1 мМ  $Ca^{2+}$  и 10 мкг дс-РНК (конечный объем 0,5 мл). Парал-

лельно инкубировали контрольные пробы в той же буферной системе в присутствии либо 1 мМ  $\text{Ca}^{2+}$ , либо 5 мМ ЭГТА. По завершении инкубации, проведенной при 24° в течение 5 и 10 мин липиды экстрагировали по методу Блай и Дайер [4] с последующим фракционированием их методом одномерной ТСХ в системах растворителей хлороформ—метанол—уксусная кислота— $\text{H}_2\text{O}$  (25:15:4:2) и петролейный эфир—двухлорэтан—уксусная кислота (60:40:2). Степень радиоактивности идентифицированных фракций фосфо- и нейтральных липидов определяли в жидкости Брера на сцинтилляционном спектрометре (Roche-Bioelectronique SL-4221, Франция) и сканированием пластинок на радиосканируемом приборе (Berthold, ФРГ).

**Результаты и обсуждение.** В табл. 1 обобщены результаты экспериментов по трансформации *E. coli* плазмидой pBR 322, трансфекции РрС1 ДНК фага  $\phi$ 1-16 и конъюгации в скрещиваниях Да 9 (РрС 7 *met* *Naph*)  $\times$  РрС 1.

Таблица 1. Влияние дс-РНК на перенос ДНК в клетки *E. coli*

Раствор	Частота		
	конъюгации	трансфекции	трансформации
$\text{Ca}^{2+}$ (0,1 М)	—	$2 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^1$
дс-РНК без $\text{Ca}^{2+}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^1$
дс-РНК+ $\text{Ca}^{2+}$ (0,01 М)	$7 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^2$
$\text{Ca}^{2+}$ (0,01 М)	$5 \cdot 10^{-4}$	—	$1 \cdot 10^2$
$\alpha$ -бульон	$5 \cdot 10^{-5}$	—	—

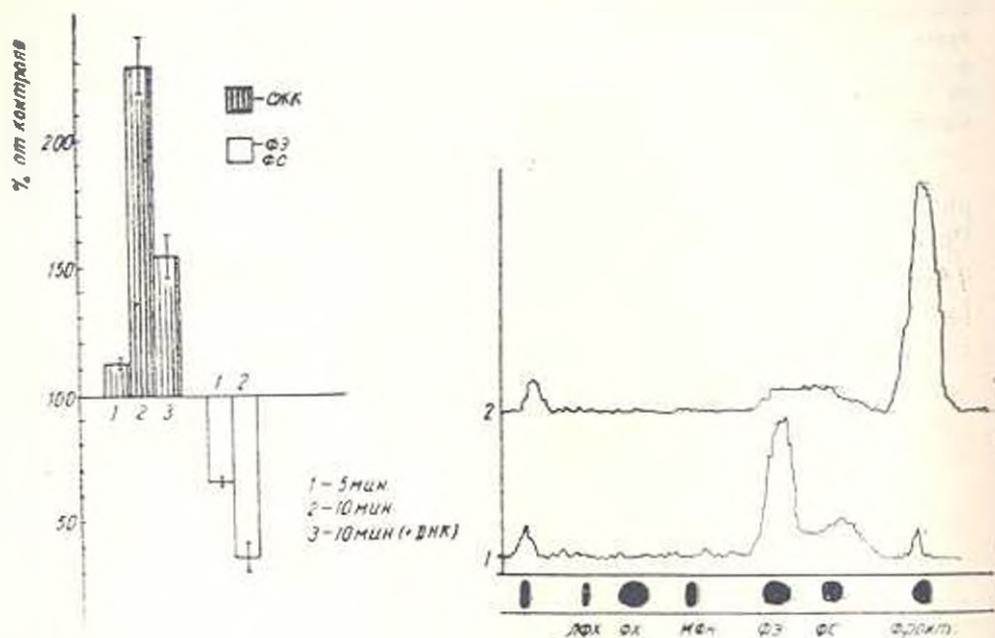
Полученные результаты свидетельствуют, что дс-РНК в отсутствие ионов  $\text{Ca}^{2+}$  значительно повышает в популяции число «компетентных» к трансформации, трансфекции и конъюгации клеток. Одновременно обнаружен факт стимуляции процесса трансформации дс-РНК (на два порядка) в присутствии 0,01 М  $\text{Ca}^{2+}$  в концентрации, которая сама по себе недостаточно активна для переноса ДНК в клетку. Особенно же четко выявлена индукция дс-РНК состояния компетентности клеток *E. coli* в присутствии 0,01 М  $\text{Ca}^{2+}$ — $5 \cdot 10^2$  против  $1 \times 10^2$  при наличии в среде только  $\text{Ca}^{2+}$  0,01 М.

Фракционирование методом одномерной ТСХ фосфолипидов *E. coli*, обработанных дс-РНК, после предварительного включения [ $^{14}\text{C}$ ]олеиновой кислоты в ФЭ и ФС клеток, показало, что дс-РНК существенно, на 230%, стимулирует высвобождение [ $^{14}\text{C}$ ] олеиновой кислоты из ФЭ и ФС (рис., слева).

ДНК обладает относительно низкой, хотя и достаточно выраженной активностью.

Изучение включения [ $^{14}\text{C}$ ] олеиновой кислоты в фосфолипиды *E. coli* показало (рис., справа, табл. 2), что в контрольных образцах экзогенная олеиновая кислота включается преимущественно по фракцию фосфатидилэтанолamina и в меньшей степени фосфатидилсерина. В присутствии же дс-РНК имеет место практически полное подавление процесса ацилирования или реакцирования лизоформ фосфолипидов, а также ингибирование других возможных путей утилизации олеиновой кислоты.

Специфичность фосфолипазной активности у микроорганизмов остается недостаточно исследованной и прежде всего из-за присутствия в микроорганизмах высокоактивных лизофосфолипаз, разлагающих



Слева высвобождение под влиянием дс-РНК [ $^{14}\text{C}$ ] олеиновой кислоты из фосфолипидов (ФЭ и ФС) *E. coli*, предварительно инкубированных с [ $^{14}\text{C}$ ] олеиновой кислотой. 1—инкубация *E. coli* с дс-РНК в течение 5 и 10 мин соответственно; 3—инкубация *E. coli* с ДНК в течение 10 мин. Справа сканиграмма включения [ $^{14}\text{C}$ ] олеиновой кислоты в фосфолипиды. 1—отсутствие дс-РНК. 2—в присутствии дс-РНК. ЛФХ—лизофосфатидилхолин, ФХ—фосфатидилхолин, МФП—монофосфатидилинозит, ФЭ—фосфатидилацетамин, ФС—фосфатидилсерин, СЖК—свободные жирные кислоты.

продукты реакции [6]. Считается, что основным липолитическим ферментом у бактерий, в том числе и у *E. coli*, является фосфолипаза  $A_1$ , хотя наличие фосфолипазы  $A_2$  у *E. coli*, и прежде всего в клеточной мембране, было показано в ряде работ [2, 3]. Оба фермента для выражения своей активности требуют наличия  $\text{Ca}^{2+}$ .

Таблица 2. Включение [ $^{14}\text{C}$ ] олеиновой кислоты в ФЭ *E. coli* под влиянием дс-РНК

Условия опыта	ФЭ		СЖК	
	имп/мин	%	имп/мин	%
—дс РНК	6197.0±86.7	100	7654.9±131.1	100
+дс РНК	4147.9±356.2	66.9	13598.5±1446.0	177.6

Учитывая вышесказанное, а также то, что в качестве эндогенного субстрата в мембранах *E. coli* образуются 1-ацил-2- $^{14}\text{C}$ -олеил Ф.Л., усиление ферментативного выхода олеиновой кислоты можно считать

следствием двух возможных путей гидролиза ФЛ: активации фосфолипазы  $A_2$ , с прямым отщеплением ненасыщенной жирной кислоты или активации системы фосфолипазы  $A_1$ —лизофосфолипазы.

Как бы то ни было, появление даже на короткое время промежуточных лизоформ фосфолипидов и ненасыщенных свободных жирных кислот, обладающих мембранолитическими свойствами, по-видимому, является фактором, обеспечивающим дестабилизацию и локальные нарушения в бислое, способствующие повышению проницаемости клеточной мембраны бактерий и переносу ДНК в клетку. В пользу вышесказанного свидетельствуют данные относительно практически полного ингибирования в присутствии 5 мМ ЭГТА как активности фосфолипазы- $A_2$ , так и стимулирующей активности де-РНК. При отсутствии ЭГТА и  $Ca^{2+}$  де-РНК сама существенно стимулирует процесс трансформации *E. coli*. Мы предполагаем, что де-РНК, вступив в контакт с поверхностью плазматической мембраны клетки, вызывает локальную мобилизацию ионов  $Ca^{2+}$ , связывающих липополисахариды внешней мембраны, обеспечивая тем самым доступность фосфолипидов и активацию фосфолипаз.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Захарян Р. А., Азарян Н. Г., Арутюнян Дж. Г. ДАН СССР, 285, 5, 1251—1253, 1986.
2. Bernard M. C., Brison J., Denis F., Rosenberg A. J. Biochemie, 54, 297, 1972.
3. Bernard M. C., Brison J., Denis F., Rosenberg A. J. Biochemie, 54, 261, 1972.
4. Bligh E., Dyer W. J. Canad. J. Biochem. Physiol., 37, 911—917, 1959.
5. Cohen S. N., Chang A. C. Y., Hsu L. Proc. Natl Acad. Sci. USA, 69, 2110—2111, 1973.
6. Ferber E., Mundler P. G., Fischer H., Gerisch G. Eur. J. Biochem., 14, 253, 1970.
7. Mark K. E., Hamilton S. O. J. Membrane Biol., 81, 2, 89—103, 1981.
8. Miller D. H., Huang P. C. J. Bacteriol., 109, 560—564, 1978.
9. Mosser J. L., Tomasz A. J. Biol. Chem., 245, 287—298, 1970.
10. Notani N. K., Setlow J. K. Progr. Nucl. Acids Res., 14, 39—100, 1974.
11. Papahadjopoulos D., Vail W. J., Newton C. Biochem. Biophys. Acta, 455, 379—398, 1977.
12. Weiss J., Beckerdite—Quagliata S., Eistach P. J. Biol. Chem., 254, 11010—11014, 1979.
13. Wist E. M., Alexander S. P., Powers M. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 70, 471—474, 1973.

Поступило 13.X 1987 г.

## ИММОБИЛИЗАЦИЯ БЕТА-ФРУКТОФУРАНОЗИДАЗЫ *AUREOBASIDIUM PULLULANS* НА СИЛОХРОМЕ С-80

Е. Р. АЛЕКСАНИН, Э. С. МАРКОСЯН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Осуществлена иммобилизация внеклеточной бета-фруктофуранозидазы *Aureobasidium pullulans* на силохроме С-80. Установлены оптимальные условия иммобилизации, при которых происходит максимальное связывание активности—76,3% от исходной. Показано, что свойства иммобилизованной и нативной бета-фруктофуранозидазы в основном сходны.

*A. pullulans*-ի արտադրչային բևտաֆրուկտոֆուրանոզիդազան իմմոբիլիզացվել է սիլոխրոմ С-80-ի վրա: Բացահայտվել են իմմոբիլիզացման օպտիմալ պայմանները՝ բևտաֆրուկտոֆուրանոզիդազայի խտությունը (0,8 %) և կրիլի ներմուծման կոնտակտի ժամանակը (2 ժամ), որոնց դեպքում ապահովվան կապուցված ակտիվությունը է 76,3% սկզբնականից: Ճոշյ է տրվել, որ իմմոբիլիզացված ֆերմենտն օժտված է նույնանման հատկություններով, ինչ որ կապված ֆերմենտը: Նկատվում է միայն ջերմաստիճանի օպտիմումի ոչ նշանակալից փոփոխություն:

The optimal conditions of immobilization of extracellular  $\beta$ -fructofuranosidase (0.8%) of *Aureobasidium pullulans* and the time of the enzyme's contact with the carrier (2 hours) are fixed, under which maximum activity connected with sylochrom is 76,3% from the initial. The properties of immobilized and native  $\beta$ -fructofuranosidase are mainly identical, except the temperature optimum and the influence of some chemical substances on the immobilized preparation.

*Грибы дрожжеподобные Aureobasidium pullulans*—бета-фруктофуранозидаза—иммобилизация—силохром С-80.

Применению иммобилизованных ферментов в разных технологических процессах и медицине в последнее время придается все большее значение. Уже разработаны технологии производства некоторых иммобилизованных ферментов [3—6].

Иммобилизованная бета-фруктофуранозидаза в настоящее время выпускается НИО «Фермент» в комплексе с мутаротазой и глюкозооксидазой для аналитических целей [3]. Однако потребность в ферменте этим не исчерпывается, так как появляются новые перспективы применения как иммобилизованной бета-фруктофуранозидазы, так и клеток—продуцентов фермента в различных технологических процессах.

Основной сферой использования бета-фруктофуранозидазы как в нативном, так и иммобилизованном состоянии является производство жидкого сахара, которое приобретает все большее значение, так как на крупномасштабном производстве кристаллического сахара погрузочно-разгрузочные и транспортно-складские работы обходятся дорого [2]. В США, по данным Бреммана и соавт., [2], производство жидкого сахара стабилизировалось на уровне 20—25% от общих поставок сахара в стране.

В настоящей работе обобщены результаты изучения иммобилизованной бета-фруктофуранозидазы *Aureobasidium pullulans*.

**Материал и методика.** В качестве продуцента бета-фруктофуранозидазы использовали дрожжеподобный гриб *Aureobasidium pullulans*, полученный из Всесоюзной коллекции микроорганизмов АН СССР. Культивирование проводили на питательной среде и в условиях, описанных ранее [1]. После удаления биомассы центрифугированием при 10000 об/мин в течение 20 мин бета-фруктофуранозидазу из надосадочной жидкости осаждали 96%-ным этиловым спиртом в соотношении 1:2. Осажденную бета-фруктофуранозидазу отделяли центрифугированием при 10000 об/мин в течение 20 мин, ресуспендировали в дистиллированной воде и лиофильно высушивали.

Силохром С-80 обрабатывали 30 мин 5%-ным раствором гамма-аминопропильтриэтоксисилана в эстоне. Затем высушивали в сушильном шкафу при температуре 100—110° в течение 6—8 часов. К силохрому со связанными аминопропильными группами добавляли 25%-ный раствор глутарового диальдегида и перемешивали в течение часа при температуре 18—20°. Носитель промывали водой и использовали для иммобилизации бета-фруктофуранозидазы, которую проводили смешиванием 1,5 г силохрома (сухая масса) с 5 мл 0,8%-ного раствора фермента (кроме определения оптимальной концентрации фермента для иммобилизации). Полученную смесь перемешивали на качалке при 150 об/мин в течение 2 ч (кроме определения оптимального времени контакта фермента с носителем) при температуре 18—20°. Иммобилизованный препарат промывали на фильтре хлоридной водой до полного исчезновения белка в промывных водах и использовали в дальнейшем для исследования свойства связанной бета-фруктофуранозидазы.

Активность иммобилизованной бета-фруктофуранозидазы определяли по следующей схеме: в колбу вносили 80 мг препарата (сухая масса), 2,4 мл 0,15 М фосфатно-цитратного буфера, pH 5,7, и 2,1 мл 0,5%-ной сахарозы. После нукубирования в термостабируемой качалке в течение часа при 50° (скорость вращения—150 об/мин) отбирали пробы для определения редуцирующих веществ по методу Шомли-Нельсона [9, 10].

Активность иммобилизованной бета-фруктофуранозидазы рассчитывали по количеству образующихся редуцирующих веществ (в ммольях) на 1 г носителя за 1 мин.

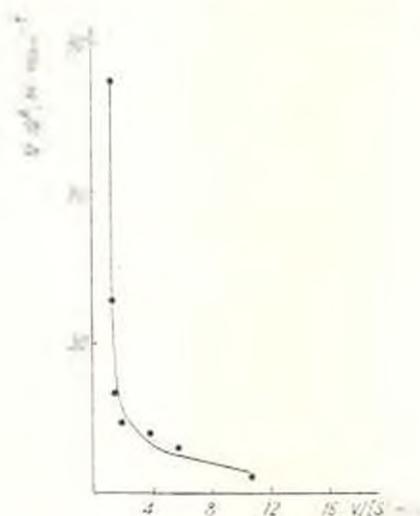
**Результаты и обсуждение.** С целью установления оптимальной концентрации бета-фруктофуранозидазы и времени контакта с носителем ферментные растворы различных концентраций (0,4, 0,8, 1,6, 2,0%) выдерживали с обработанным силохромом в течение 1, 2 и 3 часов. Как видно из данных табл. 1, максимальное количество белка (61,6% от исходного) связывается с носителем при использовании 0,8%-ного раствора бета-фруктофуранозидазы и 2-часовом контакте. Дальней-

Таблица 1. Иммобилизация бета-фруктофуранозидазы на силохроме С-80

Концентрация фермента, %	Время иммобилизации, ч	Количество белка			Активность бета-фруктофуранозидазы		
		в исходном растворе, мг	связанного на 1 г носителя	связанного на 1 г носителя, % от исходной	в исходном растворе, ед.	связанного на 1 г носителя	связанного на 1 г носителя, % от исходной
0,4	1	0,15	0,04	26,6	0,33	0,02	6,0
0,4	2	0,15	0,08	53,2	0,33	0,15	45,4
0,4	3	0,15	0,08	53,2	0,33	0,10	30,3
0,8	1	0,24	0,09	40,4	0,55	0,25	45,4
0,8	2	0,24	0,15	64,6	0,55	0,42	76,3
0,8	3	0,24	0,14	61,6	0,55	0,35	63,6
1,6	1	0,44	0,13	30,8	1,29	0,37	28,5
1,6	2	0,44	0,19	42,8	1,29	0,68	52,7
1,6	3	0,44	0,28	63,9	1,29	0,57	44,1
2,0	1	0,54	0,17	32,9	1,29	0,13	8,9
2,0	2	0,54	0,27	51,2	1,29	0,94	64,5
2,0	3	0,54	0,32	61,3	1,29	0,93	63,6

шее повышение концентрации не приводит к существенному увеличению количества связанного белка. При этом активность бета-фруктофуранозидазы составляет 76,3% от исходной. Исследование свойств иммобилизованной на силихроме С-80 бета-фруктофуранозидазы *A. pullulans* показало, что связанный фермент не претерпевает особых изменений, кроме небольшого сдвига температурного оптимума с 50° до 60°. Оптимальное значение pH равно 5,5–6,0. Такие же результаты получены Шустровой с соавт. [7] при иммобилизации бета-фруктофуранозидазы на силикагеле МСА-750. Установлено также, что связанный фермент, как и нативный [1], более стабилен при сравнительно низких температурах—18–20° и pH 5,7.

Интересно отметить, что зависимость активности иммобилизованного препарата от концентрации субстрата (в координатах Эди-Хофсти) выражается в виде кривой, не пересекающей оси абсцисс и ординат (рис.), т. е. полного насыщения фермента субстратом в пределах



Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата (0,1–50%) в координатах Эди-Хофсти.

0,1–50%) не происходит. Эта закономерность наблюдается также у нативного фермента [1], что подтверждает положение о существовании двух активных центров у внеклеточной бета-фруктофуранозидазы *A. pullulans*.  $K_m$  активных центров иммобилизованного фермента равны соответственно 0,28 и 1,5 М.

Как и у нативного фермента, у иммобилизованного также отмечается прямо пропорциональная зависимость бета-фруктофуранозидазной активности от концентрации препарата.

При изучении влияния различных соединений на активность связанного фермента выявлены некоторые, хотя и не очень существенные, различия в каталитической активности (табл. 2). Так, если анилин и пиридоксин почти в одинаковой степени ингибируют как нативный, так и иммобилизованный ферменты, то метасиликат натрия больше подав-

ляет активность нативного фермента, а р-хлормеркурибензоат—иммобилизованного. Степень активирования иммобилизованного фермента пиридоксальфосфатом на 29% выше, чем таковая нативного. Глутатион, не влияя на нативную бета-фруктофуранозидазу, вызывает активацию иммобилизованной на 31%.

Таблица 2. Влияние некоторых химических соединений на активность иммобилизованной бета-фруктофуранозидазы

Соединение $10^{-4}$ М	Активность иммобилизованной бета-фруктофуранозидазы	
	ед. г носителя	% от контроля
Контроль (без добавок)	0.42	100
Анилин	0.10	24.3
Пиридоксин	0.23	54.0
Натрий кремнекислый	0.28	67.5
р-Хлормеркурибензоат	0.30	70.2
Глутатион окисленный	0.55	131.0
Пиридоксальфосфат	0.61	143.2

Изучение влияния ионов металлов на иммобилизованную бета-фруктофуранозидазу (табл. 3) показало, что наибольшая потеря активности имеет место в присутствии ионов ртути и серебра (94,8 и 86,9% соответственно), которые являются также сильными ингибиторами нативного фермента.

Таблица 3. Влияние различных ионов металлов на активность иммобилизованной бета-фруктофуранозидазы

Ионы металлов, $10^{-2}$ М	Активность иммобилизованной бета-фруктофуранозидазы	
	ед. г носителя	% от контроля
Контроль (без добавок)	0.38	100
Pb <sup>2+</sup>	0.40	107.7
Ca <sup>2+</sup>	0.39	102.8
Ni <sup>2+</sup>	0.38	100.0
Co <sup>2+</sup>	0.37	98.9
Zn <sup>2+</sup>	0.34	92.0
Cu <sup>2+</sup>	0.30	81.3
Fe <sup>2+</sup>	0.25	67.4
Cd <sup>2+</sup>	0.25	67.4
Mo <sup>2+</sup>	0.20	54.7
Ag <sup>+</sup>	0.05	13.1
Hg <sup>2+</sup>	0.02	5.2

С целью выявления возможности использования иммобилизованной бета-фруктофуранозидазы с большей эффективностью мы исследовали гидролиз сахарозы в отходах сахарного производства—мелассе, полученной из Спитакского сахарного завода. Содержание сахарозы в мелассе составляло 48—50%. Для проведения реакции мелассу из-за большой вязкости разбавляли дистиллированной водой в 4 раза и использовали в качестве субстрата. Реакция протекала в статических условиях в колбах при 50° при постоянном перемешивании (180 об/мин)

и промывании препарата дистиллированной водой после каждого употребления. Бета-фруктофуранозидаза оказалась достаточно стабильной и практически не утрачивала активности при многократном использовании.

Таким образом, на основании приведенных данных можно заключить, что иммобилизация внеклеточной бета-фруктофуранозидазы *A. pullulans* на силихроме С-80 не приводит к существенным изменениям свойств фермента. Иммобилизованный ферментный препарат можно использовать не только для гидролиза чистых высококонцентрированных растворов сахарозы, но и отходов сахарного производства, содержащих сахарозу, — мелассы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексанян Е. Р., Маркосян Л. С. Биолог. ж. Армении, 35, 10, 809—811, 1982.
2. Бренман С. А., Марьянич В. Л., Иволго Н. С., Ковальчук В. С. Производство и использование жидкого сахара. М., 1984.
3. Глемжа А. А. Микробные ферменты в народном хозяйстве. Вильнюс, 1985.
4. Клесов А. А. Тез. IV Всесоюз. симп. «Инженерная энзимология», 1, 25—27, Киев, 1983.
5. Клесов А. А. В кн.: Биотехнология. 103—112, М., 1984.
6. Нахлетян Л. А. Тез. IV Всесоюз. симп. «Инженерная энзимология», 1, 41, Киев, 1983.
7. Щустрова Н. И., Стальная Н. Д., Самошина Н. М., Нахлетян Л. А. Прикл. биохим. и микробиол., 16, 5, 780—783, 1980.
8. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 1, 265—275, 1951.
9. Nelson N. J. J. Biol. Chem., 153, 1, 375—380, 1941.
10. Somogyi M. J. Biol. Chem., 195, 1, 19—23, 1952.

Поступило 15.XII 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 2, 1988

УДК 577.15.08.154

### ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ КРАХМАЛА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕРМОФИЛЬНОЙ БАЦИЛЛЫ

А. М. БАЛАЯН, В. А. АБЕЛЯН, Л. С. МАРКОСЯН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Изучена возможность биоконверсии крахмала в сахаристые продукты с помощью термофильного штамма *Bacillus sp.*

Показано, что нативные и стабилизированные клетки обладают пулдулапазой и амнолитической активностью; при гидролизе крахмала указанным штаммом в зависимости от продолжительности процесса образуются мальтоза и глюкоза.

Առավանաիրգել է օւշալի ֆերմազերաւոր շարտրանջութերի *Bacillus sp.* թերմոֆիլ շտամի միջոցով: Պարզվել է, որ էջված միկրոօրգանիզմն օժտված է պուլլուլանազայի և ամիլոլիտիկ ակտիվությամբ: Կախված հիդրոլիզի տևողությունից օւլան առաջուծվում է մինչև մալտոզայի և գլյուկոզայի:

The possibility of starch hydrolysis into sugar products by means of native and stabilized cells of the thermophilic strain *Bacillus sp.* is studied.

Bacterial cells possess pullulanase and amylolytic activity. During the starch hydrolysis by the given strain maltose and glucose are formed, which depends on the duration of the process.

*Термофильный штамм Bacillus sp.—пуллулаза— $\alpha$ -амилаза—конверсия крахмала—стабилизация клеток.*

Основным сырьем для получения сахаристых продуктов является крахмал, который подвергается гидролизу комплексом амилитических ферментов. Однако известно, что наряду с  $\alpha$ -1-4-глюкозидными связями в амилопектине имеются  $\alpha$ -1-6-связи (4—5%), не расщепляющиеся указанными ферментами [4, 12]. Это приводит к заметным потерям сырья при производстве сахаристых продуктов.

Данные литературы показывают, что при совместном применении глюкоамилазы, изоамилазы,  $\alpha$ -амилазы с пуллулазой происходит сравнительно полный гидролиз крахмала с образованием глюкозы и мальтозы [3, 5, 7, 8, 11]. Это свидетельствует о большой практической значимости одноэтапного гидролиза крахмала с помощью штамма микроорганизма, обладающего комплексом амилитических ферментов и одновременно с ферментом, расщепляющим  $\alpha$ -1-6-глюкозидные связи.

В настоящей работе обобщены результаты изучения биоконверсии крахмала в сахаристые продукты с помощью термофильного штамма *Bacillus sp.*

*Материал и методика.* Термофильную культуру *Bacillus sp.*, выделенную в ИММИА Армянской ССР, выращивали в ферментере «АНКУМ-2» в пробных условиях в течение 9 ч при 56° и pH 7,5 в среде, содержащей (г/л): кукурузный экстракт 5,0; пептон—5,0; крахмал—5,0; NaCl—5,0; CaCO<sub>3</sub>—5,0. Биомассу отделяли центрифугированием при 6000 g в течение 15 мин.

Клетки *Bacillus sp.*, полученные после центрифугирования, стабилизировали обработкой их биофункциональными агентами, в результате чего получали жесткие гранулы сухих клеток с исключительной размерной стабильностью, которые с успехом можно использовать как в стационарных, так и в проточных условиях.

Пуллулазную активность определяли по образованию редуцирующего вещества после инкубации в реакционной смеси, состоящей из 1,0 мл 1% пуллулана, 0,5 мл 0,15 М фосфатно-цитратного буфера (pH 6,0) и 1,0 мл суспензии клеток (100 мг сырой или стабилизированной биомассы в 1,0 мл фосфатно-цитратного буфера). Инкубировали при 50° в течение 60 мин. Редуцирующие вещества определяли методом Сомоджи-Нельсона [6, 10].

За единицу пуллулазной активности принимали то количество фермента, которое высвобождало 1 мкмоль редуцирующего сахара при 50° в течение одного часа [7, 9].

Количество прогидролизованного крахмала определили коллоидно-крахмальным методом [2]. К смеси, содержащей 5,0 мл 1% крахмала, добавляли 1,0 мл 0,15 М фосфатно-цитратного буфера (pH 6,0) и 1,0 мл суспензии (100 мг сырой биомассы в 1,0 мл буфера) нативной или стабилизированной биомассы (2,0 ед) и инкубировали при 50°. По истечении определенного времени определяли количество прогидролизованного крахмала.

Состав продуктов гидролиза крахмала определяли методом тонкослойной и бумажной хроматографии в системе растворителей н-бутанол—пиридин—вода (6:4:2,5 об/об). Сахары проявляли раствором AgNO<sub>3</sub> в аммиаке [1]. Продукты гидролиза определяли также на высокоэффективном жидкостном хроматографе марки «Ortobal 5931» (Швеция) с колонкой размером 4,6 мм×25 см со скоростью потока 1 мл/мин.

В работе использовали: пуллулан фирмы «Serga» (ФРГ), растворимый крахмал—«Kaizo Chemicals Co.» (Япония), мальтоотриозу—«Sigma» (США) и реактивы отечественного производства марки х. ч.

**Результаты и обсуждение.** В предварительных опытах было установлено, что культура *Bacillus sp.* обладает как пуллулазной, так и амилитической активностью. С целью биоконверсии крахмала нативными и стабилизированными клетками *Bacillus sp.* мы провели исследования по оптимизации условий гидролиза  $\alpha$ -1-4- и  $\alpha$ -1-6-глюкозидных связей. Полученные результаты показали, что пуллулазная активность как нативных, так и стабилизированных клеток достигает максимума при pH 6,0 (табл. 1). Выяснилось также, что стабилизированные клетки несколько более устойчивы к pH, чем нативные (табл. 2).

Таблица 1. Влияние pH на пуллулазную и  $\alpha$ -амилазную активность нативных и стабилизированных клеток *Bacillus sp.*

pH	Относительная активность, %			
	пуллулаза		$\alpha$ -амилаза	
	нативные клетки	стабилизированные клетки	нативные клетки	стабилизированные клетки
3	18	27	—	—
4	50	60	30	25
5	75	85	75	80
6	100	100	100	100
7	90	80	80	90
8	60	40	40	55
9	20	25	—	—
10	5	10	—	—

Таблица 2. pH-стабильность пуллулазы нативных и стабилизированных клеток *Bacillus sp.*

pH	Относительная активность, %	
	нативные клетки	стабилизированные клетки
3	0	0
4	10	20
5	45	70
5.5	70	100
6	100	100
7	100	100
8	100	100
9	90	100
9.5	20	100
10	0	30
11	0	0

Наивысшая пуллулазная активность обеих форм достигается при 50—55° (табл. 3). Однако стабилизированные клетки, по сравнению с нативными, более устойчивы к действию высоких температур. Так, при выдерживании нативных клеток при 60° в течение двух часов утрачивается примерно 50% пуллулазной активности, в то время как стабилизированные клетки теряют лишь 10% ее (табл. 4). При изучении влияния pH среды и температуры на  $\alpha$ -амилазную активность нативных и стабилизированных клеток *Bacillus sp.* наиболее высокие показатели отмечаются при pH 6,0 и температуре 50°. Дальнейшее измене-

Таблица 3. Влияние температуры на пуллулазную и  $\alpha$ -амилазную активность нативных и стабилизированных клеток *Bacillus sp.*

Температура, °C	Относительная активность, %			
	пуллулаза		$\alpha$ -амилаза	
	нативные клетки	стабилизированные клетки	нативные клетки	стабилизированные клетки
30	10	50	—	—
40	70	80	80	75
50	100	95	100	100
55	95	100	95	100
60	85	95	80	100
70	10	40	0	50
80	0	0	0	0

Таблица 4. Термостабильность пуллулазы нативных и стабилизированных клеток *Bacillus sp.*

Температура, °C	Относительная активность, %	
	нативные клетки	стабилизированные клетки
30	100	100
40	100	100
50	95	100
60	45	95
70	15	25
80	0	0

ние pH и повышение температуры приводит к заметной инактивации  $\alpha$ -амилазной активности обеих форм клеток (табл. 1, 2). Интересно отметить, что pH и температурный оптимум пуллулазной и  $\alpha$ -амилазной активности клеток совпадают, что позволяет осуществлять одноэтапный гидролиз крахмала клетками *Bacillus sp.*

Данные литературы о влиянии ионов различных металлов свидетельствуют о том, что ионы  $\text{Ca}^{2+}$  в отличие от многих других ионов, оказывают положительное действие на активность пуллулазы микроорганизмов [9, 11]. Результаты наших опытов с использованием ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в концентрации 0,03 М также выявили положительный эффект их как в отношении нативных, так и стабилизированных клеток (рис. 1). Кроме того, добавление этих ионов к раствору фермента повышает его термостабильность. Так, выдерживание его при 60° в течение пяти часов в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  приводит к снижению пуллулазной активности нативных клеток на 85%, а стабилизированных лишь на 20%.

Изучение продуктов гидролиза пуллулана и крахмала ферментным комплексом *Bacillus sp.* показало, что в зависимости от продолжительности гидролиза обоих субстратов образуются различные сахара. Так, при расщеплении крахмала вначале образуются олигосахариды и глюкоза, а затем лишь глюкоза (рис. 2, справа). В случае же гидролиза пуллулана клетками *Bacillus sp.* наряду с мальтотриозой вначале и ден-

тифинируется также и глюкоза, а при более длительном гидролизе единственным продуктом является глюкоза (рис. 2, слева).

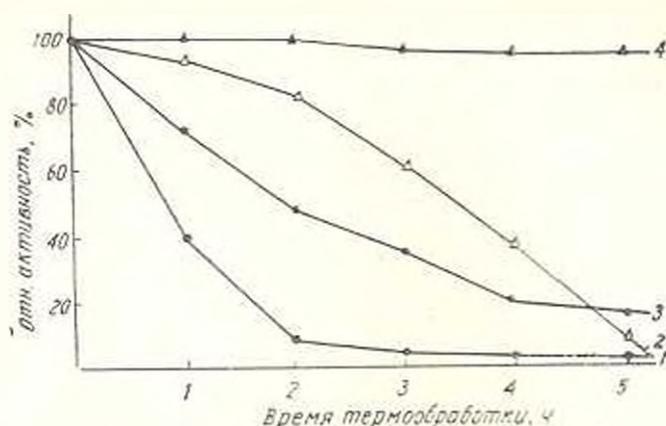


Рис. 1. Влияние ионов Ca<sup>2+</sup> на пуллулазную активность клеток в активном и стабилизированном состояниях. 1—без Ca<sup>2+</sup>, 2—с Ca<sup>2+</sup> активные клетки, 3—без Ca<sup>2+</sup>, 4—с Ca<sup>2+</sup> стабилизированные клетки.

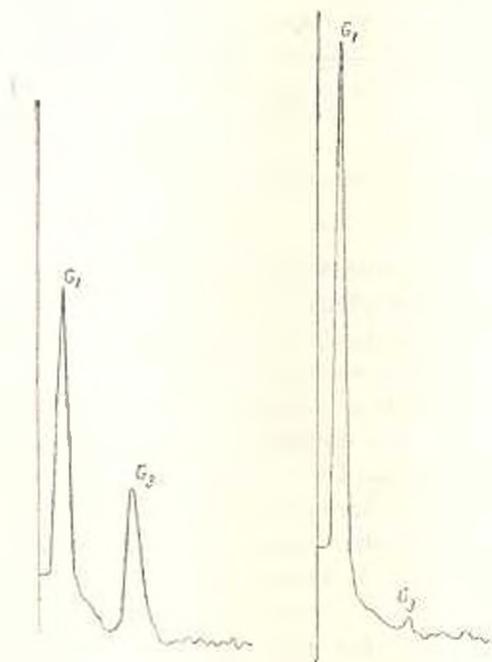


Рис. 2. Высокоэффективная жидкостная хроматография гидролиза: слева—пуллулана, справа—крахмала (G<sub>1</sub>—глюкоза, G<sub>2</sub>—мальтотриоза).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что термофильный штамм *Bacillus sp.* обладает не только  $\alpha$ -амилазой и пуллулазной активностью, но и другими гидролазами, расщепляющими различные олигосахариды, и является персекутивным штаммом для одноступенчатой конверсии крахмала и пуллулана в сахаристые продукты.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Foster A. B. J. Chem. Soc., 982—987, 1953.
2. Hale W. S. and Rawlins L. C. Cereal. Chem., 28, 49—51, 1951.
3. Harada T., Misaki A., Aka H., Yokobayashi K. and Sugimoto K. Biochem. et Biophys. Acta, 268, 497—505, 1972.
4. Manners D. J. and Marthensson N. K. Carbohydr. Res., 92, 99—105, 1981.
5. Marthensson K. Biotech. and Bioeng., 16, 579—591, 1974.
6. Nelson N. U. Biol. Chem., 153, 375—380, 1941.
7. Norman B. E. J. Jpn. Soc. Starch Sci., 30, 2, 209—211, 1983.
8. Okba R., Chean H., Hayashi S. and Ueda S. Biotech. and Bioeng., 20, 661—676, 1978.
9. Okba R. and Ueda S. Biotech. and Bioeng., 22, 2137—2154, 1980.
10. Somogyi M. J. Biol. Chem., 160, 61—67, 1945.
11. Takasaki Y. Agr. Biol. Chem., 40, (8), 1523—1530, 1976.
12. Whelan W. J. Biochem. J., 122, 609—615, 1971.

Поступило 13 X 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 2, 1988

УДК 636.12/14 663.513

### ПОЛУЧЕНИЕ КОРМОВЫХ ДРОЖЖЕЙ НА ФИЛЬТРАТЕ ПРОИЗВОДСТВА ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ

Л. А. ЕРЗНИКЯН, Ф. Г. САРУХАНИЯН, А. Л. ЭЛИАЗЯН,  
А. Г. СЕВОЯН, М. Л. СТЕПАНИН

Институт микробиологии АН АрмССР, лаборатория бродильных  
микроорганизмов, г. Абовян

Установлена возможность использования фильтрата лимоннокислотного производства Спитакского сахарного завода в качестве питательной среды для получения высококачественной дрожжевой биомассы. Отобраны продуктивные штаммы кормовых дрожжей, эффективно усваивающие остаточные сахара фильтрата.

Հաստատվել է, որ Սպիտակի շաքարի գործարանի լիմոնաթթվի արտադրության ֆիլտրատը բարենպաստ սննդամիջավայր է շաքարանկալի բարձրորակ կենսա-գոյական ստանյալ համար: Ընտրվել են կիրառելի շաքարանկերի աչելիսի շտամ-ներ, որոնք մեծ արդյունավետությամբ շտրացնում են ֆիլտրատի շաքարները և կու-տակում բարձր էրազ կենսագանգված:

The possibility of use of filtrate of citric acid production from Spitak sugar factory as a nutritious medium for the production of high qualitative yeast biomass has been established. Productive strains of fodder yeasts, effectively adopting remnant sugars of filtrate, have been selected.

*Дрожжи кормовые—производство лимонной кислоты—протеин—аминокислоты.*

Микробиологическое получение кормовых продуктов с использованием местных ресурсов является важным этапом в современных микробиологических исследованиях [1]. Использование промышленных отходов для получения кормовых дрожжей дает возможность рационально решать проблемы малозатратного производства и охраны окружающей среды. В настоящее время Спитакский сахарный завод выпускает в год свыше тысячи тонн кристаллической лимонной кислоты. Со сточ-

ными водами ежегодно в канализацию сливается 10000 т фильтрата, который образуется после отделения центра кальция и содержит остаточные сахара, органические кислоты, бетанин, биотин, аминокислоты, макро- и микроэлементы. Фильтрат является весьма благоприятной средой для различных микробиологических процессов, в том числе для получения кормовых дрожжей [3].

Целью настоящей работы явилось изыскание продуктивных штаммов кормовых дрожжей, эффективно усваивающих ценные вещества фильтрата и образующих биомассу с производственно ценными показателями.

**Материал и методика.** Исследования проводили с дрожжами родов *Torulopsis*, *Candida*, *Hansenula*, *Saccharomyces* выделенными в лаборатории броидильных микроорганизмов ИММИА (всего 14 культур). Для выращивания дрожжей в качестве питательной среды использовали фильтрат производства лимонной кислоты с внесением азотистых и фосфорных соединений из расчета редуцирующих веществ. Дрожжи выращивали на круговой качалке в колбах объемом 250 мл, содержащих 100 мл фильтрата. Абсолютно сухую биомассу определяли взвешиванием (АСБ/л), редуцирующие вещества (РВ)—методом Хатедария-Ненсена [7], глюкозу—глюкозооксидазным методом [5], общий азот—методом Кьельдаля [7], аминокислоты—хроматографическим методом после кислотного гидролиза биомассы, переваримость белка—по степени его гидролиза пищеварительными ферментами [8].

**Результаты и обсуждение.** Данные о содержании основных компонентов фильтрата производства лимонной кислоты Снитяковского сахарного завода приведены в табл. 1.

Таблица 1. Состав фильтрата производства лимонной кислоты Снитяковского сахарного завода

Компоненты	Содержание, %
Редуцирующие вещества	1.2
Глюкоза	0.6
Общий азот	0.18
Бетанин и пересчете на азот	0.16

Анализ фильтрата установил, что содержание редуцирующих веществ и, в частности, глюкозы в нем достаточно для обеспечения углеродного питания дрожжей. Основная часть общего азота фильтрата представлена в виде бетанина, который дрожжами не усваивается. Учитывая, что фильтрат без дополнительных источников азота и фосфора является неполноценной питательной средой для выращивания дрожжей, мы дополнительно ввели в него легкоусвояемые азотистые и фосфорные соединения в концентрации 1,0%. рН фильтрата был равен 5.3.

Результаты изучения возможности использования редуцирующих веществ фильтрата и накопления биомассы приведены в табл. 2, из данных которой следует, что наиболее продуктивными являются дрожжи родов *Torulopsis*, *Candida*, *Hansenula*, наименее — *Saccharomyces*. Основная часть РВ фильтрата (65—75%) от исходного количества расщепляется дрожжами в течение 30 ч выращивания. При продолжении процесса до 48 ч полного расхода РВ на образование биомассы

Таблица 2. Степень потребления РВ фильтрата и накопления биомассы

Дрожжи розой	Количество штаммов	Использовано РВ от первоначального, %	АСБ, г/л
<i>Torulopsis dothila</i>	3	70-75	8.3-10.8
<i>T. candida</i>	2	60-65	7.0-8.0
<i>T. ernobii</i>	2	70-72	6.5-7.8
<i>T. lamata</i>	1	75	7.6-8.0
<i>T. aeria</i>	1	75	7.5-8.7
<i>Hansenula anomala</i>	2	70	8.5-9.3
<i>Sacch. carlsbergensis</i>	2	70	2.4-3.7
<i>S. florentinus</i>	1	70	3.8-4.2
<i>Candida tropicalis</i>	3	65	5.4-6.0
<i>C. robusta</i>	3	65	4.5-5.3
<i>C. guicherryi</i>	1	65	5.6-6.5

не происходит, при этом содержание протеина снижается. Наиболее продуктивными по выходу биомассы оказались *Torulopsis* sp. 41 и *Hansenula* sp. 21, с которыми и производились дальнейшие наши исследования.

С целью получения более высокого выхода дрожжевой биомассы испытывались в качестве добавки различные минеральные соли, применяемые в производстве дрожжей. При выращивании на фильтрате дрожжи в каких-либо дополнительных ростовых факторах не нуждались. При введении в фильтрат различных композиций солей выход биомассы и содержание протеина в ней увеличивается (табл. 3).

Таблица 3. Выход биомассы и содержание протеина у дрожжей, выращенных на фильтрате

Культуры	АСБ, г/л	"Сырой" протеин, %
<i>Torulopsis</i> sp. 41	17.5	51.6
<i>Hansenula</i> sp. 21	16.4	48.9

Результаты определения состава и количественного содержания аминокислот в сухой биомассе дрожжей, выращенных на фильтрате с минеральными солями (табл. 4), показали, что в ней содержится значительное количество лизина, аргинина, серина, глицина, лейцина и валеяцина, аспарагиновой и глутаминовой кислот. Наличие незаменимых аминокислот свидетельствует о высокой кормовой ценности полученного продукта. Биомасса дрожжей, выращенных на фильтрате аминокислотного производства с некоторыми добавками, является полноценным кормовым продуктом, по содержанию протеина и аминокислот не уступающим другим кормовым продуктам, полученным на основе дрожжей [2, 4, 6, 9].

Важным показателем кормового продукта, наряду с высоким содержанием протеина и аминокислот, является также степень перепариваемости протеина, т. е. гидролизуемость его ферментами желудочно-кишечного тракта (табл. 5).

Приведенные данные свидетельствуют о целесообразности использования фильтрата лимоннокислотного производства Спитакского

Таблица 4. Аминокислотный состав дрожжей, выращенных на фильтрате, % к АСБ

Аминокислоты	<i>Torulopsis sp. 41</i>	<i>Hansenula sp. 21</i>
Лизин	4.4	3.6
Гистидин	2.2	2.5
Аргинин	3.5	3.1
Аспартиновая кислота	6.9	7.2
Серин-глицин	7.5	7.0
Глутаминовая кислота	8.3	9.0
Треонин	2.5	2.9
Аланин	3.3	3.6
Тирозин	2.1	1.9
Метионин	1.9	2.0
Валин	3.3	2.8
Фенилаланин	3.7	4.1
Лейцин-изолейцин	11.2	10.3
Пролин	слезы	слезы

Таблица 5. Степень переваримости протеина дрожжей, выращенных на фильтрате

Показатели, %	<i>Torulopsis sp. 41</i>	<i>Hansenula sp. 21</i>
Протеин до инкубации с пепсином	51.8	43.9
Протеин после инкубации с пепсином	6.9	11.3
Переваримость	86.6	77.3

сахарного завода для получения высококачественного дрожжевого кормового белка.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Африкан Э. Г. Биолог. ж. Армения, 37, 10, 1984.
2. Кисовалов С. А. Биохимия дрожжей. М., 1980.
3. Карклиныш Р. Я., Пробок А. К. Биосинтез органических кислот. Рига, 1972.
4. Каменный В. И. Гидр. и лесохим. промыш., 3, 1983.
5. Клесов А. А., Рабинович М. Л., Сивецкая А. П., Чурилова И. В., Григораш С. Ю. Биоорг. химия, 6, 8, 1980.
6. Стахеев И. В., Латышова С. Г., Вадецкий Б. Ю. Биотехнология, 3, 1985.
7. Филиппович Ю. Б., Егорова Т. А., Седастьянова Г. А. Практикум по общей биохимии. М., 1975.
8. Хотянович А. В., Водяникова Н. А., Кубарева З. И. Прикл. биох. и микробиол., 8, 2, 1972.
9. Spenser I. F., Spencer D. H. Ann. Rev. Microbiol., 37, 1983.

Поступило 15.XII 1987 г.

## ОТВЕТНАЯ РЕАКЦИЯ КОМПОНЕНТОВ ЛЕКТИНА КОРНЕВЫХ ВОЛОСКОВ РАСТЕНИЯ НА ИНФИЦИРОВАНИЕ КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Е. Н. АВБАКУМОВА, С. А. АРТУНЯН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Выявлена специфичность ответной реакции компонентов лектина в оболочке корневых волосков гороха, нута, люцерны и пшеницы на инфицирование клубеньковыми бактериями различной специфичности и их сферопластами.

Բացահայտվել է պյունի սպեցիալությունը — ճարձեթ սպերոպլաստիկները բրնձի-  
հարսի, լիզիակի և ցորենի արմատների ճարձեթի սպեցիալությունը և ու սպե-  
րոպլաստիկները և նրանց սֆերոպլաստիկներով վարակելիս:

The specificity of response reaction of lectine components in the mem-  
brane of root hairs of pea, alfalfa, chick pea, wheat on the infection of  
specific and non-specific strains and spheroplasts of nodule bacteria was  
revealed.

*Клубеньковые бактерии—сферопласты—лектины*

Проникновение клубеньковых бактерий в корень и образование инфекционной нити—строго специфичный процесс. В своей начальной стадии он зависит от взаимодействия лектина корней растения-хозяина с полисахаридами оболочки клубеньковых бактерий. Лектины, которые относятся к классу гликопротеидов, участвуют в «узнавании» специфичных штаммов клубеньковых бактерий и связывании их с корневыми волосками растения-хозяина по типу антиген—антитело [3—6, 9]. В процессе связывания участвуют ионы металлов, которые входят в состав лектина, стабилизируя пространственную структуру белка [3, 7, 8].

Пшеничный лектин не давал преципитации с клубеньковыми бактериями [6], хотя было обнаружено, что корни пшеницы и риса хорошо адсорбируют их [11].

Ранее нами была выявлена специфичность ответной реакции компонентов лектина в оболочке изолированных клеток гороха и люцерны на инфицирование клубеньковыми бактериями [1].

В данной работе представлены результаты изучения ответной реакции оболочки корневых волосков растений-хозяев на инфицирование клубеньковыми бактериями различной специфичности.

*Материал и методика.* Исследования проводили со штаммами клубеньковых бактерий коллекции Института микробиологии АН АрмССР: ИИМИА В-5609 (*R. leguminosarum*), ИИМИА В-5502 (*R. meliloti*) ИИМИА В-6048 (*R. loti*)—из клубеньков нута, ИИМИА В—(*R. sp.*)—из клубеньков эспарцета и 649 (*Bradyrhizobium japonicum*)—коллекции ВНИИСХИ.

В качестве растений-хозяев использовали горох, нут, люцерну и пшеницу. Растения инокулировали клетками и сферопластами клубеньковых бактерий. Сферопласты получали с помощью раствора лизоцима в трис-НСI буфере с pH 8,1, инкубацию проводили при 37° до образования сферопластов с 90—99% чистым их выходом, что контролировалось микроекслерованием.

Растения выращивали в лабораторных условиях на стерильном песке с безазотистой питательной средой Еисена [12].

Пробы корней растений для анализа на компоненты лектина брали через 10, 20 и 30 суток после инокуляции. Компоненты лектина—гликопротеиды, мукопротеиды, полипированные формы кальция, магния, марганца, а из гликозидов гесперидин—определяли с помощью цитохимических методов. Методика цитохимического анализа компонентов лектина описана ранее [1]. Препараты корневых волосков просматривали под световым и поляризационным микроскопом марки NU Zeiss при увеличении 250X.

**Результаты и обсуждение.** Путем сочетания различных окрасок и реакций в оболочке корневых волосков гороха, нута, люцерны и пшеницы были выявлены некоторые компоненты, входящие в состав лектина. По метахроматической окраске метиленовым синим по методу Риттера и Олесона с помощью реакции нингидрин-реактив Шиффа были обнаружены гликопротеиды и мукопротеиды, которые обладали свойством дихроизма в поляризованном свете, что свойственно лектинам [2, 10]. В оболочке волосков выявлены также катионы Ca, Mg, Mn и гликозиды, из которых дифференцирован гесперидин.

Содержание и локализация указанных компонентов в оболочке корневых волосков зависят от вида растений, фазы развития, а также от специфичности штаммов клубеньковых бактерий (табл. 1, 2). Глико- и мукопротеиды обнаружены в оболочке волосков всех изученных растений независимо от штамма, поэтому данные о них в таблицах не приведены.

В контрольных вариантах растений (без заражения) компоненты лектина  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  и гесперидин обнаружены как во внешнем, так и внутреннем слоях оболочки волосков. Заражение растений клубеньковыми бактериями вызывает ответную реакцию корневых волосков.

При инокуляции растений специфичными штаммами гороха—В-5609, нута—В-6048, люцерны—В-5502 указанные компоненты лектина ( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  и гесперидин) обнаруживаются во внешнем слое оболочки корневых волосков. При инокуляции неспецифичными штаммами, например, 649 В. *jarovicensis*, а также В-6048 для гороха и В-5601 для нута и люцерны, во внешнем слое оболочки волосков отсутствует тот или иной компонент, а иногда все. Отсутствующие во внешнем слое компоненты могут быть локализованы во внутренних слоях оболочки.

Заражение растений сферопластами клубеньковых бактерий специфичных и неспецифичных штаммов, т. е. клетками, частично лишенными клеточной оболочки, вызывает такую же ответную реакцию корневых волосков, как заражение специфичными штаммами. В этом случае, очевидно, преодолевается барьер инертности корневых волосков к инфицированию неспецифичными штаммами благодаря отсутствию оболочки у сферопластов.

В более поздние периоды вегетации через 20—30 суток после инокуляции растений не наблюдалось четкой закономерности в распределении компонентов лектина в оболочке корневых волосков и зависимости от специфичности штаммов.

Таблица 1. Влияние клубеньковых бактерий и их сферопластов на локализацию компонентов лектина в оболочке корневых волосков бобовых растений (10 дней после инокуляции)

Штаммы	Компоненты лектина в оболочке корневых волосков					
	горох		нут		люцерна	
	внешний слой	внутренний слой	внешний слой	внутренний слой	внешний слой	внутренний слой
Контроль (без заражения)	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	Mn <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	—	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> гесперидин
B-5609— <i>Rh. leguminosarum</i>	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	—	гесперидин	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	—	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup>
B-5609— сферопласты	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	Mn <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup>
B-6048— <i>Rh. loti</i>	Mn <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	не исследовался	
B-6048— сферопласты	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	—	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	не исследовался	
649— сферопласты	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> гесперидин	—
649— <i>B. japonicum</i>	—	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	—	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	—	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup>
B-5502— <i>Rh. meliloti</i>	—	—	не исследовался		Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> гесперидин	Mg <sup>2+</sup>
B-5502— сферопласты	—	—	не исследовался		Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> гесперидин	Mg <sup>2+</sup>

\* Примечание (—)—отсутствие изученных компонентов. Mn<sup>2+</sup> не был изучен у люцерны

Таблица 2. Локализация компонентов лектина в оболочке корневых волосков пшеницы, инокулированной клубеньковыми бактериями и их сферопластами

Штаммы	Компоненты лектина в оболочке корневых волосков			
	через 10 суток		через 30 суток	
	внешний слой	внутренний слой	внешний слой	внутренний слой
Контроль (без заражения)	—	Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	—	Mn <sup>2+</sup> гесперидин
В-5600— <i>Rh. leguminosarum</i>	—	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup> гесперидин
В-5р08 сферопласты	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> гесперидин
649— <i>B. japonicum</i>	Ca <sup>2+</sup>	гесперидин	Ca <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	гесперидин
649—сферопласты	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> гесперидин
В-5891— <i>Rh. sp.</i>	Mg <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>
В-5891— сферопласты	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>
В-5521— <i>Rh. meliloti</i>	Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>
В-5521 сферопласты	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> гесперидин	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>

В качестве контроля клубеньковыми бактериями инокулировали злаковое растение—пшеницу.

Заражение пшеницы клубеньковыми бактериями различных видов вызвало такую же ответную реакцию корневых волосков, как заражение неспецифичными штаммами бобовых растений. Лишь при инокуляции пшеницы сферопластами клубеньковых бактерий во внешнем слое оболочки корневых волосков были выявлены понижившиеся формы кальция, магния, марганца и гесперидии, как и при специфичном симбиозе клубеньковых бактерий с бобовыми растениями (табл. 2). У пшеницы, как и у бобовых, закономерность распределения в оболочке волосков компонентов лектина при инокуляции сферопластами была отмечена только в начале вегетации.

Таким образом, проведенные исследования выявили ответную реакцию отдельных компонентов лектина в оболочке корневых волосков гороха, нута, люцерны и пшеницы на инфицирование клубеньковыми бактериями различной специфичности и их сферопластами.

При инфицировании бобовых растений специфичными штаммами, а также сферопластами специфичных и неспецифичных штаммов во внешнем слое оболочки корневых волосков обнаружены понижившиеся формы Са, Mg, Mn и гесперидии, входящие в состав лектина.

Можно предположить, что в специфичном симбиозе клубеньковых бактерий с растением-хозяином лектин оболочки корневых волосков выделяется наружу и взаимодействует со специфичными штаммами.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Авакумова Е. Н., Арутюнян С. А. Биол. ж. Армении, 19, 4, 285—289, 1987.
2. Пирс Э. Гистохимия. М., 1962.
3. Якубе Х. Д., Эшкайт Х. Аминокислоты, пептиды, белки. М., 1985.
4. Dazzo F. B., Trachet G. L., Sherwood J. E. Appl. and Environ. Microbiol., 48, 6, 1140—1150, 1981.
5. Halverson L. J., Stracey G. Plant Physiol., 77, 3, 621—627, 1985.
6. Kamberger W. Arch. Mikrobiol., 121, 1, 83—90, 1979.
7. Nowakowa N., Kosciurek J. Biochem. Biophys. Acta, 329, 321—333, 1974.
8. Paulowa M. M., Ticha G., Entlicher J. V., Kostir Y. V., Kosciurek J. Biochim. Biophys. Acta, 252, 388—395, 1971.
9. Robertson J. G., Wells B., Brewin N. Y., White E., Knight C. D., Downie J. A. Cell Sci., 78, 2, 317—331, 1985.
10. Roth J. The Lectins. Jena, 1978.
11. Shtimshick E. Y., Hebert B. R. Biophys. Res. Commun., 84, 3, 735—742, 1978.
12. Vincent J. M. A manual for the practical study of root nodule bacteria, International biological programme, London, Edinburgh, 1970.

Поступило 17 IX 1987 г.

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОГЕМОЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АНАЭРОБНО-АЭРОБНОЙ ИНФЕКЦИИ

Н. А. ТАРВЕРДЯН, С. С. ОГАНЕСЯН, А. В. ЗИЛЬФЯН

Ерванский медицинский институт, ЦНИЛ и кафедра хирургических болезней №1

Показано, что патологический процесс в смешанной анаэробно-аэробной ране сопровождается резким повышением сосудистой проницаемости путем микрогемоциркуляции в этой области.

*Նշվում է որպես, որ ախտահարման ժամանակ արոցելու անաէրոբ-աէրոբ խառը վերելքում ուղեկցվում է տվյալ քրտանի միկրոհեմոցիրկուլյացիայի ուղիների անոթների թափանցելիության կտրուկ բարձրացմամբ:*

Pathological process during the mixed anaerobic-aerobic injury is accompanied by an intensive rise of the vessel penetration of the ways of micro-hemostimulation of the region.

*Анаэробно-аэробная инфекция—микрогемоциркуляторные расстройства—системич.*

В вагивении послеоперационных ран в последние годы ведущая роль отводится некластридиальной анаэробной инфекции. Учитывая особую тяжесть гнойных процессов, протекающих с участием анаэробных микроорганизмов, важную роль микроциркуляторных расстройств в инициальной фазе раневого процесса, а также отсутствие соответствующих литературных данных мы попытались воспроизвести эти осложнения в эксперименте.

**Материал и методика.** Опыты были поставлены на 140 белых беспородных крысах-самцах массой 120—150 г. В рангах животных опытной группы индуцировали воспалительный процесс путем местного введения анаэробных кокков (*Peptostreptococcus* sp.) и кишечной палочки по методике, разработанной нами [4]. Штамм анаэробного кокка был выделен нами из клинического материала, апробирован во ВНИИ антибиотиков и ГИСК им. Л. А. Гараевича и депонирован в качестве музейной культуры *Peptostreptococcus* sp. штамм «НС». Контрольную группу составляли крысы, у которых воспроизводилась модель аэробной гнойной раны. Животных контрольной и опытной групп выводили из эксперимента на 6-, 8-, 12-, 20-, 30-е сутки после инфицирования.

Проницаемость сосудов определяли по выходу частиц коллоидной туши из микроциркуляторного русла в пленчатых препаратах рыхлой соединительной ткани из области раны. Подсчет общего числа меченых тушек микрососудов производили при помощи гистоцистерометрической сетки [1] с учетом четырех степеней проницаемости [2]. Межсосудистые тучные клетки подсчитывали в 10 полях (об. 20, ок. 7). Определение содержания гистамина в тучных клетках (30 клеток на животного) проводили методом с ортофталальным альдегидом производства фирмы «Серва» (ФРГ) из микроскопе «ЛЮММ НЗ» с помощью фотометрической насадки ФМЭЛ-1А. Количество гистамина выражали в условных единицах флуоресценции.

**Результаты и обсуждение.** У животных контрольной группы признаки повышенной проницаемости с большим постоянством наблюдались в относительно ранний период развития патологического процесса в ранах и характеризовались преимущественной локализацией в вену-

ляриом звене микроциркуляторного русла, что и известной степени связано с ее структурными и функциональными особенностями [3, 5, 6].

Таблица 1. Проницаемость микрососудов рыхлой соединительной ткани из области анаэробно-аэробной раны

Сроки наблюдений, дни	Группы	Общее количество меченых микрососудов	Количество микрососудов по степени метки			
			I	II	III	IV
6	Контроль	22,3±1,43	1,83±0,34	2,5±0,43	8±0,73	9,83±0,45
	Опыт	21,8±1,35 ±0,25	2,33±0,51 ±0,81	2,83±0,7 ±0,4	8,5±0,76 ±0,48	8,5±0,76 ±1,48
8	Контроль	18±1,15	3±0,52	3±0,58	6±0,58	6,17±0,48
	Опыт	19,7±2,01 ±0,73	3,67±0,8 ±0,7	3,33±1,34 ±0,24	7±1,09 ±0,81	6,5±0,41 ±0,52
12	Контроль	13,7±2,4	3,33±0,49	2,17±0,48	4,17±0,7	4±0,63
	Опыт	22,6±2,54 ±3,19	1,33±0,36 ±3,28	3,5±0,62 ±1,71	9±0,7 ±0,19	8,83±1,01 ±4,06
20	Контроль	4,17±0,67	2,17±0,40	1,17±0,37	0,67±0,26	—
	Опыт	29,8±1,85 ±12,49	4,67±0,61 ±3,42	5,5±1,12 ±3,67	11,2±1,45 ±7,16	10,8±0,83 ±13
30	Контроль	3,33±0,49	1,53±0,31	0,83±0,07	0,67±0,26	—
	Опыт	19,6±1,01 ±14,7	2,5±0,56 ±1,06	4,33±0,61 ±5,74	6,5±0,91 ±6,14	6,5±0,82 ±7,93

Примечание: во всех группах n=6. Критерий достоверности в опытной группе определяли по отношению к контрольной группе соответствующего срока.

Как видно из табл. 1, в рыхлой соединительной ткани из области раны животных обеих групп на 6—8-е сутки наблюдений обнаруживались сосуды с повышенной проницаемостью для частиц коллоидного угля. На 12-е сутки эксперимента у крыс контрольной группы намечалась тенденция к снижению содержания меченых микрососудов, однако суммарный показатель этих микрососудов с III и IV степенями метки в оба срока был относительно высоким. У животных опытной группы в этот период число сосудов с признаками повышенной проницаемости заметно возрастало, превышая контрольный уровень почти в 2 раза. При этом микрососуды с высокой степенью проницаемости (суммарный показатель III и IV степеней метки) составляли 77% от общего числа меченых сосудов. В относительно поздние сроки (20- и 30-е дни эксперимента) у крыс контрольной группы были обнаружены лишь единичные микрососуды с признаками отложения корнускул туши на их поверхности: очаговое точечное или пятнистое распределение метки. У животных опытной группы на 20-й день эксперимента, в период, когда гнойный воспалительный процесс принимал подострое течение и характеризовался тяжелыми деструктивными изменениями в глубоких слоях раны, имели место наиболее выраженные нарушения проницаемости микрососудов, наблюдавшиеся в равной степени во всех составных компонентах системы микроциркуляции (табл. 1). Относительно высокие показатели отмечались и на 30-е сутки наблюдений.

Таким образом, патологический процесс в ране, вызванный смешанной анаэробно-аэробной микрофлорой, сопровождается резким повыше-

нием сосудистой проницаемости в системе микрогемодикуляции в этой области.

Для выявления возможных механизмов индукции микроциркуляторных расстройств в условиях экспериментально индуцированной анаэробно-аэробной инфекции нами было проведено исследование функционального состояния тучных клеток.

В последнее время тучные клетки рассматриваются в качестве ведущего экстравазкулярного фактора регуляции терминального кровотока на его разрешающем уровне — в микроциркуляторном русле [5, 6]. В этих клетках синтезируются, аккумулируются и секретируются биологически активные вещества самого разнонаправленного спектра действия и, в частности, выраженного вазоактивного [5, 7, 8]. Известно также, что гистамин лейкоцитов играет важную роль в инициации экссудативного компонента воспалительной реакции в ране, так называемого травматического отека. Исходя из этого, мы провели специальные (морфометрические и флюорометрические) исследования, позволяющие оценить функциональное состояние лейкоцитов рыхлой соединительной ткани из области раны: степень дегрануляции тучных клеток и содержание в них гистамина. Показатели дегрануляции тучных клеток приведены в табл. 2, из данных которой видно, что на всем про-

Таблица 2. Функциональное состояние тучных клеток из области анаэробно-аэробной раны

Сроки, дни	Группы	Общее содержание	Степень дегрануляции			Гистамин в УЕФ
			I	II	III	
6	Контроль	27.2±1.40	9.5±0.85	10.8±3.40	6.93±0.65	15.4±0.5
	Опыт	26.2±2.10 t 0.39	10.2±0.75 t 0.62	9.33±1.05 t 0.84	6.67±1.63 t 0.09	15.6±0.62 t 0.25
8	Контроль	34.2±1.80	13.3±1.11	11.8±0.87	9±1.15	10.2±0.64
	Опыт	32.2±2.21 t 0.7	12.8±1.58 t 0.26	11.8±0.91 t 0	9.17±1.01 t 0.1	10.1±0.87 t 0.09
12	Контроль	29.5±1.43	14.9±0.71	9±0.73	5.67±0.56	17.2±0.46
	Опыт	36.8±1.26 t 3.9	5.83±0.79 t 7.67	12.5±1.65 t 1.94	16.8±0.79 t 11.59	9.2±0.68 t 9.76
20	Контроль	33±1.73	21±1.95	8.17±1.14	4±0.58	18.4±0.79
	Опыт	31±2.16 t 0.72	10.3±1.38 t 4.48	11.3±1.39 t 1.74	11±1.06 t 5.79	6.03±0.5 t 13.3
30	Контроль	31.8±2.01	22.2±1.79	6.5±0.78	3.33±0.71	19.8±0.83
	Опыт	34.2±2.53 t 0.74	13.3±1.54 t 3.8	10.7±1.52 t 2.47	6.33±0.80 t 2.80	8.6±0.72 t 10.2

Примечание. во всех группах n=6. Критерии достоверности в опытной группе определяли по отношению к контрольной группе соответствующего срока.

тяжении эксперимента общее содержание их в ранах животных опытной и контрольной групп было приблизительно одинаковым. При морфометрическом анализе функционального состояния тучных клеток было установлено, что на относительно ранних этапах развития патологического процесса в ране крыс обеих групп возникали односторонние сдвиги, которые характеризовались увеличением содержания де-

гранулированных форм лейкоцитов. Аналогичные по своей направленности сдвиги были выявлены при проведении количественных флюоресцентно-микроскопических исследований на предмет определения в лейкоцитах гистамина. Так, дегрануляция тучных клеток сопровождалась значительным выбросом в перикапиллярное пространство гистамина, который в виде мелких гранул выявлялся в непосредственной близости от капилляров, артериол, венул. Благодаря усиленному поступлению гистамина из лейкоцитов в ткани в последних его содержание заметно снижалось (табл. 2). У крыс контрольной группы на 12-е сутки эксперимента, когда в ране доминировали репаративно-пролиферативные процессы, число дегранулированных форм лейкоцитов по сравнению с предыдущим сроком заметно снижалось. У животных опытной группы в этот период, когда гнойно-воспалительный процесс принимал хроническое течение и распространялся в глубокие слои раны, преобладали дегранулированные формы лейкоцитов, содержание которых в 3 раза превышало контрольный уровень.

Следует отметить, что у животных контрольной группы в эти сроки наблюдений четко прослеживалась тенденция к нормализации изучаемых показателей, характеризующих функциональное состояние тучных клеток. Так, на 12-е и 20-е сутки эксперимента в рыхлой соединительной ткани, где протекали выраженные пролиферативные процессы, в основном преобладали недегранулированные тучные клетки с относительно высоким содержанием гистамина. В более поздний период наблюдений (30-е сутки) показатели дегрануляции лейкоцитов и содержания в них гистамина практически не отличались от соответствующих показателей в рыхлой соединительной ткани интактных животных ( $19,8 \pm 0,8$  против  $20,1 \pm 0,9$  в контроле). У животных опытной группы в указанные периоды наблюдалась диаметрально противоположная картина. В рыхлой соединительной ткани из области раны обнаруживались преимущественно дегранулированные тучные клетки с низким содержанием в них гистамина. Так, на 20-й день наблюдений число дегранулированных тучных клеток составляло 35% от их общего содержания и почти в 3 раза превышало контрольный уровень. Относительно высокие показатели дегрануляции отмечались и на 30-е сутки эксперимента. При этом содержание гистамина по сравнению с контрольным уровнем снижалось в 2,3 раза.

Таким образом, в отличие от обычной (аэробной) инфекции воспалительный процесс в экспериментально индуцированной смешанной анаэробно-аэробной инфекции характеризуется тем, что показатели функционального состояния тучных клеток не имеют тенденции к восстановлению. Как в опытной, так и контрольной группах выявлена обратная корреляционная зависимость между степенью проницаемости микрососудов и функциональным состоянием лейкоцитов. Резюмируя вышесказанное, можно констатировать, что включение антигистаминных препаратов в комплексную терапию неклостридиальных анаэробных инфекций является условием обязательным и патогенетически обоснованным.

1. Астандилов Г. Г. В кн.: Морфометрия в патологии 248, М., 1973.
2. Горизонтова М. Н., Алексеев О. В., Чернух А. М. Бюлл. exper. биол., 79, 3, 23—24, 1975.
3. Курильников В. В., Караганов Я. Л., Козлов В. И. В кн.: Микроциркуляторное русло, 216, М., 1975.
4. Оганесян С. С., Тарвердян Н. А., Зильфляч А. В. Авт. свидет., № 1347089, от 22 июня, 1987 г.
5. Чернух А. М., Александров Н. П., Алексеев О. В. В кн.: Микроциркуляция, 455, М., 1975.
6. Шахламов В. А. В кн.: Капилляры, 200, М., 1971.
7. Moran N., Unruh B., Westerholm A. Acta Physiol. Scand., 72, 26, 1962.
8. Selye H. The mast cells, Washington, 1965.

Поступило 8.X 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41 № 2, 1988

УДК 615.32.612.017.1

## ВЛИЯНИЕ ГЛИКОЗИДОВ КУКУРБИТАЦИНОВ БРИОНИИ НА ИММУНОРЕАКТИВНОСТЬ ЖИВОТНЫХ

К. А. КАЗАРЯН, М. В. ТАТЬЯН, Н. Г. АКОпян, А. Г. ПАНОСЯН,  
М. И. НИКИЩЕНКО, Ю. Т. АЛЕКСАНИАН

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван  
Институт тонкой органической химии им. А. Л. Миджояна, АН АрмССР, Ереван

Изучено действие экстракта корней брионии, моно- и дигликозидов дигидрокукурбитацина D (КД) и их смеси на гуморальный и клеточный иммунитет.

Показано, что все эти вещества (за исключением моногликозида КД) в определенных условиях стимулируют первичный иммунный ответ и иммунологическую память. Однако смесь гликозидов КД в дозе, вызывающей стимуляцию гуморального иммунитета, не влияет на кожную реакцию гиперчувствительности замедленного типа.

Նստումնասիրված է բրիոնիայի արմատների էքստրակտի, դիհիդրոկուրբիտացինի մոնո- (ԿԴ) և դիգլիկոզիդների ազդեցությունը հումորալ և բջջային իմունիտետի վրա: Ցույց է տրված, որ բոլոր վերոհիշյալ նյութերը (բացառությամբ մոնոգլիկոզիդ ԿԴ-ի) արգրակի պայմաններում խթանում են առաջնային իմուն պատասխանը և իմունոլոգիական հիշողությունը:

Սակայն ԿԴ դիգլիկոզիդների խառնուրդը այն դոզայով, որով խթանում է առաջնային իմուն պատասխանը, չի ազդում դանդաղեցված տիպի գերզգայնության մաշկային առաջնային վրա:

The influence of roots extract of bryony, mono- and di-glycosides of dihydrocucurbitacin D (KD) and their mixture on the humoral and cellular immunity has been studied. All substances tested (with the exception of monoglycoside KD) stimulate the initial immune response and immunological memory under definite conditions. But the mixture of KD glycosides in the dose, causing stimulation of humoral immunity, does not influence on the skin reaction hypersensitivity of delayed type.

Основными компонентами экстракта корней брioniи (*Bronia alba*), широко используемого в народной медицине для лечения различных заболеваний, являются тетрациклические тритерпены-кукурбитацины. Кукурбитацины проявляют многостороннюю биологическую активность—высокую цитотоксичность в культуре опухолевых клеток линий KB и Hela [3, 4, 6], противоопухолевое [3, 4], тонизирующее действие [1], повышают проницаемость капилляров, понижают давление [2] и т. д.

В настоящей работе представлены результаты изучения действия экстракта корней брioniи, моно- и дигликозидов дигидрокукурбитацина Д (КД) и их смеси (1:1) на гуморальный (первичный иммунный ответ, иммуннологическая память) и клеточный (ГЗТ) иммунитет.

**Материал и методика.** В опытах были использованы беспородные мыши и мыши линии СВА массой 18—20 г, полученные из питомника лабораторных животных АМН СССР «Столбовая».

При исследовании первичного иммунного ответа мышам иммунизировали внутривенно эритроцитами барана (ЭБ) в дозе  $5 \times 10^8$ . Для изучения вторичного иммунного ответа иммунизацию проводили двукратно в дозе  $1 \times 10^8$  ЭБ с интервалом в одну неделю между введениями антигена. Иммунореактивность животных оценивали по числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке на четвертые сутки после повторной инъекции методом локального гемолиза в теле [7].

Для изучения реакции ГЗТ животных сенсибилизировали внутривенным введением  $10^7$  ЭБ [5]. На четвертые сутки после сенсибилизующей инъекции для учета реакции внутривенно в подушечку задней лапы вводили  $1 \times 10^8$  ЭБ в 40 мкл физиологического раствора. Интенсивность реакции определяли через 24 часа. Для этого микрометрическим микрометром МЕ-0,25 измеряли толщину подушечек обеих лап. Разница в толщине свидетельствовала о наличии отека и степени сенсибилизации.

Экстракт корней брioniи и смесь гликозидов КД вводили мышам интрабрюшинно в дозе 400 мг/кг, а моно- и дигликозиды КД—в дозе 0,01 мг в разные сроки до и после введения тест-дозы антигена. Смесь гликозидов была введена также четырехкратно (за три, два, один до введения антигена и в день введения) и дозах 0,1 и 1 мг/кг в однократно (в день введения антигена) и дозах 10, 50, 100 мг/кг.

**Результаты и обсуждение.** Результаты, приведенные на рис. 1, показывают, что экстракт корней брioniи и смесь гликозидов КД в дозе

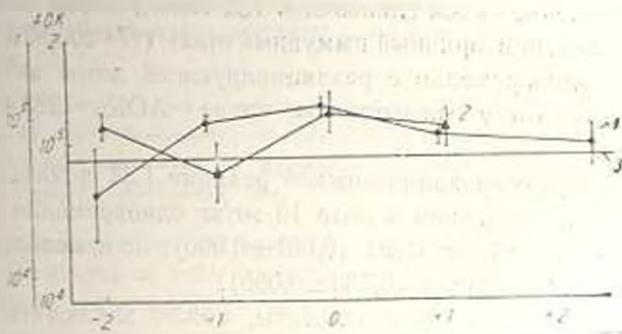


Рис. 1. Влияние экстракта корней брioniи (1) и смеси гликозидов КД (2) на первичный иммунный ответ. 3—контроль. По оси абсцисс—день введения вещества по отношению к дню иммунизации (0 день); по оси ординат—число АОК в селезенке.

400 мг/кг при введении их одновременно с тест-инъекцией антигена двукратно стимулируют первичный иммунный ответ. На рис. 2 приведены данные о влиянии на первичный ответ смеси гликозидов КД, введенной в день иммунизации в разных дозах и сочетаниях. По всем исследованным схемам смесь гликозидов КД вызывала повышение числа АОК по сравнению с контролем. Наибольший стимулирующий эффект наблюдался при введении смеси гликозидов в дозе 10 мг/кг (в 3,8 раза). Изучение действия моно- и дигликозида КД на первичный иммунный ответ (рис. 3) выявило стимулирующее действие дигликозида КД на иммунный ответ при введении его одновременно с антигеном. Число АОК под действием моногликозида КД не подвергалось какому-либо достоверному изменению.

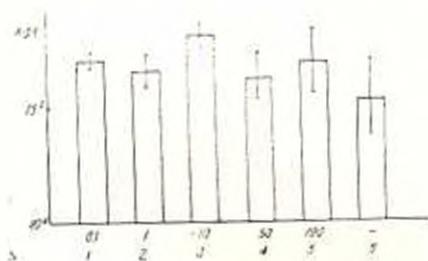


Рис. 2.

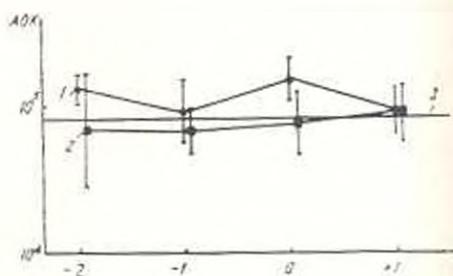


Рис. 3.

Рис. 2. Влияние разных доз смеси гликозидов КД на первичный иммунный ответ. По оси абсцисс—доза смеси гликозидов КД в мг/кг (1, 2—четыре-кратное введение; 3, 4, 5—однократное введение; 6—контроль); по оси ординат—число АОК в селезенке.

Рис. 3. Влияние дигликозида (1) и моногликозида (2) КД на первичный иммунный ответ. 3—контроль. По оси абсцисс—день введения вещества по отношению к дню иммунизации (0 день); по оси ординат—число АОК в селезенке.

Результаты изучения действия смеси гликозидов КД в дозе 10 мг/кг на формирование и реализацию иммунологической памяти показали, что при введении мышам смеси гликозидов КД вместе с сенсibiliзирующей инъекцией эритроцитов число АОК после ревакцинации (65 770/45 810—94 410) остается на уровне контроля (98 860/58 080—163 300). Введение смеси гликозидов КД между двумя инъекциями антигена стимулирует вторичный иммунный ответ (174 200/82 410—368 100). Введение ее одновременно с ревакцинирующей дозой антигена приводит к значительному повышению числа АОК (288 400/231 200—359 700).

Данные о формировании кожной реакции ГЗТ показали, что смесь гликозидов КД, введенная в дозе 10 мг/кг одновременно с сенсibiliзирующей инъекцией антигена ( $0,621 \pm 0,090$ ), не изменяет контрольного уровня сенсibilизации ( $0,560 \pm 0,065$ ).

Суммируя полученные результаты, можно заключить, что все названные вещества (за исключением моногликозида КД) в определенной дозе стимулируют антителообразование. Одним из важных факторов, определяющих эффективность их действия, является временное

отношение между иммунизацией и введением вещества. Стимулирующий эффект экстракта корней брассики, дигликозида КД и смеси гликозидов на первичный иммунный ответ наблюдался при введении их одновременно с антигеном. Можно предположить, что объектом стимулирующего действия этих веществ являются иммунокомпетентные зрелые лимфоциты. Стимулирующее действие смеси гликозидов КД на вторичный иммунный ответ, проявляющееся при введении ее с ревакцинирующей инъекцией антигена, свидетельствует о том, что смесь гликозидов КД действует на сформировавшиеся клетки памяти. Смесь гликозидов КД в дозе, вызывающей стимуляцию первичного иммунного ответа и иммунологической памяти, не оказывает действия на кожную реакцию ГЗГ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Пашинян С. А., Паносян А. Г., Гаспарян Г. В., Джозацпакян Н. Г., Никищенко М. Н., Аветисян Г. М., Мнацаканян В. А. В кн.: Новые данные об адеутерококке и других адаптогенах. 149. Владивосток, 1981.
2. Ebery H., Schatzberg —Porath G., Gutter S. Arch. Int. Pharmacodyn., 80, 315, 1963.
3. Kopora J., Matuszkiewicz A., Hrabowaka, Onosako K. Arzneim.-Forsch. (Drug Res.), 24, 1741, 1974.
4. Kupchan S. H., Sigel C. W., Guttman L. J., Restivo R. J., Bryan R. F. J. Am. Chem. Soc., 94, 1353, 1972.
5. Lagrange P. H., Mackaness G. B. J. Exp. Med., 114, 82—96, 1971.
6. Tessier A. M., Paris R. R. Toxicol. Eur. Res., 1, 329, 1987.
7. Yerns N. K., Nordin A. A. Science, 140, 107, 1963.

Поступило 10.VII 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 2, 1988

УДК 616.097:612.017—11/12

### МАКРОФАГИ ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКИ В УСЛОВИЯХ АНТИГЕННОЙ СТИМУЛЯЦИИ

А. В. АЗНАУРЯН, М. З. БАХШИНЯН, Э. С. АКОНДЖАНИЯН, П. А. АРТЕМИАН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра гистологии

В макрофагах печени и селезенки в условиях антигенной стимуляции выявлены признаки высокой функциональной активности, о чем свидетельствуют обнаруженные контакты с окружающими клеточными элементами.

Դարդի և փայծաղի մակրոֆագ շեփվելը որակերգի իրան պատասխանող հարկաբերի և բարձր ֆունկցիոնալ ակտիվության նշաններ անտիգենային խթանման պայմաններում, որի մասին ևս վկայում հարկաբերի մեջ կոնտակտները շրջապատող բջջային էլեմենտների նկատմամբ:

In macrophages of liver and spleen the traits of high functional activity have been discovered under conditions of antigen stimulation which is indicated by contacts with surrounding cell elements.

Макрофаги—кислая фосфатаза—лифоциты—возбудители.

Вопросы, связанные с гетерогенностью клеток системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ), по сегодняшней день изучены недостаточно.

Не отрицая точки зрения отдельных авторов о стадийности дифференцировки макрофагов как одной из причин их гетерогенности, мы склонны рассматривать в качестве основной ее причины органоспецифические особенности этой многочисленной клеточной популяции.

Исследование этого вопроса в условиях антигенной стимуляции нам представляется особенно важным в плане выявления тех морфофункциональных особенностей макрофагов различной тканевой локализации, которые не проявляются в норме.

В настоящей работе представлены результаты изучения морфофункциональных признаков наиболее активных представителей СМФ в условиях антигенной стимуляции—макрофагов печени и селезенки—на предмет определения закономерности между изменением фагоцитарной активности макрофагов и содержанием в них маркерного фермента лизосом—кислой фосфатазы и выявления контактов активированных макрофагов с окружающими тканевыми элементами.

*Материал и методика.* Для эксперимента были использованы беспородные белые крысы (27) и мыши (17) обоего пола, которых иммунизировали внутривенным введением 0,5 мл 6%-ной (мышам) и 8%-ной (крысам) взвеси эритроцитов барана. Крысы забивали на 2-, 4-, 7-, 14-й дни, мыши на 5–6, 9-й дни опыта. За два часа до забоя для маркировки макрофагов интравенно вводили 50%-ный раствор коллоидного угля: мышам—по 0,3–0,5, крысам—3–5 мл. В срезах печени и селезенки от каждого животного определяли фагоцитарную активность макрофагов по двум параметрам—фагоцитарному показателю и среднему количеству макрофагов со сверхинтенсивным фагоцитозом. Для определения фагоцитарного показателя в каждой из 100 клеток в препаратах от каждого животного числили количество гранул угля, затем выводили средние данные. Для определения второго показателя учитывали для каждого животного среднее число макрофагов, в которых не удавалось сосчитать гранулы поглощенного угля из-за их многочисленности.

Содержание кислой фосфатазы (КФ) определяли на свежемороженых криостатных срезах методом азасочетаний с последующим количественным анализом на фотометре. Все морфометрические данные обрабатывали методом вариационной статистики по Стьюденту.

Для электронной микроскопии кусочки указанных органов не толще 1 мк фиксировали в 2%-ном растворе глутаральдегида на какодильном буфере, дегидратацию проводили в ацетонах возрастающей концентрации. В процессе обезживания материал контрастировали 0,5%-ным раствором уранила ацетата в 70%-ном ацетоне. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе JEM-100 в при ускоряющем напряжении 80 кВ.

*Результаты и обсуждение.* Выявлена высокая фагоцитарная активность макрофагов печени в течение всего периода эксперимента. В типичных наблюдениях содержание макрофагов со сверхинтенсивной фагоцитарной функцией превосходит контрольные показатели в 2–3 раза. Между фагоцитарной активностью и содержанием фермента в макрофагах печени и селезенки прямой корреляции мы не заметили. Так, на 7-й день опыта при максимальной активации фагоцитоза наблюдалось сравнительное снижение содержания кислой фосфатазы. Возможно, это обусловлено тем, что при значительном возрастании фагоцитарной функции клетки расходуется большое количество фермента, превышающее ее синтетические возможности. Затем по мере снижения фагоцитарной активности и соответственно уменьшения расхода фермента содержание последнего в клетке постепенно возрастает (табл.).

Морфофункциональная характеристика макрофагов печени и селезенки в условиях антигенной стимуляции (беспородные белые крысы и мыши)

Сроки	Количество животных	Селезенка			Печень			
		Фагоцитарная активность		КФМ $\pm$ м	Фагоцитарная активность		КФМ $\pm$ м	
		Ф показатель	среднее число макрофагов со сверхинтенсивным фагоцитозом		Ф показатель	среднее число макрофагов со сверхинтенсивным фагоцитозом		
Крысы	Контроль	5	7.8 $\pm$ 0.17	4.39% (4.6 $\pm$ 0.88)	166.08 $\pm$ 4.77	7.13 $\pm$ 0.27	4.03% (4.2 $\pm$ 1.84)	158.9 $\pm$ 10.51
	2-4-й дни	10	7.73 $\pm$ 0.12 P > 0.1	7.4% (8 $\pm$ 1.47)	292.78 $\pm$ 6.82	10.28 $\pm$ 0.13 P < 0.001	10.11% (11.25 $\pm$ 1.32) P < 0.001	283.78 $\pm$ 10.3 P < 0.001
	7-й день	7	9.87 $\pm$ 0.91 P < 0.001	12.85% (14.75 $\pm$ 1.07) P < 0.001	220.27 $\pm$ 6.16 P < 0.001	11.93 $\pm$ 0.2 P < 0.001	13.97% (16.25 $\pm$ 1.1) P < 0.001	196.46 $\pm$ 4.83 P < 0.001
	14-й день	5	8.04 $\pm$ 0.17 P > 0.1	6.24% (6.66 $\pm$ 0.33) P < 0.001	343.43 $\pm$ 13.86 P < 0.001	8.33 $\pm$ 0.065 P < 0.001	3.6% (3.75 $\pm$ 0.48) P < 0.1	312.4 $\pm$ 12.2 P < 0.001
Мыши	Контроль	4	10.22 $\pm$ 0.13	2.67% (2.75 $\pm$ 0.83)		13.05 $\pm$ 0.22	11.5% (13 $\pm$ 1.22)	
	5-6-й день	6	11.012 $\pm$ 0.6 P < 0.1	9.5% (10.5 $\pm$ 1.26) P < 0.001		16.095 $\pm$ 0.25 P < 0.001	22.8% (29.5 $\pm$ 3.18) P < 0.001	
	9-й день	7	11 $\pm$ 0.3 P < 0.001	9.5% (10.5 $\pm$ 0.76) P < 0.001		15.21 $\pm$ 0.53 P < 0.001	26% (35 $\pm$ 1.87) P < 0.001	

Электронномикроскопические наблюдения, наряду с возросшим содержанием лизосом, среди которых преобладали вторичные, в цитоплазме клетки выявляли многочисленные вакуоли, что свидетельствует об активации в ней метаболических процессов. Кроме того, мы наблюдали тесные контакты макрофагов с гепатоцитами, иногда с лимфоидными клетками и очень часто с лаброцитами или их гранулами.

Полученные данные свидетельствуют о широком спектре функциональных признаков макрофагов. Участвуя вместе с гепатоцитами в выполнении основных функций печени, о чем свидетельствуют их постоянные тесные контакты, наблюдаемые и в норме, макрофаги печени, активируясь, вступают и в тесные контакты и с другими клетками. В литературе имеются сообщения о контактах макрофагов с тучными клетками [1], однако окончательного объяснения этому цитотопографическому признаку нет. Учитывая, что печень является органом, синтезирующим гепарин, и что макрофаги обладают способностью фагоцитировать их гранулы, можно предположить, что вместе с гепатоцитами и лаброцитами они образуют единую систему, регулирующую гепариновый обмен.

Макрофаги селезенки также характеризуются высокой активностью (табл.). С первых дней опыта (2—4-й дни) и особенно к 7-му дню наблюдается сильная активация их основных морфологических признаков: на поверхности клетки появляются в большом количестве широкие клапанообразные издутья, гребневидные выросты, выемки. В цитоплазме наблюдается значительно возросшее число лизосом различных размеров с преобладанием вторичных.

Фагоцитарная активность макрофагов селезенки резко возрастает с первых дней опыта, достигает максимума на 7-й день, что коррелирует с морфологической активацией клетки.

Электронномикроскопически нами обнаружены очень часто встречающиеся тесные контакты макрофагов с лимфоидными клетками, а также с эозинофилами. Участие последних в иммунных реакциях до настоящего времени не выяснено окончательно, хотя и отмечается наличие у них фагоцитарной функции [4], способности фагоцитировать комплексы антиген—антитело [2], а также регулировать процессы пролиферации лимфоцитов [3]. Эти особенности эозинофилов, возможно, и объясняют в некоторой степени их тесные контакты с макрофагами-клетками, фагоцитирующими и перерабатывающими антиген и регулируемыми, вероятно, совместно с эозинофилами процессы пролиферации и дифференцировки лимфоидных клеток, тем более, что мы часто наблюдали контакты трех отмеченных клеточных типов. Выраженность этого явления в селезенке объясняется тем, что именно в лимфоидном органе создаются наиболее благоприятные условия для проявления указанных клеточных взаимодействий.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о многогранных функциональных возможностях макрофагов, выявляемых в условиях целого организма и не ограничивающихся только фагоцитозом. Являясь наиболее активной клеточной популяцией, макрофаги печени

и селезенки достигают в условиях антигенной стимуляции максимальной активности всех своих основных морфофункциональных признаков, проявляющихся также в контактах с окружающими клеточными элементами.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградов В. В., Воробьева Н. Ф. Тучные клетки. М., 1973.
2. Хэм А., Кормак Д. Гистология, 2, 88—97, 1983.
3. Romesch K., Pincus S. H., Rockin R. E. Cell. Immunol., 92, 2, 366—375, 1985.
4. Scata G., Oppenheim I. Immunobiology 163, 2—1, 125, 1982

Поступило 10.III 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 2, 1988

УДК 576.321.24

### НАЧАЛЬНАЯ ПЛОТНОСТЬ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ КАК ФАКТОР, КОНТРОЛИРУЮЩИЙ ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК

Г. Г. ГАСПАРЯН, Р. М. ГРИГОРЯН

Институт зоологии АН АрмССР, Ереван

Показано, что исходное число клеток в культурах является одним из факторов, определяющих течение процесса ее перехода в стационарную фазу роста. Полученные результаты не согласуются с общепринятой концепцией «зависимого от плотности подавления пролиферации клеток».

Վայց է արվել, որ մշակութայնում բջիջների էրկենության իրի հանդիսացել է աճման ստացրեանը փոքր անցման պրոցեսի տևողությունը որոշող գործոններից մեկը: Ստացված արդյունքները չեն համապատասխանում ընդունված կոնցեպցիային, որի համաձայն բջիջների պրոլիֆերացիայի ճնշումը կախված է նրանց խտությունից:

The initial cell number is one of the factors controlling the process of the transition of cultures into the stationary phase of growth. The results do not agree with the conventional conception of "density dependent inhibition of cell proliferation".

*Клеточная культура—плотность—пролиферация.*

Общепринятая концепция «зависимого от плотности подавления пролиферации клеток» [10] прямо связывает падение скорости размножения клеток в процессе роста монослойной культуры и переход ее в стационарную фазу с нарастанием числа клеток. В рамках этой теории предполагается существование критического порога плотности клеточного слоя, так называемой плотности насыщения, по достижении которой в культуре прекращается накопление клеток и падает до минимальных значений скорость их размножения [11]. Сейчас этот термин употребляют скорее как рабочий и методический, чем в первоначальном концептуальном смысле, хотя бы потому, что плотность насыщения—величина переменная и зависит от происхождения клеток, применяемого субстрата, содержания сыворотки или факторов роста в среде и других условий. Имеются свидетельства недостаточной корректности приведенной дифференции термина. Так, неясны временная последователь-

ность событий, ведущих к стабилизации клеточных популяций, равно как их причинно-следственная связь; описаны процессы иные, чем клеточная пролиферация и ее блокирование, также участвующие в установлении плотности насыщения культуры. В целом рост культуры до плотности насыщения представляется ныне процессом более сложным, чем постулировалось в рассматриваемой концепции.

В настоящей работе проанализирована кинетика роста культур клеток куриного эмбриона, различающихся между собой по начальной концентрации клеток, с целью определить характер связи между темпом пролиферации клеток и изменениями плотности клеточной популяции.

**Материал и методика.** Первичную культуру клеток 10-дневного куриного эмбриона содержали в среде ВМЕ с гентамином (Sigma), 10% сыворотки крупного рогатого скота и антибиотиками. Через 3 сут после посева культуру трипсинизировали и пересеивали в среде того же состава в ленинградские флаконы с кусочками порового стекла на дне. Для посева использовали различные концентрации клеток, от  $1,0 \times 10^6$  до  $0,12 \times 10^6$  на флакон. Клетки метили  $^3\text{H}$ -тимидином каждые сутки на всем протяжении опыта (до 6 сут,  $0,1$  мКи/мл) либо каждые 4 ч в течение 2—3 суток роста культуры ( $1,0$  мКи/мл). Готовили радиоавтографические препараты (по 4—5 на срок), которые окрашивали красителем Гимза, определяли индекс меченых клеток (из 1000 клеток) и плотность клеточного слоя по числу клеток в поле зрения микроскопа (среднее из 50 полей на срок, площадь поля зрения  $0,015$  мм<sup>2</sup>).

**Результаты и обсуждение.** Число клеток, синтезирующих ДНК, велико в 1—2 сутки культуры во всех вариантах опыта (рис. 1) независимо от величины инокулы и плотности клеточного слоя в первые сутки (рис. 2). Аналогичное наблюдение было сделано в работе [9]. В ней автор рассматривал активное размножение клеток  $S_6$  глиомы крысы, происходящее в ранние сроки культивирования клеток независимо от их посевной плотности, как осуществление значительной программы клеточного размножения, не чувствительной к действию регуляторных механизмов. Не входя в обсуждение этой гипотезы, скажем, что в нашем случае активацию синтеза ДНК в пересеянных клетках можно объяснить стимулирующим действием трипсина [4, 8]. В дальнейшем происходит многократно описанное близкое к монотонному падение индекса меченых клеток, особенно выраженное в культуре с наибольшей необходимой плотностью (рис. 1 и 3). Спустя 6 сут после посева снижение числа синтезирующих ДНК клеток до уровня, характерного для стационарной культуры, обнаруживается только в культуре с максимальной плотностью посева, тогда как в остальных случаях пролиферативная активность клеток все еще довольно высока.

В культурах с разной начальной плотностью возрастание числа клеток происходит по-разному. При максимальной величине инокулы (рис. 2 А) плотность клеточного слоя сохраняется постоянной с 1 по 4 сут и увеличивается только на 6 сут примерно на 50%. В вариантах с промежуточными концентрациями посеянных клеток (рис. 2 Б и В) их число возрастает к 4 сут (соответственно на 50 и 100%) и более не увеличивается. При редком посеве (рис. 2 Г) не происходит прироста плотности клеточного слоя, что согласуется с литературными след-

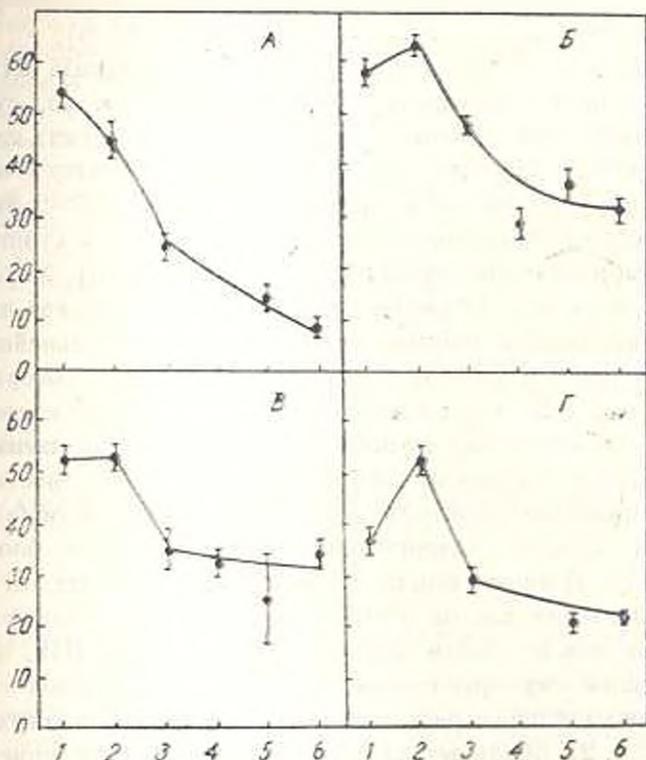


Рис. 1. Динамика числа клеток, снижающих ДНК, в процессе роста культур, посеянных с различной плотностью (А— $1,0 \times 10^6$ ; Б— $0,5 \times 10^6$ ; В— $0,25 \times 10^6$  и Г— $0,12 \times 10^6$  клеток на флакон). По оси абсцисс—время после посева клеток, сут; по оси ординат—индекс меченых клеток в условиях 1-суточной инкубации клеток с  $^3\text{H}$ -тимидином, %.

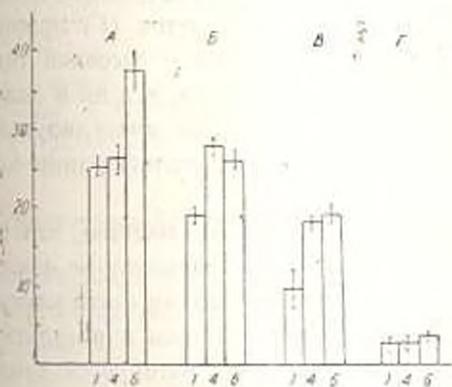


Рис. 2.

Изменяя плотности клеточного слоя в процессе роста культур, посеянных с различной плотностью (обозначения вариантов опыта те же, что на рис. 1). По оси абсцисс—время после посева клеток, сут; по оси ординат—число клеток в поле зрения микроскопа.

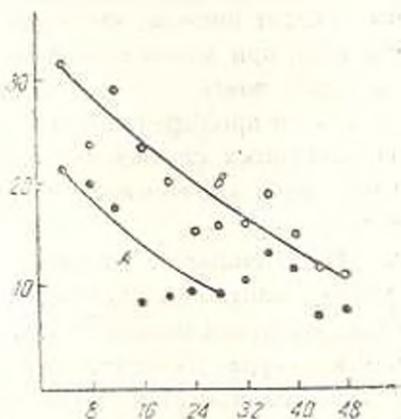


Рис. 3.

Снижение пролиферативной активности клеток в процессе роста культур на 2—3 сут после посева с различной плотностью (обозначения вариантов опыта те же, что на рис. 1). По оси абсцисс—время роста культуры начиная со вторых сут, ч; по оси ординат—индекс меченых клеток после 4-часовой инкубации клеток с  $^3\text{H}$ -тимидином, %.

ниями о неспособности диплоидных клеток расти в сильно разреженной культуре в обычных условиях культивирования [3, 6].

Если бы все клетки, вступившие в период синтеза ДНК за время опыта, разделились и сохранились в клеточном слое, то, судя по числу клеток, включивших меченый предшественник, плотность слоя возросла бы многократно. На самом деле этого не происходит, и число клеток, как было сказано, увеличивается не более чем в 1,5—2 раза. Аналогичное явление наблюдали ранее в культурах клеток куриного эмбриона [7] и эмбриональных фибробластов человека [5]. Указанное несоответствие, возможно, объясняется тем, что значительная часть клеток, в которых произошла инициация синтеза ДНК, в дальнейшем отторгается от субстрата и погибает. В пользу сказанного говорят результаты работ [1, 2, 12], в которых показана роль гибели клеток в регуляции плотности клеточных культур. В работах [1, 2], выполненных на культуре клеток куриного эмбриона, было в частности обнаружено, что разрежение культуры происходит главным образом за счет элиминации клеток, завершивших синтез ДНК и блокированных в периоде  $G_2$ . В нашем опыте, по-видимому, протекает тот же процесс селективной гибели клеток в  $G_2$ -периоде, на что косвенно указывает расхождение между числом клеток, синтезирующих ДНК, и значительно уступающим ему прибавлением общего числа клеток в культуре.

При сопоставлении результатов, полученных в разных вариантах опыта (рис. 1, 2), обращает на себя внимание несоответствие хронологической последовательности основных событий, ведущих к вступлению культуры в стационарную фазу роста. Действительно, при максимальной плотности посева (вариант А) падение пролиферативной активности клеток предшествует увеличению их числа; при промежуточных величинах инокулы (Б и В) стабилизация плотности клеточного слоя происходит прежде, чем прекращается активная пролиферация клеток; наконец, при минимальной посевной концентрации клеток (Г) прирост их числа вовсе не имеет места, несмотря на довольно высокий темп клеточной пролиферации в этой культуре. Подчеркнем, что ни в одном из описанных случаев не выявляются закономерности, постулируемые концепцией «зависимого от плотности подавления пролиферации клеток».

Полученные результаты позволяют прийти к заключению, что регуляция плотности клеточных популяций *in vitro* происходит не исключительно путем изменения темпа клеточной пролиферации и что клеточная культура достигает плотности насыщения не только в результате размножения клеток. Процесс роста культуры контролируется также рядом других факторов, в том числе такими, как гибель клеток, возможно, после их задержки в  $G_2$ -периоде, и начальная плотность клеточной популяции.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гаспарян Г. Г., Закарян Г. Г., Терских В. В., Масляк Ю. А. Цитология, 23, 654—659, 1981.
2. Закарян Г. Г., Гаспарян Г. Г., Масляк Ю. А. Цитология, 25, 47—52, 1983.

3. Beng H., Graf T. *Exper. Cell Res.*, 167, 417—428, 1977.
4. Carney D. H., Glona K. C., Cunningham D. D. J. *Cell. Physiol.*, 95, 13—22, 1978.
5. Mucleiru-Coelho A. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 127, 745—552, 1967.
6. Rein A., Rubin H. *Exper. Cell Res.*, 49, 666—678, 1968.
7. Rubin H. *Ciba Found. Symp. on Growth Control in Cell Cultures*. Churchill Livingstone, London, 127—149, 1971.
8. Sefton B. M., Pibin H. *Nature*, 227, 543—544, 1970.
9. Skehan P. *Exper. Cell Res.*, 97, 184—192, 1976.
10. Stocker M. G. P., Rubin H. *Nature*, 215, 171—172, 1967.
11. Thrash C. R., Cunningham D. D. J. *Cell. Physiol.*, 86, 301—310, 1975.
12. van der Bosch J. *Exper. Cell Res.*, 117, 111—119, 1978.

Получено 24.11.1987 г.

## АРХИТЕКТОНИКА КАМЫША ОЗЕРНОГО *SCIRPUS LACUSTRIS L.*

Г. М. САРКИСЯН, И. П. ХУРШУДЯН

Армянский сельскохозяйственный институт, кафедра ботаники, Ереван

Камыш озерный рассматривается как инженерная конструкция, в частности как сосуд, поддерживающий свою устойчивость за счет гидростатического (тургорного) давления. Сделана попытка определить тургорное давление косвенным путем. Результаты проведенных исследований могут быть полезны при проектировании пневматических конструкций.

*Անյին ճյուղերը դիտվում է որպես ինժեներական կոնստրուկցիա, մասնավորապես որպես իր կայունությունը պահպանող սննթի ի հաշիվ հիդրոստատիկ (տուրգորային) ճնշման ֆորմի կատարված անուղղակիորեն որոշելու տուրգորային ճնշումը: Անցկալված հետազոտությունների արդյունքները կարող են օգտակար լինել պնեմատիկ կոնստրուկցիաների նորագծման համար:*

The lake reed is examined as an engineering construction, in particular as a vessel, supporting its stability due to hydrostatical (turgorial) pressure. It has been tried to define the turgorial pressure in an indirect way. The results of carried researches can be useful for projecting of pneumatic constructions.

*Камыш озерный—архитектоника—тургорное давление.*

В последние годы возрос интерес к изучению строения растений как инженерных конструкций, поскольку благодаря длительной эволюции они представляют собой весьма рациональные «конструкции». Ряд биологических исследований [1, 2, 4], посвященных изучению архитектоники растений, позволяет использовать некоторые принципы их строения при решении конкретных инженерных задач. Изучением анатомо-морфологических особенностей растений с точки зрения строительной механики занимался выдающийся советский ботаник Раздорский [3].

В настоящем исследовании представлены результаты изучения строительно-механических принципов в строении стебля камыша озерного, обеспечивающих его устойчивость и прочность под механическими нагрузками внешней среды (ветер, атмосферные осадки) и собствен-

ного веса. Выбор камыша озерного в качестве объекта исследования обусловлен его «стройностью» (большим значением отношения длины стебля к его диаметру), представляющей интерес со строительско-механической точки зрения.

**Материал и методики.** Камыш озерный—многолетнее растение с полужим толстым корневищем. Стебли цилиндрические, гладкие, высотой 100—250 см, в диаметре до 2,5 см. Стебли у основания плетут в буроватые или красноватые влагалища. Соцветие щитковидно-метельчатое, с неравными по длине, шероховатыми метелками, засушками на концах по 3—5 колосков. Растет по берегам водоемов и в воде, по травянистым болотам и болотным лугам.

Анатомические срезы сделаны по всей длине стебля как в поперечном, так и продольном направлениях.

**Результаты и обсуждение.** Как видно из схемы поперечного среза нижней половины стебля камыша (рис. 1), под эпидермой (1) расположен слой хлоренхимы (2), состоящий из 2—3 рядов плотно сомкнутых

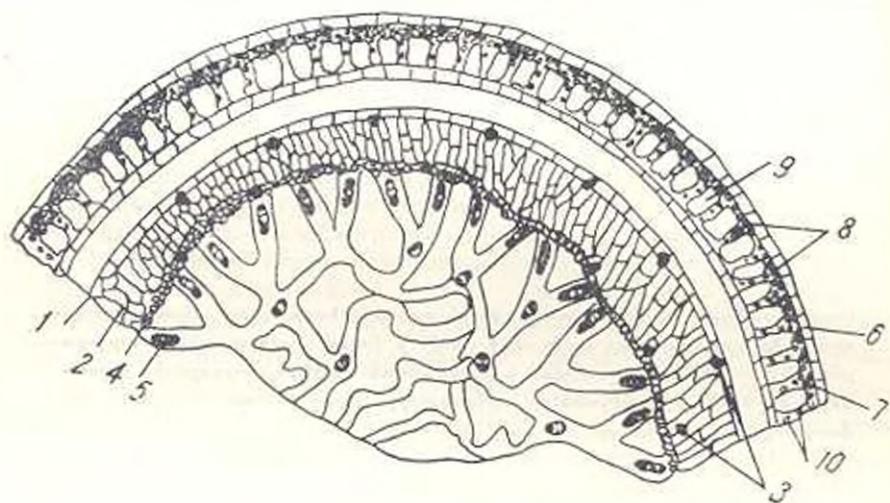


Рис. 1. Схема поперечного сечения стебля с листовым влагалищем. 1. Эпидерма стебля, 2. хлоренхима, 3. участки механической ткани, 4. паренхимные клетки; 5. крупные пучки; 6. эпидерма листа, 7. паренхимные клетки листа; 8. участки механической ткани листа, 9. полости; 10. пучки на перегородках.

вытянутых клеток. С наружной и внутренней стороны этого слоя в шахматном порядке расположены округлые участки склеренхимной ткани (3), причем количество этих участков с внутренней стороны хлоренхимного слоя уменьшается от комля к вершине и полностью исчезает приблизительно в середине стебля. Участки склеренхимы, обеспечивая жесткость стебля, вероятно, выполняют в определенной степени и проводящую функцию. Ближе к середине стебля, в местах, где под эпидермой находятся участки склеренхимы, покровная ткань сдавлена и втянута внутрь, в результате чего она приобретает гофрированную форму. Аналогичной волнистостью характеризуются наружные и внутренние контуры хлоренхимы. Степень гофрированности эпидермальной и хлоренхимной тканей возрастает по высоте стебля. Из теории строи-

тельной механики, известно, что гофрированность тканей, т. е. наличие продольных ребер жесткости, значительно повышает устойчивость стебля к продольным и поперечным нагрузкам.

Обеспечивающий устойчивость стебля водонасыщенный слой хлоренхимы представляет собой находящуюся под относительно высоким тургорным давлением кольцевую оболочку, ограниченную с внешней стороны предварительно напряженной, растянутой эпидермой. Опыты показали, что относительное укорочение поперечной полоски, вырезанной из эпидермы стебля, в состоянии наибольшего тургора составляет 6—7%. За хлоренхимой следуют 1—2 ряда паренхимных клеток (4), в которые упираются Y-образные перегородки аэренхимной ткани стебля, образующие как бы перемычки между крупными пучками. Аэренхимная ткань сердцевины богата крупными межклетниками, соединенными между собой и образующими общую вентиляционную сеть. Эта ткань выполняет также определенную арматурную (механическую) функцию. Ее структура, напоминающая пчелиные соты, обеспечивает устойчивость стебля в водной среде. Перегородки аэренхимы работают наподобие сжатых стоек, благодаря чему внутренний круг оболочки не деформируется, и степень ее насыщенности водой отражается лишь на изменении наружного диаметра стебля. Отсутствие деформации внутреннего круга оболочки обуславливает устранение потери гидростатического давления. Следовательно, тургорное давление, обеспечивающее продольную устойчивость стебля в растениях, достигается наиболее рациональным образом. Напряженность оболочки создается за счет мощных вытянутых сосудисто-волокнистых пучков (5), расположенных среди клеток Y-образных перегородок. Для этих пучков характерна развитая ксилема с крупными сосудами, обеспечивающими максимальный ток воды в сторону хлоренхимы. Склеренхимный «коллак» пучка направлен к центру. Эти особенности пучков характерны

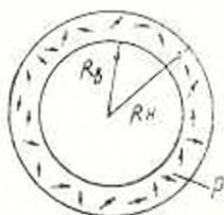


Рис. 2. Расчетная схема.

для нижней половины стебля, ближе к середине они значительно сглаживаются.

Обычно погруженная в воду нижняя часть стебля камыша обхвачена имеющими диаметрально противоположное расположение двумя несомкнутыми рядами листовых влагалищ, придающими стеблю дополнительную жесткость и выполняющими одновременно роль демпфера, так как трение сдвига между листовым влагалищем и стеблем значительно способствует затуханию изгибных колебаний стебля под напором ветра. Несомкнутость листовых влагалищ, вероятно, связана со значительным суточным изменением диаметра стебля.

Под покровной тканью листа (6) расположена двух-трехрядная паренхима (7) (рис. 1). К верхней эпидерме влагагища через каждые

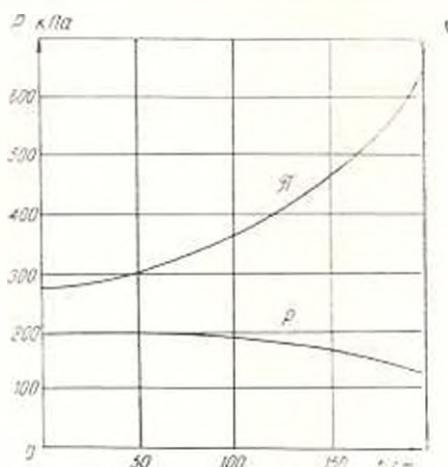


Рис. 3. Изменение тургорного и осмотического давления по высоте стебля.

3—4 эпидермальные клетки обращены округлые участки склеренхимной ткани (8), по строению аналогичные таковым в стебле. Между верхней и нижней эпидермами листа равномерно расположены воздухоносные полости (9), граничащие с нижней эпидермой. На перегородках между полостями расположены по два—три пучка (10). Нужно полагать, что под воздействием внешних механических нагрузок полости листовых влагагищ претерпевают местные деформации, демпфируют, тем самым способствуя затуханию колебаний стебля. Определенный интерес представляет каркасная конструкция листового влагагища, отдельные элементы которой при характерных для них показателях механических свойств отличаются оптимальным соотношением длин.

Поскольку устойчивость стебля камыша озерного в основном поддерживается за счет тургорного давления, небезынтересно было его распределение по всей длине стебля.

Примечательно, что стебель камыша озерного, перенесенный из естественного состояния в зажим, имитирующий его закрепление в почве, вследствие потери тургора теряет устойчивость и ломается буквально через 10—15 мин. Необходимо отметить, что в настоящее время методика определения прямого тургорного давления недостаточно разработана [9—11] и применима лишь к крупноклеточным тканям. В этой связи нами сделана попытка косвенным методом определить тургорное давление в водонасыщенном хлоренхимном кольце.

Представим стебель камыша озерного как тонкостенный цилиндрический сосуд с внешней и внутренней оболочкой (рис. 2). Пространство между оболочками, имитирующее хлоренхимное кольцо, находится под тургорным давлением  $P$ . Внутренняя оболочка в силу определенных ограничений (сопротивляемости перегородок аэренхимной ткани) не деформируется. Из теории сопротивления материалов известно [8], что зависимость радиальной относительной деформации внешней оболочки от внутреннего давления описывается выражением.

$$E_{\text{ж}} = \frac{q \cdot R_n}{E \cdot \delta} \left(1 - \frac{\mu}{2}\right), \quad (1)$$

где  $q$ —внутреннее давление, определяемое из этого выражения;  $R_n$ —радиус наружной оболочки,  $\delta$ —толщина кольца;  $E$ —модуль упругости оболочки;  $\mu$ —коэффициент Пуассона.

Согласно ранее проведенным исследованиям [5], модуль упругости внешней оболочки эпидермы с вкрапленными в нее механическими волокнами колеблется от 34000 кПа в нижней части стебля до 23000 кПа в верхней.

При определении относительной деформации (укорочения) измерялся диаметр стебля в состоянии наибольшего тургора— $D_{\text{тур}}$  (к 8<sup>00</sup>—9<sup>00</sup> часам утра), а затем в состоянии, соответствующем началу плазмолиза— $D_{\text{пл}}$ . Относительное укорочение, равное

$$\varepsilon = \frac{D_{\text{тур}} - D_{\text{пл}}}{D_{\text{тур}}} \cdot 100\%,$$

в зависимости от высоты стебля колебалось в пределах 12—18%. На основании опытных данных коэффициент Пуассона принимается равным 3,1.

График изменения тургорного давления по высоте стебля (рис. 3), подсчитанного из формулы (1), показывает, что в рассматриваемой оболочке оно изменяется в пределах 130—220 кПа.

Осмотическое давление определялось по формуле [7]:

$$\pi = RTC_s, \quad (2)$$

где  $C_s$ —концентрация растворенного вещества—определялась по известной методике [6];  $R$ —универсальная газовая постоянная;  $T$ —абсолютная температура.

Осмотическое давление в отличие от тургорного увеличивается с 280 кПа у комля до 650 кПа у вершины стебля.

Можно полагать, что проведенные бионические исследования будут полезны при проектировании пневматических конструкций, применяемых при сооружении временных жилищ для строительных, сельскохозяйственных рабочих, различных хранилищ, для опалубок в строительстве и т. д.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Лебедев Ю. С. Архитектура и бионика. М., 1971.
2. II Междунар. конгр. стран—членов СЭВ по основным проблемам ботаники. «Бионика-78». 1, 2. М.—Л., 1978.
3. Раздорский В. Ф. Архитектоника растений. М., 1955.
4. Саркисян Г. М., Хурцудян Н. П. Реферат статей. «Бионика-86». Научный Совет по кибернетике АН СССР. М.—Л., 1986.
5. Саркисян Г. М. Тр. АрмСХИ. 21. Ереван, 1987.
6. Сказкин Ф. Д. Практикум по физиологии растений. М., 1958.
7. Слейчер Р. О. Волный режим растений. М., 1970.
8. Флоридская В. М. Сопротивление материалов. М., 1986.
9. Ahrens K. *Planta*, 30, 113—117, 1939.
10. Macklon A. E., Weatherley P. E. *Exp. Botan.*, 16, 261—270, 1967.
11. Zimmermann U., Husken D., Schulze E. *Planta*, 149, 443—453, 1980.

Поступило 4.XI 1987 г.

Եւրօպ. յ. Արմենու, 1, 41, № 2, 1988

УДК 615.28.615.30

ՄԻՆԹԵՏԻՎ ԳԻՆԵԹՐՈՒՆ ՈՐՊԵՍ ՆՈՐ  
ՄԱՆՐԷԱՍՊԱՆ ԵՎ ԱԵՏԱՀԱՆԻԶ ՄԵՋՈՑ

Շ. Ո. ՀԱՅՈՐՅԱՆ, Ա. Ա. ՀԱՅՐԱԳՆՅԱՆ, Ժ. Ս. ԲԱՐՍԵԱՆ

Ա. Ք. Ալերսանյանի անվան համառոտագրականության, վերլուծականության և բժշկական նախարարության գիտական աշխատական ինստիտուտ, Երևան:

\* Կատարումով — Լատյոհային լատա — ադիբային ցուպիկ — բակեզայն ստաֆիլոկոկ — մանրէա-  
ուզոն — սպորուսպան — ախտաճանիչ:

Վարակիչ շիվանդությունների կանխարգելման և դրանց դեմ պայքարի համընդհանուր միջոցառումների թվում կարևոր դեր ունի շիվանդությունների հարուցիչներով վարակված արտաքին միջավայրի առարկաների ախտահանու-  
թյունը: Վարակադերման գոյություն ունեցող մեթոդներից լայն տարածում և կիրառություն ունի քիմիականը, սրի ղեկարում ոգտագործվում են բիմիական տարրեր խմբերին պատկանող պատրաստուկներ [2, 4]: Չնայած ախտահանիչ նյութերի տեսականին բավականին մեծ է, այնուամենայնիվ դրանք քանակա-  
պես և որակապես դեռևս չեն բավարարում անոդջապահության օրավուր աճող պահանջները [1, 8]: Այդ է պատճառը, որ նոր առավել արդյունավետ և կա-  
տարյալ մանրէասպան և ախտահանիչ հատկություններով օժտված բիմիական միացությունների որոնումն ունի ոչ միայն տեսական նշանակություն, այլև զործնական կարևորություն: Այդ խնդրի հրատապ լուծման անհրաժեշտությու-  
նը բխում է նաև այն իրողությունից, որ վերջին ժամանակներս ինչպես հայրե-  
նական, այնպես էլ արտասահմանյան բժշկագիտական գրականության մեջ բա-  
վական հաճախ ենք հանդիպում այնպիսի աշխատանքների, որոնց հեղինակները հազորդում են ախտահանիչ պատրաստուկների նկատմամբ զանազան վարակիչ շիվանդությունների հարուցիչների և նույնիսկ նույն տեսակին պատկանող մանրէների տարրեր շտամների կայունության ձևեր բերման մասին [5, 6, 7, 11]: Այս հանգամանքը բնականաբար նվազեցնում է ախտահանության ար-  
դյունավետությունը: Եթե նկատի ունենանք նաև միանգամայն նոր վարակիչ շիվանդությունների հարուցիչների ի հայտ գալը, ինչպիսին օրինակ ՍՊԻՒ-ի վիրուսն է, ապա միանգամայն պարզ է դառնում նոր ախտահանիչների որոն-  
ման ուղղությամբ տարվող աշխատանքների խիստ այժմեականությունը:

Մեր հանրապետությունում քիմիական արդյունաբերության ձևերարկու-  
թյունների (քիմիական գործարաններ, կոմբինատներ, գիտաարտադրական միավորումներ) և ինստիտուտների (ակադեմիական և էլյուզային գիտահետա-  
զոտական ինստիտուտներ, բարձրագույն ուսումնական հաստատությունների լաբորատորիաներ) առկայությունը ինքնին նպաստավոր պայմաններ է ստեղ-  
ծում ոչ միայն առկա քիմիական միացություններից մանրէասպան և ախտա-  
հանիչ հատկություններով օժտված նյութեր որոնելու, այլև այդ նպատակով

անդական հումքից նոր առավել արդյունավետ պատրաստուկներ սինթեզելու համար։ Տեղական ռեսուրսներից նոր ախտահանիչների հայտնաբերումը շահավետ է տնտեսական առումով, բացի դրանից անչափ կարևոր է քաղաքագիական պաշտպանության տեսանկյունից։

Ինչպես հայտնի է ախտահանության նպատակով կիրառվող քիմիական ապրեր խմբերի միացությունների շարքում իրենց ուրույն տեղն ունեն օրգանական և անօրգանական բիթուները։ Միկրոբային բջշի վրա թթուների աշխույժության ուժգնությունը և, հետևաբար, կենդանի նյութաձևերում առաջացող փոփոխությունները պայմանավորված են ոչ միայն հարուցիչի կենսաբանական առանձնահատկություններով, այլև թթուների դիսոսցվելու աստիճանով, շրժնի քանակի խտությունով, ինչպես նաև թթվի քրային լուծույթի խտությունով [12]։

Հայրենական և արտասահմանյան գրականության մեջ կան բազմաթիվ աշխատություններ, որոնք վերաբերվում են օրգանական թթուների հակամիկրոբային հատկությունների ուսումնասիրմանը [1, 3, 9, 10]։

Ըստ մանրէասպան ազդեցության սկախվածության թթուները դասավորվում են հետևյալ վայրը։ Պայց հարցով՝ քաղախաթթու, լիմոնաթթու, կաթնաթթու, մալինաթթու, գինեքարային թթու, ադաթթու և այլն։

Տվյալ աշխատանքի նպատակը եղել է ներանի քիմիական ռեակտիվների գործարանում թողարկվող սինթետիկ գինեթթվի մանրէասպան, ախտահանիչ և թունաբանական հատկությունների ուսումնասիրությունը, այն առաջարկել առողջապահության պրակտիկայում և կենցաղում՝ որպես վարակազերծող պատրաստուկ ներդնելու համար։

Նյութ և մեթոդ։ Առումնասիրության նյութն է եղել սինթետիկ գինեթթուն, որը թողարկվում է նրեանի քիմիական ռեակտիվների գործարանում (ԿՄ-6-00-39-39-75)։ Սինթետիկ գինեթթուն ( $C_6H_8O_6 \cdot H_2O$ ) իրենից ներկայացնում է օպիտակ բյուրեղափոշի, լավ լուծվում է շրում, էթանոլում, էթերում, բլորոֆորմում։ Այն կիրառվում է ժողովրդական տնտեսության ամենատարբեր բնագավառներում։ Մենդարդյունաբերության մեջ այն օգտագործվում է հրուշակեղենի արտադրատեսակների պատրաստման, թափանցիկ ոչ ալկոհոլային բուսականների (օժտանկիկանկի, ծախն և այլն), ինչպես նաև սպրանքային օշարակների պատրաստման համար՝ լիմոնաթթվի փոխարեն։ Սինթետիկ գինեթթուն կիրառվում է նաև ծանկիթների արդյունաբերությունում «Անտոլ» և Պլաստոլոյ հակաօքսիդիչների արտադրության համար։ Այն կիրառվում է նազթարդյունաբերության և երկրաբանության բնագավառում ևս։

Սինթետիկ գինեթթվի մանրէասպան և ախտահանիչ հատկությունները ուսումնասիրվել են մԱՄ առողջապահության մինիստրության գլխավոր սանիտարահամաձարակարանության վարչության կողմից հաստատված ձևոր ախտահանիչ նյութերի մանրէասպան հատկությունների որոշման հրահանգի պահանջներով էտալոնային կայուն շտամներ՝ սպիրային զուպիկի (N 1257), ոսկեզույն ստաֆիլոկոկի (N 906) և սիբիրայտի սպորի (N 96) վրա միկրոբային 2 միլիարդանոց կախույթով վարակված բառիստային տեսաօրյակտները վարակազերծելու եղանակով։ Թունաբանական հատկությունները ուսումնասիրվել են տարբեր փորձակենդանիների (սպիտակ տանձենի, սպիտակ մուկ, հազար) վրա հանրահատ մեթոդներով։ Պատրաստուկի ախտահանիչ հատկություններն ուսումնասիրվել են վաղորոք վերը նշված շտամներով արտաքին միջավայրի զանազան առարկաները, մակերևույթները, սպասքը և սպիտակեղևներ վարակա-

վերծման եղանակով: Մինթևտիկ գինեթթվի կիրառման ուժեղ մը մշակելու նպատակով ուսումնասիրվել է ջերմաստիճանի, միջավայրի լՄ-ի փոփոխությունների և սպիտակուցային ծանրաբևեռնվածության ազդեցությունը նրա մանրէասպան հատկությունների վրա:

Արդյունքներ և Ընկալում: Մինթևտիկ գինեթթվի մանրէասպան հատկությունների ուսումնասիրման արդյունքները ցույց են տվել, որ նրա 0,5 %-ոց ջրային լուծույթը սպանելիչ ազդեցություն է գործում ադիբաչին ցուպիկի և սուկկույն ստաֆիլոկոկի էտալոնային շտամների վրա՝ համապատասխանաբար 10 և 15 րոպեի ընթացքում: Այն դեպքում, երբ նրա 10 %-ոց ջրային լուծույթը չի ունեցնում սփրիթախի հարուցիչները 6 ժամվա ընթացքում: Այս տվյալները վիճարկում են, որ սինթետիկ գինեթթուն օժտված է լավ արտահայտված մանրէասպան հատկությամբ և չունի սպորասպան հատկություն:

Մինթևտիկ գինեթթվի մանրէասպան ազդեցության վրա արտաքին միջավայրի տարբեր գործոնների (ջերմաստիճանի, միջավայրի լՄ-ի փոփոխության և սպիտակուցային ծանրաբևեռնվածության) ուսումնասիրության արդյունքները ցույց են տվել, որ սինթետիկ գինեթթվի 0,5 %-ոց լուծույթի ջերմաստիճանի բարձրացումը (40-60°) արագացնում է նրա մանրէասպան ներգործությունը 10-15 րոպեով, իսկ միջավայրի լՄ-ի փոփոխությունը դեպի հիմնային, նվաղեցնում է նրա մանրէասպան ազդեցությունը: Սա մասնվել է նաև, որ 20 % սպիտակուցային ծանրաբևեռնվածությունը բացասաբար չի անդրադառնում նրա մանրէասպան հատկությունների վրա, իսկ 40 % սպիտակուցային ծանրաբևեռնվածության պայմաններում պատրաստուկի մանրէասպան ազդեցությունը Էրկարում է 10-15 րոպեով:

Մինթևտիկ գինեթթվի ախտահանիչ ազդեցության ուսումնասիրությամբ սահմանվել է, որ ապակու, հախճապալի, պլաստիկատի մակերեսները 100 %-ով վարակազերծվում են սինթետիկ գինեթթվի 1 %-ոց ջրային լուծույթով 15 րոպեի ընթացքում, ներկված փայտի, կահույքի փայտյա հղկված մակերեսները՝ 30-60 րոպեի ընթացքում: Չներկված փայտի մակերեսները լրիվ վարակազերծվում են 2-2,5 %-ոց լուծույթով 30-60 րոպեի ընթացքում: Մարուր (առանց սննդամթերքների մնացորդների) սպասքը ախտահանվում է սինթետիկ գինեթթվի 1 %-ոց ջրային լուծույթով 15 րոպեի ընթացքում, իսկ սննդային մնացորդով ամանեղենը՝ 1,5 %-ոց լուծույթով 60 րոպեի ընթացքում: Մարուր սպիտակեղենը լրիվ վարակազերծվում է սինթետիկ գինեթթվի 2,5-3 %-ոց ջրային լուծույթի ազդեցությունից՝ 60 րոպեի ընթացքում:

Հայտնի է, որ ախտահանիչ նյութերի նկատմամբ ներկայացվող խտադույն պահանջներից մեկը հանդիսանում է նրա անվտանգությունը: Այդ նպատակով կատարված թունաբանական հետազոտությունների արդյունքները ցույց են տվել, որ սինթետիկ գինեթթուն բերանի միջոցով փորձակենդանիների ստամոքս ներմուծելիս միջին մահացու խտությունը՝ ՂԱ 50-ը կազմում է սպիտակ մկենների համար 2510 ± 193,5 մգ/կգ, իսկ սպիտակ առնետների համար՝ 5910 ± 570 մգ/կգ:

Մինթևտիկ գինեթթվի մաշկի և լորձաթաղանթների վրա ունեցած ազդեցության ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ինչպես միանվազ, այնպես էլ բազմակի սպիտակաքիան սպիտակ առնետների և ճաղարների մաշկի և լորձաթաղանթների վրա առաջ չի բերում մաշկը գրգռող և ռեզորբցիոն ազդեցություն: Հաստատվել է նաև, որ սինթետիկ գինեթթուն օժտված չէ կոտակվելու հատկու-

թյամբ Թունաբանական հատկությունների հետազոտության տվյալները ցույց են տվել, որ սինթետիկ գինեթթուն պատկանում է սակավ թունավոր պատրաստուկների խմբին, այն ստացված չէ կուտակվելու, մաշկը և լորձաթաղանթները գրգռելու հատկություններով և մաշկի միջով այն չի ներծծվում:

Այսպիսով, Երևանի քիմիական ուսումնական կենտրոնի գործարանում թողարկվող սինթետիկ գինեթթվի մանրէասպան, ախտահանիչ և թունաբանական հատկությունների ուսումնասիրությունների արդյունքները համոզիչ կերպով ցույց են տալիս, որ այդ պատրաստուկը ստացված է լավ արտահայտված մանրէասպան, ախտահանիչ հատկություններով և պատկանում է բիջ թունավոր նյութերի շարքին: Երկրորդ հատկությունները նախափոր են դարձնում սինթետիկ գինեթթուն առաջարկել որպես ախտահանիչ պատրաստուկ բակտերիալ էթիոլոգիայով ազդեցիկ և կաթիլաչին վարակիչ հիվանդությունների օջախներում, ինչպես նաև կենցաղում կիրառելու համար:

#### ՅՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Аюбян Г. С., Чилингарян С. Ц., Мкртчян А. А. Тез. докл. III респ. съезда эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. Ереван, 1983.
2. Вашков В. И. В кн.: Антимикробные средства и методы дезинфекции. М., 1977.
3. Лебедева Н. С. Тр. ЦНИИДИ, в. 18, 1, М., 1967.
4. Ляровский П. П. Сб научн. трудов, М., 1979.
5. Мнацаканян Ш. С., Мкртчян А. Е., Татевосян А. В. Мат-лы науч. сессии ЕрГУИВ. Ереван, 1976.
6. Нехорошева А. Г., Белова В. И., Евдокимова М. П. Тр. ВНИИДС, 25, М., 1976.
7. Тубаев С. А. Инфекционные и инвазионные болезни о/х животных в Казахстане. Алма-Ата, 1980.
8. Федорова Л. С. Автореф. канд. дисс., М., 1979.
9. Goiturdt W., Puritscher M. Zbl. Bakt., Parasitenk., Infektionskrankh. und Hyg., 3, 4, 330, 1976.
10. Metzner V. J., Bektemerov H., Boshov P. Zbl. Pharm., Pharmakol. und Laboratorium, 118, 6, 573, 1979.
11. Volina F. Ceskoslov. epidem., mikrobiol., imunol., 28, 3, 178, 1979.
12. Chalmers L. Domestic and industrial chemical specialties, London, 1966.

Մուտքի է 4.XI.1987 թ

## О ГОМОЛОГИИ ДНК КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ

А. Ю. ГАРИБЯН, А. М. ЛЫСЕНКО, А. Д. НАЛБАНДЯН

Институт микробиологии АН СССР, Москва  
Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

*Клубеньковые бактерии—горох—прахис—гомология ДНК*

ДНК-гомология двух сопоставляемых организмов, определяемая с помощью методов молекулярной гибридизации ДНК, в настоящее время является одним из решающих критериев в систематике микроорганизмов.

Клубеньковые бактерии в этом отношении изучены недостаточно [1, 3-5]. Некоторые исследователи наблюдали корреляцию между го-

мологичностью ДНК, составом внеклеточных полисахаридов и интрогенной активностью клубеньковых бактерий сои [4].

Целью наших исследований являлось изучение некоторых генетических характеристик клубеньковых бактерий арахиса и гороха.

**Материал и методика.** Объектом исследований служили выделенные из почв АрмССР клубеньковые бактерии гороха *Rhizobium leguminosarum*, штаммы ИИМИА В-5601, 5602, 5603 и арахиса *Bradyrhizobium sp.* (arachisi), штаммы ИИМИА В-6091, 6092, 6093, 6094, вошедшие в коллекцию культур Института микробиологии АН АрмССР.

Быстрорастущие клубеньковые бактерии гороха выращивали в бобовом экстракте с добавлением 1% сахарозы на качалке в течение 2 суток, а медленнорастущие культуры арахиса — на пептоно-дрожжевой агаризованной среде (диптон—0,2%; дрожжевой экстракт—0,2%; глюкоза—2%; агар—1,8%) в течение 3 суток при 28°.

Выделение и очистку ДНК проводили по методу Мармура [6] с последовательной обработкой клеток лизоцимом (50 мг/мл, в течение 30—40 мин при 37°) и додецилсульфатом Na (10 мин при 60°). Концентрацию и степень очистки препаратов ДНК определяли спектрофотометрически на спектрофотометре Spectrod UV-VIS (ГДР). При необходимости примесь полисахаридов из препаратов ДНК удаляли центрифугированием при 25000 об/мин в течение 2 часов.

Определение содержания ГЦ-пар проводили путем термической денатурации раствора ДНК (концентрация 20 мкг/мл в 0,1 буфере (SSC/10, SSC буфер—0,1 M NaCl и 0,015 M цитрат натрия, pH 7,0±0,2) на регистрирующем спектрофотометре марки Pye Unicam SP-1800 (Англия) при скорости нагрева 0,5°/мин. Молекулярный процент ГЦ-пар рассчитывали по формуле ГЦ мол. % = 2,08 · T<sub>пл.</sub> - 106,4 [7], адаптированной для плавления ДНК в разбавленных солевых растворах. В качестве внутривидового стандарта использовали ДНК *Escherichia coli* K-12. Степень ДНК-ДНК гибридизации определяли спектрофотометрически по методу Де Лея [2]. Препараты ДНК фрагментировали ультразвуком (УЗДН-1) в течение 5 мин при частоте 22 кГц, концентрацию доводили до 50 мкг/мл и денатурировали нагреванием в 0,1 SSC буфере при 105° в течение 8 мин. Реассоциацию проводили при оптимальной температуре (T<sub>опт.</sub> = 0,5 + 47,0) в течение 40 мин. Процент гомологии рассчитывали по формуле, предложенной Де Леем с поправ. [2].

**Результаты и обсуждение.** Приведенные в таблице данные показывают, что все исследованные штаммы клубеньковых бактерий достаточно выравнены по нуклеотидному составу, т. е. различия в содержании ГЦ-пар внутри вида не превышают 2—3 мол. %, а диапазон колебаний составляет 59—65% ГЦ, что соответствует литературным данным

#### Нуклеотидный состав и гомология в ДНК

Штаммы клубеньковых бактерий	Температура плавления ДНК, °С	Нуклеотидный состав ГЦ мол. %	Гомология в ДНК, % по отношению к	
			шт. 5603 гороха	шт. 6093 арахиса
Гороха	5603	59,4	100	—
	5601	61,1	67,0	—
	5602	61,2	80,0	—
Арахиса	6093	62,3	12,0	100
	6094	62,3	11,0	86,0
	6091	—	12,0	96,0
	6092	63,5	13,0	92,0
<i>E. coli</i> K-12	78,5	51,3	—	—

Примечание: (—) — исследование не проводилось.

о нуклеотидном составе ДНК у различных видов рода *Rhizobium*. Высокий уровень гомологии ДНК обнаруживается у различных штаммов клубеньковых бактерий арахиса (86—100%), причем в генетическом отношении этот вид отдален от клубеньковых бактерий гороха (обнаружено 10—15% общих гомологичных последовательностей в ДНК).

Определенное генетическое родство, не выходящее за рамки вида, прослеживается у 3 штаммов клубеньковых бактерий гороха (70—100%). Интересно отметить, что определение размера генома у 4 штаммов клубеньковых бактерий арахиса выявляет близкие значения молекулярной массы их ДНК: штаммы 6091, 6092, 6093 и 6094 в расчете на один нуклеотид имеют следующие молекулярные массы ДНК (в дальтонах):  $1,6 \times 10^9$ ;  $1,8 \times 10^9$ ;  $1,9 \times 10^9$ ;  $1,5 \times 10^9$  соответственно.

Таким образом, на основании изучения геномной характеристики культур выявлено близкое генетическое родство у 4 штаммов клубеньковых бактерий арахиса и 3 штаммов клубеньковых бактерий гороха, не выходящее за рамки одного вида, причем в генетическом отношении вид клубеньковых бактерий арахиса удален от клубеньковых бактерий гороха.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Grox V. L., Jarvis B. D. W., Urtenwood R. M. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 31, 2, 152—172, 1981.
2. De Ley J., Carroir H., Reynaerts A. *Eur. J. Biochem.*, 12, 133—142, 1970.
3. Gerald H., Etkan, Usanis R. A. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 21, 4, 295—298, 1971.
4. Huber Thomas A., Agarwal Arun K., Kelster D. L. *J. Bacteriol.*, 158, 3, 1168—1171, 1981.
5. Jarvis B. D. W., Dick A. G., Greenwood R. M. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 30, 1, 41—52, 1980.
6. Marmur I. *Mol. Biol.*, 3, 208—218, 1961.
7. Owen R. J., Hill L. R., Lapage S. P. *Biopolymers*, 7, 5, 3, 1969.

Поступило 4.VI 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 2, 1988

УДК 579.64.631

## МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТИВНЫХ ФОРМ НИТРАГИНА

А. Д. НАЛБАНДЯН, В. А. АВЕТИСЯН

*Нитрагин—клубеньковые бактерии—бектониг.*

Нитрагинизация бобовых растений применяется во многих странах мира.

В СССР чистый доход от применения нитрагина составляет в среднем 30—50 рублей, а для сои в новых районах ее возделывания—до 150—200 рублей на гектар [5].

В настоящее время в мире выпускается около 60 товарных форм препаратов для нитрагинизации бобовых растений, в виде чистых культур клубеньковых бактерий, смеси их с субстратами-носителями (поч-

ва, торф, почва—торф и др.), обезвоженной биомассы клубеньковых бактерий и т. д.

Установлено, что метод приготовления торфяного нитрагина (ризоторфина) непосредственным инокулированием клубеньковыми бактериями стерильного торфа в пакетах позволяет получить препарат более высокого качества, чем при использовании нестерильного торфа [4].

Ряд авторов, разрабатывая вопросы технологии производства сухих препаратов нитрагина, показали большое значение технологических свойств активных штаммов клубеньковых бактерий, а также условий их ферментации. Предложена принципиальная технологическая схема производства торфяного нитрагина (ризоторфина) [6].

Цель настоящего исследования состояла в разработке способов изготовления агарового, торфяного и сухого нитрагина на основе местных штаммов клубеньковых бактерий с использованием местного сырья.

*Агаровый нитрагин.* Для приготовления агарового нитрагина клубеньковые бактерии гороха, люцерны, эспарцета и фасоли выращивали в пробирках на агаризованной среде из горохового экстракта, содержащей 1% сахарозы, а для клубеньковых бактерий сои—1% маппита. Культуры выращивали при 26—28° в течение 2—4 суток при использовании клубеньковых бактерий гороха, люцерны, эспарцета, фасоли в 5—7 суток при использовании клубеньковых бактерий сои.

Семена бобовых перед посевом обрабатывали водной суспензией, содержащей от 2 до 3 млрд клеток/мл.

*Сухой (лиофилизированный) нитрагин.* Культуры клубеньковых бактерий гороха, фасоли, люцерны и эспарцета выращивали на жидкой питательной среде следующего состава (%): меласса (содержание сахарозы не менее 45%)—1, кукурузный экстракт—0,3,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ —0,05,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ —0,05,  $\text{NaCl}$ —0,02,  $\text{MgSO}_4$ —0,02, pH—7—7,2. Культивирование проводили на качалке (200—240 об/мин) в течение 48 часов. Спустя 24 ч в среду дополнительно вносили следующие компоненты (%): мелассу—1, кукурузный экстракт—0,3.

Через 48 ч в 1 л среды накапливалось 15—18 г биомассы, осажденной на центрифуге при 10 тыс. об/мин в течение 10—15 мин. Титр клубеньковых бактерий гороха и фасоли в биомассе составлял 13—15 млрд/г, а клубеньковых бактерий люцерны и эспарцета—17—18 млрд/г.

Перед замораживанием биомассу смешивали со следующими защитными средами (%): мелассой—20; мелассой—20 и молоком—1 объем; мелассой—20 и бентонитом—30; мелассой 20, молоком—1 объем и бентонитом—30.

При смешивании биомассы, имеющей влажность 75—80%, с указанными защитными средами относительная влажность полученного материала бывает различной. Так, после смешивания с мелассой она составляет 68%, а при смешивании с мелассой и бентонитом (20% + 30%)—55—56%. Снижение относительной влажности пасты позволяет осуществить лиофилизацию клубеньковых бактерий за более короткое время.

Биомассу после тщательного перемешивания с защитной средой вносили во флаконы с высотой слоя в 1 см. Пасту предварительно замораживали в смеси сухого льда с изопропиловым спиртом при 75—80° в течение 1 часа. При таком способе замораживания процент гибели клеток клубеньковых бактерий бывает незначительным. Высушивание материала в зависимости от защитной среды завершалось в течение 8—12 часов. Полученный порошок, содержащий клетки клубеньковых бактерий, смешивали с бентонитом с таким расчетом, чтобы 100 г бентонита содержали 250—300 млрд клеток этих бактерий. Препарат хорошо сохраняет активность в течение 6—9 месяцев [1, 2, 3].

**Торфяной нитрагин.** Для получения торфяного нитрагина клубеньковые бактерии выращивали в колбах при 26° в течение 48—72 ч на питательной среде следующего состава (%): меласса—2, дрожжевой экстракт—0,3 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>—0,05, NaCl—0,02, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>—0,05, MgSO<sub>4</sub>—0,02, pH 7,0—7,2. Затем содержимое колб переносили в ферментер, содержащий среду такого же состава. Коэффициент заполнения ферментера—0,6. В ферментер вносили 1,2 л посевного материала. Стерилизацию среды в ферментере осуществляли подачей пара (135°) в рубашку ферментера в течение 1,5 часа. Аэрирование—0,7—1,0 г/л, мешалка—300 об/мин. Продолжительность ферментации—48 ч при 26—28°. Титр клеток клубеньковых бактерий в культуральной жидкости спустя 48 ч составлял 16,2 млрд/мл.

Полиэтиленовые мешочки с измельченным торфом (Варденинское месторождение) по 100 г в каждом герметически закрывались и стерилизовались гамма-лучами (кобальт 60) при дозе 5 Мрад.

Ввод культуральной жидкости (5 мл) в мешочки, наполненные торфом, имеющим 45—50% влажности, осуществляли с помощью шприца. На 1 г торфа введено 800 млн клеток клубеньковых бактерий. Инкубированные мешочки помещали в термостат при 26—28° на 10 дней, после чего титр клубеньковых бактерий в препарате составлял 1,5—2 млрд в грамме торфа.

Торфяной нитрагин изготовлен на основе клубеньковых бактерий эспарцета, сои и гороха.

Препарат сохраняет активность в течение 6 месяцев.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аветисян В. А., Налбандян А. Д. Биолог. ж. Армении, 26, 2, 47—50, 1973.
2. Налбандян А. Д., Аветисян В. А., Меликсетян Р. Г. Биолог. ж. Армении, 24, 3, 24—29, 1971.
3. Налбандян А. Д., Аветисян В. А., Меликсетян Р. Г. Вопросы микробиологии, 6 (16), 99—110, Ереван, 1973.
4. Хотякович А. В., Позднякова А. И., Амстердамская Н. Ю. Тр. ВИИИ с.-х. микробиологии, 17, 111—115, 1978.
5. Хотякович А. В., Позднякова А. И., Амстердамская Н. Ю. Тр. ВИИИ с.-х. микробиологии, 50, 30—39, 1980.
6. Чкалина Е. В., Фаизова Г. К., Чудинова А. И. В сб. Микробиологические средства защиты растений и бактериальные препараты 1, 81—86. М., 1978.

Поступило 20.1 1987 г.

## ФОРМИРОВАНИЕ ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ У *ESCHERICHIA COLI* И *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* *In vitro*

С. Т. МНАЦКАНОВ, Н. М. АРУТЮНЯН

Армянский НИИ эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии  
и к. А. Б. Алексанина, Ереван

*Энтеробактерии—патогенность—энтеротоксигенность—адгезивность.*

Вопрос формирования патогенных вариантов у различных представителей семейства *Enterobacteriaceae* является одним из самых существенных при изучении биологических свойств и особенностей штаммов этого семейства бактерий. И хотя нельзя исключить возможность опосредования патогенных свойств хромосомными генами, все же основную роль в детерминировании таких факторов патогенности, как энтеротоксигенность, адгезивность, по-видимому, играют плазмиды [3].

До недавнего времени наличие патогенности признавалось в основном у таких представителей семейства кишечных бактерий, как сальмонеллы и шигеллы, вопросам патогенности других представителей энтеробактерий уделялось мало внимания. Однако в последние годы в этиологической структуре острых кишечных заболеваний возрос удельный вес так называемых условно-патогенных энтеробактерий, что, несомненно, связано с возможностью формирования патогенных вариантов этих микроорганизмов. Показано, например, что эшерихии, способные синтезировать энтеротоксины, являются основными этиологическими агентами диарей путешественников [5], а в последние годы установлена этиологическая значимость в возникновении диарей путешественников и адгезивных эшерихий [6]. Выяснилось, что условно-патогенные энтеробактерии (*Citrobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Hafnia alvei* *Proteus* spp.) способны к сочетанному присутствию различных плазмидных факторов патогенности—способности к синтезу энтеротоксинов, адгезинов, гемолизinov [1], что, несомненно, говорит о возможности формирования патогенных вариантов у различных представителей семейства *Enterobacteriaceae* *de novo*.

Однако в вопросах формирования патогенных вариантов у различных представителей энтеробактерий остается еще много неясного, в частности, частота передачи плазмид, определяющих синтез биологически активных веществ, имеющих патогенные свойства. Изучению этого вопроса, а именно трансмиссивности способности к синтезу энтеротоксина, и посвящено настоящее сообщение.

**Материал и методика.** Была изучена возможность передачи плазмиды *Ent*, обуславливающей синтез энтеротоксина. С этой целью было отобрано 11 энтеротоксигенных штаммов *Escherichia coli*, выделенных у детей с острыми кишечными заболеваниями. По своей ферментативной активности отобранные штаммы являлись типичными представителями этого вида и ничем не отличались друг от друга, а по антигенной структуре они оказались ингибируемыми по O-антигену. У них отсутствовали гемолитическая активность, способность к синтезу колонинов, фимбриальные антиге-

ни адгезии. В качестве реципиента был взят штамм *E. coli* 200 PS H1-г. Для передачи плазмиды *Ent* штаммам *Klebsiella pneumoniae* в качестве донорного был взят штамм *E. coli* H10407, а реципиентов—5 штаммов *K. pneumoniae*, выделенных у детей с острыми кишечными заболеваниями. Все реципиентные штаммы клебсиелл были типичными, у них отсутствовала способность к синтезу энтеротоксина, адгезинов, гемолизинов. Передача плазмиды *Ent* проводилась по системе HFT в тройном скрещивании с использованием промежуточного реципиента *E. coli* C 600 (2124) Ar-г, ColE1 [7] и добавлением в питательную среду селективных антибиотиков—ампициллина и рифампицина. Определение способности к синтезу энтеротоксина проводилось на модели лигированной петли тонкой кишки кролика [4].

**Результаты и обсуждение.** У *E. coli* передача устойчивости к ампициллину с частотой  $1 \cdot 10^{-2}$ — $1 \cdot 10^{-4}$  происходила у восьми донорных штаммов, у 3 штаммов передачи признака Ar-г не отмечалось.

Было выделено 32 трансконъюганта, у которых была проверена способность к синтезу энтеротоксина. Из 32 трансконъюгантов у 12 наблюдалась продукция энтеротоксина, проявившаяся в дилатации лигированной петли тонкого кишечника кролика, а у 20 трансконъюгантов способность к продукции энтеротоксина отсутствовала.

Передача устойчивости к ампициллину от *E. coli* к *K. pneumoniae* происходила с частотой  $1 \cdot 10^{-2}$ — $1 \cdot 10^{-5}$ , причем скрещивания с двумя клебсиеллезными реципиентами оказались безрезультатными, а в результате скрещивания с тремя другими штаммами было выделено 45 трансконъюгантов. При этом проверка на лигированных отрезках тонкой кишки показала, что 14 из них синтезировали энтеротоксин.

Небезынтересно отметить результаты наших предыдущих наблюдений [2], в которых была установлена передача плазмиды K88 (детерминирующей синтез антигена адгезии K88) штаммам *E. coli* 200 PS и *S. flexneri* R84, в результате чего у трансконъюгантов появилась D-маннозрезистентная адгезия к клеткам кишечного эпителия человека клеточной линии Henle.

Таким образом, наши исследования показали, что *in vitro* возможна передача энтеротоксигенности и факторов адгезии неэнтеротоксигенным и неадгезивным штаммам энтерий и клебсиелл, что может привести к появлению патогенных свойств у *E. coli* и *K. pneumoniae*.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Мнацаканов С. Т. Биолог. ж. Армения, 39, 333, 1986.
2. Мнацаканов С. Т., Багдариенко В. М. Биолог. ж. Армения, 36, 96, 1983.
3. Пехов А. П. Плазмиды бактерий. М., 1986.
4. De S. A., Chatterjee D. N. J. Pathol. Bacteriol., 66, 559, 1953.
5. Lee J. A., Kean H. H. J. Inf. Dis., 137, 355, 1979.
6. Mathewson J. J. et al. J. Inf. Dis., 151, 471, 1985.
7. Stocker B. A. D. et al. J. Gen. Microbiol., 39, 201, 1963.

Получено 21.I 1987 г.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ АДЕНОЗИНДЕЗАМИНАЗЫ В ПОЧВЕ

А. Ш. ГАЛСТЯН, А. Н. БАГРАМЯН, С. А. АБРАМЯН

Институт почвоведения и агрохимии Госагропрома АрмССР, Ереван

*Почва—аденозиндезаминазы—методика определения.*

Образование в почве аммонийного азота происходит в результате разнообразных сопряженно протекающих реакций, осуществляемых ферментами [2—6]. До настоящего времени активность дезаминаз почвы не изучена. В связи с этим нами была поставлена цель разработать метод определения активности аденозиндезаминазы почвы (КФ 3.5.4.2). После ряда испытаний выявлено оптимальное соотношение между навеской почвы и концентрацией субстрата, определены условия действия фермента (рН, температура), время взаимодействия субстрата с почвой. В результате предлагается следующий метод определения активности дезаминаз почвы.

Навеску почвы, предварительно очищенной от корешков и камней и просеянную через сито с диаметром отверстий 0,25 мм, помещали в 50-миллилитровые колбы, сюда приливали 5 мл 0,05 М раствора аденина (или его производных), приготовленного на фосфатном буфере (рН 7,0) и 0,2 мл толуола. Колбы закрывали пробками и помещали в термостат при 30° на 24 часа. Контролем служила почва с дистиллированной водой. В течение опыта колбы периодически встряхивали. По истечении соответствующего времени в колбы приливали 25 мл 0,1 н раствора хлористого калия, перемешивали в течение 5 мин и затем фильтровали через плотный беззольный фильтр; 10 мл прозрачного фильтрата переносили в мерные колбы емкостью 100 мл, к нему приливали 2 мл 50%-ного раствора селитровой соли, разбавляли водой до 40—45 мл и тщательно перемешивали. Затем в колбы приливали 2 мл реактива Несслера, доводили до метки, перемешивали и через 10 мин колориметрировали, используя 5 мм кюветы и светофильтр с длиной волны 480—490 мμ. Активность дезаминаз выражали в миллиграммах аммиачного азота на 100 г почвы за сутки. Количество азота рассчитывали по формуле

$$N = \frac{a \cdot V_1 \cdot 100}{V_2 \cdot H}$$

где  $N$ —количество аммиачного азота, мг;  $a$ —количество аммиачного азота, найденное по калибровочной кривой;  $V_1$ —общий объем фильтрата, мл;  $V_2$ —объем аликвотной части фильтрата, мл;  $H$ —навеска почвы, г; 100—коэффициент для пересчета азота на 100 г почвы.

При получении окрашенного органическим веществом фильтрата его обесцвечивали. Для этого в фильтрат приливали 1—2 мл (в зависимости от интенсивности окраски) 0,2 н раствора цинка и тщательно

перемешивали. Затем добавляли эквивалентное количество 0,2 н раствора гидроксида натрия, перемешивали и фильтровали через плотный безазольный фильтр. Если этим способом не удавалось обесцветить фильтрат, то азот определяли перегонкой по методу Кьельдаля [1].

Опыты показали, что дезаминазы почвы активно действуют в нейтральной среде—рН 6,7—7,2. При изучении зависимости скорости дезаминазной реакции от температуры было выявлено, что после 40—50° ее активность падает. Согласно указаниям комиссии по ферментам [1962], определение активности дезаминаз проводили при 30°.

Исследование дезаминазной активности различных типов почв Армении показало, что наиболее высоким показателем ее характеризуются горно-луговые почвы и черноземы (табл.). Аминогидролазы почвы

Активность дезаминаз в некоторых типах почв Армении (мг N-NH<sub>3</sub> на 100 г почвы)

Почва	Горизонт глубины, см	Тумес. в	рН, (С/С)	Аденин-дезаминаза	АМФ-дезаминаза	АДФ-дезаминаза	АГФ-дезаминаза
Горно-луговая дерновая	А 0—10	16,8	5,0	28,5	31,5	49,5	12,0
Чернозем выщелоченный	А 0—12	11,6	6,6	27,0	36,0	33,0	12,0
Лесная дерново-карбонатная	А 3—13	11,4	7,8	10,5	21,0	24,0	10,5
Каштановая	А 0—26	3,0	8,0	3,0	7,5	18,0	3,0
Буряя полупустынная	А 0—8	2,0	8,0	6,0	10,5	15,0	3,0
Орошаемая лугово-буряя	А 0—28	2,5	8,1	4,1	8,2	16,5	8,2
Мелиорированный солончак-солончак	А <sub>0</sub> 0—25	1,3	7,6	5,0	6,2	6,0	6,1

предгорной зоны и Араратской равнины имеют сравнительно низкую активность. Учитывая то обстоятельство, что аденин входит в состав АТФ, АДФ и АМФ, эти соединения также были использованы в качестве субстрата. Во всех изученных почвах с наибольшей активностью действует АДФ-дезаминаза (КФ 3.5.4.7), затем АМФ-дезаминаза (КФ 3.5.4.6), наименьшей—АТФ-дезаминаза ((КФ 3.5.4.18).

Итак, в результате проведенных исследований в почве обнаружено действие фермента, катализирующего гидролитическое отщепление аминокислотной группы от аденина—адениндезаминаза, и разработана методика определения ее активности.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова Л. Н., Найденова О. А. Лабораторно-практические занятия по почвоведению. Л., 1976.
2. Гачян А. Ш. Ферментативная активность почв Армении. Ереван, 1971.
3. Вильямс А. Н. Микробиологические превращения азотсодержащих соединений в почве. Азы-Азы, 1976.
4. Лавига Ф. X. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв. М., 1982.
5. Шервакава Т. А. Ферментативная активность почв и трансформация органических веществ. Минск, 1983.
6. Пожеф Сэги, Методы почвенной микробиологии. М., 1983.

Поступило 1 VII 1987 г.

## КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГРОЗДИ ВИНОГРАДА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОДЕРЖАНИЯ НАТРИЯ В МЕЛИОРИРОВАННЫХ СОЛОНЦАХ-СОЛОНЧАКАХ

Г. П. ПЕТРОСЯН, Р. Г. САМЯН

НИИ биохимических и агрохимии Госагропрома АрмССР, Ереван

*Грозди винограда — зольные элементы — мелиорированная почва — натрий*

Повышение эффективности использования мелиорированных солонцов-солончаков Арзратской равнины при возделывании винограда возможно при определении реакции его на содержание ионов натрия в почве и учете физиолого-биохимических особенностей и качественных показателей сорта.

Результаты многолетних исследований показали, что при повышенном содержании обменного натрия в мелиорированной почве заметно подавляется рост и развитие виноградного растения, нарушается минеральный обмен в листьях и снижается интенсивность жизненных процессов [1].

Благодаря постоянному функционированию в растениях двух противоположных потоков — поглощения из среды корневой системой ионов и их выделение органами растений — поддерживается стабильный уровень концентрации ионов, находящийся в прямой зависимости от их содержания в почве.

Характер накопления и локализации минеральных элементов в органах растений существенно влияет на морфологические и биохимические признаки растений.

В настоящем исследовании представлены результаты изучения содержания зольных элементов грозди винограда при различных концентрациях ионов натрия в мелиорированной почве.

*Материал и методика.* Объектом исследования служили различные части грозди винограда сортов Гарзи Дмак, Тигриси и Клармаюг — мякоть, кожица, гребни и семена, — подразделяемого на мелиорированных почвах Ерасхаунской мелиоративной станции, содержащих не более 3—4 мг/кг почвы (нормальные растения) поглощенного натрия и на участках с повышенным содержанием солей, где концентрация натрия в почве составляет 5,0—6,0 мг/кг (угнетенные растения).

*Результаты и обсуждение.* Результаты исследований показали, что содержание зольных элементов в частях грозди винограда распределяется в следующем убывающем порядке: гребни — кожица — семена — мякоть (табл. 1). Между частями грозди нормальных и угнетенных растений в содержании зольных элементов выраженной разницы не отмечается. Выявлена определенная закономерность в локализации отдельных элементов зольных элементов.

Прежде всего обращает внимание значительное накопление натрия во всех частях грозди угнетенных растений. Его количество выше в мякоти, кожице и семенах в 2—3, а в гребнях в 4—5 раз. При этом значительно снижается содержание калия, который играет важную роль при образовании клеток и в процессе роста. Следует от-

Таблица 1. Содержание золы и ее состав в частях грозди нормальных и угнетенных растений винограда сорта Гаран Дмак, % от золы

Состояние растений. (части грозди)	Зола, %	Состав золы								
		Na <sub>2</sub> O	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	SO <sub>4</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	SiO <sub>2</sub>	
Нормальное										
мякоть	2,8	4,7	60,5	1,5	1,5	10,0	3,9	0,2	2,4	
кожица	4,3	4,1	57,1	4,0	1,9	6,4	4,5	0,2	2,4	
гребни	7,8	5,0	44,0	12,3	1,2	4,5	1,2	0,3	2,0	
семена	3,1	0,7	16,2	23,4	7,0	22,9	1,8	0,2	0,4	
Угнетенное										
мякоть	2,9	12,4	48,1	2,5	2,4	10,9	4,0	0,4	0,9	
кожица	5,1	11,4	45,7	5,5	2,3	10,2	5,6	0,3	0,4	
гребни	8,7	27,3	15,6	15,3	3,0	4,9	2,2	0,3	2,4	
семена	3,9	1,6	10,0	26,2	6,9	25,7	3,1	0,2	0,3	

видно, что грозди угнетенных растений обогащаются также кальцием, магнием и фосфором. В отношении серы и железа наблюдается обратная картина. Накопление кремния зависит главным образом от механического состава почвы. Когда корневая система виноградного растения, возделываемого на мелкорированных почвах, находится в песчаных слоях, в надземных и подземных органах растений содержание кремния в золе достигает 30—40% [1].

При нарушении минерального обмена значительно изменяются также морфологические признаки грозди, соотношение отдельных компонентов механического состава. Исследования показали, что наряду со снижением урожайности у угнетенных растений уменьшается средняя масса грозди, увеличивается относительная масса гребня, кожицы и семян (табл. 2), резко уменьшается размер ягод, масса 100 ягод и от-

Таблица 2. Изменение механического состава грозди у нормальных и угнетенных растений винограда сорта Гаран Дмак

Сорт, состояние растений	Средняя масса грозди, г	Масса 100 ягод, г	% от общей массы		Соотношение ча- стей ягод			Урожайность, ц/га	Сумма саха- ров, %	Кислотность, г/л	Сумма суо- позных амино- кислот	Сухое веще- ство, %
			гребня	кожица	мякоть	кожица	семена					
Нормальное	196	174	3,5	96,5	60,4	5,7	3,9	146	22,4	4,5	48	23,0
Угнетенное	108	138	5,2	94,8	88,0	6,9	4,8	64	23,1	4,2	67	26,1

носительная масса мякоти. Снижается сочность ягод и питательная ценность.

Известно, что содержание питательных элементов в том или ином сорте винограда генетически обусловлено. Однако на их накопление в ягодах значительное влияние оказывают почвенные условия возделывания.

Ранее нами было установлено, что в ягодах местных стандартных и новых селекционных сортов винограда, возделываемых в условиях мелкорированных, лугово-бурых и бурых полупустынных почв, темпы сахаронакопления и содержание их в зрелых ягодах неодинаковы. Э

условиях мелиорированных почв сахаристость ягод выше на 3,0—5,0%. При повышенном содержании натрия отмечались также сдвиги в накоплении отдельных форм сахаров. В незрелых ягодах помимо фруктозы и сахарозы, которые обычно содержатся в зрелых ягодах, было обнаружено неидентифицированное соединение пентановой природы [3]. Следует отметить, что улучшение углеводного обмена при применении натриевых удобрений имело место у сахарной свеклы [4].

Из данных табл. 2 следует, что ягоды угнетенных растений по сравнению с таковыми нормальных, отличаясь суммой сахаров, характеризуются также более высоким содержанием сухих веществ, обусловленным в свою очередь большим количеством соединений как органической, так и неорганической природы. Очевидно, этим можно объяснить обезвоживание ягод у угнетенных растений, что отражается на их вкусовых качествах.

В ягодах угнетенных растений отмечается также повышенная сумма свободных аминокислот. Однако у нормальных растений выше содержание ряда ценных в питательном отношении незаменимых аминокислот—лизина, гистидина, метионина, аргинина, синтезирующихся только в растительном организме.

Таким образом, при повышенном содержании в мелиорированной солонце-солончаке ионов натрия (свыше 5,0—6,0 мэкв) в результате его интенсивного накопления в частях грозди нарушается минеральный обмен в ягодах, изменяется химический состав и соотношение некоторых компонентов механического состава грозди, ухудшаются вкусовые качества ягод, что необходимо учитывать при определении допустимых концентраций солей натрия в мелиорированных солонцах-солончаках, заложенных под культуру винограда.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Петросян Г. П., Саакян Р. Г., Сакуцц А. Е. Тр. АриНИИВВиП, 8, 222, 1976.
2. Петросян Г. П., Саакян Р. Г. Известия АН АриССР (биол. науки), 11, 9, 31, 1961.
3. Яппоров Ф. М., Исхаков Ф. М. Резервы повышения продуктивности сахарной свеклы, Уфа, 1973.

Получено 17.XII 1987 г.

Биолог. ж. Армения, т. 11, № 2, 1988

УДК 631.461.577.15

### ЖЕЛЕЗОВОССТАНАВЛИВАЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ИНТЕНСИВНО ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПОЧВ АРАРАТСКОЙ КОТЛОВИНЫ АРМЯНСКОЙ ССР

Л. А. ХАЧИКЯН, И. А. ОГАНЕСЯН

Институт почвоведения и агрохимии Госагропрома АриССР

*Почвы Армении—железавосстанавливающая активность.*

Основным источником железа в почве являются первичные и вторичные минералы. В процессе их деструкции микроорганизмами железо

приобретает подвижность, вовлекается в биологический кругозорот. С наступлением биосферы в стадию неосферы к природным факторам почвообразования прибавляется хозяйственная деятельность человека, которая оказывает сильное влияние на функционирование микробного сообщества, особенно на его железовосстанавливающую активность. В этом процессе непосредственное участие принимают многие виды микроорганизмов, благодаря своим метаболитам, среди которых биологически активными являются ферменты [4—6].

Железовосстанавливающая активность особенно интенсивно исследуемых почв Армении почти не изучена.

*Материал и методика.* Исследования проводили на целинных и обрабатываемых содовых солонцах-солончаках, бурых, орошаемых лугово-бурых, каштановых почвах и в их обрабатываемых вариантах Араратской котловины (Октемберянского, Эчмиадзинского, Назранского районов), зябятих под различные культуры. Железовосстанавливающие микроорганизмы определяли на модифицированной среде [3], активность ферриредуктазы—по Галетяну [2], железовосстанавливающую активность—по разработанной нами методике [3], результаты обработаны по таблице Мак-Креди,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ —по Козариновой-Окиной [1].

*Результаты и обсуждение.* Исследования показали, что восстановление окиси железа в почве зависит от количества двухвалентного железа, находящегося в ней, и протекает при участии микроорганизмов. Основную роль в аккумуляции железа играют гетеротрофные микроорганизмы. Этот процесс характерен для переувлажненных и азируемых почв.

Установлена закономерность в распространении железовосстанавливающих микроорганизмов в почвах Араратской котловины. Максимальное количество их в процентах от общего числа микроорганизмов обнаружено в солонцах-солончаках, орошаемых лугово-бурых, каштановых и бурых почвах. Восстановление соединений железа характерно для почвообразовательных процессов гумидных районов с преобладанием анаэробных условий в почвенном профиле до глубины 130 см (орошаемая лугово-бурая почва). Свообразный гидрометрический режим орошаемых лугово-бурых почв создает благоприятные условия для активности железовосстанавливающих процессов. В мелиорированных почвах железовосстанавливающая активность также высокая.

В окультуренных бурых и каштановых почвах процесс восстановления окиси железа, по сравнению с необрабатываемыми вариантами, активнее в 2—3 раза, а в мелиорированных солонцах-солончаках в 5 раз; активизируется также ферриредуктазная активность почвы. В этом процессе участвуют многие гетеротрофные микроорганизмы, обладающие способностью при помощи биокаталитических реакций преобразовывать трехвалентное железо в более подвижную двухвалентную форму.

Гетеротрофные микроорганизмы обладают способностью не только разлагать органоминеральные комплексы, но и одновременно окислять закисное железо и накапливать его окисную форму на поверхности клетки. Этой способностью обладают железомарганцевые микроорганизмы рода *Pedamicrobium*, играющие важную роль в аккумуляции трехва-

Почва, культура	Глубина, см	Микроорга- низмы, млн		Мг г почвы				
		железосос- тавляю- щие	железомар- ганцевые	ферrire- дуктаза	железосос- тавляю- щая ак- тивность	Fe <sup>2+</sup>	Fe <sup>3+</sup>	
Солончак-солончак	целина	0-25	0.23	еднич.	4.04	0.05	0.12	2.02
	виноградник	0-25	1.25	0.17	10.00	18.12	0.16	0.51
Орошаемая луго- во-бурая	абрикосовый сад	0-30	1.29	0.28	14.05	20.97	1.05	2.99
Бурак	целина	0-18	0.74	нет	2.06	4.99	нет	1.52
	виноградник	0-23	1.28	0.05	3.03	6.04	0.12	1.92
Каштановая	целина	0-9	0.29	0.28	4.10	7.04	нет	0.51
	виноградник	0-24	0.88	0.40	5.95	18.00	нет	1.04

лентного железа в интенсивно используемых почвах. Численность указанных микроорганизмов в мелиорированных солончаках-солончаках по профилю падает не так резко, как содержание гумуса, что объясняется способностью довольствоваться небольшим количеством органического вещества и кислорода. *Pedamicrobium* развивается на средах с органоминеральными комплексами, не развивается на общепринятых для выращивания сапрофитов средах, активно восстанавливает окись железа до 90 мг Fe<sup>2+</sup> - на 1 мл культуральной жидкости.

На основании многочисленных данных установлена положительная корреляционная связь между количеством железомарганцевых микроорганизмов, активностью ферриредуктазы, содержанием гумуса и подвижного железа в почве (коэффициент корреляции находится в интервале от  $r = 0,56 \pm 0,16$  до  $r = 0,78 \pm 0,08$ ,  $t = 3,5-9,7\%$ ).

Таким образом, выявлена закономерность в распространении железомарганцевых микроорганизмов и интенсивно используемых мелиорированных солончаках-солончаках и орошаемых лугово-бурых почвах. Подтверждается роль железомарганцевых микроорганизмов в растворении и миграции железа и его соединений в почве.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова Л. Н., Найденова О. А. Лабораторно-практические занятия по почвоведению. 117-120. Л., 1967.
2. Галстян А. Ш., Оганесян Н. А. ДАН АрмССР, 55, 5, 51-54, 1972.
3. Галстян А. Ш., Хачикян Э. А., Оганесян Н. А. Бислог. ж. Армении, 26, 12, 29-33, 1973.
4. Шалабова Б. Б. Почвоведение, 8, 145-149, 1976.
5. Bromfield S. M. Soil. sci., 5, 1, 29-37, 1954.
6. Ottow J. C. G. Z., Allgem., Mikrobiologia, 10, 1, 55-60, 1970.

Получено 10.11.1987 г.

## ДЕЙСТВИЕ ГИББЕРЕЛЛИНА НА РОСТ, РАЗВИТИЕ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ПШЕНИЦЫ

О. Х. ТАДЖИРЯН, Н. П. БЕГЛЯРЯН

Ереванский государственный университет, кафедра ботаники и цитологии

*Ростение пшеницы—гиббереллин—предпосевная обработка.*

О положительных результатах производственных испытаний ГАЗ методом предпосевной обработки семян сельхозкультур свидетельствуют данные литературы [1—6]. Ранее нами были выявлены оптимальные концентрации и экспозиция ГАЗ, которые оказывают значительное стимулирующее действие на ранние стадии онтогенеза пшеницы Безостая 1. В настоящей работе представлены результаты изучения этих концентраций ГАЗ на рост и развитие растений пшеницы сорта Безостая 1.

**Материал и методика.** Опыты проводили на биостанции ЕГУ (Норагюх), в двух повторностях по 100 растений в каждом варианте, использовали ГАЗ четырех концентраций (0,01, 0,02, 0,05, 0,1%) с 4-часовой экспозицией. Отмечались даты массового трубкования, колошения и созревания. Изучали следующие количественные признаки: длину и диаметр главного стебля, число продуктивных стеблей, длину главного колоса, число колосков и зерен в главном колосе и массу 1000 семян. Статистическая обработка материала проведена с использованием традиционных методов количественного анализа [7].

**Результаты и обсуждение.** Опыты показали, что предпосевная обработка семян пшеницы ГАЗ на протяжении всего онтогенеза значительно стимулирует рост и развитие растений (табл.). Так, например, в стадии трубкования разница между контролем и обработанными растениями составляет при массовом прохождении 3—6 дней, в фазе колошения—5—9 дней. Стимулирующее действие ГАЗ сохраняется до конца вегетации. При массовом созревании разница между обработанными растениями и контролем достигает 4—8 дней.

Результаты исследования количественных признаков растений пшеницы свидетельствуют о положительном действии всех испытываемых концентраций ГАЗ (табл.). Обработанные растения высотой и толщиной главного стебля превосходят контрольные соответственно на 6,04—9,89 и 0,02—0,06 см; числом продуктивных стеблей на 1,36—2,06. Разница значительна и в длине главного колоса, числе колосков и зерен на нем и массе 1000 семян. Это особенно наглядно проявляется в вариантах с 0,02%, 0,05%-ной концентрациями ГАЗ. В варианте с 0,02%-ной концентрацией при 4-часовой экспозиции растения по величине главного колоса превосходили контроль на 1,15 см, по количеству колосков в главном колосе—на 1,60, по количеству зерен в главном колосе—на 10,06 и, наконец, по массе 1000 семян—примерно на 2 г.

Как показывают приведенные данные, выделенная эффективная концентрация ГАЗ оказывает значительное положительное действие не только на рост и развитие растений пшеницы, но и на продуктивность ее. Полученные показатели количественных признаков обработанных

Влияние  $GA_3$  на развитие и количественные признаки пшеницы сорта Белюстая 1.

Варианты опыта, %	Даты массового			Длина главного стебля, см	Диаметр главного стебля, см	Число продуктивных стеблей	Длина главного колоса, см	Число колосков главного колоса	Число зерен главного колоса	Вес 1000 семян, г
	трубкавания	колошения	созревания							
Контроль	11.05	20.05	22.07	73.72±1.061	0.43±0.007	4.41±0.307	9.71±0.200	18.30±0.323	28.38±1.245	37.385
$GA_3$ 0,01	8.05	14.05	18.07	79.76±0.774	0.45±0.007	5.77±0.312	10.10±0.118	18.85±0.328	32.61±0.998	38.150
$GA_3$ 0,02	5.05	11.05	14.07	81.09±0.830	0.48±0.005	6.47±0.177	10.86±0.168	19.90±0.279	28.44±0.901	39.325
$GA_3$ 0,05	6.05	13.05	16.07	83.61±0.741	0.47±0.006	6.09±0.293	10.26±0.109	19.73±0.238	36.36±1.146	36.685
$GA_3$ 0,1	7.05	15.05	18.07	82.17±1.095	0.47±0.006	5.97±0.346	10.11±0.136	19.62±0.254	32.67±0.947	34.515

растений в пересчете на гектар свидетельствуют о возможности повышения продуктивности и улучшения качества продукции этой ведущей сельскохозяйственной культуры с помощью ГА<sub>3</sub>.

Таким образом, для пшеницы оптимальной концентрацией ГА<sub>3</sub>, обеспечивающей стимуляцию роста и развития растений на протяжении всей вегетации и улучшение основных показателей продуктивности, считаем 0,02%-ную концентрацию при 4-часовой экспозиции обработки.

Внедрение метода предпосевной обработки семян ГА<sub>3</sub> в сельское хозяйство при возделывании пшеницы целесообразно и перспективно. Это подтверждается результатами производственных испытаний в некоторых хозяйствах республики, которые будут опубликованы отдельно.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бедларь Н. П., Аветисян А. В. Биолог. ж. Армении, 33, 7, 1980.
2. Бедларь Н. П., Аветисян А. В. Тез. докл. I Всесоюз. конф. по регуляторам роста и развития растений, М., 1981.
3. Бедларь Н. П. Тез. докл. Юбил. сессии, посвящ. 60-летию образования СССР, Ереван, 1982.
4. Бедларь Н. П., Саркисян С. А., Галстян А. Ш. Уч. зап. ЕГУ, 1, 1984.
5. Бедларь Н. П., Пивизян А. А., Абрамян Я. Х. Биолог. ж. Армении, 38, 7, 1985.
6. Бедларь Н. П. Биолог. ж. Армении, 39, 10, 1986.
7. Урбах В. Ю. Биометрические методы, М., 1964.

Поступило 3.VII 1987 г.

## ХРАНЕНИЕ КУЛЬТУР КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ В РАСТВОРЕ ХЛОРИСТОГО НАТРИЯ

А. Д. НАЛБАНДЯН, Ф. С. МАТЕВОСЯН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Разработан способ хранения клубеньковых бактерий люцерны и эспарцета в 2%-ном растворе хлористого натрия, обеспечивающий их длительную выживаемость с сохранением культурально-морфологических, физиолого-биохимических свойств, вирулентности и азотфиксирующей активности.

Данных о хранении клубеньковых бактерий в растворе хлористого натрия в доступной нам литературе нет.

Выживаемость клубеньковых бактерий определяли методом последовательных разведений на агаризованных пластинках; физиолого-биохимические свойства — на разных питательных средах и аукениографическим методом; вирулентности и азотфиксирующую активность — микроvegetационным методом.

Исследования показали, что количество жизнеспособных клеток клубеньковых бактерий люцерны и эспарцета при хранении в 2%-ном растворе хлористого натрия выше, чем в 0,85%-ном. В 2%-ном растворе в конце хранения количество жизнеспособных клеток этих бактерий составляет 5—14%, а 0,85%-ном — 4—11%.

Изучение усвоения различных источников азота и углерода, а также других физиолого-биохимических особенностей культур после 30-месячного хранения в 0,85%- и 2%-ном растворах хлористого натрия показало, что указанные свойства у них остались неизменными.

Клубеньковые бактерии люцерны и эспарцета, хранившиеся в растворах хлористого натрия в течение 30 месяцев, сохранили способность к инокуляции растения-хозяина и к фиксации атмосферного азота. Растения, инокулированные бактериями, хранившимися в 2%-ном растворе, развивались несколько лучше, чем растения, инокулированные бактериями, хранившимися на агаризованной среде бобового отвара.

Таким образом, примененный метод хранения клубеньковых бактерий люцерны и эспарцета в 2%-ном растворе хлористого натрия позволяет сохранить их жизнеспособность, эффективность, культуральные и физиолого-биохимические свойства.

8 с. библиогр. 11 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНТИИ

Поступило 10.IX 1987 г.

# ФЕРМЕНТАТИВНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ПОЛУЧЕНИЕ L-АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ. I. АСПАРТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ИНТАКТНЫХ КЛЕТОК БАКТЕРИИ

В. А. АБЕЛЯН, В. С. МЕЛНКСЕТЯН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Ферментативно-микробиологическое получение различных физиологически активных соединений является одним из перспективных направлений современной биотехнологии, тем более что использование иммобилизованных форм клеток и ферментов микроорганизмов позволяет осуществить этот процесс в проточных условиях. Достаточно изученным в этом плане является получение L-аспарагиновой кислоты с применением продуцента аспартазы культуры *Escherichia coli*.

Выявление и изучение новых культур-продуцентов аспартазы позволили бы создать более активные и стабильные системы, тем самым интенсифицировать процесс и увеличить выход целевого продукта за единицу времени.

В настоящей работе представлены данные об интактных клетках двух новых культур бактерий-продуцентов аспартазы *Erwinia aroidea* и *Bacillus subtilis* из коллекции культур Института микробиологии АН АрмССР (ИИМНА).

Показано, что для клеток *E. aroidea* оптимальный pH равен 9,0, а для *B. subtilis*—10,0. При этом клетки *B. subtilis* более чувствительны к изменениям pH.

Для выявления оптимальной температуры для аспартазы интактных клеток было исследовано образование L-аспарагиновой кислоты в интервале температур от 20° до 70° из 1М раствора фумарата аммония с pH 8,5 в течение 1 часа. Установлено, что оптимальная температура для клеток *E. aroidea* составляет 50°, а для *B. subtilis*—55°.

Изучение стабильности интактных клеток при различных pH и температурах показало, что они более стабильны при pH 8,5 и температуре 37°, хотя в этих условиях клетки проявляют в среднем 80% активности от максимальной.

Ионы различных двухвалентных металлов оказывают защитное влияние на аспартазную активность клеток. Наилучшие результаты дает использование ионов  $Mg^{2+}$  в концентрации 1 мМ. При этом после тепловой обработки клетки сохраняют в 2—3 раза больше активности, чем без добавления ионов.

В указанных условиях аспартазная реакция протекает нулевым порядком, о чем свидетельствует характер кривых накопления L-аспарагиновой кислоты и расхода фумарата аммония во времени.

Таким образом, для успешного осуществления процесса трансформации фумарата аммония в L-аспарагиновую кислоту необходимы pH 8,5 и температура 37°, а в качестве раствора предшественника—1М раствор фумарата аммония с добавлением 1 мМ ионов  $Mg^{2+}$ .

9 с., табл. 7, библиогр. 7 назв.

Полный текст статьи деп. в ВНИИТИ

Поступило 27 I 1978 г.

## ФЕРМЕНТАТИВНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ПОЛУЧЕНИЕ L-АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ. II. ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ АСПАРТАЗЫ *ERWINIA AROIDEA*

В. А. АБЕЛЯН, В. С. МЕЛНИКЕТЯН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Для успешного осуществления биотрансформации фумарата аммония в L-аспарагиновую кислоту необходима возможно полная характеристика аспартазы, ответственной за этот процесс. Использование интактных клеток бактерий ограничено тем, что конечный продукт получается с примесями яблочной кислоты, поскольку они обладают также и фумаразной активностью. Использование аспартазы может решить проблему получения чистого целевого продукта, а также намного увеличить его выход благодаря более высокой активности биокатализатора.

В настоящей работе представлены данные о внутриклеточной аспартазе из клеток *Erwinia aroidea*.

Для получения ферментного препарата суспензия клеток подвергалась ультразвуковой обработке в течение трех минут, что обеспечивало разрушение клеток на 95%. Разрушенный экстракт центрифугировали и из надосадочной жидкости осаждали внутриклеточную аспартазу с помощью сульфата аммония. Очистку аспартазы проводили сепадексом G-200. Гомогенная по гель-электрофорезу аспартаза имеет оптимум активности при температуре 50° и pH 8,5.

Установлено, что фермент более стабилен при 37°, что и целесообразно использовать при проведении реакции трансформации.

Нами исследовано также действие на аспартазу различных ионов двухвалентных металлов. Выявлено, что все испытанные ионы оказывают защитное влияние на аспартазную активность фермента. Исключения составляют только  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ . Лучшие результаты дает использование ионов  $\text{Mg}^{2+}$ , оптимальная концентрация которых составляет 1 мМ.

Кинетические кривые накопления L-аспарагиновой кислоты и расхода фумарата аммония во времени соответствуют реакции нулевого порядка.

Для гомогенного внутриклеточного фермента  $K_m = 0,42 \text{ M}$ , а  $V_{max} = 13,3 \text{ мМ/мин}$ .

После проведения трансформации в конечном продукте не обнаруживается яблочной кислоты.

Таким образом, выделен, очищен и частично охарактеризован внутриклеточный фермент с аспартазной активностью, который может быть применен при ферментативно-микробиологическом получении L-аспарагиновой кислоты из фумарата аммония.

9 с., табл. 6, библиогр. 7 назв.

Полный текст статьи деп. в ВНИИТИ

Поступило 27.XI 1987 г.

## ПОДБОР БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ В ЗАКВАСКУ ДЛЯ ДИЕТИЧЕСКОГО АЦИДОФИЛЬНОГО СЫРА «МАСИС»

К. С. ГЕЗАЛЯН, А. С. САГОИИ, Э. Х. ДИЛАНЯН

Ереванский зоотехническо-ветеринарный институт

В статье отражены результаты изучения культурально-морфологических и биохимических свойств местных штаммов молочнокислых бактерий, предназначенных для включения в закваску диетического сыра «Масис».

Культуры отбирались по времени свертывания, кислотообразующей и протеолитической активностям, плотности сгустка, солеустойчивости, накоплению характерных для данного вида сыра свободных аминокислот, летучих жирных кислот и карбонильных соединений.

У штаммов, имеющих удовлетворительные показатели по вышеперечисленным свойствам, исследовали характер взаимоотношений.

В закваску вошли те культуры, которые оказались симбионтами.

Использование составленной нами закваски, в производственных условиях при приготовлении диетического сыра «Масис» дало положительные результаты.

9 с., библиогр. 7 назв.

Полный текст статьи деп. в ВНИИТИ

Поступило 7.1.1987 г.

## МУЧНИСТОРОСЯНЫЕ ГРИБЫ (СЕМ. *ERYSIPHACEAE*) БАСЕЙНА оз. СЕВАН

С. А. СИМОНЯН, Р. В. ХАЧАТУРЯН

Институт ботаники АН АрмССР, Ереван

В бассейне оз. Севан обнаружено 43 вида и 7 вариаций мучнисторосяных грибов из 9 родов. Они поражают 131 вид цветковых растений из 97 родов и 28 семейств. Ведущими родами мучнисторосяных грибов в бассейне являются *Erysiphe* (16 видов на 17 видах растений из 55 родов) и *Sphaerotheca* (12 видов на 26 видах растений из 19 родов). На втором месте в родовом спектре стоят *Microsphaera* (5 видов на 9 видах растений из 6 родов) и *Leveillula* (4 вида на 8 видах растений из 7 родов). По среднему числу видов в роде (4,5) последняя группа заметно отстает от ведущей, где среднее число видов в роде составляет 14. Во второй группе следует выделить монотипный род *Blumeria*, единственный вид которого *B. graminis* (DC.) Spegg отмечен на 12 видах из 7 родов семейства злаковых и занимает с точки зрения круга

растений-хозяев промежуточное место между ведущей и второй группами. В распределении родов мучнисторосяных и спектре важную роль играет экологический фактор, обусловленный природно-климатическими условиями региона: роды *Erysiphe* и *Sphaerotheca* вообще богаты видами, пластичны и приспосабливаются к разнообразным условиям существования, среди представителей *Microsphaera* преобладают виды, приуроченные к луговым растениям, виды рода *Leucostoma* встречаются в основном в возникших после спуска вод оз. Севан новых полупустынных формациях и ксерофитных местообитаниях северного побережья озера и т. д.

Более половины семейств растений-хозяев (15 из 28) имеет в своем составе от 2 до 21 вида растений-хозяев, при этом на представителях 9 семейств отмечено от 2 до 5 видов мучнисторосяных. Среднее число родов хозяев в первых 15 семействах составляет 3,5, уровень богатства родов хозяев выше среднего имеют 7 семейств—*Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Boraginaceae*, *Poaceae*, *Fabaceae*, *Rosaceae*, *Brassicaceae*. Эти крупные, экологически пластичные семейства являются ведущими с точки зрения поражаемости мучнисторосяными грибами.

Характерные для отдельных типов растительности виды очень немногочисленны, гораздо чаще в различных формациях развиваются одни и те же виды мучнисторосяных грибов, однако круг хозяев их в этих местообитаниях значительно отличается, что, несомненно, свидетельствует о большой амплитуде их приспособляемости.

Наиболее благоприятными для развития мучнисторосяных грибов являются горные степи и горные луго степи, т. е. высоты от 1900 до 2400 м. Качественный и количественный состав мучнисторосяных в субальпийских лугах (2300—2800 м) с увеличением высоты постепенно обедняется, и на границе с альпийскими низкотравными лугами встречаются лишь единичные виды.

Среди мучнисторосяных грибов бассейна оз. Севан имеются редкие виды, собранные в Армении только из данного флористического района (*Sphaerotheca parietariae* (Schwarz.) U. Braun et Simonian, *S. helianthemii* Junell) или единично отмеченные в других районах (*S. fugax* Penz. et Sacc., *S. spiraeae* Sawada). Вредоносными или потенциально опасными видами являются *Podosphaera leucotricha* (Ell. et Ev.) Salm., *Sphaerotheca pannosa* (Wallr.: Fr.) Sacc., *Microsphaera alphitoides* Griff. et Maubl., а также ряд видов на травянистых растениях и луговых и степных ценозах.

10 с., библиогр. 14 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНИТИ

Поступило 30 VII 1987 г.

## НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА ГЛИКОСФИНГОЛИПИДОВ В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ЦЕРЕБРОЗИДОВ

*О. П. СОЦКИЙ, Г. М. САРКИСОВА, Ш. Л. ШАХБАТЯН, Г. А. ЧУХАДЖИИ*

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра неорганической химии

Изучена возможность воспроизведения феномена накопления глико-сфинголипидов в тканях висцеральных органов путем длительного введения суммарной фракции мозговых цереброзидов. Выбор последней обусловлен доступностью ее как препарата для проведения большого числа исследований и общностью строения с гликосфинголипидами висцеральных органов.

Установлено, что к концу третьего месяца от начала введения препарата имеет место увеличение содержания нейтральных гликосфинголипидов в крови и тканях (печень, селезенка). Обнаружены определенные сдвиги и в уровне кислых гликосфинголипидов, что, возможно, свидетельствует об усилении биосинтеза изучаемых веществ, с одной стороны, и подавлении их распада — с другой.

Подтверждением наличия последнего является выявленное снижение активности ряда  $\beta$ -гликозидаз — ферментов, участвующих в процессе катаболизма гликосфинголипидов в исследованных тканях.

9 с., библиогр. 18 назв.

Полный текст статьи деп. в ВНИИТИ, № 9067-В87 от 24 XII 1987 г.

Поступило 5.XI 1986 г.

## КОНЦЕНТРАЦИЯ КАТЕХОЛАМИНОВ В ЖЕЛУДОЧНОМ СОКЕ ПРИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ

*Т. Л. ВИРАБЯН, В. М. АРУТЮНЯН, Л. Т. ВИРАБЯН, Г. А. ЕГАНИЯ*

Ереванский государственный медицинский институт,  
кафедра технологии лекарств и внутренних болезней

Анализ количественных сдвигов в концентрации катехоламинов в желудочном соке у больных и здоровых лиц показал, что у последних катехоламины в базальном желудочном соке присутствуют в виде свободных и связанных фракций. При язвенном поражении слизистой желудка и особенно 12-перстной кишки, наряду с резким повышением концентрации суммарных моноаминов наблюдается столь же резкое понижение уровня связанных (конъюгированных) биоаминов в секрете желудка. Следовательно, можно допустить, что у практически здоровых лиц в физиологических условиях часть секретируемых слизистой оболочкой желудка катехоламинов инактивируется путем связывания их компонентами желудочного сока, в первую очередь с мукополисахаридами. У больных язвенной болезнью желудка и 12-перстной киш-

ки в результате понижения защитной функции слизистой оболочки желудка существенно понижается продукция слизи и ее составных частей—глицергликолипидов, гликопротеинов, гексозамина, фукозы, салиловой кислоты. В связи с этим значительно подавляется процесс конъюгирования исходных моноаминов в полости желудка, и они обильно выделяются в составе желудочного сока, преимущественно в свободном состоянии. Полученные данные свидетельствуют о том, что перевозбуждение экскреции катехоламинов при длительном течении язвенной болезни с многолетним анамнезом приводит к постепенному истощению тканевых запасов катехоламинов и, вероятно, угнетению их биосинтеза. Апогеем указанного процесса является извращение реакции слизистой желудка и ответ на безусловный пищевой раздражитель при язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки. Истощение катехоламиновых запасов в слизистой играет важную роль в патогенезе язвенного поражения слизистой оболочки желудка 12-перстной кишки при язвенной болезни.

9 с., библиогр. 19 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНТИИ

Поступила 24 VIII 1980 г.

## МОДУЛЯЦИЯ ИОННЫХ ТОКОВ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ГЕНЕРАЦИЮ ПОТЕНЦИАЛОВ ДЕЙСТВИЯ НА МЕМБРАНЕ НЕЙРОНОВ УЛИТКИ, ОСМОТИЧЕСКИМ ГРАДИЕНТОМ

Г. Е. РЫЧКОВ

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван

Исследование функциональной роли Na, K-насоса и жизнедеятельности клетки показало, что кроме поддержания концентрационного градиента ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  на мембране, Na, K-насос играет важную роль в регуляции клеточного объема. Активация насоса приводит к уменьшению объема клетки и сморщиванию ее поверхности. Этот процесс сопровождается уменьшением числа функционально активных белковых молекул на мембране. Потенциалнезависимое подавление спонтанной активности клетки при активации Na, K-насоса частично объясняется уменьшением числа функционирующих электровозбудимых каналов на мембране. Однако уменьшение объема клетки является следствием выхода потока воды, имеющего место при выбросе осмотически активных частиц наружу, а как было недавно установлено, сам поток воды также действует на свойства электровозбудимых каналов.

Цель настоящей работы заключалась в исследовании действия потока воды, создаваемого осмотическим градиентом, на ионные токи, обеспечивающие генерацию потенциалов действия на мембране нейронов улитки. Опыты проводились на дивалонизованных нейронах улитки *Helix pomatia* в режиме фиксации потенциала.

Установлено, что выходящий поток воды уменьшает амплитуду входящих натриевых и кальциевых токов и замедляет их кинетику, а на выходящие калиевые токи действует противоположным образом — ускоряет активацию и увеличивает амплитуду тока. Одной из причин изменения величины тока является сдвиг равновесных потенциалов для ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ . Предполагается, что второй причиной, возможно, является модификация воротных устройств каналов, в результате которой часть каналов, ответственных за деполяризацию мембраны, во время ПД удерживаются в закрытом состоянии, а число калиевых каналов, ответственных за генерацию гиперполяризационного тока, увеличивается. Последнее подтверждается тем, что в гипертоническом растворе увеличивается максимум насыщения кривой доза—эффект зависимости амплитуды K тока от концентрации ТЭА<sup>+</sup> в растворе.

В работе обсуждается возможное физиологическое значение обнаруженных фактов.

21 с., библиогр. 23 назв.

Полный текст статьи деп. в ВНИИТИ, № 8022-В87 от 13.XI 1987 г.

Поступил в ВНИИТИ 7.XI 1987 г.

## О ВИДОВОМ СОСТАВЕ ООМИЦЕТОВ ОЗ. СЕВАН, РАЗВИВАЮЩИХСЯ НА ИКРЕ РЫБ

Л. Л. ОСИПЯН, Л. А. АКОПЯН, Г. С. ВАРДАНЯН

Ереванский государственный университет

Впервые в Армянской ССР проведены исследования по выявлению состава микроскопических водных грибов—оомицетов, развивающихся на икринках севанских сигов и форелей. Идентифицировано 8 видов оомицетов:

*Achlya polyandra* Hildebrand, *Saprolegnia dictyna* Humphrey, *Saprolegnia mixta* De Bary, *Saprolegnia monoica* Pringsheim, *Saprolegnia parasitica* Coker, *Saprolegnia* sp. 32, 45, 50.

Полученные результаты показывают, что поражение икры на рыбзаводах связано с развитием весьма распространенных по акватории оз. Севан этих видов оомицетов, являющихся потенциальными паразитами рыб и икры.

В связи с этим возникает настоятельная необходимость более детального изучения экологии водных грибов оз. Севан, развивающихся на икре севанских рыб, и разработке профилактических мер по борьбе с вызываемыми ими заболеваниями.

7 с., библиогр. 7 назв.

Полный текст статьи деп. в ВНИИТИ

Поступило 18.XI 1986 г.

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

СИМОНЯН С. А. Braun Uve. A monograph of the *Erysiphales* (powdery mildews). Beihefte zur Nova Hedwigia, Heft 89. Berlin—Stuttgart, 1987, 700 p., 316 plates.

Паразитные мучнисторосяные грибы (сем. *Erysiphaceae*, *Ascomycetes*) широко распространены по земному шару и являются возбудителями опасных заболеваний большого числа культурных и дикорастущих растений. Литература по вопросам, связанным с этими грибами как объектами флористики, систематики, биологии и фитопатологии, чрезвычайно многочисленна. Вместе с тем имеющиеся флористико-систематические работы в основном носят узкорегionalный характер. Книги, в которых мучнисторосяные рассматриваются в мировом масштабе (Сальмон, 1902; Ячевский, 1927), уже давно устарели с таксономической и флористической точек зрения. Очень ценные в этом плане работы Блумера (1933, 1967) касаются в основном европейских видов, не всегда отражают новые материалы по этой группе грибов и не отвечают требованиям Международного кодекса ботанической номенклатуры. Поэтому выход в свет монографии крупнейшего эрицифолога Уве Брауна (ГДР), несомненно, является событием в систематике и флористике грибов.

Книга состоит из следующих разделов.

В кратком предисловии (стр. 1—2) приводится общая оценка значимости мучнисторосяных грибов в настоящему времени, перечислены материалы, использованные в работе и свидетельствующие об охвате мучнисторосяных в мировом масштабе. Плучевы практически почти все типовые материалы из всех микологических гербариев, включая отечественные.

В общей части книги, «Введении» (стр. 3—47), имеющей четыре раздела, приведен краткий исторический обзор и дана критическая оценка всем общим и крупным региональным работам по мучнисторосяным грибам, в том числе и публикациям отечественных микологов (Ячевского, Голубина), которыми до последнего времени продолжают в основном руководствоваться исследователи нашей страны. Описаны морфология и анатомия отдельных структур, несовершенной и совершенной стадий мучнисторосяных, их развитие, жизненный цикл. Особое внимание уделено таксономической ценности признаков. Краткие, но важные сведения приводятся о биологии, экологии, распространении, круге хозяев, мерах борьбы с вредоносными видами. Здесь же рассмотрено место мучнисторосяных в системе грибов и дается новая классификация семейства, разработанная автором. Большой интерес представляет гипотеза Брауна и филогенетических взаимоотношениях в пор. *Erysiphales*, являющаяся дальнейшим усовершенствованием предложенной им схемы (1981). Завершается этот раздел обоснованием концепции вида, в основе которой лежат морфологические, биологические признаки и географическое распространение.

Основной объем монографии отведен под специальную часть (стр. 47—621). Определение родов мучнисторосяных может быть осуществлено с помощью двух ключей: по морфологическим признакам гриба и по семействам питающих растений. Последний особенно удобен в тех случаях, когда на представителях данного семейства растений паразитирует несколько родов или видов мучнисторосяных.

Далее приводятся описание родов, ключи для определения видов, крупных родов (*Sphaerotheca*, *Erysiphe*, *Microsphaera*, *Uromyces*); помимо общего ключа разработаны отдельные ключи для европейских и американских видов, что значительно облегчает

использование их при региональном подходе. Для каждого таксона приводятся следующие сведения: ссылка на первоописание, синонимика, анорморфа, типовой вид, литература, экзекваты, детальное описание, растения-хозяева, географическое распространение, примечания. Подавляющее большинство таксонов проиллюстрировано (в работе имеется 316 таблиц, каждая с большим числом хорошо выполненных рисунков). В целом в определительную часть работы включено 515 видов (телеоморф и анорморфы).

В четвертом разделе работы (стр. 621—629) помещен список исключенных или сомнительных видов, обоснованном, иногда довольно пространном, для каждого.

Список литературы (пятый раздел, стр. 629—653) по существу является библиографией по мучнисторосяным грибам и имеет самостоятельную справочную ценность, так как охватывает всю имеющуюся в мире информацию о флоре, систематике, географии этой группы и по смежным вопросам, отраженную от самых ранних источников до работ текущего года. Содержание последних нашло отражение в приложении (стр. 654—663). Работу завершают указатели родов растений-хозяев (стр. 664—679) и названий грибов (стр. 680—700), облегчающие пользование книгой.

Значение капитального труда У. Брауна трудно переоценить. С систематической точки зрения мучнисторосяные грибы представляют собой довольно компактную группу родов, хорошо отличающихся друг от друга, но видовые признаки в пределах некоторых родов нередко недостаточно четки и выявляются лишь при внимательном сравнительном изучении. Поэтому широко практиковалось определение видов мучнисторосяных в пределах родов почти исключительно по признаку растения-хозяина с разделением специализированных по семействам и родам (Ячевской, 1927; Голован, 1956) форм. Это создавало иллюзию того, что мучнисторосяные являются легкой для определения группой грибов, и явилось причиной многих ошибок. Кроме этого, сведения о большом числе новых видов эризафальных были опубликованы в редких, труднодоступных изданиях, но и они не всегда соответствовали современным номенклатурным требованиям. Несомненной заслугой У. Брауна является тщательное сравнительное изучение обширнейшего гербарного материала, выявление и критический анализ большинства типовых образцов, упорядочение номенклатуры мучнисторосяных, критическое сведение разрозненных данных об этой группе грибов. Безусловно, считать, что в монографии разрешены абсолютно все сложные вопросы систематики мучнисторосяных было бы неверным. Это отмечает и сам автор монографии. Остаются еще сборными некоторые виды, например, *Sphaerotheca fusca*, *Erysiphe orontii*, *Leveillula taurica* (род *Leveillula* в целом нуждается в детальном исследовании), вид *Uncinula prunastri*, по данным В. П. Гелюты (персональное сообщение, подтверждаемое на материале из Армении), следует отнести к роду *Uncinula*, возможны и другие классификации семейства, иные гипотезы о филогенетических связях между родами и т. д. Однако все это ни в коей мере не умаляет неоспоримого значения подвижнического труда У. Брауна. Монография его будет настоящей книгой эризафологов и, несомненно, послужит стимулом дальнейших исследований мучнисторосяных грибов на качественно более высоком уровне.

