

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
Հ Ա Ն Դ Ե Ս

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
Ж У Р Н А Л
АРМЕНИИ

Журнал издается на армянском и русском языках

Այստան քեսաբանակ անդես

«Հայաստանի կենսաբանական հանդեսը հրատարակվում է Հայկական ՍՍՀ Գիտությունների ակադեմիայի կողմից և տպագրում է հոգվածները բուսաբանության, կենդանաբանության, ֆիզիոլոգիայի, կենսաֆիզիայի, կենսաֆիզիկայի, մանրէաբանության, գենետիկայի և բնորոշումը ու կիրառական կենսաբանության այլ բնագավառների վերաբերյալ:

Բաժանորդագրին է 8 և 40 է.: Բաժանորդագրությունն ընդունվում է Սոյուզպեչատի բոլոր բաժանմունքներում:

«Биологический журнал Армении» публикует оригинальные статьи по ботанике, зоологии, физиологии, биохимии, биофизике, микробиологии, генетике и другим отраслям общей и прикладной биологии.

Подписная цена за год 3 руб. 40 коп. Подписку на журнал можно производить во всех отделениях Союзпечати.

Խմբագրական կոլեգիա՝ Է. Գ. Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Ս. Մ. Ավագյան, Վ. Ծ. Ավետիսյան, Յու. Ք. Ալեքսանյան, Հ. Գ. Բակլաճյան, Մ. Ա. Գալսթյան, Ժ. Ի. Հակոբյան, Կ. Ա. Հարությունյան (պատասխանատու քարտուղար), Ռ. Մ. Հարությունյան, Վ. Հ. Ղազարյան, Պ. Ա. Ղանդրիլյան, Կ. Գ. Ղարաչոյցյան, Ս. Մ. Մովսիսյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ):

Խմբագրական խորհուրդ՝ Է. Գ. Աֆրիկյան (նախագահ), Ն. Ծ. Ակրամովսկի, Վ. Ծ. Աղաբաբյան, Հ. Ս. Ավետիսյան, Է. Ս. Կարբիճյան, Ա. Ա. Դավթյան, Ա. Լ. Բախտաթյան, Պ. Ա. Խորչուզյան, Մ. Գ. Հովհաննիսյան, Է. Կ. Հովսեփյան, Է. Ս. Ղամարյան, Ա. Ա. Մաթևոսյան, Մ. Կ. Չալախյան, Կ. Ս. Պողոսյան:

Редакционная коллегия: Э. К. Африкян (главный редактор), П. М. Авахян, В. Е. Аветисян, Ж. И. Акопян, Ю. Т. Алексанян, Е. С. Арутюнян (ответственный секретарь), Р. М. Арутюнян, О. Г. Баклаваджян, П. А. Гандилян, М. А. Давтян, В. О. Казарян, К. Г. Карагезян, С. О. Мовсисян (заместитель главного редактора).

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

Ответственный за номер Африкян Э. Г.

Технический редактор Авахян П. М.

Տնայն ք նախորդ 18-09-89 ր. Սոսկրտնայն ք քատի 23-01-90 ր. ՎՓ 02715.

Бумага № 1 «сыктывкарская», 70×108¹/₁₆ Высокая печать. Печ. лист. 5,5+1 экз. Усл. печ. лист. 7,88. Учет.-изд. 7,65. Тираж 660. Заказ 525. Издат. 7711.

Адрес редакции: 375019, Ереван, пр. Маршала Баграмяна, 24 г, комн. 11, тел. 58-01-97.

Издательство Академии наук Армянской ССР, Ереван.

пр. Маршала Баграмяна, 24-г.

Типография Издательства АН АрмССР, Ереван-19.

пр. Маршала Баграмяна, 24.

Ք Ո Վ Ա Ն Դ Ա Կ Ո Ւ Թ Ա Ո Ւ Ն

Մեդին Վ. Ե., Ռեչկուեփա Ն. Ի., Դեմայարյով Ա. Խ., Խաչատուրյան Ա. Ա., Աֆրիկյան Է. Գ. Անբոր սպորազոյացնող բակտերիաները որպես ռեսուրսների չեզոքացման համար	989
Խաչատուրյան Ա. Ա., Կոսով Վ. Կ., Աֆրիկյան Է. Գ. <i>Bacillus thuringiensis</i> տեսակի էնտոմոպաթոգեն բակտերիաների որոշ տարատեսակների թվային վերլուծությունը	978
Մարտիրոսյան Մ. Ա., Հովսեփյան Լ. Մ., Սարգսյան Լ. Վ., Խաչատուրյան Մ. Վ., Լուսինյան Կ. Գ. Հիպոդեմի գերոցախրատմանը կորագրով առաջացված Հայելուտիկ ցեղումների տարբեր շրջաններում	978
Բաղդամյան Կ. Ա. Հակոստը որպես Լեռնադաշտի աղբյուր <i>E. coli</i> -ի մուտիֆորմանտային կամպլեքսի աշխատանքում	981
Խաչատուրյան Մ. Ա., Միսոնյան Ա. Լ. Մետաղների իոնների ազդեցությունը ուրիպային վրա <i>Bacillus fastidiosus</i> -ից	985
Փարսյան Ի. Խ., Բարսյան Ժ. Խ., Հովհանյան Կ. Օ., Հակոբյան Գ. Ս. Գրամբացառական և գրամդրական բակտերիաների ուլտրակառուցվածքային փոփոխությունները A—Ճ60 շորթորդային ածանիւմային միացություն ազդեցության ներքո	981
Ալիսանյան Ա. Պ. Հայարցևուտի պալարարակտերիաների Տպճ-տրանսֆորմանտների կենսաքիմիական բնութագրերը և էֆեկտիվությունը	994
Ալիսանյան Ա. Պ., Միսոնյան Մ. Մ., Տեր-Քալյան Ն. Հ., Ավագյան Գ. Վ., Մուղզույան Խ. Պ. Պաճառայնացման արդյունաբերության թափոնների աղբյուրի սպորոգենության և անտիբիոտիկ ստանալու համար	998
Մեղանյան Ս. Գ., Գուրգույան Մ. Հ., Գորգույան Խ. Ի. Կենսաբանական ակտիվ նյութերի ազդեցությունը Լոբոկոստոցների ծաղկափառու վրա	1002
Ավետիսյան Ա. Ա., Գալստյան Խ. Վ., Մելիքյան Գ. Ա., Սողոմոնյան Խ. Ա. Զհակոստի ֆունկցիոնալիզացված ճ-լակտոնների սինթեզը և նրանց ազդեցությունը լոբոկոստոցների աճի և զարգացման վրա	1006
Ղարիբյան Ա. Ա., Խոջայանց Ի. Յու., Դավարյան Գ. Մ., Դամբարյան Լ. Ա. Տարրական դաստիարակի գործունեությունը սպիտակ առնետների մոտ	1009
Չառափյան Լ. Մ., Դազանյան Գ. Պ., Կախիզյան Լ. Ա., Գարիբյան Ռ. Ս., Պողոսյան Է. Ա., Հակոբյան Ժ. Ի. Օրգանների վնասվածքի անստիմուլյանի որոշումը աբսոլյուտ շիճուկում լակտատոգենիզացիայի իզոֆորմանտների ակտիվության գինեմիկայի մոնիտորինգային վերլուծության միջոցով	1013
Քրանկյան Մ. Բ., Դավրյան Մ. Ա. Խմորանակների ալանին- և գլուտամատիդհիզոգենության իզոֆորմանտների ֆրակցիոնացումը	1018

ՀԱՄԱՐՈՒՄ ԶԱՂՈՒՄՈՒՄՆԵՐԻ

Լիվիցի Վ. Ա., Մակարյան Կ. Վ., Փոշարյան Ն. Ա., Սեմյոնովա Խ. Վ. Անտիբիոտիկների նկատմամբ կայուն կաթնաթթվային բակտերիաների սելեկցիան	1024
Քաղիյան Վ. Ա., Նոզիկյան Լ. Ա., Ստեփանյան Մ. Լ. Թթվածնի մեկուսացված հացաթթման շարժանների <i>Saccharomyces cerevisiae</i> հակամիկրոբային ակտիվությունը	1025
Հակոբյան Հ. Ս., Հայրապետյան Ա. Ա., Բարսյան Ժ. Խ., Խափայնյան Գ. Գ., Մելիքյան Տ. Խ., Քաղիյան Կ. Մ. Մի բանի նոր սինթեզված միացությունների հակակոստոցիվային և մանրէասպան հատկությունների ուսումնասիրությունը	1028
Պուտուսյան Գ. Գ. <i>Klebsiella pneumoniae</i> շտամների կոլիցինազոգությունը	1030
Քաղիյան Կ. Յ., Սարգսյան Բ. Գ., Էրյան Գ. Վ., Անանյան Ա. Շ. Աղիների խոռոչային և մերձպատյան միկրոֆլորան՝ զրգոված հաստ աղու սինթորմի դեպքում	1032
Պուտուսյան Օ. Ա., Ալիսանյան Ա. Գ., Մալիկյան Ա. Յու., Կանկանյան Ա. Պ., Բաղդամյան Գ. Վ. Ռեբանի խոռոչի շորձաթաղանթի թթվածնային ինհիբիցիան	1034

Սեփան Բ. Կ., Հակոբյան Չ. Մ., Եսփաբյան Գ. Ա., Անասնաբուսական շեղերի օդի բակտերիական զննումներ	1037
Բաբունդյան Հ. Խ. Միկրոմիցետների նոր տեսակներ Հայկական ԽՍՀ-ի համար	1040
Օսիպյան Լ. Լ., Զաֆարյան Ա. Ա. Առաստիկ բուսական զեղամիցոցների միկրոսկոպիկ շերտ	1042
Կեփզարյան Ա. Չ. Տերնաճեփուկեր (Lepidoptera, Tortricidae) — սերմիկավոր կուտորանների փնտսումներ	1045

ԼՐԱՏՈՒ

Հարությունյան Է. Գ. Ա. Գուլբյան (ծննդյան 80-ամյակի առթիվ)	1049
-----------------------------------------------------------	------

СОДЕРЖАНИЕ

Резин В. Е., Речкунова Н. И., Дегтярева С. Х., Хачатурян А. А., Африкян Э. К. Аэробные спорообразующие бактерии как продуценты эндоуклеаз рестрикции	969
Хачатурян А. А., Котов В. К., Африкян Э. К. Нумерический анализ некоторых разновидностей энтомопатогенных бактерий вида <i>Bacillus thuringiensis</i>	973
Муртиросян М. А., Овсепян Л. М., Саркисян Л. В., Ханбидьян И. В., Карапетян К. Г. Перекисное окисление липидов в различные периоды эпилептических судорог, вызванных коразолом	978
Баграмян К. А. Лактат как источник энергии в работе мультиферментного комплекса <i>E. coli</i>	981
Гатикян С. Ш., Симосян А. Л. Влияние ионов металлов на уриказу из <i>Bacillus pasteurianus</i>	985
Гордженц Н. Х., Бабалян Ж. Р., Овкян К. О., Аюбян Г. С. Ультратрунктурные изменения грамтрицательных и грамположительных бактерий под воздействием четвертичного аммониевого соединения А-660	991
Алексяня А. П. Эффективность и биохимическая характеристика Тп5-трансформантов клубеньковых бактерий эспарцета	994
Авакян Б. П., Минасян М. М., Тер-Баллян Н. А., Авакян Г. В., Мурдилян Р. Э. Рациональный способ использования отходов консервного производства для получения кормов	998
Երվանդյան Ս. Գ., Գուլապյան Մ. Գ., Գորոպյան Ա. Ի. Действие биологически активных веществ на пылеу кукурузы	1002
Ասետյան Ա. Ա., Գալստյան Ա. Վ., Մելիկյան Դ. Ս., Տոգոմոսյան Ս. Ա. Синтез и действие непредельных функционализированных δ-лактонов на рост и развитие томатов	1006
Գարիբյան Ա. Ա., Խոսրոյան Ն. Յ., Կազարյան Դ. Մ., Գիմբարյան Ն. Ս. Элементарная рассудочная деятельность у белых крыс	1009
Զարափյան Ի. Մ., Կազմիչյան Դ. Ս., Նանիճյանյան Լ. Օ., Գաբրիելյան Բ. Ս., Սողոմոնյան Ա. Ս., Այոպյան Զ. Ի. Определение степени поражения органов с помощью математического анализа динамики активности лактатдегидрогеназы в сыворотке крови	1013
Ատանեսյան Մ. Բ., Ծաղկյան Մ. Ա. Фракционирование изоэлимон аланин- и глутаматдегидрогеназы дрожжей	1019

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Լիվից Բ. Ա., Միխարյան Կ. Վ., Կոչարյան Ի. Ա., Տեմեռյան Է. Վ. Селекция антибиотикустойчивых молочнокислых бактерий	1023
Բազիկյան Բ. Ա., Երզնկյան Լ. Ա., Տեղանյան Մ. Լ. Антимикробная активность штаммов хлебопекарных дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1025
Այոպյան Դ. Ս., Այրապետյան Ս. Ա., Բաբունյան Զ. Ր., Րաֆայելյան Դ. Գ., Մելիկյան Դ. Ր., Թառնաշենյան Կ. Շ. Изучение антикоррозийных и бактерицидных свойств некоторых вновь синтезированных соединений	1028

Варганян Г. Г. Количественность витаминов <i>Klebsiella pneumoniae</i>	1030
Амбарцумян К. Ф., Саркисян Б. Г., Элюян Д. В., Анянян А. Ш. Полостная и пристеночная микрофлора кишечника при синдроме раздраженной толстой кишки	1032
Белорусов О. С., Семеновичев А. Г., Малкина А. Я., Канкалян А. П., Банченко Г. В. Дрожжевая инфекция слизистой оболочки полости рта	1034
Селян Т. К., Аюлян Э. М., Шакарян Г. А. Бактериальная оценка воздуха животноводческих помещений	1037
Барсегян А. Х. Новые для Армянской ССР виды микромицетов	1040
Осипян Л. Л., Захарян А. А. К микрофлоре пестерильных растительных лекарственных средств	1042
Григорян А. Дж. Листовертки (<i>Lepidoptera, Tortricidae</i>) — вредители семечковых культур	1045

ХРОНИКА

Арутюнян Э. Г. С. Давтян (к 80-летию со дня рождения)	1049
-----------------------------------------------------------------	------

CONTENTS

Repin V. E., Rechkounova N. I., Degtyurov S. Kh., Khachatourian A. A., Arrikian E. G. Aerobic Sporeforming Bacteria as Producers of Restriction Endonucleases.	969
Khachatourian A. A., Kofsov V. K., Afrikian E. G. Numerical Analysis of Some Varieties of Entomopathogenous Bacteria of the Species <i>Bacillus thuringiensis</i>	973
Martirosian M. A., Hovsepian L. M., Sarkisyan L. V., Khanobyan I. K., Karageuzlun K. G. Lipids Peroxidation during Different Periods of Epileptic Seizures, Evoked by Corasol	978
Baghramyan K. A. Lactate as an Energy Source in <i>E. coli</i> Multifermant Complex Function	981
Tatikian S. Sh., Simonian A. L. Influence of Metals Ions on the Uricase from <i>Bacillus fastidiosus</i>	985
Torjlan I. Kh., Balayan Zh. P., Hachnatan K. G., Hakobian G. S. Ultrastructural Changes of Gramnegative and Grampositive Bacteria under the Influence of Fourth Ammonium Combination A-560	991
Aleksanian A. P. Efficiency and Biochemical Characteristics of Trp5- Transferants of Nodule Bacteria of Esparzet	994
Avakian B. P., Minasian M. M., Ter-Babian N. H., Avakian G. V., Mugdustan R. Z. Rational Utilization of By-Products of Canning Industry for Feed Production	998
Yevandian S. G., Galakian M. H., Gorozyan A. I. Influence of Biologically Active Substances on the Malze Pollen	1002
Avetisyan A. A., Galstian A. V., Melikian G. S., Saghmonian S. A. Synthesis and Influence of Unfilled Functionalized α -Lactones on Tomato Growth and Development	1006
Garibian A. A., Khofayants I. Ya., Kazarian G. M., Gambaryan L. S. Elementary Rational Activity of White Rat	1009
Zaraphyan I. M., Kazanchyan G. P., Nanydjanyan L. O., Gabrielyan R. S., Poghosyan A. S., Akopyan Zh. I. Identification of Organs Deteriorate Degree by Mathematical Analysis of Dynamics of Lactate dehydrogenase Isoenzymes Activity in Blood Serum	1013
Atanesian M. B., Dactian M. A. Fractionation of Isozymes of Malate- and Glutamate dehydrogenase of Yeasts	1019

HORT COMMUNICATIONS

<i>Livshits V. A., Makarian K. V., Kocharian N. A., Semyonova Ye. V.</i> Selection of Lactobacteria Resistant to Antibiotics	1023
<i>Baglyan V. A., Yerznkian L. A., Stepanian M. L.</i> Antimicrobial Activity of the Strains of Bakery Yeasts <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1025
<i>Hakobian H. S., Hairapetian A. A., Babayan Zh. B., Rafayellan D. G., Melikyan T. R., Tahmazian K. Ts.</i> Study of Acticorrosion and Bactericidal Properties of Some New Synthesized Compounds	1028
<i>Vartanian G. G.</i> Colicynsensitivity of <i>Klebsiella pneumoniae</i> Strains	1030
<i>Humbardtsman K. P., Surgitsian B. G., Eloyan D. V., Ananian A. Sh.</i> Cavity and Bywall Microflora of the Intestines during the Syndrome of Irritated Thick Intestine	1032
<i>Belorusov O. S., Semyonichev A. G., Malkina A. Ya., Kankarian A. P., Banchenko G. V.</i> Yeast Infection of Mucous Membrane of the Mouth Cavity	1034
<i>Sevian T. K., Hakobian Z. M., Shakarian G. A.</i> Bacterial Evaluation of the Air of Cattle-Breeding Buildings	1037
<i>Barseghian H. Kh.</i> New Species of Micromycetes for the Armenian SSR	1040
<i>Ostplan L. I., Zakarian A. A.</i> To the Microflora of Non-Sterile Plant Drugs	1042
<i>Grigorian A. J.</i> <i>Leptoptera, Tortricidae</i> —Pests of Seed Cultures	1045
CHRONICS	
<i>Harutunian E. G. S.</i> Davtian (to the 80th Birthday Anniversary)	1049

АЭРОБНЫЕ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ БАКТЕРИИ КАК ПРОДУЦЕНТЫ ЭНДУНУКЛЕАЗ РЕСТРИКЦИИ

В. Е. РЕПИН*, Н. И. РЕЧКУНОВА*, С. Х. ДЕГТЯРЕВ*,
А. А. ХАЧАТУРЯН**, Э. К. АФРИКЯН**

Научно-исследовательский конструкторско-технологический институт биологически
активных веществ (НИКТИ БАН) НИО «Вектор» Минмедбиопрома СССР, г. Бердск*
Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян**

Из изученных 58 штаммов аэробных спорообразующих бактерий, в том
числе их термофильных форм, 5 штаммов обладали рестриктазной актив-
ностью. Все рестриктазы, продуцируемые этими штаммами, являются изо-
зимомерами известных рестриктаз, характерных для бацилл.

Впервые выявлены продуценты рестриктаз, узнающих гексануклеотид-
ные последовательности, отмеченные у представителей данного рода.

Ուսումնասիրվել են 58 ստրամ սպորազոցացնող բակտերիաների 58 շտամներ, որոնց
իջևում նաև էրտոփիլներ, նստեցապես ջերմասեր ձեւերը: Հայտնաբերվել են սեստ-
րիկտազային ակտիվությամբ օժտված 5 շտամներ, որոնց կողմից արտադրվող
բոլոր սեստրիկտազները նաեղիսանում են բացիլների նման բնույթ: Հայտնի
սեստրիկտազների իզոշիզոմերներ: Տվյալ զեղի ներկայացուցիչների նման նշվում
են առաջին անգամ չտրանստոկ սեստրիկտազների սրբողուցեմտներ, որոնք ճո-
նալում են ներսանուկլեոտիդային նաջորդականություններ:

From the studied 58 strains of aerobic sporeforming bacteria, including
their thermophilic forms, 5 strains have restrictase activity. All restricta-
ses, produced by these strains, are isozymers of known restrictases,
characteristic of bacilli. For the first time specific restrictase producers
have been indicated, which reveal the order of hexanucleotides.

Аэробные спорообразующие бактерии—бациллы—эндуноклеазы рестрикции—ре-
стриктазы

Эндонуклеазы рестрикции—рестриктазы (КФ 3.1.21.4)—ферменты, спе-
цифически расщепляющие ДНК по определенным последовательностям
нуклеотидов, играют важную роль в генной инженерии. Выявление но-
вых штаммов-продуцентов рестриктаз имеет большое практическое зна-
чение, а также позволяет изучать разнообразие и распространенность
системы рестрикции-модификации у различных микроорганизмов. Спе-
циальные работы по выявлению рестриктаз у представителей одного
систематического таксона ранее проводились только для видов *Citro-*
bacter freundii, *Herpetosiphon giganteus* и *Escherichia coli* [8, 9, 12

У рода *Bacillus* обнаружено наибольшее число рестриктаз с различной специфичностью [11], однако детально этот род не изучался. В этом отношении большой научно-практический интерес представляют экстремофильные формы, в частности, термофилы, широко распространенные у бацилл.

В данной статье приводятся результаты систематического изучения распространенности рестриктаз у хорошо идентифицированных коллекционных культур рода *Bacillus*.

Материал и методика. В работе тестировали бактерии рода *Bacillus* из коллекции микроорганизмов Института микробиологии АН АрмССР (ИНМИА).

Рестриктазную активность штаммов анализировали при помощи разработанного ранее экспресс-метода [2], хорошо зарекомендовавшего себя при анализе штаммов бациллярных организмов [6]. Определение специфичности рестриктаз проводили методом сравнения картины параллельного и совместного гидролиза субстратной ДНК выделенными нами ферментами и рестриктазами с известной специфичностью.

Результаты и обсуждение. Представители рода *Bacillus*, благодаря их широкой распространенности во внешней среде, являются постоянными объектами поиска биологически активных веществ, в том числе эндонуклеаз рестрикции. Известно довольно большое количество штаммов-продуцентов рестриктаз (табл. 1) в этом роде, однако углуб-

Таблица 1. Список специфичностей рестриктаз, встречающихся в роде *Bacillus* [1, 4-7, 11, 14]

Специфичность	Число видов	Число штаммов	Специфичность	Число видов	Число штаммов
CCGG	2	6	GCCN ₂ GCC	1	1
GATC	4	8	AGATCT	1	2
GGCC	3	8	TCCGGA	2	1
CCGG	1	2	G(A/G/T)GC(A/C/T)C	1	2
GG (A)CC	3	3	GGTACC	1	3
GG (T)CC	1		CCAN ₂ TGG	1	3
CC (C)GG		1	CTCGAG	2	4
CC (G)GG		1	GCGCGC	1	1
CCGCCG	1	1	GTTAAC	1	1
CAACTG	1	1	CCTNAGG	1	1
GGATCC	4	7	GCAGC	1	1
GGP ₂ PuCC	1	1	GAAGAC	1	1
GP ₂ GCPuCC	2	2	ACCTGC	1	1
ATCGAT	7	7	GAATGC	1	1
TGATCA	3	3	AGTACT	1	1
CTGCAG	2	2	CTTGAG	1	1

ленное изучение позволяет находить все новые и новые продуценты [6]. Эффективность поиска возросла благодаря использованию экспресс-методов анализа, позволяющих проводить скрининг на массовом материале культур микроорганизмов и облегчающих обнаружение технологических штаммов-продуцентов.

Проверка 58 штаммов рода *Bacillus*, проведенная нами с использованием экспресс-метода [2], дала возможность обнаружить ряд бактерий с рестриктазной активностью. Всего обнаружено 5 штаммов-продуцентов, что составляет около 9%. Штаммы-продуценты являлись представителями видов *Bacillus stearothermophilus* (2 штамма), *B.licheniformis*, *B. brevis*, *B. sphaericus*.

Используя общепринятую номенклатуру и учитывая коллекционные номера штаммов, рестриктазам были даны следующие названия: из *B. stearothermophilus* 28—Bst 28 I, *B. licheniformis* 41—Bli 41 I, *B. stearothermophilus* 40—Bst 40 I, *B. brevis* 12—Bbv 12 I, *B. sphaericus* 2095 I.

Определение специфичности показало, что все рестриктазы, продуцируемые вышеописанными бактериями, являются изошизомерами известных рестриктаз. Так, Bst 28 I Bli 41 I были изошизомерами Cla I, Bst 40 I—Msp I, Bbv 12 I Hgi A I и Bsp 2095 I Sau 3A I (табл. 2).

Таблица 2. Специфичность выделенных ферментов

Название рестриктазы	Прототип	Узнаваемая последовательность
Bst 28 I	Cla I	5'—ATCGAT
Bli 41 I	Cla I	5'—ATCGAT
Bbv 12 I	Hgi A I	5'—G (A/T) GC (T/A) C
Bsp 2095 I	Sau 3A I	5'—GATC
Bst 40 I	Msp I	5'—CCGG

Вопросам таксоноспецифичности рестриктаз уделяется крайне мало внимания. Между тем выявление закономерностей распространения рестриктаз определенной специфичности в различных таксонах, поможет вести направленный поиск новых прототипов, прогнозировать качественно новые и понять функциональную роль систем рестрикции-модификации в клеточной популяции.

В нашем эксперименте были найдены 2 рестриктазы, узнающие тетрауклеотидные последовательности ДНК: 5'-GATC-3' и CCGG. Как видно из табл. 1, изошизомеры с данными специфичностями довольно часто встречаются у представителей рода *Bacillus*, и, по-видимому, характерны для этого таксона.

Рассматривая три других продуцента рестриктаз, узнающих гексануклеотидные последовательности, следует подчеркнуть, что специфичность Bbv 12 I у представителей этого рода отмечается впервые. Штамм, продуцирующий прототип данной рестриктазы, был выявлен ранее только у представителей вида *H. giganteus* [12].

Наряду с этим, были обнаружены два продуцента, относящиеся к различным видам, но узнающие одну и ту же последовательность нуклеотидов 5'-ATCGAT. Видимо, и в этом случае, как и для тетрауклеотидных последовательностей, мы имеем рестриктазы, специфичность которых наиболее характерна для рода *Bacillus*. Исследование бактерий на рестриктазную активность показало, что данная специфичность встречается среди них наиболее часто, причем это более родовой признак, так как изошизомеры отмечаются среди рестриктаз, выделенных из видов *Bacillus aneurinolyticus* [11], *Bacillus* sp. [7], *B. sphaericus* [14], *B. subtilis* [4, 5], *B. licheniformis* [3], *B. thuringiensis* [].

Важно отметить, что у большинства перечисленных штаммов-продуцентов удельная активность фермента высока и на несколько поряд-

ков превышает активность рестриктазы-прототипа, выделенного из *Caetrophaxium latum*, что, по-видимому, говорит о большей функциональной значимости данной ферментной системы у представителей рода *Bacillus*.

Наши исследования позволили выявить еще два продуцента рестриктазы этой же специфичности, причем для вида *B. stearothermophilus* изоизомер Cla I отмечен впервые. Это еще более расширяет список видов рода *Bacillus*, для которых характерны рестриктазы, узнающие и расщепляющие последовательность нуклеотидов 5'-ATCGAT-3'.

Таким образом, проведенные нами исследования показывают плодотворность поиска штаммов-активных продуцентов у рода *Bacillus*, а выявленные рестриктазы пополняют список эндонуклеаз рестрикции, характерных для этого таксона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амбасян Р. Р., Робентиш Б. А., Петикса Е. М. Биотехнология, 4, 2, 197—198, 1988.
2. Белаян Н. А., Давков В. С., Дегтярев С. Х. Прикл. биохим. и микробиол., 24, 1, 129—132, 1988.
3. Крамаров Н. М., Скрипичка Н. А., Смолянинов В. В., Смирнов В. В., Резник С. Р., Сорочукина И. Б., Матаиенко Н. И. Тез. докл. Всесоюз. конф. «Биосинтез ферментов микроорганизмами», 210—211. Ташкент, 1988.
4. Приходько Г. Г., Петров Н. А., Репин В. Е., Дегтярев С. Х. Изв. СО АН СССР, сер. биол. науки, 13, 2, 114—116, 1988.
5. Репин В. Е., Дегтярев С. Х., Речкунова Н. И., Шевченко Л. С., Иванови Е. П., Рассказов В. А. Заявка на авт. свид., регистр. № 4361460/13, положительное решение от 26.07.88.
6. Репин В. Е., Приходько Е. А., Дегтярев С. Х. Изв. СО АН СССР, сер. биол. науки, 13, 2, 116—119, 1988.
7. Цветкова Н. В., Милейковская А. М., Грубер Н. М., Поляченко В. Н., Буткус В. В., Янулайтис А. А., Суджювене О. Ф., Тарасов А. П. Молекул. генет. микробиол. и вирусол., 4, 19—22, 1988.
8. Янулайтис А. А., Стикенас П. С., Битинайте Ю. Б., Яскелявичене Б. П. Докл. АН СССР, 271, 2, 483—485, 1983.
9. Янулайтис А. А., Петруните М. П., Битинайте Ю. Б., Казлаускаене Р. К., Башкис Э. В., Буткус В. В. Тез. докл. Всесоюз. биохим. съезда, 271, 2, 439—440, М., 1986.
10. *Bacillus Molecular Genetics and Biotechnological Applications*, AP, NY, 1936, 1988.
11. *Catalog Biolabs* 1986, 1987.
12. Kröger M., Huber G., Schütte M., Mayer H. Nucl. Acids Res., 12, 7, 3127—3141, 1984.
13. McClelland M. Nucl. Acids Res., 16, 5, 283—2294, 1988.
14. Zieger M., Pfallin M., Reizes G., Lorange T., Dupret D., Jellinek J. M. Nucl. Acids Res., 15, 9, 651, 1987.

Поступило 6.VII 1989 г.

НУМЕРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ПОДВИДОВ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ ВИДА *BACILLUS THURINGIENSIS*

А. А. ХАЧАТУРЯН, В. К. КОТОВ, Э. Г. АФРИКЯН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Осуществлен нумерический анализ систематически известной категории микроорганизмов серотипов H₂, H₄, H₅, H₁₀ *Bacillus thuringiensis* с применением программ по числовой таксономии с целью их последующего использования для идентификации вновь выделенных штаммов вида *B. thuringiensis*.

Показана возможность получения кластеров, сходных с известными физиологическими группами. Отобраны дискретные признаки, имеющие диагностическое значение, и типичный штамм для культур подвиды *caucasicus*.

Քվային սաքսոնմիայի ծրագրերի օգտագործմամբ իրագործված է *Bacillus thuringiensis* տեսակի սխտեմատիկորեն հայտնի միկրոօրգանիզմների H₂, H₄, H₅, H₁₀ սերոտիպերի քվային վերլուծություն՝ արդյունքները և ծրագրերը հետագայում երբ անհատված *B. thuringiensis*-ի շտամների իդենտիֆիկացիայի նպատակով օգտագործելու համար: Ցույց է տրված հայտնի ֆիզիոլոգիական խմբերին մտնիկ կլաստերների ստացման հնարավորությունը: Ընտրված են դիագնոստիկ նշանակություն ունեցող դիսկրետ հատկանիշները և *caucasicus* կուլտուրայի տարատեսակի տիպիկ շտամը:

The numerical analysis of systematically known category of the microorganisms of H₂, H₄, H₅, H₁₀ serotypes of *Bacillus thuringiensis* is carried out using the programs of numerical taxonomy, aiming their use in future for the identification of new found strains of *B. thuringiensis*. The possibility to obtain clusters, similar to the known physiological groups, is shown. The discrete characters, having diagnostic value, as well as a typical strain for the cultures of the variety *caucasicus* are screened.

Энтомопатогенные бактерии—*Bacillus thuringiensis*—нумерический анализ—систематика—таксономия.

Научная и практическая значимость штаммов рода *Bacillus*, как продуцентов различных физиологически активных соединений делает целесообразным поиск новых методов их исследования. Большая и разнообразная информация, характеризующая коллекцию культур микроорганизмов этого рода, и сложность ее обработки вынуждают применять математические методы анализа и средства вычислительной техники.

В систематике бактерий в последние годы широко применяется нумерический анализ [7]—математический метод, разработанный Спитом и Соколом [15] и основанный на принципах Адаксона. Этот метод позволяет не только идентифицировать отдельные таксоны, но и выявлять взаимосвязи различных групп микроорганизмов [2—4]. Исследования такого рода на штаммах спороносных бактерий осуществлялись Лысенко [14] в 60-х годах с включением нескольких видов *Bacillus*

и некоторых известных к тому времени подвигов *Bacillus thuringiensis*, а также Бонде в 1975 году [9] с использованием большого количества штаммов различных видов бацилл, имеющих определенное значение в клинической медицине.

В лаборатории спорообразующих бактерий Института микробиологии АН АрмССР накоплен большой фактический материал по изучению многочисленных штаммов различных серотипов. *B. thuringiensis*, имеющих первостепенное значение в борьбе с вредителями сельскохозяйственных культур. Число их постоянно увеличивается и требует неотложного изучения и определения их таксономической принадлежности.

Задачей настоящей работы явился нумерический анализ систематически известной категории микроорганизмов, относящейся к четырем производственно-важным серотипам (H₃, H₄, H₅, H₁₀).

Материал и методика. В качестве ОТЕ рассматривались коллекционные и оригинальные штаммы разных подвидов *B. thuringiensis*, многие из которых используются в производстве инсектицидных препаратов. Подвид *caucasicus* представлен 45 тестированными штаммами, из которых 39 использовались для проведения кластерного анализа и 45 штаммов серотипов H₃, H₄, H₅ и H₁₀ для изучения феноменической взаимосвязи и выявления дифференциальных признаков для диагностики штаммов указанных культур (табл. 1). Для характеристики ОТЕ первоначально

Таблица 1. Штаммы *B. thuringiensis* (ОТЕ), использованные при нумерическом анализе

Серотип	Число штаммов	Серотип	Число штаммов
H ₁	<i>aiesti</i>	H ₃	<i>gallertae</i>
	<i>rixouae</i>		<i>canadensis</i>
	<i>kurstaki</i>		<i>ceruus</i>
	<i>ceruus</i>	H ₄	<i>caucasicus</i>
H ₂	<i>sotto</i>		<i>darmstadtensis</i>
	<i>dendrolimus</i>		<i>ceruus</i>
	<i>tuvlensis</i>		
	<i>kenyae</i>		
	<i>ceruus</i>		
Идентифицированные	2	Всего	4)

было отобрано 96 признаков, полученных при исследовании штаммов методами, описанными в работах де Баржак и Бенфуа [10], Гордон и соавт. [11] и в определителе Верге [8].

Исходную матрицу признаков, размерности 40×80, составляли кодированием положительных значений как 1, а отрицательных—как 0. Обработку исходной матрицы признаков проводили с помощью пакета программ по нумерической таксономии «Кластер» на ЭВМ СМ-4. Этот пакет входит в состав программного обеспечения автоматизированной системы научных исследований, создаваемой в ИНМИА. Программы написаны на языке ФОРТРАН. Последовательность вычислений при проведении нумерического анализа с помощью пакета «Кластер» представлена на рис. 1.

Расчет таксономического сходства ОТЕ производили с использованием техники сравнения по двум коэффициентам ассоциации [7].

Коэффициент простого сходства Смита

$$S_{sm} = \frac{n_{11} + n_{00}}{n_{11} + n_{00} + n_{10}}$$

коэффициент Жаккарда

$$S_j = \frac{n_{11}}{n_{11} + n_{10}}$$

где p_{11} , p_{00} —количество признаков соответственно положительных и отрицательных, имеющих одинаковое значение для обеих сравниваемых ОТЕ, p_{10} —количество различающихся признаков для сравниваемых ОТЕ. Кластеризацию симметрической матрицы подобия выполняли методом усредненного свизывания (двугрупповой среднорифметический метод без взвешивания). Для оценки эффективности разделения на кластеры использовали кофенетический коэффициент корреляции [4, 15].

Другая часть программ пакета основана на принципах координатного анализа [12, 13], позволяющего уменьшать размерность пространства признаков и находить более простую структуру идентификационного набора признаков. Кратчайшее остовное дерево симметрической матрицы подобия помогает избежать грубых ошибок при построении матрицы подобия в пространстве найденных факторов и наглядно представить результаты вычислений.

Результаты и обсуждение. На основании кластеризации матрицы подобия 39 штаммов серотипа *H₁₀ B. thuringiensis* были выделены фенотипические группы этого подвида, в целом близкие к данным классической систематики [1] и подтверждающие их неоднородность (табл. 2).

Таблица 2. Группы штаммов серотипа *H₁₀*, полученные с помощью нумерического и классического методов анализа

Кластеры (феноны) (порог объединения и феноны 0.950)	Физиологические группы (по Африкану и Чил-Акопин, 1980)
805, 831, 837, 836, 841, 844, 853, 871, 873, 876, 880, 887, 888, 893, 895, 905, 914, 917, 918, 919, 811	805, 811, 831, 837, 839, 841, 853, 871, 873, 876, 880, 887, 893, 895, 905, 914, 915, 917, 918, 919, 924.
925, 926, 927, 957, 875, 915, 924, 896, 911, 921, 928, 939, 950	925, 926, 927, 939, 927, 875, 844, 896, 911, 921, 888, 928, 950.
1079, 1096—3, 1113, 641, 1075.*	1079, 1096—3, 1113, 641, 1075.

Примечание: курсивом выделены штаммы, которые не вошли в соответствующие кластеры или в физиологические группы.

* 1075 — *subsp. darmstadtensis*.

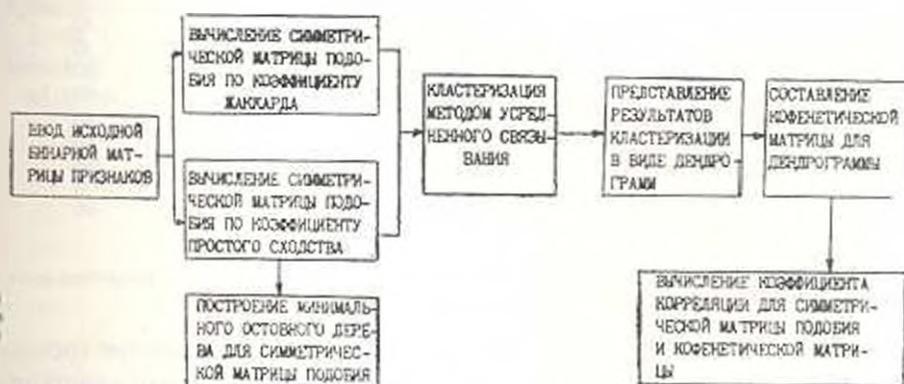


Рис. 1. Последовательность вычислений с помощью пакета прикладных программ по нумерической таксономии «Кластер».

Анализ 45 штаммов серотипов Н₃, Н₄, Н₅, и Н₁₀ с использованием программ координатного анализа позволил построить минимальное остовное дерево (рис. 2). Как видно из дендрограммы, особенно четко группируется (проявляется фенотипическое родство) большая часть культур серотипа Н₁₀ (871, 841, 805, 844, 1075, 888, 893, 1096-3, 1113, 921, 950, 925), для которых типичным штаммом может служить штамм

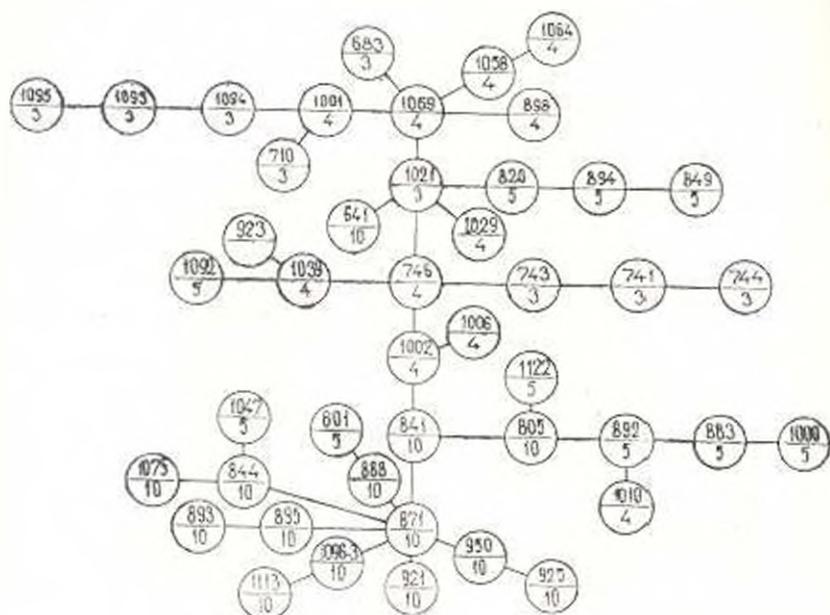


Рис. 2. Фенотипическая взаимосвязь штаммов некоторых серотипов *B. thuringiensis*.

Таблица 3. Характеристика типичного штамма подвиды *B. thuringiensis subsp. caucasicus*

Признаки	Типичный штамм ИИМИА-871	Число штаммов, сходных с типичным (из 45 изученных)	Признаки	Типичный штамм ИИМИА-871	Число штаммов, сходных с типичным (из 45 изученных)
Кристалл	+	43	Целлюлоза	+	31
АМК	++	44	Салицин	-	42
ЛВР	++	43	Эскулин	+	45
ДГА	++	43	Цитрат	+	32
Протеолиз	+	45	Пропионат	++	40
Инвертаза	-	45	Гипурат	-	45
Редуктаза	-	45	Кре-мал	+	45
Уреаза	-	44	У NaCl	+	45
Сахароза	-	44	Палька	-	45
Манноза	-	45	Пантент	+	36

Условные обозначения: АМК — ацетил-метил-каридол, ЛВР — лецитино-вителлиновая реакция, ДГА — дигидроксиацетон.

871, расположенный в центре излученной группы. Исключение составляет штамм 641, не обладающий способностью образовывать кристалл.

Характеристика штамма, типичного для серотипа *caucasicus*, приводится в табл. 3, из которой видно, что свойства штамма 871 в основ-

ном коррелируют со свойствами большинства штаммов этого таксона. В процессе анализа выявлен набор из 20 дискретных признаков, в целом совпадающий с ключом де Баржак и Бонфуа [10] и включающий дополнительные свойства, предложенные нами, как имеющие диагностическое значение для некоторых серотипов вида *B. thuringiensis* [6].

Полученные результаты приводят к выводу о том, что использованные признаки обеспечивают идентификацию и кластеризацию культур серотипа H_{10} и проявляют фенотипические связи со штаммами других серотипов (H_3 , H_4 , H_5). Однако у последних не выявляется подобной четкости, они группируются лишь в 3—4 штамма и взаимосвязаны этими небольшими группами, что свидетельствует о необходимости их дальнейшего детального изучения.

Таким образом, подобранный пакет программ может служить основой для быстрой идентификации новых штаммов серотипа H_{10} (*B. thuringiensis subsp. caucasicus*).

ЛИТЕРАТУРА

1. Африкан Э. Г., Чил-Аколян Л. А. Биолог. ж. Армении, 33, 4, 355—365, 1980.
2. Киприанова Е. А., Паничев А. В., Бойко О. И., Гарагуля Л. Д. Микробиология, 46, 6, 1023—1032, 1979.
3. Лойцанская М. С., Пасленко Г. В., Ивченко А. И. Микробиология, 48, 3, 545—551, 1979.
4. Малащенко Ю. Р., Мучник Ф. В., Романовская В. А., Садовников Ю. С. Математические модели и ЭВМ в микробиологической практике. Киев, 1980.
5. Райзин Дж. Ван. Классификация и кластер. М., 1980.
6. Хачатурян А. А. Биолог. ж. Армении, 33, 4, 385—390, 1980.
7. Abstracts of 2nd Conference on Taxonomy and Automatic Identification of Bacteria. Prague, Czechoslovakia, June 29—July 3, 1987.
8. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8-ed. Baltimore: Williams et Wilkins Co., 1974.
9. Bonde J. J. Danish Medical Bull., 22, 2, 41—61, 1975.
10. De Barjac H., Bonnefol A. Entomophaga, 18, 5—17, 1973.
11. Gordon R. E., Haynes W. C., Pang C. H. N. The Genus Bacillus. Agricult. Handbook N 427, Washington, D. C., 1973.
12. Gower I. C. Biometrika, 53, 3—4, 325—338, 1966.
13. Gower I. C. Appl. statistics, 18, 54—61, 1969.
14. Lysenko O. Insect. Pathol. The Advanced Treatise, 2, Acad. Press, New York, 1—20, 1963.
15. Sneath P. H. A., Sokal R. R. Numerical Taxonomy: The principles and practice of numerical classification. Freeman, San Francisco, 15, 573, 1973.

Поступило 13.VII 1989 г.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ЭПИЛЕПТИФОРМНЫХ СУДОРОВ, ВЫЗВАННЫХ КОРАЗОЛОМ

М. А. МАРТИРОСЯН, Л. М. ОВСЕПЯН, Л. В. САРКИСЯН,
И. В. ХАИБАБЯН, К. Г. КАРАГЕЗЯН*

Армянский государственный педагогический институт им. Х. Абовяна
*Ин-т экспериментальной биологии АН АрмССР

Как в преэпидемиологическом периоде, так и в период судорог в коре больших полушарий отмечено заметное снижение уровня перекисного окисления липидов, тогда как в мозжечке наблюдалось выраженное усиление его.

Մեղմու կախարհագրային շրջանում, ալեպես էլ ցնցումները ժամանակ մեծ կիսագնդերի կեղևում կհատվում է իպոդերի գերօքսիդացման առտիճանի նվազում, միևնույն ժամանակ ուղեղիկում դիտվում է նրա արտահայտված ուժեղացում:

A visible decrease of the level of lipids peroxidation in rat cerebral cortex was observed during the pre seizure and seizure periods. On the other hand a marked intensification of the process was detected in cerebellum.

Судорожная активность—ПОЛ—коразол.

Существенные изменения липидного метаболизма, в том числе и активация ПОЛ, наблюдается при стрессе [7]. Исследование ПОЛ проведено также на различных моделях экспериментальной эпилепсии [3, 5, 6, 14]. Результаты этих исследований, к сожалению, противоречивы. С одной стороны, было продемонстрировано преимущественно усиление ПОЛ, с другой—отмечалось отсутствие активирования процессов перекисеобразования при бикукуллиновых судорогах [14]. Это указывает на значение применяемой модели эпилепсии. Однако, на наш взгляд, в предыдущих исследованиях не учитывалось то обстоятельство, что разные отделы мозга, имея различную морфофизиологическую организацию, вероятно, играют неоднозначную роль в генезе и развитии эпилепсии. Следовательно, процесс образования перекисей зависит от исследуемой структуры. В данной работе изучалось влияние коразоловых судорог на процесс перекисеобразования в коре б. и. и мозжечке.

Материал и методика. Опыты проводили на беспородных белых крысах обоего пола массой 150—200 г.

Генерализованную эпилепсию вызывали внутрибрюшинным введением коразола в дозе 45 мг/кг массы животного. При визуальном наблюдении (хронометраж) отмечали скрытый период появления судорог, продолжительность, количество и интенсивность клонико-тонических судорог.

Для изучения динамики протекания ПОЛ при развитии судорог животных убивали через 2 мин после введения коразола, на высоте эпилептической активности (через 6—10 мин после введения коразола) и через час после введения коразола.

Об активности ПОЛ (в НАДФН- и аскорбат-зависимой системах перекиселения липидов) судили по содержанию маловязкого диальдегида в коре и мозжечке головного мозга крыс, образующего с тиабарбитуровой кислотой окрашивание, интенсивность которого регистрировали спектрофотометрически при длине волны 535 нм [1]. Количество перекисей пересчитывали на 1 мг белка данной фракции [1].

Сокращения: б. п.—большие полушария, ПОЛ—перекисное окисление липидов;

Исследования проводили в четырех сериях: контроль, предсудорожный период с определением уровня липидных перекисей, припадок с определением уровня липидных перекисей, после припадка.

Результаты и обсуждение. Как показали результаты наблюдений содержание перекисей липидов в коре б. п. в предсудорожном периоде по сравнению с контролем при неферментативном окислении статистически достоверно понижается, составляя приблизительно 11,7%; в мозжечке оно значительно возрастает (25%).

При ферментативном окислении в коре б. п. этот показатель в предсудорожный период снижается также примерно на 5,5% без заметных отклонений в мозжечке.

Во время судорог в коре б. п. содержание перекисей в аскорбат-зависимой системе окисления остается несколько сниженным (7,2%), близким к норме, а в мозжечке обнаруживается значительное активирование ПОЛ с увеличением количества липидных перекисей примерно на 16,6%, которое, тем не менее, колеблется в пределах, уступающих таковым в промежуточный период.

Некоторое повышение ПОЛ в коре б. п. в период судорог обнаруживается в ферментативной системе окисления. При этом в мозжечке интенсивность течения этих процессов не претерпевает существенных изменений или проявляет тенденцию к уменьшению по сравнению с контролем.

В постсудорожном периоде в коре б. п. интенсивность ПОЛ в аскорбат-зависимой системе перекисления оказывается несколько сниженной и близкой к показателям периода судорог, а в мозжечке остается достаточно высокой, уступая в некоторой степени интенсивности ПОЛ во время судорог (16,5%).

В НАДФН-зависимой системе окисления уровень ПОЛ в постсудорожном периоде как в коре б. п., так и в мозжечке колеблется в пределах, близких к норме.

Реакция СРО в клетках находится под контролем различных регуляторных и лимитирующих систем.

В ряде исследований показано, что в большинстве случаев при высокой судорожной активности [3, 6] интенсивность течения реакций ПОЛ в мозге повышается.

В наших исследованиях, в условиях коразоловых судорог, констатируются несколько иные, заслуживающие, на наш взгляд, внимания, закономерности. Так, например, выявлены значительные расхождения в интенсивности течения перекисеобразования в коре б. п. и мозжечке. Если в коре в предсудорожный период отмечается снижение интенсивности этого процесса, то в мозжечке она, наоборот, значительно возрастает в аскорбат-зависимой системе. Аналогичная картина во время судорог прослеживается в мозжечке. По-видимому, повышение ПОЛ в мозжечке может быть одной из причин возникновения судорожной активности, поскольку мозжечок является важнейшей структурой ЦНС, участвующей в регуляции движений. Более того, имеются данные, указывающие, что стимуляция мозжечка вызывает подавление судорожной активности в коре б. п. [2]. Выдвигаемые предположения подтверждаются существующими в литературе положениями относительно динамики содержания липидных перекисей в различных структурах мозга.

Так, например, максимальная скорость образования H_2O_2 в мозге отмечена в митохондриях мозжечка [13]. Показано также, что в отличие от коры б. п. в мозжечке при судорогах, вызванных пентилентетразолом, происходит чувствительное снижение плотности адеозинового рецептора [15]. Эти же авторы отмечают значительные дегенеративные изменения в мозжечке больных эпилепсией.

Известно, что одним из патогенетических механизмов, лежащих в основе эпилепсии, является нарушение ГАМК-ергического тормозного контроля. Согласно данным литературы, во время судорожной активности различного происхождения происходит снижение содержания ГАМК в мозге. Так, например, полагают [4], что формирование очагов возбуждения в головном мозге под влиянием пенициллина является результатом блокады ГАМК-рецепторов. ГАМК-ергическая система выступает в роли важнейшего тормозного механизма мозга, лимитирующего через мембраны возбужденное состояние нейронов. Вещества типа диазепам и карбазепин отличаются отчетливым противоэпилептическим действием, реализуемым посредством активации ГАМК-ергической системы [4].

Эпилептогены биккуллин, пикротокин, стрихнин блокируют тормозное действие в клетках Пуркинье мозжечка. Отмечается усиление вызванного торможения активности клеток Пуркинье с введением агониста бензодиазепиновых рецепторов. [9].

Некоторые конвульсанты, например, меркаптопропионовая кислота, являясь ингибиторами глутаматдекарбоксилазы, оказывают детерминирующее влияние на устойчивость уровня ГАМК в мозге [12]. Резкое уменьшение ГАМК-ергических первичных окончаний в эпилептогенном фокусе коры б. п. оказывается настолько, что может явиться причиной уменьшения тормозного синаптического контроля пирамидальных нейронов.

Известно, что введение ГАМК вызывает угнетение эпилептической активности мозга.

Таким образом, неоднотипность течения ПОЛ в коре б. п. и мозжечка мы склонны объяснить различиями в их нейрофизиологических и нейрохимических механизмах, в частности, тем, что в мозжечке ГАМК-ергическая тормозная синаптическая передача несравненно более выражена, чем в других структурах мозга, в связи с чем при судорогах она больше подвержена изменениям, более ранима, и это может стать причиной интенсификации течения реакций ПОЛ в мозжечке.

Активация ПОЛ при судорогах, отмеченная в ряде указанных выше работ, касается главным образом целостного мозга гомогената или крови, что на наш взгляд, является не совсем информативным, так как при этом не учитываются особенности морфофункциональных различий отдельных образований ЦНС, естественно, отличающихся также неоднотипностью метаболического потенциала, ответственного и в регуляции уровня перекиссообразования.

Отмеченные расхождения можно объяснить исходя из результатов наших исследований, согласно которым интегральный выход липидных перекисей при определении их количества в общем мозговом гомогенате

может зависеть от степени выраженности процесса ПОЛ в том или ином отделе мозга, а в некоторых случаях и от характера направленности его, которая нередко может оказаться диаметрально противоположной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю. А., Арчаков А. Н. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
2. Григорян В. З., Ханбабян М. В., Никогосян Л. А., Татевосян Э. Т. Биолог. ж. Армения, 26, 9, 35—40, 1973.
3. Крыжановский Г. Н., Никушин Е. В., Воронко В. А., Браславский В. Е. Бюлл. экпер. биол., 96, 11, 36—38, 1983.
4. Крыжановский Г. Н., Шандра Л. А. Бюлл. экпер. биол., 100, 11, 545—547, 1985.
5. Моисеев И. Н. Нейрохимия, 7, 2, 264—267, 1988.
6. Никушин Е. В., Крыжановский Г. Н. Пат. физкол. и экпер. терапия, 6, 19—24, 1987.
7. Прилико Л. Л., Казин В. Е., Мертсон Ф. З., Богданова Е. Д., Брусовник В. И., Орлов О. П., Архипенко О. В. Бюлл. экпер. биол., 96, 11, 6—7, 1983.
8. Симонян М. А., Табачникова С. И., Громов Л. А. Нейрохимия, 3, 2, 124—129, 1984.
9. August J., Outinier C., Gussain S., Walker R. J. J. *Physiol. (Cir. Bril.)*, 40, 61, 1988.
10. Bralrowsky S., Kunitomo M., Mentni C., Silva-Barral, C., Ritche D., Naquet R. *Brain Res.*, 442, 1, 175—179, 1988.
11. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. J. *Biol. Chem.*, 193, 265—275, 1951.
12. Martin B. J., Marley R. J., Miner L. L., Wehner J. M. *Pharmacol. Biochem. and Behav.*, 23, 3, 501—507, 1988.
13. Patole M. S., Swarcop A., Ramasarna T. J. *Neurochem.*, 47, 1, 1—8, 1986.
14. Stasjov Bo K., Rehnerona S., Smith D. *Acta physiol. scand.*, 110, 492, 121—128, 1980.
15. Wgbenga M. P., Murphy M. G., Robrtson H. A. *Eur. J. pharmacol.*, 75, 1, 79—80, 1981.

Получено 18.VII 1989 г.

Биолог. ж. Армения, № 11.(42), 1989

УДК 577.352.315+23

ЛАКТАТ КАК ИСТОЧНИК ЭНЕРГИИ В РАБОТЕ МУЛЬТИФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА *E. COLI*

К. А. БАГРАМЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики

Показано, что лактат может служить источником энергии для поглощения ионов K^+ как для АТФ-зависимого транспортного комплекса, так и только для транспортера K^+ у анаэробно выращенных бактерий *E. coli*.

Ցույց է տրված, որ *E. coli* բակտերիաներով կաթնաթթվի կարող է հանդիսանալ աղան էներգիայի աղբյուր K^+ -իոնների կլանման համար՝ ինչպես АТФ-ից կախված տրանսպորտային կոմպլեքսի, այնպես էլ K^+ -իոնների տեղափոխվել համար:

It has been demonstrated that lactate can serve as an energy source for K^+ accumulation both for АТФ-driven transport complex and K^+ -carrier in anaerobically grown *E. coli*.

Ранее нами было показано [1], что мультиферментный комплекс (суперкомплексе), состоящий из H^+ -АТФазы, транспортера ионов K^+ Тгк-системы и формат-водород лиаза обменивает $2H^+$ клетки на K^+ среды и при этом окисляет формат до CO_2 и H_2 . В то же время известно, что бактерии *E. coli*, на которых установлен этот факт, осуществляют смешанное брожение, при котором дегралация глюкозы ведет к образованию лактата с последующим образованием этанола, ацетата и формата [2].

Целью настоящей работы явилось исследование роли лактата как экзогенного источника энергии и формата в функционировании мультиферментного комплекса, обменивающего $2H^+$ клетки на K^+ среды у анаэробно выращенных *E. coli*.

Материал и методики. В работе использовали дикий тип *Escherichia coli* K-12 (λ). Анаэробный рост бактерий осуществляли без перемешивания в пептонной среде с глюкозой в литровых колбах, содержащих 800 мл среды. В случаях необходимости ингибирования синтеза формат-водород лиаза бактерии выращивали в той же среде, но содержащей 100 мМ нитрата натрия. Аэробные клетки были получены в солевой среде с сукцинатом в литровых колбах с 150 мл среды при непрерывном встряхивании. Бактерии выращивали в течение 18–22 ч при 37°. Титр бактерий определяли подсчетом колоний после высева на твердые питательные среды. После выращивания клетки отмывали в дистиллированной воде или соответствующем растворе и переносили в экспериментальный раствор.

В работе использовали пептон (*Pharmachim*, Болгария), тетрафенилфосфоний бромистый, TPP⁺ (*Сhemapol*, ЧССР), трисаминотетрамин (*Reanal*, Венгрия), стандартные буферные растворы (*Radiometer*, Дания), N,N'-дигидроксиэтилкарбодимид, ДЦКД (*Sigma*, США) и ряд отечественных реактивов.

Потоки TPP⁺, H^+ и K^+ через мембраны бактерий, обработанные 10 мМ EDTA, оценивали по изменению активности этих ионов в среде [3, 4]. Окислительно-восстановительный потенциал (E_H) определяли с помощью электрода из титансиликатного стекла типа ЭО-021, изготовленного в лаборатории электрохимии стекла Ленинградского государственного университета. Образование H_2 определяли платиновым электродом типа ЭПВ-1. Важной особенностью электродов из электропроводящих стекол является их неспособность служить, как платина, катализатором большинства окислительно-восстановительных взаимодействий, в частности, у них отсутствует чувствительность к газообразным O_2 и H_2 . Используя оба типа электродов, легко было отличать редокс-состояние суспензии от появления в среде газообразного H_2 . Чтобы убедиться в том, что платиновый электрод в определенных случаях записывает появление в среде H_2 параллельно были проведены контрольные определения H_2 химическим методом, основанным на превращении окрашенного раствора, содержащего ионы $[MnO_4^-]$ —в бесцветный раствор, содержащий $MnSO_4$ в соответствии с реакцией:



Результаты и обсуждение. Используя градуальные добавки глюкозы в качестве экзогенного источника энергии, мы отмечали, что поглощение ионов K^+ имеет место только в период гликолиза, когда синтезируется АТФ и выбрасываются ионы H^+ в среду. В этот же период наблюдается заметное падение мембранного потенциала $\Delta\psi$, E_H и образование H_2 (рис. 1), и это как будто не отражается на поглощении H^+ . В то же время вход K^+ как бы сопровождается падением величины $\Delta\psi$, тогда как выход его ведет к восстановлению потенциала. Эти данные

прямо указывают на $\Delta\psi$ -независимое поглощение K^+ в присутствии экзогенного источника энергии—глюкозы.

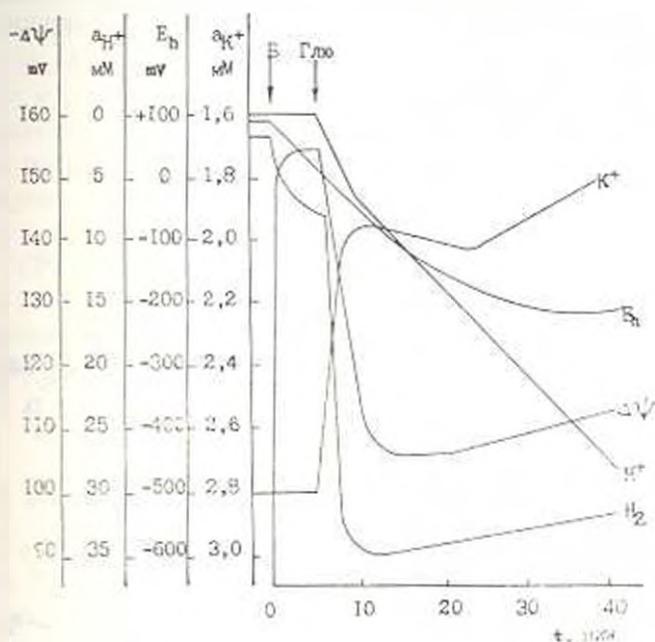


Рис. 1. Определение потоков H^+ , K^+ , величин мембранных потенциалов ($\Delta\psi$), редокс-состояния мембран (E_h) и производства молекулярного водорода (H_2) анаэробно выращенными бактериями *E. coli*. a_{H^+} и a_{K^+} — активности ионов H^+ и K^+ в бактериальной суспензии. E_h — окислительно-восстановительный потенциал стеклянного электрода, выброс H_2 определяли платиновым электродом качественно (электродные потенциалы даны по шкале E_h). Глюкозу вносили после бактерий (B) в концентрации 22 мМ (Глю). Экспериментальный раствор содержит: фосфатно-трисовый буфер, 1 мМ KCl, 1 мМ NaCl, 0,4 мМ $MgSO_4$, pH 7,5. Каждая запись является одним из 3–5 статистически достоверных результатов данной серии экспериментов.

Как видно из рис. 2, еще до введения в экспериментальную среду другого источника энергии—лактата, в бактериях также обнаруживаются высокая разность потенциалов и восстановительные процессы, фиксируемые как платиновым, так и стеклянным электродами. Введение в среду лактата приводит к поглощению K^+ , уменьшению абсолютной величины $\Delta\psi$, падению E_h и выбросу H_2 . Характерно, что уменьшение интенсивного поглощения ионов K^+ сопряжено с восстановлением исходного уровня потенциала и прекращением выброса H_2 . Таким образом, так как производство H_2 целиком определяется работой формат-водород лиазы у анаэробов [1], а поглощение K^+ происходит с помощью H^+ — K^+ -насоса [5], то, по всей видимости, лактат также может быть использован в качестве источника формата и энергии при работе суперкомплекса.

Следует отметить, что замена формат-водород лиазы на нитрат-редуктазу при выращивании бактерий *E. coli* в 100 мМ $NaNO_3$, т. е. при переводе клеток на нитрат-нитритное дыхание, также приводит к по-

глощению K^+ , но в этом случае не наблюдается производства H_2 , при-
сущего формиат-водород лиазе (рис. 3).

Ранее было установлено, что только анаэробно выращенные клетки *E. coli* осуществляют АТР-зависимое поглощение ионов K^+ , тогда

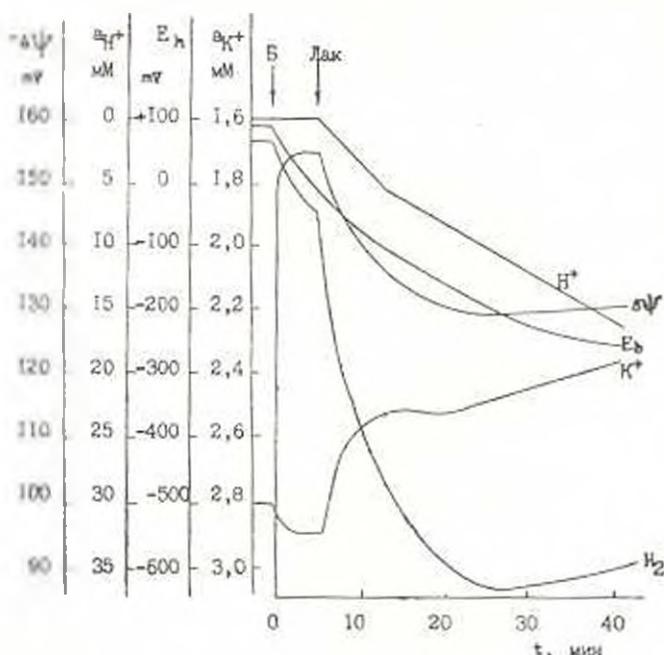


Рис. 2. То же, что и на рис. 1, но в присутствии 22 мМ лактата натрия (Лак).

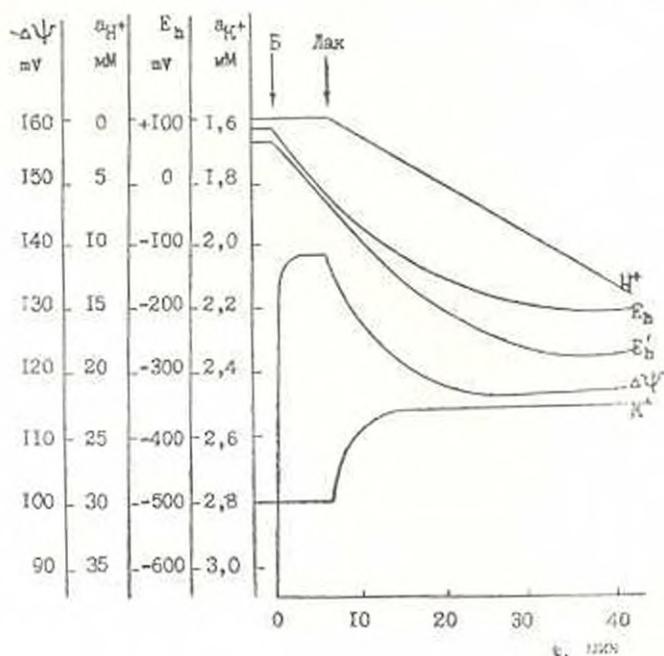


Рис. 3. Измерения, подобные приведенным на рис. 2, но для анаэробно выращенных *E. coli* в присутствии $NaNO_3$. E_h —потенциал платинового электрода в условиях отсутствия молекулярного водорода (совпадает по величине стеклянного электрода).

каз во всех других случаях K^+ поступает по градиенту электрического поля [3]. Нами было показано, что добавление в среду N,N' -двинклогексилкарбодимида—ингибитора H^+ -АТФазы, не изменяя величины $\Delta\phi$, подавляет функции только мультиферментного комплекса у анаэробов, где H^+ -АТФаза важна для поглощения K^+ [1]. Это подтверждается и тем, что добавление арсената, блокирующего образование АТФ, также сказывается только на поглощении ионов K^+ у анаэробов, выращенных без нитрата и присутствии лактата в качестве экзогенного источника энергии (не показано).

Лактат, деградируя до ацетата, способствует образованию одной молекулы АТФ. В то же время в параллельном пути образуется формат. Этим и объясняется то, что мультиферментный комплекс получает как энергию (через H^+ -АТФазу), так и восстановительные эквиваленты от формат-водород лиазы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баграмян К. А., Мартиросов С. М. Биофизика, (в печати).
2. Готтшалк Г. Ки.: Метаболизм бактерий, 147, М., 1982.
3. Мартиросов С. М., Трчунян А. А. Биофизика, 31, 626, 1986.
4. Варданян А. Г., Мартиросов С. М. Биофизика, 31, 833, 1986.
5. Martirosov S. M., Trchounian A. A. Bioelectrochem. Bioenerg., 9 459, 1982.

Поступило 30.XI 1988 г.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕТАЛЛОВ НА УРИКАЗУ ИЗ *BACILLUS FASTIDIOSUS*

С. Ш. ТАТКЯН, А. Л. СИМОНЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ СССР

Показано, что ионы меди в концентрации 10^{-6} М приводят к увеличению активности уриказы из *B. fastidiosus* в среднем на 10%. в концентрации $5 \cdot 10^{-3}$ М—к ингибированию на 57%. ЭДТА не влияет на активность фермента. Имобилизованная уриказа до концентрации $5 \cdot 10^{-2}$ М не чувствительна к ионам меди. Имобилизация фермента в присутствии высоких и низких концентраций ионов меди приводит соответственно к уменьшению или увеличению активности препарата. Сделан вывод о том, что Cu^{2+} не входит в состав активного центра, а играет регуляторную роль.

Ցույց է տրվում, որ 10^{-6} Մ խտության զեպրում պղնձի իոնները հանգեցնում են *B. fastidiosus*-ից ուրիկազայի ակտիվության միջին հաշվով 10% աճին, իսկ $5 \cdot 10^{-3}$ Մ խտության զեպրում՝ 57% ննջմանը: EDTA-ն չի ազդում ֆերմենտի ակտիվության վրա: Իմոբիլիզացված ուրիկազան միջև $5 \cdot 10^{-2}$ Մ խտությունը զգալուն չէ պղնձի իոնների նկատմամբ: Ֆերմենտի իմոբիլիզացումը պղնձի իոնների բարձր և ցածր խտությունների ապալության զեպրում համապատասխանաբար ընդուն է սյուտրաստուկի ակտիվության նվազման կամ աճին: Ընթացողում է, որ Cu^{2+} չի մտնում ակտիվ կենտրոնի կազմի մեջ, բայց խաղում է կարգավորիչ դեր:

It has been shown that ions of copper 10^{-6} M concentration bring to the increase of the activity of uricase from *Bac. fastidiosus* for 10 per cent on average, in $5 \cdot 10^{-4}$ M concentration — to the inhibition for 57 per cent. EDTA does not influence the activity of enzyme. Up to $5 \cdot 10^{-2}$ M concentration the immobilized uricase is not sensitive to copper ions. In the presence of high and low concentrations of copper ions immobilization of the enzyme brings to corresponding decrease or increase of the activity of the preparation. It is concluded that Cu^{2+} does not enter the composition of the active centre, but plays a regulatory role.

Уриказа В fastidiosus—ионы металлов—иммобилизация.

Большинство оксидаз, использующих в качестве акцептора электронов кислород, содержит в своем составе один из окислительно-восстановительных коферментов—FAD, FMN и др. В отличие от них, в составе уриказы не обнаружен ни один из известных кофакторов. Некоторые авторы считают, что уриказа является медьсодержащим ферментом [7, 8], однако роль ионов меди в уриказном катализе окончательно не установлена.

Настоящая работа посвящена изучению влияния ряда ионов металлов, в частности меди, на нативную и иммобилизованную уриказу.

Материал и методика. Уриказу выделили из *Bac. fastidiosus*, выращенных в жидкой синтетической среде, содержащей в качестве единственного источника углерода и азота мочевику кислоту [3]. Чистоту препарата проверяли электрофорезом в ПААГ в присутствии додецилсульфата натрия. Иммобилизацию проводили на силикагеле, предварительно аммирированном γ -аминопропилтриэтоксисиланом и активированным глутаровым альдегидом по методике Робинсона [9].

Активность определяли амперометрически, регистрируя скорость потребления кислорода в ходе ферментативной реакции с помощью электрода Кларка на полиграффа РА-2 (ЧССР). Для этого ячейку объемом 5 мл заполняли 5 мМ раствором мочевиной кислоты в 59 мМ Трис-НСI буфере (рН 8,8), содержимое ячейки перемешивали мешалкой и после установления тока электрода реакцию запускали введением 50 мкл раствора фермента. За единицу активности принимали количество фермента, потребляющего 1 мкмоль кислорода в мин.

При исследовании влияния ионов металлов на активность уриказы в ячейку перед запуском реакции добавляли 10—100 мкл раствора соответствующих солей для получения необходимых концентраций ионов в ячейке.

В работе использовали Трис, глутаровый альдегид и набор реактивов для электрофореза («Reanal», Венгрия), додецилсульфат натрия и кумасси голубой («Merk», ФРГ) и реактивы отечественного производства.

Результаты и обсуждение. Одним из наиболее простых тестов для определения роли ионов металлов в ферментативном катализе является исследование влияния этих ионов на активность фермента. Если ион, входящий в состав фермента, частично или полностью утрачивается при очистке, добавление металла приводит к резкому увеличению активности.

Мы исследовали влияние ряда двухвалентных ионов на уриказу в довольно широком диапазоне концентраций. В этих и последующих экспериментах использована электрофоретически гомогенная уриказа. По приведенным в табл. данным видно, что Mg^{2+} и Co^{2+} практически не действуют на активность уриказы. Особенно интересным является действие ионов меди на фермент. Низкие концентрации их приводят к повышенной активности уриказы (рис. 1). Влияние ионов металлов на

уриказу исследовалось и в работе Бонгерта и др. [4], в которой авторы использовали уриказу из другого штамма *B. fastidiosus*. Однако они рассматривали область относительно высоких концентраций (10^{-5} — 10^{-6} М), где, как и в наших экспериментах, наличие как ионов меди, так и других металлов в реакционной среде приводит к падению активности фермента в большей или меньшей степени.

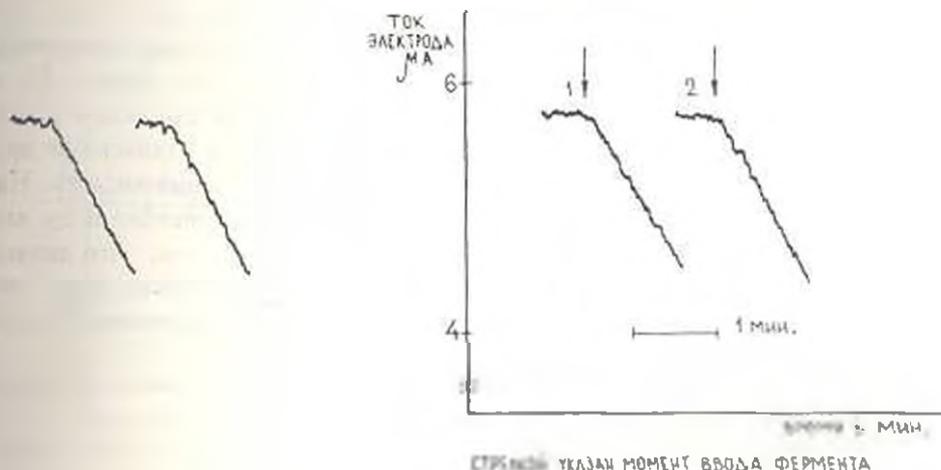


Рис. 1. Влияние ионов меди на начальную скорость уриказной реакции. 5 мМ мочева кислота и 50 мМ Трис-НСI буфере, рН 8,8, 25°, насыщение кислородом воздуха. Концентрация уриказы— $5 \cdot 10^{-8}$ М. 1—контроль, 2— 10^{-6} М.

Изучение влияния ионов меди на константу Михаэлиса показало, что K_m как для кислорода, так и для моченой кислоты при этом не меняется. При высоких концентрациях Cu^{2+} происходит скорее всего бесконкурентное ингибирование (рис. 2). Ранее мы сообщали, что взаи-

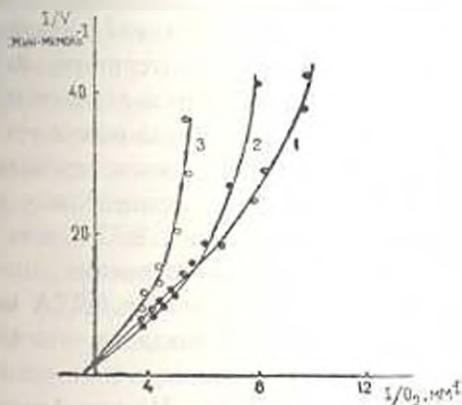


Рис. 2.

Зависимость скорости уриказной реакции от концентрации кислорода при разных концентрациях ионов меди. Условия те же, что и на рис. 1. 1—контроль, 2— 10^{-6} М $CuSO_4$, 3— $5 \cdot 10^{-5}$ М $CuSO_4$.

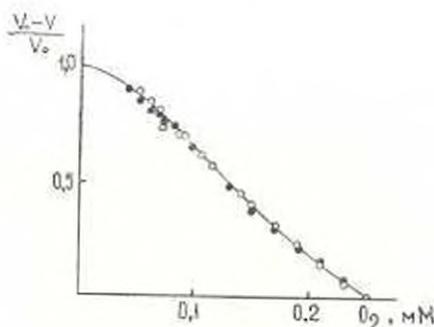


Рис. 3.

Зависимость скорости уриказной реакции от концентрации кислорода в присутствии ЭДТА. Условия те же, что и на рис. 1. Концентрация ЭДТА—2 мМ. o-o-o—контроль ●—●—● —+ ЭДТА

действие уриказы с кислородом носит кооперативный характер [3]. Наличие ионов меди, как видно из рис. 2, приводит к усилению этого эффекта. Наблюдаемое более резкое снижение активности фермента при уменьшении концентрации кислорода нельзя объяснить инактивацией уриказы при длительной инкубации фермента с ионами меди. Эксперименты показывают, что инкубация уриказы с Cu^{2+} в течение 20–30 мин, которые затрачиваются для записи кинетической кривой, не приводят к дополнительной инактивации фермента.

Как уже отмечалось, некоторые исследователи считают, что уриказа является медьсодержащим ферментом. Конлей и Прайст [5] в своей работе приводят факт ингибирования уриказы цианидом и гидроксипламиниом, причем степень инактивации фермента зависит от времени его инкубации с ингибитором в присутствии мочевой кислоты. Ингибирование уриказы цианидом обнаружили также Кисселла и др. для фермента из печени рыб [6]. Авторы объясняют это тем, что цианид убирает из активного центра фермента одновалентные ионы меди, что приводит к его инактивации. Однако, если в составе активного центра

Влияние ионов металлов на активность уриказы, %

Внесенный катион ^{***}	Концентрация соли, M						
	Контроль	10^{-6}	$5 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}	10^{-4}	$5 \cdot 10^{-3}$	
Ni 2+	100±0.9	95.6±1.7	—	89.3±2.3	60.2±1.8	33.9±1.6	15.5±1.4
Co 2+	100±1.2	—	100.0±1.1	98.3±2.1	88.8±1.5	83.3±1.4	83.3±1.7
Mg 2+	100±2.1	100.0±1.6	—	97.8±1.2	95.5±0.7	95.9±1.3	91.3±4.5
Cu 2+	100±1.6	100.9±2.9*	104.5±1.8 [†]	102.0±1.9	95.1±1.3	78.0±1.5	42.8±1.0

* $p < 0.001$; [†] $p < 0.01$; ^{***} Все катионы вводили в реакционную среду в виде сульфатов.

уриказы присутствуют ионы меди, они не могут постоянно оставаться в одновалентном состоянии. Следует учесть, что уриказный катализ осуществляется путем двухэлектронного переноса. В литературе известны различные механизмы двухэлектронного переноса с участием ионов меди. Во всех этих моделях хотя бы на каком-нибудь одном этапе фигурирует двухвалентный ион меди [1]. Наличие такого перехода предполагается также в схеме уриказного катализа, приведенного в работе Питса и Прайста [8]. В этом случае присутствие ЭДТА, который образует хелатные соединения с двухвалентными катионами, должно привести к ингибированию фермента. Но присутствие ЭДТА не влияет на активность уриказы. Наши эксперименты показали, что ни предварительная инкубация фермента с ЭДТА, ни присутствие его в реакционной среде не приводят к инактивации фермента. На рис. 3 приведена зависимость скорости уриказной реакции от концентрации кислорода в присутствии ЭДТА. Как видно из рисунка, во всем исследованном диапазоне концентраций кислорода ход обеих реакций—без ЭДТА и с ЭДТА—достаточно хорошо совпадает. Это говорит о том, что характер зависимости активности фермента от концентрации кислорода не меняется при добавлении в реакционную среду ЭДТА. Кроме

того, результаты эксперимента получены при непрерывной регистрации хода реакции, тем самым исключается ингибирование фермента во времени, как цианидом в экспериментах Конлея и Прайста [5].

Бонгерте и др. [4], исследуя уриказу из *B. fastidiosus* методом ЭПР спектроскопии, не обнаружили медь в составе фермента. Однако это не обязательно указывает на отсутствие ее, поскольку известно, что в некоторых случаях в белках содержится ЭПР-недетектируемая медь. Это могут быть одновалентные ионы Cu^{I} или диамагнитные димеры двухвалентных ионов $\text{Cu}^{2+}-\text{Cu}^{2+}$ [2]. Те же авторы, применяя атом-

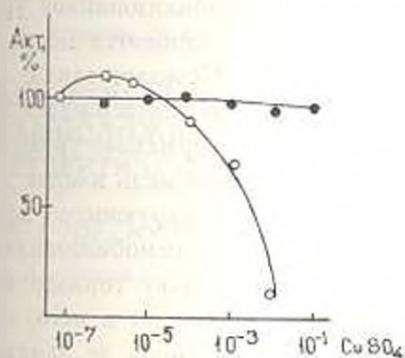


Рис. 4.

Влияние ионов меди на активность иммобилизованной уриказы. Условия те же, что и на рис. 1. За 100% принята активность фермента в условиях отсутствия ионов меди. $\circ-\circ-\circ$ — нативная уриказа, $\bullet-\bullet-\bullet$ — иммобилизованная уриказа.

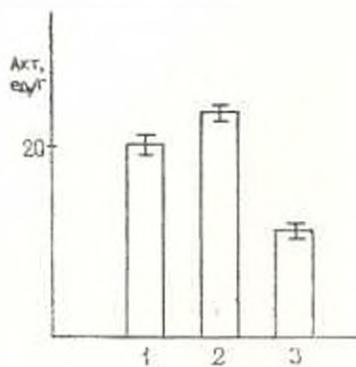


Рис. 5.

Влияние наличия ионов меди при иммобилизации на активность иммобилизованного препарата. 1 — контроль, 2 — концентрация CuSO_4 при иммобилизации: 2. 10^{-6} М, 3 — $5 \cdot 10^{-3}$ М. Активность препарата измеряли в условиях, указанных на рис. 1. $P < 0.001$.

но-адсорбционную спектроскопию, которая дает возможность обнаруживать и такие ионы меди, выявляли незначительное количество ее, в соотношении с уриказой, равном 1:7, что явно недостаточно для функционирования в качестве кофактора. Кроме того, они сообщают, что ингибирование уриказы цианидом носит обратимый характер — при удалении цианида диализом активность фермента полностью восстанавливается. Этого бы не произошло, если бы инактивация фермента цианидом была связана с удалением меди из активного центра цианидом.

Влияние ионов меди на активность уриказы может быть объяснено взаимодействием этих ионов с регуляторными центрами, приводящими к конформационным изменениям. Последнее отражается на активности фермента. По-видимому, не следует отождествлять эти участки фермента с теми центрами, которые ответственны за регуляцию активности фермента в норме, и тем самым приписывать некую биохимически обусловленную роль ионам меди в уриказном катализе.

Конечно, можно сделать и другое предположение, согласно которому ионы меди входят в состав активного центра, и наблюдаемое нами повышение активности связано с присоединением в активный центр уриказы недостающих ионов меди, которые частично или полностью теряются

при очистке. Однако это кажется маловероятным по следующим соображениям. Во-первых, трудно объяснить работоспособность фермента при практически полном отсутствии ионов меди или таком низком соотношении, какое приводится в работе Бонгерта. Следует также обратить внимание на то обстоятельство, что суммарная активность ферментного препарата при очистке не уменьшается. Во-вторых, предположение о регуляторной роли ионов меди подтверждается также экспериментами с иммобилизованным ферментом. Как известно, при иммобилизации, особенно при ковалентном связывании с матрицей, фиксируется определенное конформационное состояние фермента. На рис. 4 показано влияние ионов меди на активность иммобилизованной уриказы. Как видно, фермент после иммобилизации становится нечувствительным к ионам меди до концентрации 10^{-4} М. Исчезает также активирующее действие низких концентраций Cu^{2+} . Это подтверждает предположение о том, что ионы меди влияют на конформацию уриказы, а не входят в активный центр. Действительно, если медь входит в активный центр, трудно объяснить исчезновение активирующего эффекта. Ведь для внедрения меди в активный центр иммобилизованного фермента нет как стерических ограничений, поскольку гораздо более крупная молекула мочевой кислоты свободно проникает в него, так и электрических, поскольку используемая нами матрица не заряжена. На это указывает то, что рН оптимум действия фермента при иммобилизации не меняется. Кроме того, трудно иначе объяснить исчезновение ингибирующего действия высоких концентраций Cu^{2+} . Другим подтверждением предположения о регуляторном действии ионов меди служит тот факт, что при иммобилизации уриказы в присутствии ионов меди различных концентраций активность иммобилизованного препарата получается различной (рис. 5). При низких концентрациях ($2 \cdot 10^{-6}$ М) активность фермента, измеренная в стандартных условиях, выше активности контрольного препарата. Иммобилизация уриказы в присутствии $5 \cdot 10^{-3}$ М сульфата меди приводит к значительному снижению активности по сравнению с контролем. Можно предположить, что наличие ионов меди в иммобилизационной среде приводит в зависимости от концентрации Cu^{2+} к переходу уриказы в более или менее активную конформацию по сравнению с нативным ферментом. Изменяемая конформация фиксируется при иммобилизации, оставаясь в таком состоянии и после того, как из среды убирается активирующий или ингибирующий фактор.

Таким образом, из вышесказанного следует, что присутствие ионов меди не является необходимым условием для осуществления уриказного катализа; взаимодействуя с уриказой, они приводят к изменению конформации фермента, что отражается на его активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Метельца Д. И. Моделирование окислительно-восстановительных ферментов. 148. Минск, 1984.
2. Неорганическая биохимия. 2, 106. М., 1978.
3. Симонов А. Л., Татикян С. Ш., Кулис Ю. Ю. Биохимия. 59, 782, 1985.

4. Bongerts G. P. A., Utzetter J., Brouns R. and Vogel G. D. Biochem. Biophys. Acta, 527, 343, 1978.
5. Conley G., Priest D. G. Biochem. J., 187, 733, 1980.
6. Kinsella J. E., German B. and Shetty J. Comp. Biochem. Physiol., 82B, 621, 1985.
7. Mahler H. R., Hybster G., Baum H. J. Biol. Chem. 43, 625, 1975.
8. Pitts O. M., Priest D. G. Arch. Biochem. and Biophys., 153, 359, 1974.
9. Robinson P. J., Dunnill P., Lilly M. D. Biochem. and Biophys. Acta, 242, 659, 1971.

Поступило 26.VI 1989 г.

Биолог. ж. Армении, № 11.(42).1989

УДК 615.28.615.31

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ И ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЧЕТВЕРТИЧНОГО АММОНИЕВОГО СОЕДИНЕНИЯ А-660

И. Х. ТОРДЖЯН, Ж. Р. БАБАЯН, К. О. ОВНЯНЯН, Г. С. АКОПЯН

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

В клетках кишечной палочки соединение А-660 вызывает расщепление наружной мембраны клеточной стенки на два электронооптически плотных слоя и нарушение целостности цитоплазматической мембраны. В клетках золотистого стафилококка незначительно разрыхляется клеточная стенка и разрушается цитоплазматическая мембрана.

Соединение А-660 от известных ПАВ отличается механизмом воздействия на мембраны, приводящим к расщеплению двух ее электронооптически плотных слоев с образованием вздутий.

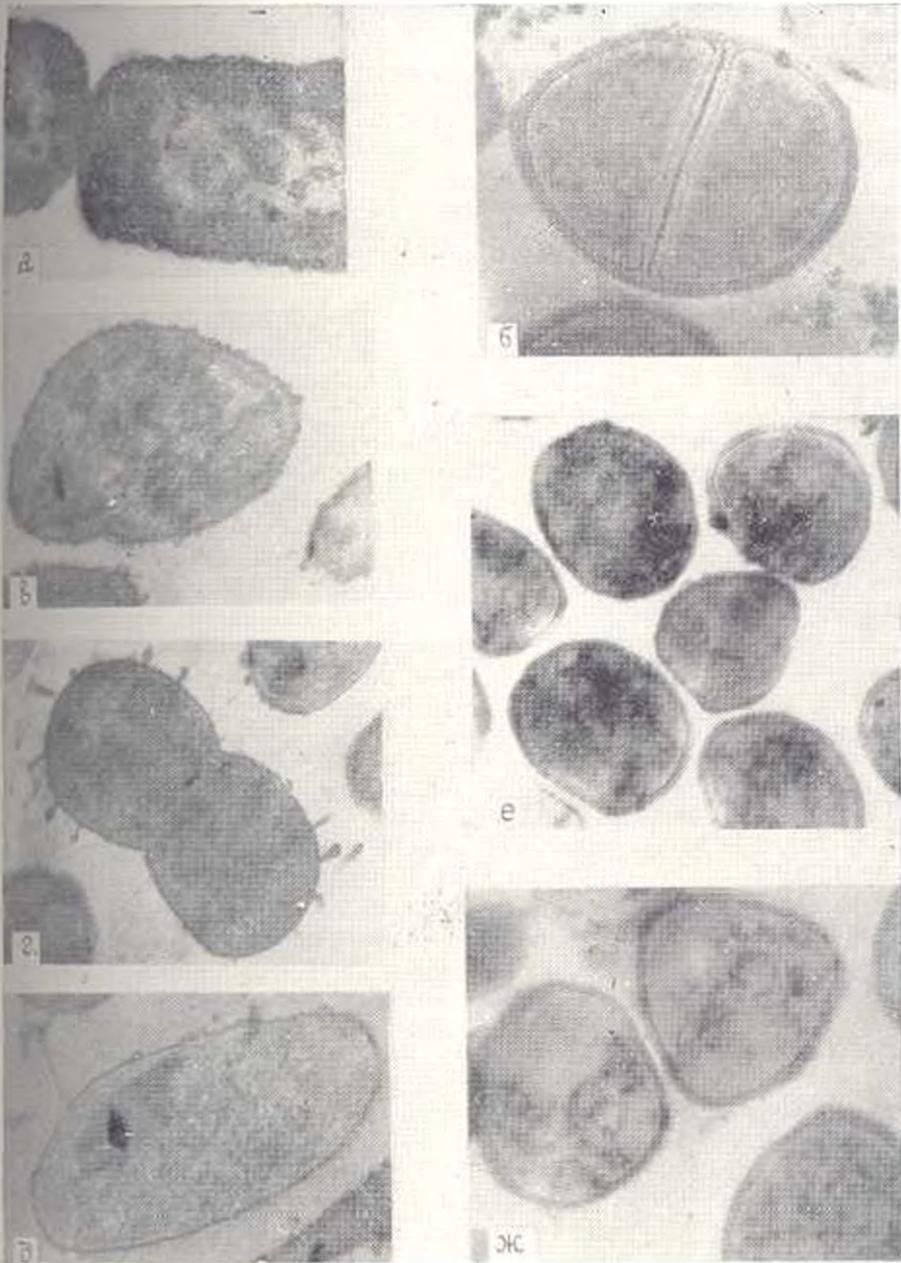
Աղիքային ցուպիկի բջիջներում Ա-660 միացությունը առաջացնում է բջջաբաժանի արտաքին թաղանթի ճեղքում 2 էլեկտրոնօպտիկ տեսակետից խիտ շերտերի, ինչպես նաև՝ բակտերիայի ցիտոպլազմատիկ թաղանթի սամբողջականության խախտում: Ոսկեզույն ստաֆիլոկոկի բջիջներում բջջաթաղանթը զուռնում է աննշան փխրուն և բաշտալիում է ցիտոպլազմատիկ թաղանթը: Ա-660 միացությունը առաջնորդում է հստակ մակերեսային ակտիվ նյութերից երանով, որ երա ազդեցության մեխանիզմը պայմանավորված է բջջի թաղանթի 2 էլեկտրոնօպտիկ խիտ շերտերի թալթալումով, որ առաջացնում է արտափրումներ:

In *Escherichia coli* the combination А-660 evokes splitting of the external membrane of the cell wall into two electrooptically firm layers and breach of continuity of cytoplasmic membrane. In *Staphylococcus aureus* the cell wall is slightly loosened and the cytoplasmic membrane is destructed. The combination А-660 differs from known SAS by the mechanism of influence on the membranes, bringing to the splitting of its two electrooptically firm layers by the formation of swellings.

ПАВ—ультраструктуры бактерий—биоциды.

В последние годы ведется интенсивный поиск новых дезинфицирующих средств среди группы катионных ПАВ, в частности, ЧАС

Сокращения. ПАВ—поверхностно-активное вещество; ЧАС—четвертичные аммониевые соединения.



Действие ЧАС А-660 на клетки кишечной палочки и золотистого стафилококка. А — контроль — кишечная палочка (штамм 1257) $\times 70.000$; Б — контроль — золотистый стафилококк (штамм 906) $\times 85.000$; в — действие А-660 на клетки кишечной палочки, сублетальная концентрация, $\times 56.000$; г, д — действие А-660 на клетки кишечной палочки, летальная концентрация $\times 45.000$, 56.000 ; е — действие А-660 на клетки золотистого стафилококка, сублетальная концентрация, $\times 56.000$; ж — действие А-660 на клетки золотистого стафилококка, летальная концентрация, $\times 60.000$.

Анализ литературных данных свидетельствует об отсутствии единой точки зрения на механизм антибактериального действия катионных ПАВ, что, возможно, связано с отсутствием комплексных исследований по изучению структурно-функциональных изменений клетки после ее контакта с ПАВ на современном научном уровне.

Целью настоящего исследования явилось изучение ультраструктурных изменений кишечной палочки и золотистого стафилококка под воздействием нового ненасыщенного хлорсодержащего ЧАС А-660, синтезированного из местного сырья и обладающего выраженным антибактериальным действием [2].

Материал и методика. В качестве тест-микроорганизмов использовали эталонные штаммы кишечной палочки (штамм 1257) и золотистого стафилококка (штамм 906). Изучения антимикробной активности соединения А-660 проводили согласно общепринятой методике [3] с применением 2 млрд взвеси 24-часовой микробной культуры. Установлено, что сублетальная концентрация соединения А-660 составляет для кишечной палочки и золотистого стафилококка 0,00025 и 0,00005% соответственно. Для электронномикроскопического исследования использовали суспензию клеток, подвергнутую действию этих концентраций исследуемого соединения. Смесь центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин. Осадок отмывали водопроводной водой и фиксировали по модифицированной методике [8]. Материал заключали в синтетическую смолу «Аралдит» (Швейцария, Флука), ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме УМТН-4, контрастировали уксуснокислым уранилом и лимоннокислым свинцом, просматривали и фотографировали на отечественном микроскопе ЭВМ-100 АК при инструментальном увеличении $\times 30\,000$.

Контролем служили клетки кишечной палочки и золотистого стафилококка, не подвергнутые воздействию препарата А-660.

Результаты и обсуждение. Ультратонкое строение контрольных клеток было типичным для грамотрицательных и грамположительных бактерий [1] (рис., а, б)*.

Сублетальная концентрация препарата А-660 вызывала изменения преимущественно в мембране клеточной стенки кишечной палочки. При видимой целостности бактериальной клетки, цитоплазматической мембраны и внутриклеточных структур по всей поверхности клеточной стенки наблюдались локальные выпячивания ее наружного электронооптически плотного слоя, образовавшегося вследствие расщепления мембраны на два электронноплотных слоя: нижний слой, прилегающий к цитоплазматической мембране, и поверхностный, образующий выпячивания (рис., в). Раскопавшиеся или расслоившиеся участки мембраны клеточной стенки отщипывались и обнаруживались в среде в виде одноконтурных мембранных пузырьков, имеющих определенную связь с поверхностью клеточной стенки или не имеющих ее (рис., и).

При использовании летальной концентрации препарата А-660 на поверхности клеточной стенки, наряду с указанными изменениями, наблюдались грибовидные выпячивания, образованные обоими слоями мембраны клеточной стенки и имеющие двухконтурное строение (рис., г). Последние состояли из узкой нижней части—«ножки» и расширенной верхней части—«головки». Образование таких выростов является, по-видимому, следствием ослабления связи между цитоплазматической

* Здесь и далее, рис., в—ж, см. вклейку.

мембраной и мембраной клеточной стенки. Целостность цитоплазматической мембраны нарушена.

Заметные изменения наблюдались в цитоплазме клеток: разрежение гранулярного компонента; образование в цитоплазме мелкозернистых плотных тел; значительное расширение периплазматического пространства и его заполнение мелкозернистым рыхлым веществом, морфологически и электронооптически аналогичным цитоплазматическому компоненту (рис., д). Последнее, по-видимому, имело место в результате нарушения проницаемости цитоплазматической мембраны.

Что касается золотистого стафилококка, то сублетальная концентрация препарата А-660 не вызвала каких-либо грубых морфологических изменений в его клетках. При полной сохранности клеточной стенки и цитоплазмы наблюдалось лишь незначительное разрыхление внешнего слоя клеточной стенки (рис., е) и размывание контура рибосом.

Об изменениях в структуре цитоплазматической мембраны не представляется возможным судить, так как последняя плохо различима в клетках стафилококка из-за маскировки, с одной стороны, плотно прилегающим муконентидным слоем, с другой — гранулярным компонентом цитоплазмы.

Летальная концентрация препарата А-660 приводила к грубым изменениям, не вызывая нарушения целостности клеток стафилококка. Клеточная стенка разрыхлялась. Цитоплазма в большинстве особей становилась грубозернистой и не прилежала к клеточной стенке, так что между клеточной стенкой и цитоплазмой выделялась зона с высокой электронооптической плотностью, имеющая однородное строение. В некоторых особях эта зона занимала значительную часть клетки. При этом цитоплазматическая мембрана не выявлялась, по-видимому, вследствие ее разрушения (рис., ж).

Исследование механизма действия известных ПАВ как биохимическими методами, так и на субмикроскопическом уровне позволило установить, что мишенью их действия являются биологические мембраны [4—7,9].

Субмикроскопическое исследование бактериальных клеток и их сферопластов при воздействии ПАВ выявило локальное нарушение целостности мембраны клеточной стенки, разрушение цитоплазматической мембраны у кишечной палочки и повреждение цитоплазматической мембраны у стафилококка [4].

Как показали наши исследования, новое катионное ПАВ А-660, так же как и другие известные ПАВ, обладает мембранотропным действием. Однако его отличительной особенностью является такой механизм разобщения между липидами и белками мембраны, который приводит к ее расщеплению на два электронооптически плотных слоя с образованием на поверхности клетки локальных издуть.

Таким образом, анализ ультраструктурных изменений, происходящих в клетках кишечной палочки и золотистого стафилококка, свидетельствует о том, что бактерицидное действие ЧАС А-660 в первую очередь обусловлено глубокими структурными нарушениями в мембранном аппарате бактерий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян А. А., Кац Л. Н., Павлова И. Б. Атлас анатомии бактерий патогенных для человека. М., 1982.
2. Бобаян Ж. Р. Некоторые современные вопросы клинической и экспериментальной медицины. 66, Ереван, 1988.
3. Инструкция по определению бактерицидных свойств новых дезинфицирующих средств, утвержденная МЗ СССР от 6.05.68 г., № 739-68.
4. Павлова И. Б., Самойленко И. Н. Антибиотики и медицинская биотехнология, 30, 2, 182, 1985.
5. Чернявская М. А., Павлова И. Б. ЖМЭИ, 2, 62, 1983.
6. Lambert P. A., Smith A. R. W., Microbiol., 15, 191, 1976.
7. Miller P. W., Barran L. P. Canad. J. Microb., 23, 1373, 1977.
8. Rytter A., Kallenberger E., Birch-Andersen A., Mufos O. Z. Naturforsch., 13, 9, 597, 1958.
9. Salton M. R. J. J. Gen. Microbiol., 5, 391, 1981.

Поступило 12.VI 1989 г.

Биолог. ж. Армении, № 11.(42).1989

УДК 576.851.155.095:575.24

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА Тп 5-ТРАНСФОРМАНТОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ЭСПАРЦЕТА

А. П. АЛЕКСАНИН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Показано, что и ряде случаев транспозоновые (Тп 5) трансформанты имеют качественно иную электрофоретическую подвижность изученных ферментов. Эффективность, НР и НГ активность отдельных трансформантов выше, чем у исходного штамма.

Չույց է օրգել, որ ասաներն ղեպքերում տատմանարժան ֆերմենտները որակապես զանազան (Տպ 5) տրանսֆորմանտների մոտ ունեն տարբեր էլեկտրաֆորետիկ շարժունություն: Մի շարք հուլատորաներ իրենց էֆեկտիվությամբ, նիտրատուղակապակի և նիտրոզիկազային ակտիվությամբ ղերազանցում են ելույթին շտամին:

It is shown that in a number of cases the transposone (Tr5) transformants differ in the quality of the electrophoretic mobility for the studied enzymes. The efficiency, NR and NG activities of some Tr5 transformants are higher than those of the initial strain.

Бактерии клубеньковые Тп 5—трансформанты—нитратредуктаза—нитрогеназа.

Получение мутантов клубеньковых бактерий в настоящее время осуществляется в основном широко распространенными традиционными генетическими методами [4, 6, 13]. Весьма немногочисленны работы по получению Тп 5-мутантов клубеньковых бактерий, слабо изучены их биохимические особенности и эффективность [2, 5]. Известны ра-

Сокращения. НР—нитратредуктаза; НГ—нитрогеназа.

боты, в которых для выявления гетерогенности природных популяций клубеньковых бактерий в качестве маркера изучали ряд ферментов: эстеразу, пероксидазу, глюкозо-фосфат-гидрогеназу, щелочную и кислую фосфатазы [8, 10].

Целью настоящего исследования являлось изучение эффективности полученных Тп-5-трансформантов клубеньковых бактерий эспарцета, их биохимических особенностей, НР и НГ активностей, изменений в качественном составе глутаминдегидрогеназы, малатдегидрогеназы, алкогольдегидрогеназы, эстеразы и пероксидазы.

Материал и методика. Для получения трансформантов в качестве донора использовали штаммы АК 631 клубеньковых бактерий люцерны из коллекции лаборатории генетики бактерий Института генетики ВНР, а в качестве реципиента—полученный штамм клубеньковых бактерий эспарцета ИНМНА В-5892 [1].

Процедуру выделения плазмидной ДНК и транспозоновый мутагенез осуществляли по методу Банфалви [7]. Для электрофоретического исследования ферментов в ПААГ использовали методику Маурера [10]. Супернатант получали по методике Бруера [9].

После электрофореза алкогольдегидрогеназу и малатдегидрогеназу идентифицировали 0,001 М никотинимиддинуклеотидом и 0,000163 М фенилэтилметасульфатом [11], глутаминдегидрогеназу—0,25 М глутаминовой кислотой, 0,0015 М НАД и 0,000163 М фенилэтилметасульфатом [14], пероксидазу—0,0024 М бензидином и 30% H_2O_2 [15], а эстеразу—30 мг α -нафтилацетатом [16].

Эффективность полученных трансформантов проверяли в условиях вегетационного опыта на стерильном речном песке, обогащенном средой Прянишникова. Использовали сорт эспарцета Закавказский. Повторность опытов шестикратная.

Азотфиксирующую активность культур оценивали по редукции ацетилен в этилен на газожидкостном хроматографе Цвет 4. Содержание азота в разных частях растений определяли методом Кьельдаля. НР активность в листьях растений—методом Мульера [12].

Результаты и обсуждение. При обработке реципиентного штамма плазмидной ДНК, содержащей Тп-5, частота канамидиностойчивых рекомбинантов составляла $2,6 \cdot 10^{-5}$, а частота возникновения спонтанных канамидиностойчивых клонов у реципиента не превышала 10^{-6} . Стабильность наследования приобретенного маркера сохраняется у 50–60% трансформантов.

Качественный состав эстеразы, пероксидазы, глутаминдегидрогеназы у трансформантов существенно не отличается от исходного. В то время как по содержанию алкогольдегидрогеназы и электрофоретической подвижности у трансформантов (A_{147} , A_{148} , A_{145} , A_{142} и A_{411}) выявлена определенная гетерогенность (рис. 1, 2).

В табл. 1 представлены данные о содержании общего азота и белка в растениях, инокулированных исходным штаммом и трансформантами клубеньковых бактерий эспарцета. У растений, инокулированных трансформантами, урожайность в основном выше, чем у растений инокулированных исходным штаммом.

Содержание общего азота в надземной части, корнях и клубеньках этих растений также выше. Итак, среди полученных культур клубеньковых бактерий эспарцета следует выделить следующие более эффективные штаммы: A_{142} , A_{143} , A_{147} , и A_{1112} .

Результаты исследований показали, что НР и НГ активность транс-

формантов А_{14.2}, А_{14.3}, А_{14.6}, А_{14.12}, А_{14.3А} выше, чем у исходного штамма (табл. 2), а остальные уступают ему.

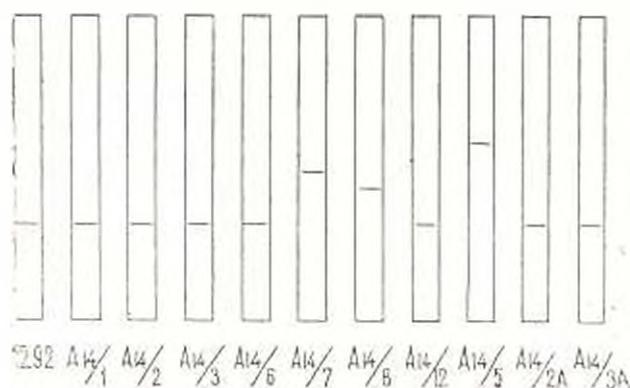


Рис. 1. Электрофореграмма алкогольдегидрогеназ штаммов трансформантов клубеньковых бактерий эспарцета.

Таблица 1. Эффективность трансформантов клубеньковых бактерий эспарцета

Штаммы	Сухая масса 5 растений, г		Общий азот, % к сухой массе			Белок, %
	корни	надземная часть	корни	надземная часть	клубеньки	
Контроль (без инокуляции)	1.48	1.60	0.97	0.91	—	5.6
Исходный шт. 5892	1.72	2.30	1.26	0.57	1.83	7.8
Трансформанты:						
А _{14.1}	1.83	2.65	1.89	1.61	2.27	11.8
А _{14.2}	1.80	2.70	1.82	1.68	2.45	11.3
А _{14.3}	2.20	4.90	3.89	2.43	4.23	24.2
А _{14.4}	1.62	1.73	1.26	1.23	1.67	7.8
А _{14.5}	1.43	1.57	1.21	1.17	1.98	7.5
А _{14.6}	1.56	1.60	1.19	1.00	1.37	6.9
А _{14.7}	2.22	2.63	2.67	2.27	3.67	16.6
А _{14.8}	1.12	1.40	1.17	1.23	1.61	7.6
А _{14.12}	2.62	3.56	2.68	2.45	4.37	16.7
А _{14.1А}	2.12	2.03	1.26	0.87	1.56	7.8
А _{14.2А}	1.90	2.35	1.26	0.63	1.73	7.9
А _{14.3А}	2.15	2.82	1.33	0.98	2.15	8.3
А _{14.7А}	2.10	2.50	1.26	0.73	1.56	7.8

Таким образом, с помощью вектора Р_{Рис} 41 b:Тп5, содержащего Тп5 получены канамцинуустойчивые трансформанты клубеньковых бактерий эспарцета с частотой 2,6·10⁵. Стабильность наследования приобретенного маркера сохраняется у 50—60% трансформантов.

Некоторые трансформанты отличаются от исходного штамма более высокой эффективностью, НР и НГ активностью.

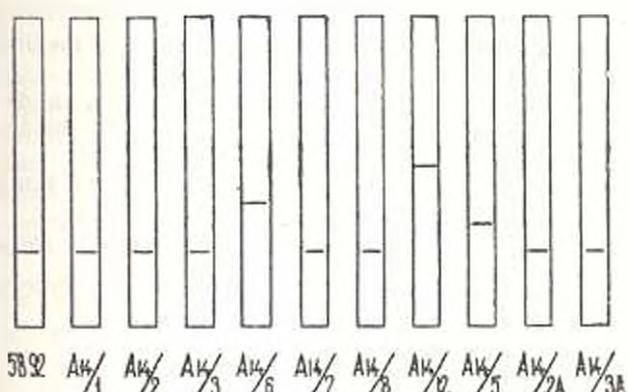


Рис. 2. Электрофореграмма малатдегидрогеназ штаммов-трансформантов клубеньковых бактерий эспарцета.

Таблица 2. НР и НГ активность трансформантов клубеньковых бактерий эспарцета

Штаммы	НР активность, мкм/NO ₂ ⁻ в 1 часа листьев, мг/мин	НГ актив- ность, мкм
Исходный шт. 5892	8.3±0.55	1.45±0.36
Трансформанты:		
A _{14/1}	10.8±0.57	2.70±0.43
A _{14/2}	13.7±0.87	4.10±0.26
A _{14/3}	14.2±2.21	5.27±0.94
A _{14/4}	5.3±2.71	1.38±0.16
A _{14/5}	7.8±1.09	1.73±0.10
A _{14/6}	11.6±0.69	2.95±0.32
A _{14/7}	9.8±0.51	4.09±0.87
A _{14/8}	5.7±0.37	—
A _{14/9}	11.6±0.69	3.96±0.44
A _{14/1A}	13.5±2.00	2.87±0.63
A _{14/2A}	7.5±1.53	1.67±0.13
A _{14/3A}	12.7±0.93	2.13±0.47
A _{14/4A}	10.3±0.61	1.96±0.12

ЛИТЕРАТУРА

1. Александян А. П., Налбандян А. Д., Степанян Т. У. Биолог. ж. Армении, 35, 11, 892—895, 1982.
2. Аронштам А. А., Чернова Т. А., Румянцева М. Л., Симароз Б. В. Генетика, 19, 4, 565—570, 1983.
3. Мацгер Г. Диск-электрофорез, 13—222, М., 1971.
4. Налбандян А. Д., Александян А. П. Биолог. ж. Армении, 31, 8, 799—805, 1978.

5. Румянцева М. Л. Тр. ВНИИ с/х микробиол., 55, 91—97, 1985.
 6. Федоров С. П. Автореф. канд. дисс., 1987.
 7. Banfalvi Z., Kondorosi E., Kondorosi A. Plasmid, 13, 129—138, 1987.
 8. Brill J. W. Appl. and Envir. Microb., 39, 2, 414—420, 1980.
 9. Brewer G. J. Introduction to Isozyme-techniques, Academic Press, N. Y., 1970.
 10. Kovacs Pechy K., Szende K. Soil Biology and conserv. of the Biosphere, 207—211, 1977.
 11. Markert G. L., Hunter R. L. J. Histochem. Cytochem., 7, 42—45, 1959.
 12. Mulder E. G., Boxma R., Ven Veer W. L. Plant and Soil, 10, 33—339, 1959.
 13. Pankhurst C. E. Gen. J. Microbiol., 23, 8, 1026—1033, 1977.
 14. Scandalies J. G. Specific Electrophoretic Systems, 117—119, 1970.
 15. Shannon L. M. Ann. Rev. Plant Physiol., 19, 187—189, 1968.
 16. Van der Helm H. J. Specific Electrophoretic Systems, 124—126, 1970.

Поступило 23 V 1989 г.

Биолог. ж. Армения, № 11 (42), 1989

УДК 643.004

РАЦИОНАЛЬНЫЙ СПОСОБ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОТХОДОВ КОНСЕРВНОГО ПРОИЗВОДСТВА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОРМОВ

Б. П. АВАКЯН, М. М. МИНАСЯН, И. А. ТЕР-ВАСИЯН,
 Г. В. АВАКЯН, Р. Э. МУГДУСЯН

Институт виноградарства, виноделия и плодоводства
 Госагропрома АрмССР, пос. Мерцаван

Выявлен рост спонтанной микрофлоры в отходах консервного производства и установлено влияние дрожжевания влажных отходов для повышения в них содержания белка и биологически активных соединений. Определены химический состав отходов, количество аминокислот, содержание витамина D_2 и других соединений до и после микробного обогащения отходов.

Պարզվել է սպոնտան միկրոֆլորայի աճը պահածոյացման արդյունաբերության թափոններում և բացահայտվել խոնավ թափոնների խմորեցման ազդեցությունը նրանցում սպիտակուցի բանախմբի և կենսաբանորեն ակտիվ միացությունների աճի համար: Որոշվել է թափոնների կենսաբանական բաղադրությունը, ամինաթթուների քանակը, վիտամին D_2 -ի և այլ միացությունների պարունակությունը թափոնները միկրոբներով հարստացնելուց առաջ և հետո:

The growth of spontaneous microflora in by-products of canning industry is revealed and it is established the influence of leavening of damp by-products for the increase of protein content and biologically active combinations in them. Chemical composition of by-products, quantity of amino acids, content of vitamin D_2 and other combinations before and after microbial enriching of by-products are determined.

Консервное производство—отходы плодов и овощей—дрожжи—волоочнокислые бактерии.

В связи с тем, что в Армянской ССР на перерабатывающих заводах ежегодно образуется значительное количество виноградной выжимки, осадков сокового производства, дрожжевой гущи и др., их рациональное использование позволит получать ряд ценных продуктов [1, 2].

Особое внимание уделяется комплексному использованию отходов консервного производства с микробным обогащением, позволяющим более рационально использовать их в кормах животных.

Материал и методика. Исследования проводили на отходах, образующихся на консервных заводах после переработки плодов персика, яблок, груш, томатов. Микрофлору, развивающуюся на отходах, определяли на различных средах по методике Всесоюзного НИИ микробиологии АН СССР (ВНИИ с/х микробиологии).

Химический состав (содержание протеина, клетчатки, жира) определяли по общепринятым методикам [3]; состав аминокислот — на аминокислотном анализаторе марки ААА-339; органические кислоты — хроматографией на бумаге (растворитель — бутанол:муравьиная кислота:вода в соотношении 7:1:3; проявитель — смесь бромфенолсини 0,1 г в 200 мл спиртового раствора (70 об %) [4].

Результаты и обсуждение. Микробиологические исследования показали, что в первый день отбора проб выявлено до 61,8 млн микроорганизмов на г субстрата, в том числе 51,6 млн дрожжей и 10,2 млн молочнокислых бактерий. На второй день количество микроорганизмов резко возросло и составило 46300,0 млн, в том числе 43300 млн дрожжей и 30 млн молочнокислых бактерий, на третий день отбора общая численность микроорганизмов составила 42000 млн, в том числе 31000 млн дрожжей и 11000 млн молочнокислых бактерий.

Таким образом, нарастание титра микроорганизмов в отходах персиков наблюдалось на второй или третий дни, причем на третий день возрастала численность молочнокислых бактерий и снижалось количество дрожжей.

В отходах яблок первого дня отбора проб общее количество спонтанной микрофлоры составляло 107—147 млн, в том числе дрожжей 102,5 млн, молочнокислых бактерий — 41,4 млн, уксуснокислых бактерий — не более 3,53 млн на 1 г сухих отходов; на третий день титр спонтанной микрофлоры снизился по сравнению со вторым днем в основном за счет уменьшения числа дрожжей. На отходах яблок резкое возрастание титра микроорганизмов имело место на второй день отбора проб за счет роста дрожжей.

Из полученных данных следует, что микрофлора отходов яблок на сусло-агаре и капустной среде в основном представлена дрожжами и молочнокислыми бактериями; обнаружены в незначительном количестве плесневые грибы.

На отходах груш спонтанная микрофлора составляла в первый день 1,2 млн, в основном за счет дрожжей, отчасти молочнокислых и уксуснокислых бактерий; во второй день титр ее возрос до 76 млн за счет роста дрожжей.

Спонтанная микрофлора отходов томатов на сусло-агаре в первый день отбора образцов составила от 42 млн на 1 г сухих веществ до 65,2 млн, дрожжей 53,4—55,4 млн, молочнокислых бактерий от 1,13 до 8,24 млн, уксуснокислых бактерий — до 61,8 тыс. клеток. На второй день численность спонтанной микрофлоры резко возросла до 290 млн дрожжей, молочнокислых бактерий — до 256 млн и других микробных клеток в количестве 34,1 млн. Следовательно, на второй день преобладали дрожжи, отчасти и молочнокислые бактерии.

В дальнейшем для исключения роста молочнокислых и уксуснокислых бактерий в отходы вносили разводку чистых культур кормовых дрожжей, рост которых обогащает корм белковыми соединениями. Для подбора наиболее активных штаммов дрожжей были проведены работы по выявлению дрожжевых клеток из отходов посевом вновь полученных штаммов на различные среды. Установлено, что после внесения дрожжей их концентрация через сутки достигла 89,5 млн/мл, на вторые сутки — 99,0 млн/мл.

При внесении в свежие отходы чистых культур дрожжей доминировала маточная культура, которая интенсивно размножалась и достигла по истечении первых суток более 90 млн клеток в 1 г с. в. Параллельно был поставлен опыт по выращиванию дрожжей на стерилизованных отходах. Через день после внесения дрожжей их количество составило 92,0—106,5 млн/мл.

Таким образом, выяснилось, что эффективность роста биомассы дрожжей значительно выше в стерилизованных отходах. Внесение в кваски чистых культур дрожжей в свежие отходы приводит к значительному накоплению биомассы.

Устанавливался также химический состав отходов переработанных персиков, яблок, груш и томатов (табл. 1). Содержание сухих веществ в отходах яблок и груш было выше, чем в отходах персиков и томатов.

Таблица 1. Химический состав отходов Каракертского консервного завода (1987 г.). %

Варианты	Влажность	Сухие вещества	Протеин		Зола	Жир	Клетчатка
			до микробного обогащения	после 1 дня микробного обогащения			
Персики	81,8	16,2	6,6	11,0	3,4	6,2	6,2
Яблоки	83,3	16,7	7,5	13,5	2,2	4,1	7,3
Груши	81,1	18,9	6,5	6,2	1,6	6,3	20,3
Томаты	83,9	16,1	17,7	20,0	3,8	11,2	30,3

Следует отметить, что содержание протеина до микробного обогащения в персиках составляло 6,6, яблоках—7,5%, грушах—6,5%, томатах—17,7%. Через день после микробного обогащения количество протеина заметно возросло и достигло соответственно 11,0, 13,5, 6,2 и 20,0%. В исследуемых образцах обнаружено высокое содержание жира, золы. Клетчатка намного больше в отходах груш и томатов.

Анализ отходов плодов и овощей позволил обнаружить наличие свободных и связанных аминокислот, причем высокое содержание их выявлено в отходах томатов, яблок и персика (табл. 2).

По содержанию витамина D² отходы также различаются. В отходах персика оно выше, чем в отходах томатов и яблок, что повышает их питательную ценность (табл. 3).

Анализ состава органических кислот отходов показал, что в отходах яблок имеется винная, яблочная и янтарная кислоты, в отходах персика—винная, яблочная, лимонная и янтарная кислоты.

Установлено также содержание калия (K_2O) и фосфора (P_2O_5) в отходах %: персика—1,65 и 3,0, яблок—1,72 и 2,4, груш—1,05 и 2,5, томатов—0,7 и 2,7 (табл. 4).

Таблица 2. Количество свободных и связанных аминокислот в отходах после их микробного обогащения, мг в 100 г сухого вещества

Аминокислоты	Свободные				Связанные			
	отходы томата	отходы яблок	отходы груш	отходы персика	отходы			
					томата	яблок	груш	персика
Аспарагиновая	0.02	0.01	0.01	0.01	0.41	0.30	0.14	0.20
Треонин	—	—	—	—	—	—	—	—
Серин	—	0.01	0.01	0.01	0.31	0.19	0.09	0.17
Глютаминовая	0.03	0.01	0.01	0.01	0.75	1.05	0.48	0.20
Пролин	0.48	—	—	—	0.01	0.47	0.09	0.22
Глицин	—	0.01	0.01	0.01	0.41	0.34	0.15	0.22
Азаянн	0.01	0.01	0.01	0.01	0.25	0.17	0.09	0.17
Валнн	0.01	0.01	0.01	0.01	0.16	0.15	0.07	0.09
Метионин	0.01	0.01	0.01	—	0.22	0.17	0.07	0.10
Изолейцин	0.01	0.01	0.01	—	0.34	0.27	0.12	0.19
Лейцин	0.01	0.01	0.01	0.01	0.24	0.13	0.05	0.09
Тирозин	0.01	0.01	0.01	0.01	0.24	0.19	0.08	0.13
Фенилаланин	0.02	0.01	0.01	0.01	0.15	0.09	0.03	0.07
Гистидин	0.02	0.01	0.01	0.01	0.40	0.25	0.11	0.20
Лизин	0.04	0.01	0.01	0.03	4.50	1.65	0.07	2.03
Аргинин	—	—	—	—	—	—	—	—
Сумма:	0.67	0.13	0.13	0.17	8.87	5.20	1.64	1.08

Таблица 3. Содержание витамина D₂ в отходах Каракертского консервного завода, 1987 г.

Наименование отходов	Эргостерин, γ-мг	Витамин D ₂
Персики	192.5	28.75
Яблоки	147.5	20.7
Томаты	170.0	24.95

Таблица 4. Содержание подвижных форм калия и фосфора в отходах плодов и овощей

Наименование отходов	K_2O	P_2O_5
Персики	1.65	3.0
Яблоки	1.72	2.4
Груши	1.05	2.9
Томаты	0.7	2.7

Особенно богаты калием отходы яблок и персиков, менее богаты—отходы томатов. Содержание фосфора во всех отходах примерно одинаково.

Что касается микро- и макроэлементов, то в отходах яблок их 18, груш—16, персика—20, а томатов—19.

Результаты исследований позволяют заключить, что в отходах перерабатываемых плодов и овощей накапливается значительное количество различных микроорганизмов. Внесение в свежие отходы чистых культур кормовых дрожжей способствует микробному обогащению продукта, повышая его кормовую ценность.

Рациональное использование вторичных продуктов переработки и отходов плодов и овощей позволит расширить выпуск ассортимента, снизить себестоимость продукции, организовать безотходное производство.

Рациональная переработка отходов позволит получать высокока-

чественные и богатые белками, витаминами, микро- и макроэлементами кормовые продукты нетрадиционным путем. Наряду с этим прекратится выброс отходов в окружающую среду.

В 1988 г. на Каракертском консервном заводе после переработки томатов, персиков, яблок и др. образовалось более 600 тонн влажных отходов, которые после микробного обогащения были реализованы хозяйствами района. С целью сохранения белкового продукта в течение длительного времени начался монтаж установки АВМ, позволяющей в год получать более 300 тонн сухого продукта с экономической эффективностью 45—50 рублей за каждую выработанную тонну продукции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мусбюсян Р. Е., Авакян Б. П. Наука и производство, 3, 58—63, 1988.
2. Авакян Б. П., Захарян Г. П. Сб. Система ведения животноводства, 465. Ереван, 1984.
3. Фролова-Багрева А. М., Агабальяцц Г. Г. Химия вина. М., 1951.
4. Родопуло А. К. Биохимия шампанского производства, 24—42, М., 1966.

Поступило 27.III 1989 г.

Биолог. ж. Армении, № 11.(42).1989

УДК 575.24.541.4

ДЕЙСТВИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ПЫЛЬЦУ КУКУРУЗЫ

С. Г. ЕРВАНДЯН, М. Г. ГУЛАКЯН, А. И. ГОРОВАЯ

Ереванский государственный университет, кафедра цитологии и генетики

Показано, что у кукурузы сортов Краснодарский 303 I и Жеребковский 90 МВ действие гумата натрия в основном способствовало повышению фертильности, а ТМТД—наоборот. При совместной обработке (пестицид+гумат натрия) проявлялся модифицирующий эффект гумата натрия.

Յուշը է արվել, որ կզիպուսճարենի Կրանոդարսկի 303 I և ժերեբկովսկի 90 ՄՎ սորտերի մաս նատրիումի գումատի ազդեցությունը նպաստել է ժաղկափոշու ֆերտիլության բարձրացմանը, իսկ ՏՄՏԴ-ն՝ նվազեցնելու շամատեղ ազդեցության դեպքում (պեստիցիդի նատրիումի գումատ) նկատվել է նատրիումի գումատի մոդիֆիկացնող ազդեցությունը:

It has been shown that in maize sorts Kransnodarski 303 I and Zherebkovski 90 MV the influence of natrium gumate mainly increases fertility, whereas TMTD -on the contrary. In variants of joint processing (pesticide+natrium gumate) in modifying effect on natrium gumate is displayed.

Пыльца кукурузы—пестицид ТМТД—гумат натрия.

Натуральные и синтетические физиологически активные вещества находят все более широкое практическое применение в различных областях растениеводства. Пестициды, обладая высокой биологической активностью, вызывают гибель не только вредных, но и полезных организмов. В связи с этим большое внимание уделяется созданию препаратов,

Сокращения: ТМТД—тетраметилтиуралдисульфид.

обладающих адаптивным действием [1, 4]. Показано, что физиологически активные вещества гумусовой природы в клетке выполняют роль эфакторов, которые могут осуществлять дерепрессию генов и таким образом выполнять регуляторную роль в них [2, 7, 8]. В задачу наших исследований входило изучение действия физиологически активного вещества гумата натрия и пестицида ТМТД на качество пыльцы кукурузы.

Материал и методика. В качестве объекта использовали семена сортов кукурузы Краснодарский 303 I и Жеребковский 90 МВ, обработанные гуматом натрия и ТМТД. Критерием оценки служили фертильность и стерильность пыльцы и величина пыльцевых зерен. В качестве красителя использовали реагент Люголя (реакция на крахмал), изаттиновый реагент (реакция на пролин) и ацетокармин. Опыты проводили в тепличных и полевых условиях. В каждом варианте анализировали около 10000 клеток. Диаметр пыльцевых зерен определяли в пределах 100 клеток. Данные обрабатывали статистически.

Результаты и обсуждение. Данные сравнительного анализа представлены в таблицах. У растений обоих сортов уровень стерильности намного выше в полевых условиях, около 12% (табл. 1, 2). В тепличных условиях он составлял до 2%. У сорта Краснодарский 303 I в обоих условиях действие природного регулятора роста гумата натрия привело к повышению фертильности по сравнению с контролем (табл. 1).

Таблица 1. Уровень образования стерильной пыльцы у сортов кукурузы при действии гумата натрия и пестицида (реагент Люголя)

Вариант	Краснодарский 303 I				Жеребковский 90 МВ			
	число просмотренных пыльцевых зерен							
	общее число	стерильные		P	общее число	стерильные		P
	число	%	число		число	%		
В теплице								
Контроль	8800	176	2,00		10000	217	2,17	
Гумат	10000	78	0,78	<0,001	10000	731	7,31	<0,001
ТМТД	10000	799	7,99	<0,001	10000	512	5,12	<0,001
ТМТД+гумат	19180	319	1,66	>0,01	10000	1157	11,57	<0,001
В поле								
Контроль	10000	1196	11,96		10000	1127	12,17	
Гумат	10000	77	0,77	<0,001	10000	363	3,63	<0,001
ТМТД	10000	1225	12,25	>0,01	10000	1030	10,30	<0,001
ТМТД+гумат	10000	2162	21,62	<0,001	10000	1853	18,53	<0,001

У растений другого сорта полученные в тепличных условиях данные неоднозначны: процент стерильности у них почти в три раза (7,31%, $P < 0,001$) выше в варианте с гуматом натрия, между тем в полевых условиях этот показатель во столько же раз ниже при действии этого же вещества, т. е. оно способствовало снижению уровня стерильности (3,63%, $P < 0,001$). В этом отношении имела место зависимость от генотипа. У сорта Краснодарский 303 I препарат ТМТД повышал долю стерильных пыльцевых зерен, как в полевых, так и в теп-

Таблица 2. Уровень стерильности пыльников кукурузы сорта Жеребковский 90 МВ при действии гумата натрия и ТМТД (реакция на пролин)

Варианты	Число просмотренных пыльников зерен					
	общее число	стерильные		полустерильные		P
		число	%	число	%	
В теплице						
Контроль	240	132	5,15	58	2,9	—
Гумат	561	72	14,37	46	9,18	<0,001
ТМТД	6137	269	1,38	206	3,35	<0,01
ТМТД+гумат	3727	780	20,92	130	3,72	<0,0001
В поле						
Контроль	11761	115	7,80	985	6,67	—
Гумат	8620	629	7,29	442	5,12	<0,001
ТМТД	6452	751	11,63	861	13,31	<0,001
ТМТД+гумат	7138	721	10,10	790	11,06	<0,001

личных условиях по сравнению с таковой в варианте с гуматом натрия на 7—10%. Полученные на сорте Жеребковский 90 МВ данные неоднозначны: в теплице действие пестицида не приводило к повышенной стерильности, а в полевом опыте она была в три раза выше, чем в варианте с гуматом натрия (10,30 и 3,63%, $P < 0,001$). По всей вероятности, пестицид проявлял генетическую активность в отношении фертильности пыльника. При совместном действии гумата натрия и пестицида данные резко отличались от результатов их отдельного применения. В теплице у растений сорта Краснодарский 303 I аддитивное действие гумата натрия почти в 6 раз снижало уровень стерильности, однако в полевых условиях наблюдалась иная картина: процент стерильности повышался при совместном действии гумата натрия с пестицидом. В этом варианте наиболее однозначные данные получены на сорте Жеребковский 90 МВ, как в теплице, так и в поле совместная обработка привела к снижению фертильности (табл. 1). Характерно, что такая картина наблюдалась при разных методах окрашивания (табл. 2). Считаем необходимым отметить, что из использованных методов окрашивания более убедительные данные получены при применении изотопного реагента. При этом наряду с фертильными и стерильными фракциями четко выделяются и полуфертильные пыльцевые зерна. Причем обнаружена коррелятивная связь между интенсивностью окрашивания (синтезом пролина) и уровнем фертильности пыльника. Полученное при этом соотношение сохранялось и при ацетокарминовом методе. Если в варианте с гуматом натрия доля дефектной пыльцы составляла 4,1%, то в вариантах с ТМТД и совместной обработкой соответственно 6,7 и 9,3% ($P < 0,001$).

При оценке качества пыльцы немаловажное значение имеет однородность пыльцевых зерен. Как слишком большие, так и мелкие пыльцевые зерна в большинстве случаев abortивны и пополняют долю стерильных. Во всех вариантах исследования сформировавшаяся пыльца

была однородной. Средний диаметр одной пылинки находится в пределах 83—84 мк. Наряду с этим, в общей массе встречались мелкие (около 68 мкм) и крупные (110 мкм) пыльцевые зерна. Характерно, что они окрашивались. Примечательно, что у сорта Жеребковский 90 МВ воздействие гумата натрия привело к некоторому увеличению диаметра пылинки (около 2 мкм). Морфологическое различие пыльцы в какой-то степени сказалось на форме. Это особенно четко проявлялось в строении отдельных пыльцевых зерен при воздействии ГМТД. Среди нормальных сферических или овальных пыльцевых зерен зафиксированы разрезанные, палочковидные, грушевидные формы. Эти пыльцевые зерна часто фертильны, но, по всей вероятности, имеют сниженную оплодотворяющую способность. Следовательно, пестицид действует на качество пыльцы двояко: с одной стороны, увеличивает фактическую долю стерильной пыльцы, а с другой—деформирует фертильные пыльцевые зерна, что в итоге ухудшает качество пыльцевых зерен.

Об оценке действия вещества гумусовой природы и пестицидов имеется множество работ, согласно данным которых гумат натрия является биологическим протектором, оказывающим положительное влияние на клеточный цикл и фотосинтетический аппарат растений [2, 4]. К воздействию гумусовых соединений наиболее чувствительны начальные фазы развития растений, отличающиеся интенсивностью клеточного деления, высоким уровнем метаболических процессов [1]. Возможно, у исследованных нами сортов кукурузы этим и обусловлена наиболее умеренная реакция зрелой пыльцы. Показано также, что гумусовые вещества участвуют в репарационных процессах в клетке и повышают сопротивляемость организмов при неблагоприятных условиях, в том числе при действии пестицидов [1, 2, 7].

Мутагенный эффект пестицидов указан во многих публикациях [3, 6 и др]. Последовательные исследования Курниной показали [5], что большинство пестицидов (65,6%) проявляют генетический эффект и представляют собой мутагенный фактор окружающей среды малой интенсивности. Пестициды индуцируют также хромосомные перестройки, морфологические изменения и при этом оказывают слабое стерилизующее действие на пыльцу [6]. Однако следует учесть условия применения препаратов и биологические особенности объекта (клетки, ткани).

Приведенные результаты позволяют считать, что общим для вариантов с применением гумата натрия является тенденция к повышению уровня фертильности, в ГМТД приводит к повышению стерильности. Полученные при совместной обработке результаты неоднозначны: в одних случаях проявляется адаптогенный характер гуманового препарата, в других же действие его приводит к усилению генетического эффекта пестицида. По всей вероятности, активация процессов обмена при действии гумата натрия способствует реализации потенциальных повреждений, возникающих при воздействии пестицида. Во всех вариантах совместного действия гумат натрия проявляет модифицирующий эффект, степень которого зависит от условий проведения опыта.

Таким образом, для правильной оценки генетического эффекта испытуемых факторов необходимо проводить исследования в условиях,

близких к естественным, что справедливо для эяковых—типичных пылевых культур. В целом полученные данные позволяют считать, что биодинамически активные препараты оказывают модифицирующее действие на качество пыльцы, однако общая фертильность пыльцы исследованных сортов кукурузы остается достаточно высокой даже при действии пестицида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горювая А. И., Кудик Ф. А., Осипова И. А. Сб. Регуляция клеточного цикла растений, 101—109. Киев, 1985.
2. Горювая А. И., Осипова И. А. V съезд ВОГиС им. П. И. Вавилова, тез. докл., 107. М., 1987.
3. Дубинина Б. В. В кн.: Гумусовые удобрения. Теория и практика их применения, 8, 86—88. Днепропетровск, 1983.
4. Кушнер Г. П. В кн.: Гумусовые удобрения. теория и практика их применения, 8, 94—97. Днепропетровск, 1983.
5. Куриный А. И. Докт. дисс., 271. Киев, 1986.
6. Логвиненко В. Ф., Морзун В. В. Цитология и генетика, 16, 3, 63—69, 1982.
7. Семеновко Л. М., Николаева Т. Н., Солнцева Т. И. В кн.: Гумусовые удобрения. Теория и практика их применения, 7, 106—114. Днепропетровск, 1980.
8. Старчай Л. П. В кн.: Гумусовые удобрения. Теория и практика их применения, 125—130. Днепропетровск, 1980.

Поступило 12.IX.1988 г.

Биолог. ж. Армении, № 11, (42), 1989

УДК 547.724.3

СИНТЕЗ И ДЕЙСТВИЕ НЕПРЕДЕЛЬНЫХ ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ δ -ЛАКТОНОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ТОМАТОВ

А. А. АВЕТИСЯН, А. В. ГАЛСЯН, Г. С. МЕЛИКЯН, С. А. СОГОМОНЯН

Ереванский государственный университет, кафедра органической химии, кафедра генетики и цитологии

Установлено стимулирующее действие 3-циан-, 3-ацетил- и 3-карбэтокси-4,5-диметилпирона-2 на исхожесть, энергию прорастания и деление меристематических клеток корешков томата. Определены оптимальные концентрации растворов этих соединений.

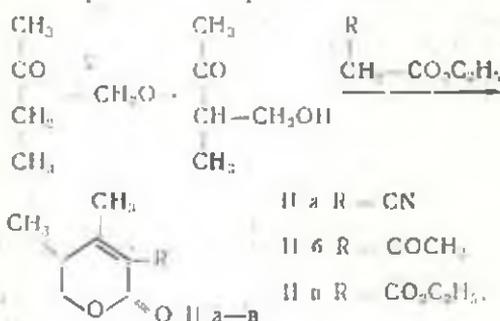
Համառոտված է 3-ցիան-, 3-ացետիլ- և 3-կարբէթօքսի-4,5-դիմէթիլպիրօն-2-ի սպրոկցութիւնը ձյունահոսքիւն, բողբոջման էներգիայի և բաժնիք սրճատիկների մերիստեմատիկ բջիջների բաժանման գրաւ: Բրօշխման են օպտիմալ կոնց. միացւնների լուծույթների սպրոկճալ կոնցենտրացիաները:

The stimulating influence of 3-cyan-, 3-acetyl- and 3-carboethoxy-4,5-dimethylpyrone-2 on the sprouting, energy of germination and the division of meristematic cells of tomato rootlets is established. The optimal concentration of the solutions of these compounds are obtained.

Растение томата— δ -лактон

Несмотря на многочисленные исследования, касающиеся синтеза ростостимуляторов высших растений, диапазон этих соединений еще пол-

ности не изучен. Биологическая активность непредельных δ -лактонов широко известна*. Отсутствие у незамещенных лактонов ценных свойств свидетельствует о том, что они обладают биологической активностью при наличии функциональных заместителей. С целью расширения ассортимента ростостимуляторов в ряду кислородсодержащих гетероциклических соединений взаимодействием 2-метил-3-оксобутиола с циануксусным, ацетуксусным и малоновым эфирами в присутствии этилата натрия были синтезированы целевые 3-циан-, 3-ацетил- и 3-карбэтокси-4,5-диметилпироны-2. Исходный карбинол был получен из метилэтилкетона и 30%-ного раствора формалина в присутствии гидроокиси натрия и карбоната натрия.



Строение полученных пиронов-2 II а-в было доказано элементарным анализом, данными ИК-спектров и встречным синтезом. В ИК-спектрах имеются полосы поглощения, характерные для δ -лактонного кольца (1760 см^{-1}), двойной связи (1620 см^{-1}), нитрильной, ацетильной и карбэтоксильной группы соответственно (2240, 1710 и 1730 см^{-1}).

Материал и методика. Опыты проводили в трех повторностях. Изучали действие синтезированных пиронов-2 (II-в) на всхожесть, энергию прорастания, МА и хромосомные aberrации мезостематических клеток корешков томата. В качестве рабочих концентраций использовали отобранные ранее концентрации—0,1; 0,01- и 0,001%-ные водные растворы при 3- и 6-часовых экспозициях. Семена томата двух сортов, обработанные этими растворами, промывали проточной водой, высушивали и высевали в чашках Петри при температуре 22–25°, а контрольные семена замачивали в дистиллированной воде при той же экспозиции. Данные статистически обработаны.

Результаты и обсуждение. Опыты показали, что наиболее эффективны низкие концентрации (0,01 и 0,001%), способствующие повышению прорастаемости, всхожести семян и митотической активности

Таблица 1. Непредельные δ -лактоны

Соединение	Выход, %	Т. кип., °С/2 мм	Найдено, %			Вычислено, %		
			C	H	N	C	H	N
IIа	46	159–161	63,78	5,85	9,58	63,54	6,01	9,27
IIб	30	143–145	64,07	6,99	—	64,26	7,21	—
IIв	14	161–163	60,81	7,42	—	60,58	7,13	—

* Шушерина Н. П., Дмитриев Н. Д., Лукьянец Е. А., Левина Р. Я. Усп. химии, 3, 437, 1967.

(табл. 2). Что касается экспозиций, то только в случае использования соединения II6 (сорт Юбилейный 261) более предпочтительной оказалась 6-часовая, при которой обработка семян 0,001%-ным раствором приводила к увеличению всхожести на 18%, а энергии прорастания—

Таблица 2. Действие замещенных пирен-2-онов на всхожесть, энергию прорастания, МА и хромосомные перестройки семян томата

Культура и сорт	Вещество	Экспозиция, ч	Концентрация, %	Всхожесть	Энергия прорастания	МА, %	Нарушение анафазы, %		
Томат Юбилейный 261	3-карбэтокси-4,5-диметил-5,6-дигидропиризон 2 II6	3	контроль	79	75	4.86±0.7	0.60±0.3		
			0.1	90	85	5.5±0.7	1.47±0.5		
			0.01	88	82	8.9±0.8	1.53±0.5		
		Токум		6	контроль	80	76	4.76±0.7	0.78±0.3
					0.1	97	93	6.31±0.8	1.06±0.4
					0.01	90	86	7.0±0.8	1.15±0.4
					0.001	98	90	6.28±0.8	0.7±0.4
				3	контроль	80	78	4.47±0.6	0.42±0.2
					0.1	94	87	8.0±0.8	1.11±0.4
					0.01	94	87	0.04±0.8	1.29±0.4
					0.001	98	91	7.17±0.8	1.98±0.3
				6	контроль	84	80	4.96±0.7	0.81±0.3
0.1	98				88	6.93±0.8	1.39±0.5		
0.01	97				88	6.99±0.8	1.20±0.4		
0.001	100				90	6.42±0.9	1.37±0.4		
Юбилейный 261	3-ацетил-4,5-диметил-5,6-дигидропиризон 2 II6	3	контроль	79	75	1.86±0.7	0.60±0.3		
			0.1	94	90	5.45±0.7	1.50±0.5		
			0.01	91	88	6.33±0.8	1.47±0.5		
		Токум		6	0.001	96	90	6.28±0.8	1.08±0.4
					контроль	80	76	4.76±0.7	0.78±0.3
					0.1	92	87	6.55±0.8	1.29±0.4
					0.01	89	80	6.42±0.7	1.16±0.4
				3	0.01	94	88	7.64±0.8	1.12±0.4
					контроль	80	78	4.47±0.6	0.42±0.2
					0.1	96	90	6.07±0.7	0.01±0.4
					0.01	85	88	6.32±0.8	0.82±0.3
				6	0.001	98	91	6.45±0.8	1.14±0.4
контроль	84				80	4.96±0.7	0.81±0.3		
0.1	91				90	6.44±0.8	0.12±0.1		
0.01	95				89	6.47±0.8	1.13±0.1		
3	0.001	99	93	6.67±0.8	1.74±0.5				
	контроль	79	75						
	0.1	89	80						
	0.01	89	80						
Юбилейный 261	3-диал-4,5-диметил-5,6-дигидропиризон 2 IIa	3	0.001	91	86				
			контроль	90	76				
			0.1	93	84				
		Токум		3	0.01	95	84		
					0.001	97	85		
					контроль	80	79		
					0.1	85	80		
				6	0.01	88	81		
					0.001	91	89		
					контроль	84	86		
					0.1	88	86		
				3	0.01	87	85		
0.001	98				89				

на 14%. В остальных случаях наиболее эффективной была 3-часовая экспозиция. Так, например, при обработке 0,001%-ным раствором соединения Пб (Токуи) всхожесть на 18%, а энергия прорастания на 13% превышала контроль. Детальный анализ полученных данных показал, что все испытанные концентрации независимо от экспозиций способствуют повышению изучаемых показателей. Следовательно, синтезированные функционально замещенные пироны-2 повышают жизнеспособность семян томата, активируют физиологические процессы в них, повышая при этом всхожесть, энергию прорастания и активируя деление меристематических клеток. Анафазный анализ меристематических клеток корешков обработанных семян показал, что 0,001%-ный раствор данного вещества не обладает цитогенетической активностью, так как не вызывал статистически достоверного уменьшения количества аберраций хромосом по сравнению с контролем (особенно у сорта Юбилейный 261).

Экспериментальная часть

Получение замещенных пирон-2 (Пав). К раствору 1 г натрия в 40 мл абсолютного спирта добавляют 10,2 г (0,1 моля) 2-метил-3-оксобутанола и 0,11 моля сложного эфира. Смесь кипятят с обратным холодильником в течение 20 ч, отгоняют спирт, остаток подкисляют разбавленной соляной кислотой и экстрагируют эфиром. После высушивания над сульфатом магния и удаления растворителя остаток перегоняют в вакууме (табл. 1).

Поступило 23.XI.1988 г.

Бюлог. ж. Армении, № 11.(42).1989

УДК 612.821.0

ЭЛЕМЕНТАРНАЯ РАССУДОЧНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ У БЕЛЫХ КРЫС

А. А. ГАРНЬЯН, И. Ю. ХОДЖАЯНЦ, Г. М. КАЗАРЯН, Л. С. ГАМБАРЯН

Институт зоологии АН АрмССР, Ереван

Показано, что белые крысы в состоянии улавливать постоянную связь между раздражителями, отличающимися по величине. В этом проявляется элементарная рассудочная деятельность этих животных.

Ցույց է տրված, որ սպիտակ առնետներն ի վիճակի են ընկալել մշտական կապը զրգոխնկերի միջև, որոնք տարբերվում են իրենց մեծությամբ: Չրանում էլ արտահայտվում է այս կենդանիների տարրական դատողական դրժոնկենությունը:

It has been shown that white rats are able to catch permanent connection between irritants, differing by their sizes. The elementary rational activity of these animals is expressed by this.

В начале XX столетия утвердилось убеждение, что вся высшая и средняя деятельность человека и животных может быть объяснена механизмом условных рефлексов. Однако в 1935 году уже сам И. П. Павлов заявил, что механизм условных рефлексов недостаточен для объяснения всей высшей нервной деятельности человека и животных. Наблюдения за поведением обезьян он обобщил следующим образом: «А когда обезьяна стронгт свою вышку, чтобы достать пабл, то это «условным рефлексом» назвать нельзя. Это есть случай образования знания, усвоения нормальной связи вещей. Это—другой случай. Тут нужно сказать, что это есть начало образования знания, улавливание постоянной связи между вещами—то, что лежит в основе всей научной деятельности, законов причинности и т. д. Я на это хотел обратить внимание» [5].

Об этом же писал И. С. Беритов, который считал, что поведение животных и человека нельзя целиком объяснить автоматизированными реакциями, к которым он относил условные рефлексы, и выдвинул представление о психонервной деятельности человека и животных, основанной на образной памяти. Наряду с условнорефлекторной деятельностью, автор признавал существование психонервного процесса представлений, основанного на местонахождении объектов в порядке неавтоматизированных реакций [3].

Сложные неавтоматизированные реакции, основанные на различении отношений предметов у обезьян и собак, были описаны Протополовым [6], а у обезьян Прибрамом [7].

Большое место среди поведенческих реакций неавтоматизированного типа занимает класс экстраполяционных рефлексов Крушинского [4], которые автор относит к элементарной рассудочной деятельности: животные с места, без предварительного обучения, находят правильную форму реагирования, используя весь свой прежний опыт и генетические возможности.

На основании имеющихся данных Л. В. Крушинский приходит к заключению, что поведение строится на основе трех основных компонентов высшей нервной деятельности: инстинктов, обучаемости и рассудке.

Школой И. П. Павлова подробно были изучены механизмы условно-безусловнорефлекторного поведения. В дальнейшем были начаты исследования неавтоматизированных реакций в виде так называемой элементарной рассудочной деятельности [1, 4].

Оригинальное учение, созданное Анохиным [2], в механизмах афферентного синтеза предполагает важность роли основных компонентов высшей нервной деятельности, однако оно не затрагивает механизмы рассудочной деятельности. Между тем выяснение роли этого механизма в поведении животных очень важно. В связи с этим нами были начаты исследования по изучению элементарной рассудочной деятельности у животных.

Материал и методика. Опыты проводили на 12 половозрелых крысах в специальной камере размером 65×25 см. Камера состояла из трех отсеков. В первый от-

сек (стартовый) помещалась крыса. На открытие дверцы (условный сигнал) крыса выходила в длинный коридор и, пробегая по нему, достигала третьего отсека, разделенного на 2 части. Эти части были закрыты подвижными шторками, на каждой из которых было изображено по одной геометрической фигуре одного и того же типа, но разного размера (в нашем случае большой и малый круги). Пища помещалась за шторкой с большим кругом. Крыса получала пищу в том случае, если она выбирала шторку с изображенным большим кругом. Животные, сравнивая эти фигуры—большая или малая, должны были определить местонахождение творожного шарика.

Крыс обучали из двух одновременно предъявляемых фигур выбирать большую. Следовательно, правильная реакция животного определялась не конкретными раздражителями, а соотношением их величин (большая и малая фигуры), т. е. реакция осуществлялась на основе улавливания постоянной связи между их размерами. После того, как животные начинали правильно реагировать на соотношение большого и малого круга, подвигались шторки с изображением большого и малого креста, а в последующем большого и малого треугольника. Животное само должно было определить, где находится пища. В этом проявлялась рассудочная (по Л. В. Крушинскому) и абстрактная (по В. П. Протопопову) деятельность.

В опытах учитывали скорость образования двигательной реакции на соотношение раздражителей (большой и малый круг), латентный период и скорость реакции на соотношение новых раздражителей.

Результаты и обсуждение. Условные рефлексy на выбор большого круга при одновременном предъявлении животным двух раздражителей разной величины достигались примерно на 37—73 сочетании. Такой большой разброс, вероятно, связан с тем, что мы работали с животными, имеющими разные типы нервной системы. Однако практика показывает, что в указанных пределах у всех животных удается выработать реакцию на соотношение большого и малого кругов.

Для иллюстрации сказанного приведем выписку из протокола от 1.7.1988 г.

Открывается дверца стартового отсека (условный раздражитель). Крыса выходит в длинный коридор (латентный период реакции—3 с), пробежав по нему, подбегает к отсеку подкрепления. Перед ней два раздражителя—малый и большой круги. Крыса с ходу выбирает шторку с большим кругом и, преодолев ее, получает пищу.

Крыса возвращается в стартовый отсек. Экспериментатор открывает дверцу (условный раздражитель). Крыса выбегает в длинный коридор (латентный период—2 с), пробежав по нему, выбирает шторку с большим кругом, проходит под ней и получает подкрепление. Крыса возвращается в стартовый отсек.

Шторки переставляются местами. Открывается дверца стартового отсека. Крыса выходит в коридор (латентный период—2 с). Пробежав по коридору, из двух раздражителей выбирает шторку с большим кругом, проходит под ней и получает подкрепление. Крыса возвращается назад.

Из представленного выше протокола видно, что животное правильно оценивает соотношение «большой—малый» раздражители и реагирует на большой круг.

Когда указанная реакция оказывалась выработанной, мы экстренно заменяли геометрические фигуры новыми (большой и малый крест, а затем большой и малый треугольник).

При подвешивании большого и малого креста животное, выпущенное из стартового отсека, выходило в большой коридор и направлялось к раздражителям. Одни крысы сразу же выбирали шторку с большим крестом и, преодолев ее, получали пищу. У них наблюдалось лишь удлинение латентного периода. Другие крысы, выходя из стартового отсека, пробегали по длинному коридору и останавливались перед шторками. Затем начинали обнюхивать их и после некоторого двигательного беспокойства производили правильную оценку соотношений раздражителей—выбор шторки с изображением большого креста, за которой находилось подкрепление.

Ниже приводим выписку из протокола от 18.7.1988 г.

Впервые отсек подкрепления закрыт шторками с изображением большого и малого креста. Открывается отсек ожидания, крыса выходит в коридор (латентный период—2 сек), бежит по коридору к отсеку подкрепления, перед ней две шторки с большим и малым крестом. Животное останавливается, смотрит то на большой, то на малый крест и выбирает шторку с большим крестом, проходит под ней и получает подкрепление. Крыса возвращается в отсек ожидания.

Из этой выписки видно, что при первом же применении большого и малого креста животное правильно оценивает соотношение «большой—малый» раздражители и выбирает шторку с большим крестом. Однако были животные, которые при первом предъявлении новых раздражителей проявляли большую двигательную активность, не завершающуюся прохождением под шторкой. Животное подходило к шторкам и возвращалось в стартовый отсек. И только на 5—7 предъявлении раздражителей оно правильно выбирало шторку.

У этих животных наблюдались учащение сердцебиения, моченеспускание, дефекация и удлинение латентного периода. Иначе говоря, правильная оценка соотношения фигур у них происходила не сразу, т. е. мы наблюдали состояние, которое можно было оценить как невротическое.

При замене шторок с изображением новых геометрических фигур (большой и малый треугольник) наблюдалась та же закономерность: одни крысы сразу выбирали шторку с большим треугольником, другие с некоторым колебанием, а у третьих проявлялась невротическая реакция.

Таким образом, крысы всех трех групп в состоянии правильно реагировать на соотношение сигналов, «улавливать постоянную связь между вещами», однако этот процесс не у всех проявляется одинаково.

На начальном этапе развития учения об условных рефлексах существовало мнение, что животные обладают только конкретным мышлением, которое относили к первой сигнальной системе. А у человека, наряду с этой сигнальной системой, имеется и вторая (словесная) сигнальная система. Однако по мере накопления знаний возник вопрос о том, что абстрактное мышление человека должно иметь свои корни в эволюционном ряду животных.

Применение новых методов исследований позволило обнаружить.

что и животные обладают рассудочной деятельностью, которая у человека переросла во вторую сигнальную систему.

Опыты, проведенные нами, показывают, что в ограниченных пределах это присуще даже таким животным, как белые крысы. Все зависит от метода исследований. Ибо, как писал И. П. Павлов, «для натуралиста все— в методе, в шансах добыть непоколебимую, прочную истину...» и «...все наши классификации, все наши законы всегда более или менее условны, и имеют значение только для данного времени, в условиях данной методики, в пределах наличного материала».

ЛИТЕРАТУРА

1. Адрианов О. С., Молодкина Л. П., Ямщикова Н. Г. Ассоциативные системы мозга и экстраполяционное поведение. 190, М., 1987.
2. Анохин П. К. Биология и нейрофизиология условного рефлекса. 547, М., 1968.
3. Беритов О. С. Нервные механизмы поведения высших позвоночных животных. 353, М., 1961.
4. Крушицкий Л. В. Биологические основы рассудочной деятельности. 270, М., 1986.
5. Павлов И. П. Павловские среды. 3, М.—Л., 1949.
6. Протопопов В. П. Избр. тр., 559, Киев, 1961.
7. Прибрам К. (Pribram K.). Языки мозга. 463, М., 1975.

Поступило 2.III 1989 г.

Биол. ж. Армения, № 11.(42).1989

УДК 612.015.1+577.152.11

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ПОРАЖЕНИЯ ОРГАНОВ С ПОМОЩЬЮ МАТЕМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДИНАМИКИ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ АКТИВНОСТИ ИЗОФЕРМЕНТОВ

И. М. ЗАРАФЯН, Г. П. КАЗАНЧЯН, Л. О. НАНИДЖАНИН,
Р. С. ГАБРИЕЛЯН, А. С. ПОГОСЯН, Ж. И. АКОНИЯН

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Арм. НИО ВТИ,
НИИ кардиологии им. Л. О. Оганесяна, НИИ гематологии и переливания
крови им. Р. О. Еолияна

Проведен математический анализ активности ЛДГ сыворотки крови при патологических процессах для идентификации степени поражения органов. Установлена линейная зависимость между вычисленными теоретическими значениями активности фермента и степенью поражения органов, установленной патоморфологическими методами.

Անց է կացված արյան շրջանի ԼԴՀ-ի ակտիվության մաթեմատիկական վերլուծություն պաթոլոգիկ պրոցեսների ժամանակ՝ օրգանների վնասվածքի աստիճանը որոշելու համար: Հաստատված է զմայի կախիմություն ֆերմենտի ակտիվության հաշված տեսական արժեքների և պաթոֆիզիոլոգիկ մեթոդով որոշված օրգանների վնասվածքի աստիճանի միջև:

Mathematical analysis of LDH activity of blood serum has been held at pathological processes for the identification of the degree of organs defeat. The linear relationship between calculated theoretical significances of enzyme activity and the degree of organs defeat, defined by pathophysiological methods, was established.

Сокращения: ЛДГ—лактатдегидрогеназа; ИДО—индекс динамического объема.

На основе построенной ранее математической модели уровня фермента в сыворотке крови [2] нами предложен алгоритм, осуществляющий дифференциацию активностей изоферментов ЛДГ по органам и тканям, вовлеченным в патологический процесс [5]. Аprobация алгоритма показала, что полученные результаты на качественном уровне достаточно хорошо отражают протекание патологического процесса в соответствии с приведенными анамнезами больных [5]. Целью настоящей работы являлось выявление корреляционной связи между количественными характеристиками органопоражения, полученными патофизиологическими методами, и активностью ЛДГ сыворотки крови, рассчитанной по предложенному алгоритму.

Материал и методика. Для исследования были выбраны две группы больных. В первую группу входили больные гемолитической анемией. Клинической характеристикой степени поражения органа в этом случае является количество эритроцитов в периферической крови. Вторую группу составляли больные с передней локализацией очага поражения при остром инфаркте миокарда, у которых существующие методы ЭКГ-картирования позволяют определять степень и объем поражения сердечной ткани. Последовательную съемку ЭКГ 35 точек прекардиальной поверхности проводили по методу [9] с разработкой новых электрокардиографических ИДЮ, отражающих степень поражения сердечной мышцы в условных единицах [1].

Эритроциты определяли в камере Горяева.

Исходными данными для теоретических расчетов являлись динамические характеристики уровня ЛДГ и ее пяти изоферментов в сыворотке крови.

Активность ЛДГ и ее изоферментов определяли методом электрофореза в ПААГе [8]. Гели сканировали с помощью денситометра фирмы "Zeich Soft Laser Scanning Densitometr" (USA) при 502 нм.

Экспериментальные данные об уровне активности ЛДГ и ее изоферментов в сыворотке крови в каждом случае вычисляли как среднее значение активности, полученное по 4 пробам; отклонение от средних значений во всех случаях не превышало 6%. Средний уровень нормы определяли по данным 11 донора. Расчет уровня ферментативной активности сыворотки крови, принесенной патологическим процессом, осуществляли с помощью алгоритма, основанного на математической модели динамики уровня гиперферментемии сыворотки крови [5].

Результаты и обсуждение. В табл. 1 приведены экспериментальные значения уровня активности ЛДГ при гемолитической анемии. В табл. 3 представлены результаты теоретических вычислений. Сравнение полученного изоферментного спектра ЛДГ в каждой временной точке со спектром органов и тканей показывает, что в первых трех случаях имеет место полное соответствие спектру эритроцитов. В случае 1 в анамнезе отмечается небольшая сердечная недостаточность, при которой не наблюдается изменения уровня активности ЛДГ и ее изоферментов в сыворотке крови, либо оно незначительно [6]. В случаях 2 и 3 сопутствующих заболеваний не отмечено. В случае 4 изоферментный спектр ЛДГ разлагается на два спектра, один из которых соответствует эритроцитам, а другой—печени. В анамнезе этого больного отмечены ревматоидный артрит и хронический холецистит. Ревматоидный артрит относится к патологиям, поражающим суставы, но в этот процесс могут вовлекаться перикард, лимфоузлы, печень. В остром периоде уровень активности ЛДГ сыворотки крови может увеличиваться за счет тех фракций, которые соответствуют какому-либо из перечисленных органов [7]. При хроническом холецистите смещения изофер-

Таблица 1. Динамика активности ЛДГ и ее изоферментов при гемолитической анемии. уса ед.

№	День	ЛДГ _{общ}	ЛДГ ₁	ЛДГ ₂	ЛДГ ₃	ЛДГ ₄	ЛДГ ₅
норма		70	27	30	10	2	1
1	пик	156	54	62	30	3	2
	+5	111	41	46	18	4	2
	+10	81	30	35	12	3	1
2	пик	200	64	72	41	15	8
	+5	168	58	62	30	13	7
	+10	134	48	53	22	4	2
3	пик	176	59	68	40	6	3
	+5	112	43	44	20	3	2
	+10	80	30	31	11	4	4
4	пик	271	76	96	53	29	25
	+5	252	77	91	46	18	20
	+10	193	59	72	29	14	19

ментного спектра ЛДГ сыворотки крови не отмечались, в отношении же острого течения литературные данные противоречивы [3]. Тем не менее при указанных сопутствующих заболеваниях весьма вероятно вовлечение печени в указанный процесс.

Рассмотрим для всех четырех случаев ту часть активности ЛДГ, которая привнесена в сыворотку крови только за счет распада эритроцитов. Для сравнения полученных значений с количеством эритроцитов охарактеризуем процесс гемолитической анемии с точки зрения переменных модели. Повышение уровня активности ЛДГ сыворотки крови объясняется повышенной скоростью распада эритроцитов, приводящей к уменьшению их количества в периферической крови. В модели этот факт отражен в уравнении

$$\frac{dM}{dt} = -m + n,$$

где M —количество эритроцитов, m —скорость лизиса клеток, n —масса вновь образовавшихся клеток за единицу времени. Повышение уровня эритроцитов происходит за счет восстановительной деятельности организма, отражающейся в превалировании скорости эритропоэза над скоростью лизиса. Таким образом, на изменение количества эритроцитов M влияет разность функций $n-m$, в то время как на уровень фермента в сыворотке крови влияет только функция m . Поэтому корреляцию между теоретическими значениями активности фермента и количеством эритроцитов можно проводить только на первом этапе процесса, когда значение функции n пренебрежительно мало по отношению к значению функции m . В нашем случае, судя по клиническим данным, такому условию удовлетворяют только точки с никами активностей ЛДГ. Для этих точек корреляция между количеством эритроцитов периферической крови и уровнем активности изофермента ЛДГ₂, наиболее характерного для спектра эритроцитов, показана на рис. 1а. Таким образом, применение описанной методики при гемолитической анемии позволило выявить случаи вовлечения других органов в патологический про-

цесс, а также дало возможность установить линейную связь между количеством эритроцитов и теоретическими значениями активности фермента, привнесенного в кровь распавшимися эритроцитами. Кроме того, для некоторых случаев можно предположить, что, несмотря на рост количества эритроцитов, продолжается патологический процесс их распада.

Экспериментальные данные, касающиеся уровня активности ЛДГ и ее изоферментов в сыворотке крови больных с передне-перегородочным инфарктом миокарда, приведены в табл. 2. В табл. 4 представле-

Таблица 2. Динамика активности ЛДГ и ее изоферментов при инфаркте миокарда, усл. ед.

№	День	ЛДГ _{общ}	ЛДГ ₁	ЛДГ ₂	ЛДГ ₃	ЛДГ ₄	ЛДГ ₅
1	1	173	65	59	30	15	5
	3	207	81	71	35	15	5
	6	159	66	57	23	8	5
	15	94	37	36	14	5	2
2	1	227	83	76	43	18	7
	3	292	117	94	53	20	7
	6	385	161	122	67	24	11
	15	128	61	45	17	4	1
3	1	205	80	66	33	18	8
	3	287	93	89	58	29	18
	6	215	76	74	44	12	9
	15	137	45	48	25	11	8
4	1	215	85	71	35	17	7
	3	303	120	101	57	18	7
	6	256	99	90	43	16	8
	15	114	52	45	14	2	1
5	1	295	123	92	54	20	6
	3	434	203	136	72	15	8
	6	405	182	142	62	14	5
	15	218	86	72	41	13	6

ны результаты вычислений по приведенному алгоритму. Сравнение полученного изоферментного спектра ЛДГ со спектром органов и тканей показывает, что в случаях 1 и 2 имеет место практически полное соответствие спектру сердечной ткани, что свидетельствует об отсутствии вовлечения других органов в патологический процесс. В случае 3 изоферментный спектр ЛДГ разлагается на два спектра, один из которых соответствует сердцу, а второй—легким. Наиболее вероятные сочетания этих спектров приведены в третьем столбце табл. 4. В случае 4 на шестые сутки отмечено влияние почек в соотношении 80% сердца и 20% почек. В случае 5 начиная с шестых суток отмечается влияние легких. Рассмотрим ту часть активности ЛДГ, которая привнесена в кровь только инфарктированным миокардом. В случае 1, несмотря на рост активности к третьим суткам согласно экспериментальным данным, происходит спад активности ЛДГ по теоретическим расчетам. В случае 2 патологический процесс затрагивает только сердечную мышцу, но в отличие от предыдущего случая после небольшого спада к третьим суткам привнесенная активность вновь повышается к шестым суткам, что может свидетельствовать либо о повторном инфаркте, либо о резком увеличении ишемической зоны. В случае 3 до пятнадцатых суток сохраняются высокие значения активности ЛДГ, но теоретиче-

Таблица 3. Теоретические значения активности ЛДГ и ее изоферментов при гемолитической анемии, усл. ед.

№	День	Количество эритроцитов	ЛДГ _{общ}	ЛДГ ₁	ЛДГ ₂	ЛДГ ₃	ЛДГ ₄	ЛДГ ₅	Соотношение вкладов, %
1	пик	228×10^{12}	84	27	32	20	6	1	
	+5	3.1×10^{12}	9	—	3	3	2	1	
	+10	3.3×10^{12}	—	—	—	—	—	—	
2	пик	2.4×10^{12}	139	37	42	31	13	7	
	+5	2.5×10^{12}	53	13	18	11	8	3	
	+10	3.0×10^{12}	47	14	22	9	1	1	
3	пик	2.5×10^{12}	106	32	38	30	4	2	
	+5	3.1×10^{12}	—	—	—	—	—	—	
	+10	3.3×10^{12}	—	—	—	—	—	—	
4	пик	0.9×10^{12}	201	49	66	43	22	21	
			160+41	48+1	60+6	38+5	13+9	1+20	80:20
	+5	1.1×10^{12}	133	29	40	29	16	19	
			93+40	28+1	33+7	23+6	8+8	1+18	70:30
	+10	2.5×10^{12}	76	11	22	13	12	18	
			38+38	10+1	16+6	8+5	4+8	0+18	50:50

Таблица 4. Теоретические значения активности ЛДГ и ее изоферментов при инфаркте миокарда, усл. ед.

№	День	ИПО, усл. ед. %	ЛДГ _{общ}	ЛДГ ₁	ЛДГ ₂	ЛДГ ₃	ЛДГ ₄	ЛДГ ₅	Соотношение вкладов, %
1	1	15.4	103	38	29	20	12	4	
	3	12.2	79	28	23	15	10	3	
	6	5.7	23	8	7	4	2	2	
	15	0.2	23	3	3	3	3	1	
2	1	—	157	56	46	33	16	6	
	3	—	122	41	35	27	14	5	
	6	—	217	85	61	42	19	10	
	15	—	16	6	4	4	2	—	
3	1	23.0	135	53	36	23	16	7	
		8.1	142	30	37	36	23	16	
	3	3.2	43+99	17+13	15+22	7+29	3+20	1+15	39:70
			61	12	15	17	10	7	
	6	0.7	18+43	6+6	5+10	4+13	2+8	1+6	30:70
		52	9	13	14	9	7		
	15	—	6+46	3+6	2+11	1+13	0+9	0+7	10:90
4	1	2	145	58	41	25	15	6	
	3	—	149	52	47	30	14	6	
	6	—	151	47	55	27	14	8	
			60+91	24+23	21+34	9+18	5+9	1+7	40:60
	15	—	12	6	4	2	—		
5	1	45.0	225	96	62	44	18	5	
	3	45.0	215	91	68	40	10	6	
	6	61.0	221	107	62	38	10	4	
	15	—	107	39	29	29	13	6	
			54+53	22+8	17+22	13+16	2+11	0+6	50:50

ский анализ показывает, что начиная с пика, с третьих до пятнадцатых суток, сохраняется почти постоянное влияние легких (от 46 до 99 усл. ед. активности). На этом фоне активность ЛДГ сердца резко снижается (от 135 до 6 усл. ед. активности). В случае 4 на фоне высокой активности ЛДГ сердца на шестые сутки наблюдается влияние ЛДГ, характерной для фракции почек, причем обе активности к пятнадцатым суткам приближаются к норме. В случае 5, как и в предыдущем, имеет

место влияние легких на процесс, однако теоретические значения активности ЛДГ сердца остаются постоянными в течение всего рассматриваемого промежутка времени. Данные по группе больных с острым инфарктом миокарда также хорошо соответствуют клиническим характеристикам, зафиксированным в историях болезни. Так, в случае 1 сопутствующих заболеваний не отмечено. В случае 2 на фоне отсутствия сопутствующих заболеваний наблюдалось выраженное ухудшение к 5–8 суткам. В случаях 3 и 5 в анамнезах больных отмечены застойные явления в легких. В случае 4 в анамнезе обнаруживаются аденома простаты и задержка мочеиспускания, что может объяснить наличие пула ЛДГ, соответствующего почкам [4]. Для сравнения степени органопоражения по клиническим характеристикам и расчетным данным активности ЛДГ, выброшенной инфарктированным миокардом, проведена корреляция между значениями ИДО и теоретическими значениями принесенной активности ЛДГ₁ — наиболее характерного для сердечной ткани изофермента. Связь между этими параметрами выражается линейной зависимостью и представлена на рис. 1б.

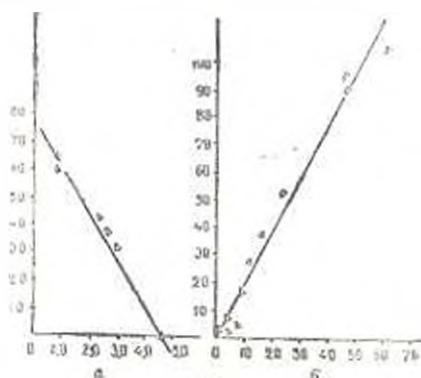


Рис. а) Зависимость теоретических значений ЛДГ₂ от массы эритроцитов периферической крови. По оси абсцисс—количество эритроцитов $\times 10^{12}$; по оси ординат—условные единицы активности. б) Зависимость теоретических значений ЛДГ₁ от ИДО. По оси абсцисс—значения ИДО в %; по оси ординат—условные единицы активности.

Рассмотренные примеры показывают, что оценки взаимосвязи степени поражения органов и экспериментальных значений уровня активности фермента могут приводить к неоднозначности в интерпретации результатов, в то время как модельные исследования, учитывающие количественную характеристику факторов, влияющих на уровень гиперферментемии в сыворотке крови, позволяют не только идентифицировать органы, вовлеченные в патологический процесс, но и давать оценку степени их поражения. Следует отметить, что используемая в клинической практике модель Шелла и ее последующие модификации для определения размера инфаркта по теоретически рассчитанным значениям активности креатинкиназы плазмы крови применима в основном в случаях ограниченных инфарктов, так как с увеличением размера инфаркта влияние регионального кровотока искажает оценку коэффициента, отражающего взаимосвязь высвобожденного из миокарда фер-

мента и того его количества, которое достигло и распределилось в плазме крови [10, 11], в результате нестабильности фермента и короткого периода полужизни. Использование же другого фермента в модели Шелла невозможно, так как она имеет ограничение, заключающееся в условии «специфичности» фермента для пораженного органа. В предложенных нами модели и алгоритме снято ограничение на специфичность фермента, так как алгоритм предусматривает дифференциацию активности ЛДГ в сыворотке крови по органам и тканям, вовлеченным в патологический процесс. Следует отметить, что в предыдущих работах [3, 6, 7, 10, 12], где анализируется возможность использования ЛДГ в клинике в качестве тест-показателя при различных заболеваниях, затруднена интерпретация результатов ввиду широкой распространенности этого фермента в организме. В нашем случае это обстоятельство является удобным фактором, позволяющим выявлять кроме степени поражения органа также и другие органы, затронутые патологическим процессом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абян К. Г., Габриелян Р. С., Наниджян Л. О., и др. Тез. докл. XII Междунар. конф. по электрокардиологии. 39, Минск, 1985.
2. Акопян Ж. И., Зарибян И. М., Казанчян Г. П. Биолог. ж. Армении, 38, 2, 97—105, 1986.
3. Арипянц М. С. Автореф. канд. дисс., Киев, 1973.
4. Бухатова Э. Л. Автореф. канд. дисс., Рига, 1979.
5. Зарибян И. М., Биолог. ж. Армении, 39, 9, 758—763, 1986.
6. Юрков Ю. А., Проблемы медицинской химии, 37—65, М., 1973.
7. Юрков Ю. А., Тамм Л. Д. Педиатрия, 50—55, 2, 1967.
8. Ditz A. A., Lubrano T. Anal. Biochem., 20, 246—257, 1967.
9. Maroko P. R., Libby P., Braunwald E. Amer. J. Cardiol., 32, 7, 930—936, 1973.
10. Shell W. E., Kjekshus S. K., Sobel B. E. J. Clin. Invest., 50, 2614—2624, 1971.
11. Wann J. L., Cobb F. R., McHull P. A., Roe C. R. Circulation, 62, 6, 1239—1247, 1980.
12. Zondag H. A. Determination and diagnostic significance of lactate dehydrogenase isoenzymes. Assen, 1—15, 1963.

Поступило 9.VI 1989 г.

Биол. ж. Армении, № 11 (42), 1989

УДК 577.1.576.8.097

ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ ИЗОЭНЗИМОВ АЛАНИН- И ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ДРОЖЖЕЙ

М. Б. АТАНЕСЯН, М. А. ДАВТЯН

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

Выявлены 2 изоэнзима — глутаматдегидрогеназы и 1 аланиндегидрогеназы. Изучено изменение изоэнзимного спектра при репрессии биосинтеза отдельных изоэнзимов. Сделано заключение о существовании катаболических и анаболических изоэнзимов изученных дегидрогеназ.

Сокращения: ТНС—тетразоль нитросный; АДГ—аланиндегидрогеназа; ГЛД—глутаматдегидрогеназа; ФМС—феназинметосульфат; ФМЗ—фармазон

Հայտնաբերվել է և զրոստանագրելիքողնեազայի 2 և արանիդելիքողնեազայի 1 իզոֆերմենտներ: Ուսումնասիրվել է իզոֆերմենտային սպեկտրի փոփոխությունը՝ առանձին իզոֆերմենտներ հեշելիս: Անտոնովյան է արվել, որ դոչումյան ունեն լատանասիրքած ղելիքողնեազաների կատարելի և անարտիկ իզոֆերմենտներ:

Two glutamate dehydrogenase (isoenzymes) and one alanine dehydrogenase (coenzyme) is revealed. The change of isoenzymatic spectrum is studied during the repression of biosynthesis of separate isoenzymes. It is concluded that there are anabolic and catabolic isoenzymes of the studied dehydrogenases.

Дрожжи—изоэнзимы аланин- и глутаматдегидрогеназы.

Ранее было показано, что гомогенаты дрожжей *Candida guilliermondii* содержат АДГ и ГДГ катализирующие реакции восстановительного аминирования пирувата и α -кетоглутарата, а также окислительного дезаминирования α -аланина и α -глутамата. В указанных реакциях в качестве коферментов выступают НАД и НАДФ [1, 3]. Была также доказана их субстратная индукция как в отношении катаболических, так и анаболических изоферментов [2, 4]. Целью настоящей работы являлось выявление изоэнзимного спектра указанных дегидрогеназ методом их разделения электрофорезом на полиакриламидном геле.

Материал и методика. Объектом исследования являлись дрожжи *C. guilliermondii* штамм У-42, полученные из отдела типовых культур Института микробиологии АН СССР, от проф. В. И. Кудрявцева. Методика выращивания дрожжей, получение гомогената и бесклеточного экстракта описаны в предыдущих работах [1, 3, 6].

Для определения ферментативной активности по реакции восстановления α -аланина и α -глутамата использовали реакционную смесь, содержащую 2,5 мкМ аминокислот, 2,5 мкМ НАДН, растворенных 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4), и 1 мл дрожжевого экстракта супернатанта, содержащего 1 мг белка, определяемого по Лоури [9].

Общий объем смеси—3 мл. Ферментативную активность определяли по приближенной оптической плотности восстановленного НАДН при 340 м μ и спектрофотометре СФ-4 (коэффициент 1,0) в течение 3 минут.

Контрольные пробы содержали все компоненты, за исключением аминокислот. Для выяснения способности изучаемых ферментных систем к индукции использовали бюксесу, выращенную на среде с α -аланином или α -глутамином (α -аланина 419 мг, α -глутамат 693 мг). Разделение изоферментов аланин- и глутаматдегидрогеназы проводили методом диск-электрофореза на полиакриламидном геле.

Диск-электрофорез проводили по методу Дэвиса и Ориштейна в стеклянных трубках (90 \times 5 мм), заполненных системой из двух гелей—крупнопористого (2,5%) и мелкопористого (7,5%). Оба геля подвергали фотополимеризации в течение 20 мин. Исследуемые образцы наносили на поверхность мелкопористого геля из расчета 100–150 белков на каждую трубку.

После электрофореза судили по движению полосы бромфенолового. По окончании электрофореза столбики геля извлекали из трубочек, споласкивали дистиллированной водой и специфически окрашивали для проявления дегидрогеназ тетразолевым методом. Полосы, содержащие фермент, проявляли по методу Термена. Для этого столбики геля инкубировали в реакционной смеси, содержащей 10^{-3} М, α -глутамат или α -аланина, 10^{-4} М НАД или НАДФ, 0,01 мг ТНС, 0,1 мг ФМС и 0,1 М фосфатный буфер (рН 7,4).

Инкубацию проводили при 37°. В процессе инкубации субстраты диффундировали в геле, и в том месте, где располагалась ГДГ происходило окислительное дезаминирование глутамата. Электроны, полученные НАД или НАДФ, передавались через ФМС на ТНС, который при этом из окисленной лейкоформы превращался в восстановленный ярко окрашенный продукт—ФМЗ. Поскольку формазин не растворяется, он

остается на месте протекания реакции, образуя окрашенную в темно-синий цвет узкую полосу на столбике геля. По числу таких полос можно судить о количестве изоферментов.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показали, что при электрофорезе экстрактов дрожжей, выращенных на сульфате аммония, являющемся единственным источником азота, проявляется два четко выраженных диска глутаматдегидрогеназной активности изоэнзимов. В экстрактах дрожжей, выращенных на аланине, являющемся единственным источником азота, проявляются те же два диска изоэнзимов глутаматдегидрогеназы. При выращивании же дрожжей на α -глутамате, являющемся единственным источником азота, проявляется лишь один изоэнзим, более выраженный по сравнению с таковыми предыдущих вариантов.

Таким образом, можно заключить, что у адаптированных к глутамату дрожжей репрессируется биосинтез одного из двух изоэнзимов глутаматдегидрогеназы. По-видимому, в последнем случае появляется биосинтез анаболического изоэнзима и, напротив, индуцируется биосинтез катаболического.

Следует, однако, отметить, что указанные анаболические и катаболические изоэнзимы ГДГ в наших экспериментах проявились при использовании НАДФ (или НАД), тогда как, согласно литературным и нашим данным, анаболические и катаболические изоэнзимы различаются коферментной специфичностью, а именно тем, что НАДФН-зависимый изоэнзим несет анаболическую, а НАД-зависимый изоэнзим катаболическую функцию. Вероятно, проявление активности обоих изоэнзимов с использованием одного кофермента (НАД или НАДФ) обусловлено тем, что изоферменты, имея преимущественную специфичность в отношении одного из коферментов, способны, однако, проявлять определенную активность и в отношении другого кофермента. Экстракта дрожжей, выращенных на сульфате аммония, содержат лишь один диск аланин-дегидрогеназной активности, который сохраняется на электрограмме экстракта дрожжей, выращенных на α -глутамате, а другая электрограмма экстракта дрожжей, выращенных на α -аланине, не содержит диск с аланиндегидрогеназной активностью.

Можно заключить, что в последнем варианте репрессируется биосинтез аланиндегидрогеназы, имеющий, очевидно, анаболическую функцию.

Из приведенных электрограмм видно, что примененным методом электрофореза в экстрактах не удалось выявить катаболический изоэнзим аланиндегидрогеназы. Можно предположить, что это связано с инактивированием изоэнзима в ходе электрофореза, неизбежно сопровождающимся повышением температуры. Это предположение приобретает еще большую вероятность в связи с литературными данными относительно высокой лабильности аланиндегидрогеназы у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, вследствие этого не поддающейся очистке (Краузе и др.) [6].

Лабильность аланиндегидрогеназы была подтверждена и в последующих экспериментах, когда экстракты дрожжей до электрофореза подвергались фракционированию на колонках сефадекса G-25 с целью отделения низкомолекулярных соединений от белковой фракции. При этом аланиндегидрогеназная активность в отличие от глутаматдегидрогеназной значительно снижалась, а после электрофореза полностью не активировалась. По всей вероятности, в растворимой фракции клетки содержались низкомолекулярные факторы (возможно, коферменты, субстраты и др.), утрата которых при гельфильтрации обуславливала дестабилизацию аланиндегидрогеназы.

При электрофоретическом фракционировании экстрактов дрожжей выявляется два изофермента глутаматдегидрогеназы и один аланиндегидрогеназы. При выращивании дрожжей на α -глутамате репрессируется один из изоферментов глутаматдегидрогеназы, очевидно, анаболический изофермент, а при выращивании на α -аланине репрессируется аланиндегидрогеназа, вероятно, анаболический изофермент.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лачинян Л. Е., Атанесян М. Б. Биолог. ж. Армении, 39, 2, 1986.
2. Атанесян М. Б., Лачинян Л. Е. Биолог. ж. Армении, 32, 12, 1979.
3. Атанесян М. Б., Лачинян Л. Е. Биолог. ж. Армении, 32, 14, 1979.
4. Давтян М. А., Атанесян М. Б., Лачинян Л. Е. Биолог. ж. Армении, 25, 10, 1975.
5. Атанесян М. Б., Лачинян Л. Е. Биолог. межузовск. сб. научн. тр., 1, 118, 1979.
6. Краузе Е. Н., Кретович В. Биохимия, 30, 2, 331, 1975.
7. Ehmke A., Hartmann Th. Phytochemistry, 15, 11, 1041, 1976.
8. Towle M. O., Boulter D. Plants, 134, 1, 97, 1977.
9. Kim E., Pitt P. Biochem. J., 161, 2, 1977.
10. Ehmke A., Hartmann Th. Phytochemistry, 174, 637, 1978.

Поступило 9.11.1989г

СЕЛЕКЦИЯ АНТИБИОТИКУСТОЙЧИВЫХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

В. А. ЛИВШИЦ*, К. В. МАКАРЯН**, Н. А. КОЧАРЯН**, Е. В. СЕМЕНОВА*

*Всесоюзный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, **Ереванский зооветеринарный институт

Бактерии: молочнокислые — антибиотики — конъюгативная плазмида.

Молоко коров, которых при мастите лечат антибиотиками, содержит большое количество соответствующих антибактериальных препаратов. Попадая в сборное молоко, антибиотики даже в незначительных концентрациях ингибируют развитие микрофлоры заквасок, используемых в молочной промышленности. Поэтому составление бактериальных заквасок из резистентных к антибиотикам штаммов представляется необходимостью. Однако выделение из природных объектов высокорезистентных к различным антибиотикам штаммам молочнокислых бактерий, которые сохраняли бы свою исходную активность в отношении кислотобразования, протеолитической способности и другим необходимыми признакам, представляет значительные трудности. В связи с этим нами, наряду с традиционной селекцией штаммов по этим признакам, начаты исследования по применению генетических и генноинженерных методов для создания высокорезистентных к антибиотикам штаммов молочнокислых бактерий.

Материал и методика. Чувствительность 100 штаммов различных видов молочнокислых бактерий к пенициллину и стрептомицину определяли по кислотобразующей активности штаммов при различных концентрациях этих антибиотиков.

Опыты проводили в стерильном обезжиренном молоке. Контрольное молоко без антибиотиков всегда брали из той же партии стерильного обезжиренного молока. Количество вносимой культуры составляло 5%. Время термостатирования — 6 ч при оптимальной температуре для исследуемой культуры. В качестве антибиотиков использовали натриевую соль пенициллина и сульфат стрептомицина. Растворителем служил фосфатный буфер (2 г H_2PO_4 + 8 г KH_2PO_4 в 1 л дистиллированной воды) при pH 6,0. В контрольные пробы с молоком добавляли эквивалентное количество растворителя, чтобы иметь одинаковый сравнимый состав молока.

Конъюгационные скрещивания на фильтрах осуществляли по Франке и Клевеллу [1].

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что культуры молочнокислых бактерий чувствительны к пенициллину и стрептомицину. Так, в среднем по молочнокислым палочкам разница за 6 ч инку-

бацин при концентрации пенициллина 0,05 ед/мл по сравнению с контролем составила 17°Т (70—53°Т), а стрептомицин подавлял кислотообразующую активность с той же силой лишь при концентрации 0,5 мкг/мл. Разница в кислотности между контрольными и опытными пробирками с молоком в опытах со стрептококками при тех же концентрациях антибиотиков была не столь значительна — в среднем 9°Т (55—46°Т), что вполне естественно, ибо кокковые формы молочнокислых бактерий менее активны в отношении кислотообразования. Отдельные штаммы как среди палочковидных форм, так и среди стрептококковых обладали сравнительно высокой естественной резистентностью к испытываемым антибиотикам. К ним в первую очередь можно отнести штаммы *L. helveticum* 6в (78—66°Т), *L. salivarius*—1588 (70—66°Т), *Str. lactis* 4096 (60—58°Т). Однако они не только не обладали 100%-ной резистентностью, т. е. не образовывали такое же количество кислоты, которое наблюдалось в молоке без антибиотика, но и не обладали одновременно и другими признаками, необходимыми для их включения в закваски.

Результаты этих исследований показали, что отбор устойчивых к антибиотикам штаммов, хотя и возможен в принципе, однако этого трудно добиться, и нам кажется, что более эффективно решение этой задачи возможно лишь путем целенаправленного изменения полезных свойств у молочнокислых культур при помощи генетических и генно-инженерных методов.

В связи с этим были проведены исследования с целью выяснения возможности введения генетического материала в клетки молочнокислых бактерий с помощью конъюгации. Была использована конъюгативная плаزمида рАМβ1, которая определяет устойчивость к антибиотикам MLS группы (эритромицин, линкомицин и др.) [2].

При скрещиваниях на мембранных фильтрах нам удалось перенести рАМβ1 из *Str. faecalis* в клетки *Str. lactis*, *L. plantarum* ВКМ 578, *L. casei* ВКМ 535, *L. brevis* ВКМ 1309, а также в штаммы некоторых видов бацилл. Частота передачи варьировала от $2 \cdot 10^{-5}$ до $2 \cdot 10^{-8}$. Полученные трансконъюганты использовали в качестве доноров в межродовых скрещиваниях с молочнокислыми бактериями. При этом удалось перенести рАМβ1 на *Bacillus sphaericus*, *B. megaterium*, *B. coagulans* и *B. licheiformis* и различные штаммы молочнокислых стрептококков и лактобацилл с частотой 10^{-1} — 10^{-6} на клетку реципиента. Осуществлен также внутривидовой перенос указанной плазмиды среди штаммов *L. plantarum* с частотой 10^{-6} на реципиентную клетку. Все трансконъюганты стабильно наследовали рАМβ1.

Известно, что плазмиды рАМβ1 способна мобилизовать на перенос неконъюгативные плазмиды и бактериальную хромосому [3—5]. Такое сочетание широких конъюгативных возможностей со способностью к мобилизации может оказаться полезным для введения плазмид в клетки молочнокислых бактерий из различных промежуточных реципиентных штаммов (например, хорошо трансформируемых бацилл). Нам обнаружено, что рАМβ1 осуществляет мобилизацию неконъюгатив-

ной плазмиды рАМ₁ и приблизительно в 100 раз повышает частоту переноса конъюгативного транспозонта Тп916, детерминирующего устойчивость к тетрациклину [1].

В результате проведенных исследований созданы предпосылки для дальнейшей генетической и гено-инженерной работы с молочнокислыми бактериями и, в частности, для введения в них различных детерминантов устойчивости к антибиотикам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Franke A., Clewell D. B. J. Bact., 145, 491—502, 1981.
2. Clewell D. B., Yagi Y., Danny G. M., Schultz S. K. J. Bact., 117, 283—289, 1974.
3. Lundman O. E., Bodkin D. F., Finn C. W., Pepin R. A. Transformation—Oxford 219—228, 1981.
4. Outram F. D., Young M. FEMS Microbiol. Lett., 27, 129—134, 1985.
5. Schaberz D., Clewell D. B., Glatzer L. Antimicrob. Agents Chemother., 22, 204—207, 1982.

Поступило 24.VI 1989 г.

Биолог. ж. Армения, № 11, (42), 1989

УДК 576.8:663.14.664.642

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

В. А. БАГИЯН, Л. А. ЕРЗНИКЯН, М. Л. СТЕПАНИН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Дрожжи хлебопекарные—картофельная болезнь—микробный антагонизм.

Одной из причин порчи хлеба является картофельная болезнь, которая за 20—30 ч превращает мякиш хлеба в липкую, тянущуюся, со специфическим гнилостным запахом массу, непригодную к употреблению.

Возбудителем картофельной болезни хлеба являются бактерии группы *Bacillus subtilis*, споры которых попадают в муку при размолотии зерна. Борьба с возбудителем болезни хлеба затруднена вследствие стойкости спор указанных бактерий к различным химическим и термическим воздействиям. В то же время применять в тестоведении различные консерванты для подавления роста возбудителей порчи хлеба не рекомендуется. Поэтому целесообразно применение биологических методов воздействия на рост *B. subtilis* [1, 4].

Скородумова [3], изучая антибиотические свойства дрожжей, в том числе и *B. subtilis*, пришла к выводу, что метаболиты дрожжевых клеток угнетают рост вредных для хлебопекарного производства бактерий. Эти вещества как продукты брожения диффундируют в агар и не подвергаются дальнейшим изменениям. Правомочность такого предположения подтверждается существованием зависимости между бродильной активностью штаммов дрожжей и величиной зоны подавления

роста. Дрожжи, наиболее энергично сбраживающие углеводы, дают и более широкую зону угнетения роста. Образование этих зон обусловлено выделением дрожжами специфического вещества, обладающего антибиотическими свойствами [5].

Цель наших исследований состояла в изучении антимикробных свойств штаммов дрожжей, выделенных из образцов хлебных заквасок в различных районах Армении, для использования их в хлебопекарном производстве.

Материал и методика. Объектом исследования были штаммы дрожжей *S. cerevisiae*, выделенные из хлебных заквасок (тижморов) в 12 районах АрмССР. В качестве тест-объекта использовали штамм *B. subtilis*, выделенный на пораженного картофельной болезнью хлеба, контролем служил музейный штамм этого вида В-1810.

Дрожжи высевали на среду следующего состава (%): картофельный отвар—10, глюкоза—2, агар—2 (рН 6,0). На поверхность агаризованной среды, засеянной тест-культурой, наносили штрихи исследуемых штаммов дрожжей.

Для выявления степени поражения хлеба картофельной болезнью использовали метод пробных выпечек: горячий хлеб обертывали увлажненной бумагой, помещали в полиэтиленовый мешок и выдерживали в термостате при температуре 37° в течение 120 часов.

Во время производственных испытаний в качестве контроля использовали дрожжи производственной расы Берлинская-14.

Результаты и обсуждение. Антимикробную активность изучали у штаммов хлебопекарных дрожжей с высокой бродильной и мальтозной активностью, так как мальтоза является основным сбраживающим углеводом в тесте [2]. Результаты исследований представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1. Действие *S. cerevisiae* на рост штаммов *B. subtilis*

Штаммы <i>B. subtilis</i>	Зоны угнетения роста дрожжами, мм					
	У-9789	У-9790	У-9793	У-9791	У-9794	У-9788 У-9792
В-1810	15	12	15	15	16	18 17
Из пораженно- го хлеба	12	15	13	13	14	17 15

Таблица 2. Зависимость антимикробной активности *S. cerevisiae* в отношении *B. subtilis* от источника углерода

Среды	Зоны угнетения роста дрожжами, мм					
	У-9789	У-9790	У-9793	У-9191	У-9794	У-9788 У-9792
Картофельный агар с сахарозой	15	12	15	15	16	18 17
Картофельный агар с мальтозой	11	10	13	12	16	18 17

Как видно из таблиц, штаммы дрожжей, выделенные из хлебных заквасок Сиснаисского и Горисского районов (У-9788, У-9792, У-9794),

образуют стабильные зоны угнетения роста *B. subtilis*, независимо от сбраживаемого углевода среды. Наиболее активным оказался штамм У-9788, который прошел производственные испытания на Ереванском хлебзаводе № 2 Минхлебпродуктов АрмССР.

В целях испытания жидкие дрожжи готовили в производственных условиях. Тесто готовили на густой опаре из пшеничной муки высшего сорта. При замесе опары мезофильная молочнокислая закваска *Lactovacillus fermenti*, используемая в тестоведении для предотвращения картофельной болезни, не применялась.

Выпекали опытные и контрольные образцы хлеба формового, массой 0,7 кг, и подового, массой 0,61 кг. Опытные образцы — на жидких дрожжах штамма У-9788, а контрольные — на жидких дрожжах хлебозавода № 2 (раса Берлинская-14).

Сразу после выпечки опытные и контрольные образцы хлеба, по 5 штук, были подвергнуты термостатированию. В хлебе контрольных образцов признаки поражения появились через 36 ч термостатирования, хотя его кислотность была ниже кислотности хлеба опытных образцов всего на 0,3°Н. Хлеб, выработанный на жидких дрожжах штамма У-9788, не обнаружил признаков поражения картофельной болезнью и через 120 часов. Очевидно, важную роль в подавлении жизнедеятельности *B. subtilis* играет не столько кислотообразующая способность, сколько антимикробная активность дрожжей при тестоведении. Результаты испытаний оформлены соответствующим актом.

Таким образом, использование дрожжей штамма У-9788 в хлебопекарной промышленности позволяет предотвратить поражение хлеба картофельной болезнью без использования мезофильной молочнокислой закваски, повысить качество изготавливаемой хлебпродукции и увеличить длительность ее хранения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Витавская А. В. Биологический способ предотвращения картофельной болезни хлеба. М., 1976.
2. Семихитова Н. М. Хлебопекарные дрожжи. М., 1980.
3. Скородумова А. М. Микробиология, 23, 4 419—423, 1951.
4. Brümmer J., Brack G. Getreide Mehl und Brot, 12, 1, 17—21, 1985.
5. Lemaresquier H. Rev. fr. oenol., 27, 109, 57—61, 1987.

Поступило 20.VI 1989 г.

ՄԻ ՔԱՆԻ ԵՈՐ ՍԻՆՔԵԶՎԱԾ ՄԻՎՅՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՀԱՎԱԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ՄԱՆՐԵԿԱՍՊԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՌԵՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Հ. Ս. ՀԱԿՈՐՅԱՆ, Ա. Ա. ՀԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ժ. Ռ. ՔԱՐԱՅԱՆ,
Գ. Գ. ՌԱՅՄԱՆԵԼՅԱՆ, Տ. Ռ. ՄԻՆԻՔՅԱՆ, Կ. Ծ. ՔԱԶՄԱԶՅԱՆ

- Ա. Ք. Այնթափի անվան Հայաստանի Կոմունիստական և բժշկական պարագիտությունների հայկական գիտահետազոտական ինստիտուտ, Երևան,
- Կ. Մարքսի անվան Երևանի պետական պոլիտեխնիկական ինստիտուտ, Երևան

Ազիմային ցուպիկ—սպիկցայն աստիլիոկոկ—ստրեպտոկոկ ամոնիումային միացություններ

Արտաքին միջավայրի առարկաների վարակազերծումը տարախոտիկ վանդոթյունների հարուցիչներին էղել և մնում է վարակիչ հիվանդությունների զեմ պայքարի և կանխարգելման կարևորագույն միջոցառումների մեկը:

Ախտահանության գոյություն ունեցող մեթոդներից ամենապայան կիրառություն ունի քիմիականը, որի ժամանակ սգտագործվում են մասրէաստահանություններով ոմտված քիմական տարրեր խմբերին պատկանող պարաստուկներ:

Մեր երկրում ախտահանության պրակտիկայում լայն կիրառություն ունի ըրոր պարունակող օրգանական և անօրգանական միացությունները (ըրոր մին, ըրորակիր, իպոքրիդներ, դիլորդիմեթիլ, գիդանապիններ, իզոքսնորաթթվի աղեր և այլն), որոնց բնույթը և հակամիկրոբային ազդեցությունը նդարձակ ոլորտը և բարձր արդյունավետությունը [2,4,6]։ Աակայն ըր պարունակող միացությունները նշված դրական հատկանիշներից բացի օրգանական և անօրգանական միացությունները հատկապես ալիմարային և, պարպանման ժամանակ կոտուն շեն, ազրեսիլ ևն մշակվող օրնիկտները մետաղա, մանալորապետ, բժշկական գործիքների և սարքավորումների կատմամբ:

Վերը շարդրվածից ալիմար է դանում նոր, առավել արդյունավետ, որի դիտատեխնիկական առաջընթացի պահանջներին համապատասխան ախտահանի պատրաստուկների որոնման անհրաժեշտությունը և գործնական կարևորությունը։ Նոր, առավել ալիմար անվետ ախտահանիչ նյութեր որոնումը պայմանավորված է նան նրանով, որ ալիմար տարիների ընթացքում բժշկագիտական գրականության մեջ հանալի ևն հանդիպում այնպիսի հաղորդումներ, որոնց հեղինակները նշում են կիրառվող ախտահանիչ պարաստուկների կատմամբ հիվանդության հարուցիչների ձեռք բերած կայունության մասին։ Այն ևն վկայում են մեր ինստիտուտում կատարված հետազոտությունների արդյունքները [1,3]։

Հայտնի է, որ ախտահանիչ պատրաստուկներին ներկայացվող կարևոր պահանջներից մեկն է ըվիչանել ախտահանվող առարկաները։ Ըլնելով դրանից՝ նպատակահարմար ենք գան որոնել այնպիսի նյութեր, որոնք օժանդակեն ինչպես մանրէասպան, այնպես էլ մետաղները կոտզիայից պայքար պանելու հատկությունները։ Այն նպատակով սինթեզել ենք մի շարք քիմիական նոր միացություններ:

նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրության նյութ են հանդիսացել մեր հանրապետությունում առկա թիմիական արդյունաբերության լծանագին հումքից և թափոններից մեր սինթեզած 20 միացություններ, որոնք պատկանում են շրջորոշական ամոնիումային միացությունների խումբին: Այդ միացությունները պարունակում են 4-ֆենոքսի-2-բուքենիլային խմբեր և ամոնիումի մորֆոլինային և պիրիդինային աղերի հիմքից ալկիլացված բարձր ալկիլալկենիլ և ալկենիլբրոմիդներ: Մանրէասպան հատկությունները ուսումնասիրվել են համաձայն ԽՍՀՄ առողջապահության մինիստրության 6. 05. 68 թ. № 739—68 նոր ակտահանիչ նյութերի մանրէասպան հատկությունների ուսումնասիրման հրահանգի էսալոնային շտամներ աղիքային ցուպիկի (շտ. 1257) և սակեզոյն ստաֆիլոկոկի (շտ. 906) 2 միլիարդանոց կախումով վարակված քստիստային (6. 11 մմ) տեստ-օրյեկտները վարակազերծելու մեթոդով: Էքսպոզիցիայի ժամանակ է՝ 5, 10, 15, 20, 25, 30 րոպե: Սինթեզված միացությունների կոոզիմից պաշտպանող հատկությունները ուսումնասիրվել են գրավիտացիոն մեթոդով (պոզպատն ստ-3, ստ-7, ստ-45 մարկայի Թիմեդենի վրա 1 % ինհիբիտորի խտություն, ազաթթվի 14 % առկայության և 100° ջերմության պայմաններում):

Արդյունքներ և Ընկալում: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ բոլոր 20 միացությունները օժտված են արտահայտված ինհիբիտորացնող հատկություններով: Պրանցից առավել ակտիվ են ԳՐ-23, Ա-71, Ա-51, Ա-56, Ա-25, Ա-26, Ա-24, Ա-27 պատրաստուկները, որոնք պարունակում են N-բուքենիլ, N-3 քլոր-2-բուքենիլ պիրիդինային բրոմիդ և 4-ֆենոքսի-2-բուքենիլային խումբ:

Ուսումնասիրված պատրաստուկների ինհիբիտորացնող ակտիվությունը պայմանավորված է երրորդային կապի առկայությամբ, որը հանդիսանում է լավ ադսորբցիոն կենսորեն, և շնորհիվ շրջորոշական ամոնիումային միացություններին մակերեսային ակտիվ նյութի հատկություն տվող նոնիլային ($C_{12}H_{25}$) խմբի առկայության:

Մանրէասպան հատկությունների ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ 20 պատրաստուկներից 13-ը օժտված չեն հակամանրէային հատկություններով՝ 0,5 % ջրային լուծույթները շեն ոչնչացրել ալիբային ցուպիկի և սակեզոյն ստաֆիլոկոկի շտամներին 30 րոպեի ընթացքում: Պատրաստուկներ Ա-27-ը, Ա-26-ը, Ա-24-ը, Ա-54-ը օժտված են թույլ արտահայտված մանրէասպան ազդեցությամբ, դրանց 0,5—0,25 % ջրային լուծույթները ոչնչացրել են ալիբային ցուպիկի 1257 շտամին և սակեզոյն ստաֆիլոկոկի 906 շտամին 25—30 րոպեի ընթացքում: Ա-51, Ա-25, ԳՐ-23 պատրաստուկները օժտված են արտահայտված մանրէասպան ազդեցությամբ՝ 0,1—0,05—0,025 % ջրային լուծույթները ոչնչացնում են ալիբային ցուպիկի (1257) և սակեզոյն ստաֆիլոկոկի (906) շտամներին 10—15 րոպեի ընթացքում: Սահմանվել են նաև քիմիական կառուցվածքի, մանրէասպան հատկության և հակոստոզիվային ազդեցության միջև զբաղմունքն ունեցող մի քանի օրինակափոխություններ, որոնք նարավորություն կտան կազմակերպելու նոր միացությունների նպատակային սինթեզը: Այս ուղղությամբ տարվող աշխատանքները շարունակվում են:

Այսպիսով, մեր կատարած ուսումնասիրություններից կարելի է հանգել Լետեյալ եզրակացությունների:

Նոր սինթեզված 20 պատրաստուկները օժտված են արտահայտված հակակոոզիվային հատկություններով, որոնցից առավել ակտիվությամբ աչքի են ընկնում ԳՐ-23, Ա-51, Ա-25, Ա-26, Ա-27, Ա-71, Ա-24, Ա-56 պատրաստուկները: Գրանցից Ա-25, Ա-51, ԳՐ-23 պատրաստուկները օժտված են նաև լավ արտահայտված մանրէասպան ազդեցությամբ գրամդրական և գրամրոպասական մանրէների նկատմամբ՝ 0,1, 0,05, 0,25 % ջրային

լուծույթների ձևով, բուսամնասիրված պատրաստուկների քիմիական կառուցվածքի, մանրէապան հասկումները և հակահոտոցիվային ազդեցության միջև գոյություն ունեցող կապի և օրինաչափությունների բացատրությունը ներառվող է դարձնում առաջիկայում կազմակերպել այնպիսի նոր պատրաստուկների նպատակային սինթեզ, որոնք օժտված լինեն հակամանրէային և միածամանակ հակահոտոցիվային հասկումներով:

Նման քիմիական միացությունների ախտահանիչ և թունաբանական հատկությունների ուսումնասիրությունները ավարտելուց հետո ներառվող կլինիկական ցիկլի առաջիկ արդյունավետ պատրաստուկները առաջարկել զործնական անոթապատրաստման մեջ ներդրելու համար՝ որպես տխտահանիչ և միածամանակ հակահոտոցիվային ակտիվությամբ օժտված միացությունների:

ՎԻՃԱԿԱՆՔՆԵՐ

1. Առոյան Դ. Ս., Դուկասյն Դ. Ե., Բաբայն Ջ. Բ., Խանձյան Դ. Ջ. Ակտ վոпр. краевой инф. пат., 8, 7—8, 1988.
2. Вайков В. И. В кн. Антимикробные средства и методы дезинфекции при инфекционных заболеваниях, М. 1977.
3. Դուկասյն Դ. Ե., Առոյան Դ. Ս., Բաբայն Ջ. Բ., Խանձյան Դ. Ջ. Арохчапатутюн 5 27—28, 1987.
4. Тярский Н. П. Сб. научн. тр. ВНИИДис, М. 1979.
5. Рафаэлян Д. Г., Меликян Т. Բ., Բաբայն Ջ. Բ., Առոյան Դ. Ս., Դաշուկյան Կ. Ս. Арм. хим. ж., 7, 39, 459, 1986.
6. Флоридова Л. С. Автореф. канд. дисс., М. 1979.

Մտագրված է 12. 11. 1989 թ.

Биолог. ж. Армения, № 11, (42), 1989

УДК 619:578.083:576.851.49

КОЛИЦИНОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Գ. Գ. ՎԱՐՏԱՆՅԱՆ

НИИ ветеринарии Госагропрома АрмССР, Ереван

Колициночувствительность—колициногенность—ширелин—клизбеллин

В последние годы все большее значение придается условно-патогенным энтеробактериям в этиологии острых кишечных инфекций. Для правильной оценки возможной этиологической значимости того или иного представителя семейства *Enterobacteriaceae* важное значение приобретает изучение их биологических свойств.

Известно, что в формировании патогенных свойств энтеробактерий большую роль играют факторы, детерминируемые плазмидами. Одним из таких факторов является способность бактерий кишечной группы продуцировать антибиотикоподобные вещества белковой природы—колицины, а в более широком понимании—бактериоцины. Колициногенность является стабильным свойством микроорганизмов. До недавнего времени бактериоциногенность рассматривалась как одно из свойств.

способствующих проявлению антагонизма и, следовательно, выживанию микроба. Способность продуцировать бактерицины характерна почти для всех представителей кишечных бактерий. Особенно четко это свойство проявляется у *Escherichia coli*. Именно колициногенность позволяет *E. coli* оказывать выраженное антагонистическое воздействие на другие виды семейства кишечных бактерий. По всей вероятности, этим обусловлена способность *E. coli* продуцировать более 20 различных типов колицинов. Показано, что *E. coli* бактерицидно влияет на различные виды родов *Salmonella*, *Shigella*, *Protens* и др [1]. В то же время они могут влиять и на представители других семейств — аэробактер, паразитов [5], стрептококки, вибрионы, коринебактерии [4]. Однако бактерицидное действие колицинов на некоторых представителей семейства *Enterobacteriaceae* до конца еще не выяснено. К одному из таких видов относится *Klebsiella pneumoniae*. Проведенные ранее исследования в основном были посвящены выявлению влияния энтерихий на шигеллы и сальмонеллы, тогда как влияние колициногенных штаммов энтерихий на клебсиеллы остается малоизученным. Выяснению этого вопроса посвящено настоящее сообщение.

Материал и методики. Для определения колициночувствительности клебсиелл были применены эталонные колициногенные штаммы коллекции П. Фредерика, продуцирующие следующие типы колицинов: V, B, D, A, E3+(1), F, G, I, C, H, J+1, K, S1, S4, S5, E2+1, E1+V. Определение колициночувствительности клебсиелл проводили по методу Лиходеда с соавт. [2]. Колициногенные штаммы засеивали уколом в МПА. После 48-часовой инкубации выросшие колонии стерилизовали парами хлороформа и производили наслыжку 4-часовой бульонной культуры в полужидком (0,7%) МПА. Затем чашки дополнительно инкубировали при 37° в течение 24 часов. Наличие чувствительности к колициногенным штаммам П. Фредерика определяли по зоне задержки роста культур *K. pneumoniae*. Для определения колициночувствительности клебсиелл было использовано 105 штаммов *K. pneumoniae*, выделенных Н. М. Арутюняном (Арм. НИИ ЭВиМ) из различных источников.

Статистическую обработку проводили по Меркью и Полякову [3].

Результаты и обсуждение. Установлено, что из 105 использованных штаммов 24 (22,8±4,1%) были колициночувствительными, причем клебсиеллы оказались чувствительными лишь к колицинам D, B, V, A (табл.).

Чувствительность *K. pneumoniae* к действию различных типов колицинов

Тип колицина	Количество штаммов	%
D	17	16,2±3,5
A	1	0,9±0,9
D + B	4	3,8±1,8
D + V	1	0,9±0,9
Получувствительный	1	0,9±0,9

Как видно из таблицы, у клебсиелл в основном выявлялись моночувствительные штаммы ($P < 0,01$). Это свидетельствует о том, что для этих микроорганизмов характерно наличие рецепторов лишь к немногим типам колицинов.

Весьма интересным представлялось изучение чувствительности эшерихий к антагонистическому действию клебселл. Для этого была изучена чувствительность индикаторных штаммов *E. coli* Row и *E. coli* ф. Нам не удалось ни в одном случае выявить бактерицидную активность *A. pneumoniae* в отношении индикаторных штаммов *E. coli*.

Таким образом, для клебселл характерна моночувствительность к определенным типам колицинов, что может иметь значение в этиологии острых кишечных инфекций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кудлай Д. Г., Лиходед В. Г. Бактериоциногенез. Л., 1966.
2. Лиходед В. Г., Кудлай Д. Г. ЖМЭИ, 11, 85, 1964.
3. Мерков А. М., Поляков Л. Е. Санитарная статистика. Л., 1974.
4. Cook M. K., Blackford F. L., Robbins M. L., Farr L. M. Antibiotics and Chemotherapy, 3, 195, 1953.
5. Frederick P., Levine M. I. Bacteriol. 34, 785, 1917.

Поступило 23.VI 1988 г.

Бюлл. ж. Армении, № 11, (42), 1989

УДК 616.351:615.839

ПОЛОСТНАЯ И ПРИСТЕНОЧНАЯ МИКРОФЛОРА КИШЕЧНИКА ПРИ СИНДРОМЕ РАЗДРАЖЕННОЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ

К. Ф. АМБАРЦУМЯН, Б. Г. САРКИСЯН, Д. В. ЭЛОЯН, А. Ш. АНАНЯН

НИИ проктологии МЗ АрмССР, Ереван

Микрофлора кишечника—синдром раздраженной толстой кишки.

В патологии желудочно-кишечного тракта большое место занимают нарушения микробной флоры кишечника. При заболеваниях толстой кишки выраженность дисбактериоза ставится в прямую зависимость от тяжести поражения органа. Основную информацию о микробной флоре толстой кишки в клинических условиях получают путем посева содержимого полости, фекалий. Однако в последние годы [2—4] показало, что микробы могут находиться как в просвете кишки (полостная, или П-микрофлора) так и на поверхности слизистой (мукозная, М-микрофлора), будучи тесно связанными с ней и составляя особую экологическую среду. Функционально-морфологические изменения в кишечной стенке способствуют внедрению в нее микроорганизмов, что замедляет интенсивность регенерации эпителия, развивается атрофия слизистой оболочки, вследствие чего снижается адсорбционная способность эпителиальных клеток, нарушается пристеночное пищеварение. Удержание микробов на слизистой оболочке обеспечивается адгезивностью, которая может быть обусловлена специфическими антигенами бактерий, пиллями или пилленодобными образованиями [1, 6].

Сокращения: СРТК—синдром раздраженной толстой кишки.

В настоящей работе представлены результаты сравнительного изучения пристеночной микрофлоры сигмовидной кишки и микрофлоры фекалий у больных с функциональной патологией, в частности, СРТК.

Материал и методика. Изучена полосатая и пристеночная микрофлора сигмовидной кишки 37 больных СРТК. Соскоб со слизистой сигмы производили с помощью стерильной металлической ложки во время ректоскопии. Соскоб весом примерно 10 мг растирали в стерильной ступке с 1 мл физиологического раствора. Видовой и количественный состав микрофлоры фекалий и слизистой сигмовидной кишки изучали согласно методическим рекомендациям [5].

Результаты и обсуждение. Из фекалий больных выделены следующие виды микроорганизмов: эшерихии—в 100% случаев, в том числе лактозодефектные и гемолитические формы в 24,3% случаев, у 46%—бифидобактерии, 16,2%—протей, 19%—прочие условно-патогенные бактерии (клебселлы, цитробактер, энтеробактер), 8,1%—патогенные стафилококки (табл.).

Исследование мукозной флоры выявило следующее: в 89,1% случаев—эшерихий, среди них лактозодефектные и патогенные формы у 19% больных, у 5,4%—бифидобактерии, 8,1%—протей, 13,5%—прочие условно-патогенные бактерии (табл.).

Видовой состав микрофлоры фекалий и слизистой сигмовидной кишки у больных СРТК

Материал	Частота обнаружения бактерий, %					
	бифидобактерии	эшерихии		протей	прочие условно-патогенные энтеробактерии	стафилококки
		всего	патогенные формы			
Слизистая	5,4	89,1	19	8,1	13,5	—
Фекалии	46	100	24,3	16,2	19	8,1

В 26 случаях наблюдали качественно идентичный (за исключением бифидобактерий) состав микробной флоры как в полости, так и в слизи толстой кишки. Имели место лишь количественные различия: уменьшение числа эшерихий и условно-патогенной флоры в слизистой на 2—3 порядка по сравнению с концентрацией этих бактерий в фекалиях. У 17 больных были обнаружены бифидобактерии в фекалиях (в концентрации 10^8), тогда как в слизистой этих же больных они определялись только в 2 случаях.

Сравнительный анализ полостной и пристеночной микрофлоры выявил различия не только в содержании бифидофлоры. В 2 случаях наблюдалось присутствие клебселлы в фекалиях, но они не были обнаружены в слизистой толстой кишки, у одного больного отмечалось обратное, были также случаи выделения цитробактера из слизистой и протей из фекалий, золотистого стафилококка из кала и его отсутствие в слизистой, энтеробактера из слизистой и отсутствие его в фекалиях (в 2 случаях). У 4 больных в слизистой обнаруживались гемолитические и лактозодефектные эшерихии, тогда как в кале они отсутствовали.

Таким образом, у 11 больных (29,7%) выявлены различия в составе полостной и пристеночной микрофлоры (без учета случаев расхождений по бифидофлоре). Проведенные исследования показали, что в большинстве случаев (70,2%) у больных СРТК наблюдается качественно идентичный состав мукозной (слизистая сигмовидной кишки) и полостной микрофлоры (за исключением бифидобактерий). Однако количество бактерий, адгезированных на слизистой, меньше на 2—3 порядка по сравнению с концентрацией их в фекалиях. В большинстве случаев мукозную флору составляли эшерихии. Очевидно, наличие пилей способствует их адгезии на слизистой оболочке. Бифидобактерии, напротив, обнаруживались в составе мукозной флоры лишь в 5,1%, тогда как в фекалиях они наблюдались в 46% случаев.

Дальнейшее изучение пристеночной микрофлоры, механизма прикрепления бактерий к стенке пищеварительного тракта поможет выработать меры «прицельной» профилактики и терапии путем подавления адгезии пристеночной микрофлоры, которая в определенных условиях (проникновение адсорбированных на эпителии бактерий внутрь эпитолия, массовое размножение их на слизистой оболочке, ослабление защитного барьера) может стать патогенным фактором.

ЛИТЕРАТУРА

1. Веселов А. Я. Лаб дело, 4, 3—11, 1988.
2. Левина Е. Н., Конарейкина С. К., Полферов В. А., Златкина А. Р., Макиевская С. Е., Мисаутова А. А. ЖМЭИ, 6, 95—98, 1979.
3. Мисаутова А. А., Златкина А. Р., Макиевская С. Е., Палей О. С., Капустин В. М., Уголев А. М. ЖМЭИ, 4, 78—80, 1979.
4. Пинсгин В. В., Мальцев В. Н., Коршунов В. М. Дисбактериозы кишечника. М., 1984.
5. Эпштейн-Литвак Р. В., Вильшинская Ф. Л. Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника. Методические рекомендации. М., 1977.
6. Lorens A., Schultze J., Grutke F. K. Nahrung, 28, 6—7, 611—644, 1984.

Поступило 28.X 1988 г.

Биол. ж. Армении, № 11.(42).1989

УДК 016.314—202(576.8)

ДРОЖЖЕВАЯ ИНФЕКЦИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

О. С. БЕЛОРУСОВ, А. Г. СЕМЕНЬЧЕВ, А. Я. МАЛКИНА,
А. П. КАЙКАЯН, Г. В. БАНЧЕНКО

Институт медицинской паразитологии и тропической медицины
им. Е. И. Марджановского МЗ СССР: отдел трансплантации почки и
искусственных органов; ЦНИИ стоматологии МЗ СССР, отдел
терапевтической стоматологии, Москва

Трансплантация почки—полость рта—дрожжевая инфекция.

По данным отечественных и зарубежных авторов, микотические осложнения развиваются примерно у 40% больных, перенесших операцию пересадки почки [1—5]. Значительная обсемененность зева грибами

Candida и *Candiduria* рецидивентов почек рассматривается как фактор риска развития кандидоза и показатель профилактического назначения антимикотических средств [2].

Настоящая работа выполнена на базе отделения трансплантации почки Всесоюзного научного центра хирургии АМН СССР. Целью работы явилось установление частоты поражения полости рта и зева грибами *Candida* у больных, перенесших операцию почки, и изучение эффективности герапии антимикотическими препаратами.

Материал и методика. Всего обследовано 39 больных в возрасте от 15 до 59 лет, 10 женщины, 29 мужчин. При клиническом осмотре у 16 из них установлено поражение слизистой оболочки полости рта и зева: стоматит—у 10 человек, глоссит—у 4 человек, у 2 больных—сочетанное поражение слизистой оболочки полости рта и языка.

Из анамнеза у всех 16 больных с клиникой поражения слизистой оболочки полости рта выявлены перенесенные заболевания: простудные, инфекционные, гелиот, аллергические реакции, язвенная болезнь желудка, гастрит, пародонит и различные сочетания перечисленных заболеваний.

Проведено микологическое обследование 39 больных, путем исследования смыва из полости рта и анализа мочи. У 13 больных с картиной интоксикации в сочетании с клиникой стоматита и глоссита исследовали кровь. Накануне исследования, вечером, больному предлагалось произвести тщательный туалет полости рта. Утром, до приема пищи, больной полоскал полость рта в течение 20—30 с стерильным физиологическим раствором (5 мл). Смыв из пробирки в количестве 0,1 мл засеивали на чашку Петри со средой Сабуро, в которую предварительно добавляли пенициллин и стрептомицин (по 500 ЕД на 1 мл среды), для подавления бактериальной флоры. Мочу засеивали на среду Сабуро в количестве 0,1 мл. Кровь в количестве 3—4 мл засеивали в колбу в жидкой среде Сабуро и после двухдневной инкубации в термостате пересевали на твердую среду Сабуро. Все посевы инкубировали при температуре 37°. При видовой идентификации выделенных штаммов использовали метод выявления ростковых трубок на сыроватке крупного рогатого скота, что характерно для наиболее вирулентного вида *Candida albicans*, а также метод образования и ассимиляции углеводов.

Результаты и обсуждение. Дрожжеподобные грибы выделены у 33 из 39 обследованных больных, т. е. у подавляющего большинства. При этом у 21 больного грибы выделены в количествах, превышающих числовые показатели нормы (более 10^3 колоний в смыве из полости рта и более 10^3 колоний в 1 мл мочи). Дрожжеподобные грибы обнаруживали чаще в ротовой полости, нежели в моче. Так, в смыве с ротовой полости грибы были выделены у 27 больных, из них у 21—в количествах, превышающих норму. Из мочи грибы были выделены у 9 больных, из них у 6 содержание их превышало норму. У 10 больных грибы обнаружены как в смыве, так и в моче, при этом у 3 количество их превышало норму. Из крови грибы в ассоциации с бактериальной флорой были выделены у 7 больных. Впоследствии из этой группы скончались 5 человек, четверо из них в первые три месяца после первичной либо вторичной операции, в результате отторжения. У всех этих больных грибы были одновременно обнаружены в смыве с ротовой полости, в моче и крови на фоне бактериальной флоры.

Микологическое исследование проводили в разные сроки после трансплантации почки: до 3 месяцев, до 1 года, до 2 лет и до 5 лет. Из 11 больных со сроком операции до 3 месяцев грибы были выделены у

7, из них у 4 в повышенных количествах. Наибольшая частота выделения дрожжеподобных грибов отмечена в период от 3 месяцев до 2 лет после операции. В этот период было обследовано 24 больных и у всех обнаружены грибы, причем у 16 выявлена повышенная обсемененность. Установлено наличие грибов на слизистой ротовой полости и у перенесших операцию более двух лет назад, однако у этих больных количество грибов не превышало норму. Всего было выделено 34 штамма дрожжеподобных грибов. Из них *C. albicans* составила 30 штаммов, *C. tropicalis* — 3 штамма, *Forulopsis* — 1 штамм. В одном случае имела место смешанная инфекция — *Candida* + *Aspergillus*. Лечение антимикотическими препаратами было показано и проведено 16 больным. У всех этих больных имелись клинические проявления стоматита и глоссита, в ряде случаев — кандидомикотического хейлита и повышенная обсемененность дрожжеподобными грибами.

Клиническими признаками кандидоза слизистой оболочки полости рта явилась гиперемия слизистой, наиболее выраженная на дорсальной поверхности языка, слизистой щек, губ: диффузная десквамация эпителиального покрова в этих местах; белый, плотно спаянный с тканями налет в виде крупинок либо бляшек, нередко с признаками гиперкератоза. Описанные признаки напоминали клинику кандидозной лейкоплакии, а при локализации в области боковых участков дистальной трети языка — «волосатой лейкоплакии». Субъективно отмечалось нарушение вкусовых ощущений, сухость слизистой оболочки полости рта и зева, иногда ощущение увеличения языка, что соответствовало общеизвестным признакам глоссалгии, парестезии. У 4 больных, страдавших кандидозом длительное время, на дорсальной поверхности языка выявлены признаки усиленного ороговения, по типу гиперпаракератоза, что описано в литературе как веррукозная лейкоплакия. Местами эпителий дорсальной поверхности языка десквамировался и здесь были видны участки гиперемированного истонченного эпителия, вплоть до его деструкции. В 3 случаях на языке отмечался серовато-белый рыхлый налет, неплотно спаянный с подлежащими тканями, удаление которого сопровождалось кровоточивостью слизистой оболочки. Аналогичная картина описана как псевдомембранозная форма кандидоза. При осложненном течении этой формы кандидоза наблюдалась картина деструкции эпителия вплоть до появления эрозий и язв. Заболевания уголков рта, кандидозный хейлит, наблюдалась у 6 человек. Начальными признаками его являлись мацерация и отслоение верхнего слоя эпидермиса, в последующем здесь образовались трещины или эрозии, кровоточащие при широком открывании рта. У 2 из 6 больных в окружении эрозий появлялись признаки инфильтрации тканей, что являлось прогностическим признаком хронизации патологического процесса.

Проведенное специфическое лечение привело к снижению обсемененности грибами как полости рта, так и мочи. Установлено снижение количества грибов ниже 200 кол/мл в смыве у 11 больных. В моче снижение до 200 кол/мл установлено у 9 больных. В то же время у 3 из них, несмотря на проводимую специфическую терапию, количество грибов

в ротовой полости оставалось высоким (10^3 — 10^4 кл/мл в смыве) и сочеталось с различной бактериальной флорой. Двое из них скончались. Содержание грибов в моче этих больных было постоянно высоким (10^4 кл/мл). Необходимо указать, что больные с высокой обсемененностью грибами ротовой полости и не имевшие грибов в моче в конечном результате имели благополучный прогноз и были выписаны из клиники на амбулаторное лечение в удовлетворительном состоянии.

Таким образом, у больных с пересаженной почкой в послеоперационный период наблюдается поражение слизистой оболочки полости рта и зева, сопровождающееся грибковой инфекцией; при этом у значительной части больных отмечается повышенная обсемененность дрожжеподобными грибами. Это осложнение наблюдается как в ранние сроки после операции, до 3 месяцев, так и в отдаленные, более 2 лет.

Наибольшее число больных с высокой обсемененностью дрожжеподобными грибами отмечается в период от 3 месяцев до 2 лет после операции пересадки почки.

Проведение специфической терапии приводит к снижению обсемененности дрожжеподобными грибами и способствует благополучному прогнозу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кудрявская В. М., Тхор В. А. В кн.: Микотическая инфекция и сенсбилизация, 39—41, Л., 1982.
2. Кудрявская В. М. Канд. дисс., Л., 1985.
3. Rifkind D., Marchiaro T., Schneek S., Hill R. Am. J. Med., 43, 28, 1967.
4. Yemehardt H. Derm. Mschr., 162, 2, 148—149, 1976.
5. Ahern M., Comlle H., Audroie V. J. Biol. Med., 51, 5, 513—525, 1978.
6. Dreizen S. The Amer. J. Med., 1984.

Поступило 20.111 1989 г.

Биол. ж. Армения, № 11.(42) 1989

УДК 615.779.9

БАКТЕРИАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВОЗДУХА ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ПОМЕЩЕНИЙ

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

Ереванский зооветеринарный институт

Изучение среды—помещения животноводческие—микрорганизмы—антибиотики.

Изучение бактериальной обсемененности воздуха животноводческих помещений является важнейшим звеном в системе мероприятий, направленных на предотвращение инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных, а следовательно, на повышение естественной резистентности их организма и продуктивности. Целью настоящей работы являлось изучение бактериальной загрязненности воздуха животноводческих помещений и чувствительности выделенных микроорганиз-

мов к антибиотикам в одном из хозяйств горного района Армении—в совхозе Норадуз района им. Камо.

Материал и методика. Изучали общую бактериальную загрязненность воздуха коровника, телятника, где находились 1—20-дневные и 2-месячные животные, птичника, в котором содержались куры-несушки, оварии и наружного воздуха в пределах территории совхоза наличие сальмонелл, кишечных палочек (*E. coli*) и патогенных стафилококков в воздухе указанных помещений и в испражнениях животных, исследовали также морфологические особенности выделенной микрофлоры и чувствительность ее к антибиотикам. Исследования проводили в зимний и летний периоды года.

Общее количество микроорганизмов в воздухе определяли методом Коха на МПА. При подсчете общего количества микробов в 1 м³ воздуха использовали коэффициент Омелянского.

Для выделения кишечной палочки использовали среду Эндо, сальмонелл—специальную среду писмуг—сульфат—агар, патогенных стафилококков—жидкую среду с манитом и индикатором Андрэде.

Чувствительность микроорганизмов, выделенных из воздуха помещений, а также из испражнений животных и других объектов, в отношении бициалина-3, тетрациклида, мономицина и левомицетина определяли методом последовательных разведений в МПБ.

Результаты и обсуждение. Установлено, что в наибольшей степени как в зимний, так и в летний периоды года загрязнен воздух помещения для кур-несушек; зимой 930 тыс., летом 947,7 тыс. микробных тел в 1 м³, что значительно выше рекомендуемых норм. Аналогичные данные были получены ранее на Джарратекской птицефабрике Эчмиадзинского района Армении.

В помещении телятника, где содержались телята 2-месячного возраста, и в овчарне зимой обсемененность воздуха составляла соответственно 138,000 и 517,962 микробных клеток в 1 м³, а летом—127,388 и 600,5.

В наименьшей степени, в пределах нормы, был загрязнен воздух телятника, где находились телята 1—20-дневного возраста, и коровника, причем зимой загрязненность воздуха была примерно в 2—4 раза выше, чем летом; если зимой она составляла в телятнике 53,248 микр. тел в 1 м³, то летом—24,968, или же в коровнике зимой в 1 м³ воздуха было зарегистрировано 88,000 микр. тел, а летом—20,000, что, очевидно, можно объяснить вентиляцией помещения или же плотностью размещения животных.

Степень обсемененности микроорганизмами воздуха животноводческих помещений во многом зависит от чистоты наружного воздуха. Хотя показатели микробной загрязненности наружной воздушной среды в указанном хозяйстве невысокие, в среднем около 12,2 тыс. микр. клеток в 1 м³, однако озеленением территории, созданием зеленых островов можно значительно снизить общее количество микробов не только в окружающей среде, но и внутри животноводческих помещений.

Одним из показателей чистоты воздуха животноводческих помещений служит степень обсемененности его кишечной палочкой. Как выяснилось, в животноводческих помещениях указанного хозяйства количество *E. coli* в воздухе небольшое; в летний период оно находилось в пределах 637—2548 тел/м³, а в зимний период—127—382 клеток м³.

Морфологические особенности микроорганизмов изучали в мазках, приготовленных из выросших в чашках изолированных колоний, или из выделенных чистых культур.

Выяснилось, что в хозяйстве в изучаемые периоды года преобладают палочковидные микроорганизмы, из них примерно половину составили неспорообразующие бактерии. Среди палочковидных микроорганизмов, выделенных из испражнений кур-несушек, 3 штамма, из испражнений овец—4 штамма оказались сальмонеллами. Сальмонеллы были выявлены и в сене, взятом из помещений, в котором содержались телята 2-месячного возраста.

Из шаровидных микроорганизмов 82,4% были из рода стафилококков, среди которых 29 штаммов оказались патогенными. Как в зимний, так и в летний периоды года стафилококки преобладали в воздухе овчарни, помещения кур-несушек и телятнике, в котором находились 2-месячные телята. Значительное количество стафилококков было выявлено зимой и наружном воздухе хозяйства.

Наличие в данном хозяйстве сальмонелл и патогенных стафилококков указывает на необходимость проведения лечебно-профилактических мероприятий.

В совхозе Порадуз с профилактической и лечебной целью применялись различные антибиотики, в результате чего могли возникнуть устойчивые к тем или иным антибиотикам формы микроорганизмов.

При исследовании чувствительности микроорганизмов, выделенных как из воздуха животноводческих помещений, так и из испражнений животных, сена и комбикорма, к антибиотикам выяснилось, что как в зимний, так и в летний периоды года они особенно чувствительны к мономицину и левомицетину. Чувствительными в той или иной степени оказались также палочковидные микроорганизмы к тетрахлориду. Если основная часть микроорганизмов, выделенных из комбикорма, сена и испражнений 20-дневных телят, оказалась чувствительной к мономицину, левомицетину и тетрахлориду, то культуры, выделенные из птичьего помета, проявили 100%-ную устойчивость к указанным антибиотикам. Высокую устойчивость проявили эти культуры и к бициллину-3, причем в среднем 40% выделенных из воздуха животноводческих помещений как шаровидных, так и палочковидных микроорганизмов были устойчивы к нему, то бактерии, выделенные из испражнений телят, помета кур-несушек, а также из комбикорма и сена, оказались абсолютно устойчивыми к этому антибиотику.

Высокая устойчивость культур, выделенных в данном хозяйстве к бициллину-3, указывает на широкое и бесконтрольное применение антибиотиков пенициллиновой группы. Аналогичные данные нами были получены ранее в других хозяйствах республики.

Таким образом, для повышения лечебной эффективности применяемых антибиотиков рекомендуется до использования их в обязательном порядке выяснить чувствительность к ним выделенных от пашних животных культур патогенных микробов. Кроме того, с целью профилактики или лечения заболеваний с/х животных в данном хозяйстве вре-

менно нужно прекратить использование бициллина-З, а при необходимости применять мономицины и левомицетин, к которым микроорганизмы проявили высокую или умеренную чувствительность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шакарян Г. А., З. М. Акопян, Севян Т. К. Ветеринария, 5, 30—31, 1980.
2. Шакарян Г. А., Акопян З. М., Севян Т. К. Изв. с/х наук АрмССР, 10, 48—54, 1982.
3. Шакарян Г. А., Акопян З. М., Севян Т. К. Биолог. ж. Армении, 35, 10, 437—45, 1982.
4. Севян Т. К., Акопян З. М., Шакарян Г. А. ЕрЗНИ, 58, 106—110, 1985.
5. Шакарян Г. А., Акопян З. М., Севян Т. К. Тр. ЕрЗНИ, 60, 103—107, 1987.
6. Шакарян Г. А., Севян Т. К., Акопян З. М. Биолог. ж. Армении, 40, 4, 336—II, 1987.

Поступило 18.X.1988

Биолог. ж. Армении, № 11 (42) 1989

УДК 582.81

НОВЫЕ ДЛЯ АРМЯНСКОЙ ССР ВИДЫ МИКРОМИЦЕТОВ

А. Х. БАРСЕГЯН

Институт ботаники АН АрмССР, Ереван

Микромицеты — филлоплана платана и можжевельника.

Изучение филлопланы (впервые термин «филлоплана» предложен в 1961 г. [1]), начато сравнительно недавно, но накопленные данные показывают практическое значение этого направления, в частности, для разработки биологического метода борьбы с возбудителями болезней. Кроме того, благодаря специальным механизмам, обеспечивающим высвобождение спор грибов в атмосферу, они попадают на поверхность листьев, главным образом из воздуха [4], т. е. населяющие филлоплану микроорганизмы находятся в прямом контакте с атмосферой и могут быть индикаторами ее загрязнения.

Количество попадающих на лист спор может достигнуть большой величины, в зависимости от времени года, дня, условий погоды и т. д. Иногда прилипание спор обусловлено слизистым веществом, выделяемым ими. Эти споры могут быть источником заражения растений, лишь в случае сохранения их на листе [9]. Споры грибов, попадая на поверхность листьев, могут прорасти и продолжать свое онтогенетическое развитие, но могут быть только «поселенцами». Большая часть спор относится ко второй группе, некоторые прорастают, но не способны проникать в лист и вызывать заболевание. На ранних стадиях жизни растения число грибов филлопланы сравнительно низко, но с возрастом оно возрастает и достигает максимума при отмирании органа [8]. Таким образом, на развитие эпифитной микрофлоры оказывает влияние возраст, состояние растений, макро- и микроклимат и множество других факторов, так как, находясь на незащищенной поверхности — листе, они подвергаются прямому воздействию различных факторов внешней

среды [2]. На популяцию эпифитных микроорганизмов значительно влияют также физиологические особенности листьев. Различные метаболиты могут оказывать стимулирующее действие, или, наоборот, ингибировать прорастание спор. Характерные особенности метаболизма различных по систематическому положению растений могут сказываться и на составе микроорганизмов филлопланы. По мере старения листьев изменяются конкурентные и синэнергетические взаимодействия микроорганизмов. Патогены, ранее не имевшие возможности развиваться на листьях, в этих условиях могут проникать в их ткани, вызывая заражение. Важное значение имеет осаждающаяся на поверхности листьев пыльца. На состав филлопланы влияют также повышенная концентрация сернистого и углекислого газа в воздухе, загрязненность его частицами Al, Mn, Fe, Ni, Pb, Zn и других металлов [10].

В связи с практической перспективностью излагаемого вопроса в Институте ботаники АН АрмССР проводится исследование микромицетов филлопланы некоторых декоративных растений [3] (в частности платана и можжевельника) в насаждениях г. Еревана, а также в Ереванском ботаническом саду. Одновременно проводится анализ воздуха на наличие грибов в непосредственной близости от исследуемого растения.

Видовой состав грибов филлопланы определяли общепринятыми методиками с учетом микроэкологических условий, возраста листьев, общего состояния растений, местопроизрастания.

Выявленная микобюта листьев разнообразна по составу, сюда входят представители различных систематических групп бактерий, дрожжей, гифальных грибов. Из гифальных грибов наиболее часто встречаются представители родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Botrytis*, *Ulocladium* и др.

В результате изучения филлопланы платана и можжевельника было выявлено 78 видов грибов, в том числе 6 видов новых для микофлоры Армении. Новые виды, включенные в приводимый ниже список относятся к двум семействам класса *Hyphomycetes* (*Deuteromycotina*).

Семейство *Moniliaceae*

Acremonium butyri (var. *Beuma*) W. Gams. [1]: 94 — выделен с нижней стороны листьев платана, г. Ереван, 10.V.1988 г.

Penicillium lignorum Stolk. [7]: 426. — выделен с однолетней хвои можжевельника, ЕБС, 28.II.1985 г.

Семейство *Dematiaceae*

Conoplea juniperi Huges var. *juniperi* Ellis. [5]: 237. — выделен с двухлетней хвои можжевельника, ЕБС, 27.III. 1985 г.

Curvularia pallescens Boedijii [5]: 455. — выделен с двухлетней хвои можжевельника, ЕБС, 8.V.1985 г.

Scytalidium lignicola Pesante [6]: 28. — выделен с пятилетней хвои можжевельника, ЕБС, 28.II.1985 г.

Xylohypha nigrescens (Pers. ex Fr.) Mason. [5]: 95. — выделен с нижней стороны листьев платана, г. Ереван, 10.V.1988 г.

1. Егорова Л. П. Почвенные грибы Дальнего Востока. Гифомицеты, Л., 1966.
2. Кузнецова Т. Т. В сб. Микофлора растений и почва. 66—81. Новосибирск, 1973.
3. Симонян С. А., Барсесян А. А. Тез. докл. X научн. симп. микол. и лихенол. Прибалт. республ. и Белоруссии. 10—11. Рига, 1985.
4. Dickinson C. H. In: Microbiol. aerial Plant Surfaces, 293—324. London, e. a., 1976.
5. Ellis M. B. Dematiaceous Hyphomycetes. Kew, Surrey, England, 1971.
6. Ellis M. B. More Dematiaceous Hyphomycetes. Kew, Surrey, England, 1975.
7. John L. Pitt. The Genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. London. New York. Toronto. Sydney. San Francisco, 1979.
8. Para D. The Fungi, 3, Fungal Population, 27, 1964.
9. Preece T. F. In: Biochem. Aspects Plant. Parasite Relationships Proc. Phytochem. Soc. Symp. Hull, Apr., 1—10. London e. a., 1975.
10. Purkayastha R. P., Bhattacharyya B. Sci and Cult., 48, 6, 193—199, 1982.
11. Ruinen J. Plant and Soil, 15, 1961.

Поступило 14.IV 1989 г.

Биолог. ж. Армении, № 11 (42), 1989

УДК 579.63:615.23

К МИКОФЛОРЕ НЕСТЕРИЛЬНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Л. Л. ОСИПЯН, А. А. ЗАКАРЯН

Ереванский государственный университет, кафедра ботаники
Лекарственные растительные средства—контаминация—микромикоты.

Одним из факторов, определяющих микробиологическую доброкачественность нестерильных лекарственных растительных средств, является степень их контаминации микроскопическими грибами-сапротрофами. Последние в основном представлены диапорами и потому довольно устойчивы и способны противостоять процессу консервации [2].

Присутствие грибов-контаминаторов в растительных лекарственных средствах может не только изменить их органолептические свойства, но и понизить терапевтический эффект приготовленной из них лекарственной формы (настоек, декоктов, тинктур), так как некоторые грибы провоцируют разложение таких биологически активных веществ, как алкалоиды, гликозиды и др. [5]. Показано также, что присутствие диапор *Aspergillus* и *Penicillium* может способствовать образованию токсичных метаболитов—микотоксинов и быть причиной серьезных заболеваний [3, 11].

В связи со сказанным возникает необходимость унификации микробиологического контроля и микробиологических стандартов, ограничивающих присутствие микроорганизмов в растительных лекарственных средствах [4, 6].

FIP*—Federation Internationale Pharmaceutique.

Микологическая экспертиза растительных лекарственных средств

№	Лекарственные растительные средства	Количество исследованных серий	Число исследованных единиц	Заспoreнность	Суммарный видовой состав грибов-контаминаторов
1	<i>Flores chamomillae</i>	5	16	$7 \times 10^2 - 1.2 \times 10^3$	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. glaucus</i> , <i>A. sydowii</i> , <i>Penicillium chrisogenum</i> , <i>P. notatum</i> , <i>P. griseoroseum</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>Cladosporium brevicompatum</i> , <i>Rhizopus nigricans</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Scopulariopsis brevicollis</i>
2	<i>Flores calendulae</i>	3	9	$2 \times 10^2 - 1.0 \times 10^3$	<i>P. cycloptum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>P. griseoroseum</i> , <i>Scopulariopsis sp.</i> , <i>Mucor hiemalis</i>
3	<i>Folium salviae</i>	4	12	$2 \times 10^3 - 6.5 \times 10^3$	<i>A. niger</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. glaucus</i> , <i>P. purpurogenum</i> , <i>P. cycloptum</i> , <i>P. puberulum</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Mucor mucedo</i> , <i>Rhizopus nigricans</i>
4	<i>Folium menthae piperitae</i>	5	15	$5 \times 10^2 - 1.5 \times 10^4$	<i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. candidus</i> , <i>P. chrisogenum</i> , <i>Alternaria sp.</i> , <i>Scopulariopsis brevicollis</i> , <i>Mucor erectus</i> , <i>Rhizopus nigricans</i> , <i>Cladosporium herbarum</i>
5	<i>Herba millefolii</i>	4	13	$4 \times 10^2 - 1.2 \times 10^3$	<i>A. niger</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. ustus</i> , <i>P. sp.</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Mucor ramosissimus</i> , <i>M. corticola</i> , <i>Rhizopus nigricans</i> , <i>Cladosporium brevicompatum</i>
6	<i>Herba hyperici</i>	4	12	$1.2 \times 10^2 - 3 \times 10^3$	<i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>P. patulum</i> , <i>P. griseopurpureum</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>P. griseoroseum</i> , <i>P. granulatum</i> , <i>P. cycloptum</i> , <i>P. corylophilum</i> , <i>Cladosporium brevicompatum</i>

В настоящее время наиболее принятыми являются рекомендации, разработанные FIP*, согласно которым нестерильные растительные лекарственные средства зачислены в третью группу микробиологической чистоты, в которую включены также нестерильные лекарственные препараты. Эти требования ограничивают уровень бактерий до 10^4 , а дрожжевых и плесневых грибов до 10^2 и 1 г [8].

Проведенные нами исследования являются первой попыткой микологической экспертизы растительных лекарственных средств у нас в стране.

Целью настоящей работы явились оценка контаминации микромицетами нестерильных растительных лекарственных средств и установление полного таксономического состава грибов-контаминаторов.

Материал и методика. Объектом исследования служили 77 единиц растительных лекарственных средств: *Herba hyperici*, *H. millefolii*, *Folium menthae piperitae*, *F. salviae*, *Flores chamomillae*, *F. calendulae*, поступающих в аптечную сеть республики. Образцы для экспертизы отбирали в асептических условиях из трех единиц каждой серии растительных средств. Микологический анализ проводили по описанной методике и рекомендациям FIP [7, 8]. Идентификацию штаммов производили по определителям [1, 9, 10].

Результаты и обсуждение. Данные микологической экспертизы показывают, что степень контаминации диаспорами микромицетов растительных средств достаточно высокая—от 10^2 до 10^4 и не соответствует микробиологическим стандартам FIP. Наблюдается большая вариабельность засоренности у всех исследованных образцов. Наибольшая—у *F. menthae piperitae*, где число диаспор колеблется в пределах 5×10^2 — $1,5 \times 10^4$ в образцах различных серий (табл.).

Микофлора исследованных образцов довольно разнообразна и представлена различными комбинациями видов грибов в основном из порядка *Hyphales*. Выделено в асептические культуры и идентифицировано 156 штаммов микромицетов, относящихся к 34 видам из 9 родов и 2 классов (*Zygomycetes*, *Deuteromycetes*). Специфическими и монополярными контаминаторами являются роды *Aspergillus* и *Penicillium*, несколько меньше встречающимися—*Cladosporium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Scopulariopsis*, изредка—*Fusarium* и *Trichoderma*, доминируют виды *Aspergillus niger* v. Tiegh., *A. flavus* L. K., *A. nidulans* (Eidam) Wint., *Penicillium griseoroseum* Dierckx., *P. cyclospium* Westling, sp. cit., *P. chrisogenum* Thom., *Cladosporium brevcompactum* Pidopl. et Deniak, *Rhizopus nigricans* Ehrenb., многие из них известны как потенциальные продуценты микотоксинов.

Приведенные данные свидетельствуют о возможности побочного действия на организм человека контаминированных микромицетами лекарственных растительных средств, что предполагает необходимость установления предельно-допустимых норм засоренности токсигенных грибов и строгого контроля за ними.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антипов М. А. Определитель микроскопических почвенных грибов 303. JL, 1967.
2. DeBleeschouwer M. S., Dony S. J. Pharm. Belg., 34, 5, 261—265, 1979.
3. Harazumi H., Washio T., Sakai S., Kurata H. Appl. and Environ. Microbiol., 36, 2, 252—256, 1978.

4. Kedzia B. *Herba Pol.*, 31, 1—2, 83—88, 1955.
5. Kedzia B., Holderna E. *Herba Pol.*, 30, 1, 59—70, 1981.
6. Lanoble M., Fourntat J., Hourlloux P., Paris M., Maghami P., Cerman A. *Pharm. Ind.*, 32, 240, 1970.
7. Lutomski J., Kedzia B. *Planta med.*, 40, 2, 212—217, 1980.
8. FIP. July 1975, *Pharm. Acta Helv.*, 51, 33—40, 1976.
9. Raper K., Fennell D. *The genus Aspergillus*, Baltimore, 686, 1973.
10. Raper K., Thom C. *A manual of the Penicillia*, Baltimore, 817, 1949.
11. Mikio Y., Yoshikazu H., Hideoji I. *J. Pharm. Soc.*, 100, 1, 61—68, 1980.

Поступило 14.III 1989 г.

Биол. ж. Армении, № 7.(42).1989

УДК 632.782:634.1(479.25)

ЛИСТОВЕРТКИ (*LEPIDOPTERA, TORTRICIDAE*)— ВРЕДИТЕЛИ СЕМЕЧКОВЫХ КУЛЬТУР

А. Дж. ГРИГОРЯН

Институт защиты растений Госагропрома АрмССР, пос. Мерцаван

Листовертки — яблоня — груша.

Сведения о листовертках, повреждающих яблоню и грушу в Лори-Памбакской зоне, очень скудны, хотя некоторые из них являются серьезными вредителями. Исходя из этого, мы изучали видовой состав этих листоверток, распространенность, вредоносность, а также биологические особенности развития и фенологию.

Материал и методика. Исследования проводили в Гугарском, Степанаванском, Калининском районах. Гусениц собирали с поврежденных частей яблонь и груш в различные сроки, содержали в лаборатории индивидуально, докармливали на растениях, с которых были собраны, до получения имаго. Систематически вели наблюдения за фенологией и биологией вредителей в лабораторных и лабораторно-полевых условиях. В полевых условиях проводили учет численности листовертки.

Результаты и обсуждение. На яблоне и груше обнаружены 16 видов листоверток, последовательность которых приводятся по Ганноману [17].

Pandemis heparana Den. et Schiff. — Листовертка ивовая кривоусая. Гусеницы повреждают листья яблонь. Обнаружены в незначительном количестве в некоторых совхозах Гугарского, Степанаванского и Калининского районов, а также в г. Кировакане с 17.V по 3.VII. Окукление наблюдалось с 30.V по 12.VII, вылет бабочек — с 14.VI по 20.VII. Вид приводится для Сев. Армении, Севанского бассейна и Зангезурской зоны [3, 6, 7, 12, 15, 16].

Pandemis cerasana (= *tibetana*) Hbn. — Листовертка смородиновая кривоусая. Гусеницы повреждают листья яблонь. Обнаружены в единичных экземплярах в совхозе с. Базум Гугарского района и в г. Кировакане с 1.VI по 20.VI. Окукление наблюдалось с 17.VI по 24.VI, вылет бабочек — с 25.VI по 3.VII. Вид отмечен для Еревана, Зангезурской зоны, Гугарского и Азизбековского районов [2, 6, 12, 15, 16].

Argyrotaenia pulchellana (= *politana*) Hw.— Листовертка многозная, или гребневая. Встречается редко. Куколки найдены на яблоне в совхозе с. Бааум Гугарского района 11. IX. 1979 г. Вылет бабочек наблюдался 16—18.VI. 1980 г. По литературным данным [4] эта листовертка повреждает распускающиеся листья в Дебелашенском массиве. Для юны обследования отмечается впервые.

Archips podana Sc.— Листовертка всеядная. Гусеницы повреждают листья, почки, цветы яблонь. Встречалась в значительном количестве в ряде совхозов Гугарского и Степанаванского районов с 1.VI по 19.VI. Окукление наблюдалось с 13.VI по 20.VI, а вылет бабочек—с 20.VI по VII. Вид приводится для Северной Армении, в том числе и Кировакана, и Зангезурской зоны [4,6,7,12,15].

Archips rosana L.— Листовертка розанная. Гусеницы повреждают листья, бутоны, цветы яблонь. Встречались в значительном количестве в совхозах Гугарского, Степанаванского и Калининского районов с 17.V по 1.VII. Окукление наблюдалось с 24.V по 2.VII, вылет бабочек—с 2.VI по 12.VII. В зоне обследования отмечены на дубе [10]. В Армении встречается повсеместно [6, 7, 12, 15, 16].

Archips xylosteana L.— Листовертка нестрозолотистая. Гусеницы встречались в небольшом количестве на яблоне и груше в некоторых совхозах Гугарского района и в г. Кировакане с 12.V по 9.VI. Окукление отмечалось с 20.V по 10.VI, вылет бабочек—с 1.VI по 23.VI. Для зоны обследования приводится впервые. Вид отмечен для Еревана, Арагатской равнины, Зангезурской зоны [1, 6, 12, 16].

Ptycholoma lecheana L.— Листовертка свинцово-полосная. Гусеницы выявлялись в небольшом количестве на яблоне в Гугарском районе с 31.V по 15.VI. Окукление наблюдалось со 2.VI по 16.VI, вылет бабочек—с 20.VI по 2.VII. Вид отмечен для Зангезурской зоны и Гугарского районов [6, 15].

Croesia bergmanniana L.— Листовертка розанная плоская. Гусеницы встречались в единичных экземплярах на яблоне в совхозе с. Ваагни Гугарского района и в г. Кировакане с 22.V по 13.VI. Окукление наблюдалось с 13.VI по 21.VII, вылет бабочек—с 22.VI по 3.VII. Вид отмечен на розе и шиповнике в насаждениях Еревана, Сенана, Дилижана и Кировакана [5, 6].

Croesia holmiana L.— Листовертка белопятнистая плоская. Гусеницы встречались в единичных экземплярах на яблоне в совхозах им. Шаумяна, с.Ваагни Гугарского района и в г. Кировакане на яблоне с 28.VI по 17.VII. Окукление наблюдалось с 10.VII по 17.VII, вылет бабочек—с 27.VII по 30.VII. Вид отмечен в Кировакане и Дилижане на груше [5, 6].

Sparganothis pilleriana Den. et Schiff.—L.— Листовертка виноградная. Гусеницы в большом количестве встречались в сухих листьях на яблоне в совхозе с. Баум Гугарского района с 16.IV по 15.V. Окукление наблюдалось с 5.VI по 16.VI, вылет бабочек—с 30.VI по 8.VII. Для Арменин отмечается впервые.

Laspeyresia pomonella L.— Яблонная плодожорка. В Лори-Памбакской зоне распространена повсеместно. Повреждает плоды яблони и

груши. Вред значительный в низменной и средней зонах районов. Развивается в одном поколении лишь в низменной зоне Гугаркского района, дает частично второе поколение. В Армении распространена повсеместно [2, 3, 6, 11, 13—15].

Enarmonia formosana Sc. — Листовертка подкорковая. Кукулки в единичном количестве найдены на яблоне в совхозе с. Лернапат Гугаркского района 20.VI.1979 г. Вылет бабочек отмечался с 27.VI по 30.VI 1979 г. В Армении вид отмечен для Ноемберянского района [6].

Spilonota cellana F. — Вертунья почковая. Гусеницы повреждают почки яблони, а затем цветочные бутоны и листья, стягивая их паутиной в плотный комок. Встречались в значительном количестве в совхозах Гугаркского, Степанаванского и Калининского районов с 10.V по 17.VI. Окукление наблюдалось с 19.V по 18.VI, вылет бабочек — с 2.VI по 8 июля. В Армении встречается повсеместно [2, 6, 7, 12, 15].

Eudemis porphyra Hbn. — Гусеницы встречались в большом количестве в свернутых листьях яблони (где они питаются) в совхозе с. Егегнут Гугаркского района с 17.V по 19.VI. Окукление наблюдалось с 1.VI по 20.VI, вылет бабочек — с 13.VI по 15.VII. Для Армении отмечен впервые.

Hedya nubiferana (= *variegata*) Hw. — Листовертка плодовая. Гусеницы повреждают почки, бутоны и листья яблони. Встречались в значительном количестве во многих хозяйствах Гугаркского, Степанаванского и Калининского районов с 10.V по 14.VI. Окукление наблюдалось с 19.V по 15.VI, вылет бабочек — с 7.VI по 25.VI. В Армении встречается повсеместно [2, 3, 6, 7, 12].

Olethreutes arcuella Cl. — Листовертка полусая разноразноцветная. Гусеницы повреждают листья яблони. Обнаруживались в единичных экземплярах в совхозе с. Егегнут Гугаркского района с 19.V по 16.VI. Окукление наблюдалось с 25.V по 17.VI, вылет бабочек — с 28.VI по 12.VII. В Армении отмечается впервые.

Таким образом, из обнаруженных 16 видов листоверток на семечковых культурах в Лори-Памбакской зоне 3 вида (*Sparganothis pilleriana* Den. et Schiff., *Eudemis porphyra* Hbn., *Olethreutes arcuella* Cl.) впервые указываются для фауны Армении и 3 вида (*Argyrotaenia pulchellana* Hw., *Archips xylosteana* L., *Enarmonia formosana* Sc.) — для обследуемой зоны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян Г. Д. Зоология об. АН Арм ССР, 9, 59—123, 1956.
2. Аветян А. С. Вредители плодовых культур в Армянской ССР. ИИ. Ереван, 1952.
3. Дашкелян А. О. Автореф. докт. дисс., 69, Ереван, 1970.
4. Аракелян А. О., Казинян В. С. Из сессии Зап. сов. по коорд. ил. работ по защите растений, 373—375, Ереван, 1971.
5. Арутюнян Г. А. Автореф. канд. дисс., 17, Ереван, 1968.
6. Вредители сельскохозяйственных культур, леса и складов Армении. Под ред. Аветян А. С., Марджаняна Г. М., 832, Ереван, 1976.
7. Казинян В. С. Автореф. канд. дисс., 33, Ереван, 1974.

8. *Қасимян С. А.* Автореф. канд. дисс., 19. Ереван, 1969.
9. *Қасимян С. А., Бабяян А. С.* Мат.-лы сессии Зак. совета по коорд. и.и. работ по защите раст., 286—287, Баку, 1966.
10. *Лозовой Д. И.* Тр. Кироваканской лесопытной станции. 1. 27—77, Тбилиси, 1941.
11. *Марджанян Г. М., Парсаданян В. Г.* Биолог. ж. Армении, 25,2, 10—15, 1972.
12. *Мирзоян С. А.* Дендрофильные насекомые лесов и парков Армении, 453, Ереван 1977.
13. *Ахитарян В. Р.* Изв. МСХ АрмССР, 5—6, 99—102, 1967.
14. *Парсаданян В. Д.* Мат.-лы сессии Зак. совета по коорд. и.и. работ по защите раст., 340—343, Тбилиси, 1968.
15. *Парсаданян Р. Д.* Тр. Ин-та защиты растений, 143—150, Ереван, 1976.
16. *Пуставаров В. В.* Енолог.ж. Армении, 27, 1, 82—88, 1974.
17. *Нанпетян Н. А.* Die Tierwelt Deutschlands., 48, 1. Jena, 1961.

Поступило 7.IV 1989 г.

ГАГИК СТЕПАНОВИЧ ДАВТЯН

(к 80-летию со дня рождения)



Г. С. Давтян—выдающийся агрохимик, инициатор и организатор исследований в области промышленной гидрохимии, академик АН АрмССР, доктор сельскохозяйственных наук, профессор—родился 20 ноября 1909 года в г. Дилижане в семье сельского учителя.

По пути в уездный комитет комсомола Г. С. Давтян был направлен на учебу в Ереванский государственный университет, где еще будучи студентом второго курса сельскохозяйственного факультета участвовал в работах по агрохимии, в коллективных опытах по удобрению, а через год был принят на работу лаборантом кафедры агрохимии, руководимой блестящим ученым П. Б. Калантаряном.

Успешно завершив учебу в университете, Г. С. Давтян поступает в аспирантуру при Ленинградском отделении ВИА, окончив которую в 1933 году возвращается в Армению и принимает участие в организации Армянского филиала ВИА—станции химизации, где работает заместителем директора и впервые в республике развора-

чивает работы по агрохимическому исследованию почвенного покрова.

В 1936 г. Г. С. Давтян—докторант лаборатории агрохимии Почвенного института им. В. В. Докучаева АН СССР, где проводит оригинальные исследования по фосфорному режиму почв Армении, используя разработанные им методы исследования форм фосфорных соединений и их соотношения в различных типах почв.

Общение с такими выдающимися учеными, как К. В. Флеров, А. Т. Кирсанов, Д. Н. Прянишников, Б. Б. Полипов, Н. В. Тюрин, В. А. Ковда и др., оказало влияние на формирование научных интересов Г. С. Давтяна, и идея о круговороте веществ в природе будет положена в основу программы исследований института, которой ему предстояло организовать.

В январе 1941 года Г. С. Давтян вновь в Армению. Здесь он создает лабораторию плодородия почв при Биологическом институте АрмФАН, которая при поддержке Д. Н. Прянишникова в 1947 году переросла в самостоятельную Лабораторию агрохимии. В этом же году Г. С. Давтян избирается членом-корреспондентом, а в 1950 году—академиком АН АрмССР.

1966 году Лаборатория агрохимии, выполнявшая большую работу по химизации земледелия в Армении, была преобразована в Институт агрохимических проблем и гидрохимии, которым Г. С. Давтян руководил до последних дней своей жизни. Научный профиль этого нового и единственного по научным интересам института был определен Г. С. Давтяном. Одна из двух основных проблем—агрохимия биоферы. Многолетние исследования позволили выявить основные закономерности круговорота и баланса питательных веществ и радиоактивных элементов в системе атмосферные осадки—аросительные воды—почвы—растительный покров. Если

и области агрохимии и плодородия почв акад. Г. С. Давтян является одним из самых ярких продолжателей Д. Н. Прянишникова, то в южной области гидропонических растений его можно считать одним из основателей плантации без почвы — таково мнение академика М. Х. Чайлахяна.

Общей и конечной целью разработки обеих проблем являлось повышение первичного биологического накопления как и агропогодных системах, так и в естественных условиях. Полученные существенные результаты свозили институту авторитет как внутри страны так и за ее пределами.

Под руководством Г. С. Давтяна была выполнена большая серия технологических разработок по промышленному производству в гидропонических условиях ряда ценнейших лекарственных, эфиромасличных, декоративных и овощных растений, разработаны теоретические основы многократного повышения продуктивности растений в беспочвенных условиях.

Г. С. Давтян внес также фундаментальный вклад в разработку научных основ химизации сельского хозяйства Армении, в результате которой были предложены практические рекомендации по применению удобрений в республике.

Весьма ценными являются исследования, касающиеся солевого баланса Севанского бассейна и озера Севан.

Признанием заслуг Г. С. Давтяна в области агрохимического изучения почв Армении и применения в республике удобрений, а также создания теории и практики гидропоники явилось присуждение ему в 1977 году золотой медали АН СССР им. Д. Н. Прянишникова.

Кузницей научных кадров стали руководимые Гагиком Степановичем Лаборатория агрохимии и Институт агрохимических

проблем и гидропоники. Ведущие агрохимики Армении, впоследствии руководившие лабораториями или институтами, работали здесь в разное время, это Авакян А. Г., Авакян Н. С., Анапни В. Л., Арутюнян А. С., Аствацатурян Б. Н., Галстян А. Ш. и др.

Под его непосредственным руководством защитили диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук 20 научных сотрудников и аспирантов.

Имя Г. С. Давтяна принадлежит более 200 научным работ, с оригинальными научными докладами Гагик Степанович выступал на международных конгрессах по агрохимии, почвоведению, растениеводству и гидропонике в СССР, США, Италия, Франции, Нидерландах, Австрии и ряде других стран.

Являясь одним из инициаторов создания Международной группы по беспочвенному культивированию растений (ИВОСК), Г. С. Давтян способствовал реорганизации ее в Международное общество (ИСОСК), одним из авторитетных членов которого являлся до последних дней своей жизни.

Научная деятельность Г. С. Давтяна успешно сочеталась с общественной и государственной. В 1950—1955 гг. Г. С. Давтян — зам. академика-секретаря, а затем академик-секретарь отделения с.-х. наук АН АрмССР, в 1955—1957 гг. — заместитель председателя Совета Министров АрмССР, и 1957—1961 гг. — ректор Ереванского государственного университета, в 1967—1971 гг. — академик-секретарь АН АрмССР.

Г. С. Давтян был награжден многочисленными орденами и медалями.

Славный путь прошел сын сельского учителя, и основным его качеством всегда была высокая интеллигентность.

Э. АРУТЮНЯН.