

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
Հ Ա Ն Դ Ե Ս

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
Ж У Р Н А Л
АРМЕНИИ

«Գիտությունների ակադեմիայի Հայաստանի Գիտությունների Գործադիր Կոմիտեի և Հայաստանի ՍՍՀ Գիտությունների ակադեմիայի կողմից և ակադեմիա է իրավունքներ բաժանումը, կենդանաբանության, ֆիզիոլոգիայի, էվոլյուցիոնային ֆիզիոլոգիայի, անաթոմիայի, անաթոմիայի, կենսոնկոլոգիայի և բնական հարմարության կենսաբանության և բնապահպանության վերաբերյալ»

Պատկերասրահներ և ծառ. 40 ր. Կամուրջադրությունները և Ստյուդենտների բնակարանները:

«Биологический журнал Армения» 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 կոլեկտիվ՝ է. Գ. Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Ս. Մ. Ավագյան, Վ. Ն. Ավետիսյան, Յ. Ս. Արթուրյան, Հ. Գ. Բակլաջյան, Ա. Ա. Գալստյան, Ժ. Ի. Հակոբյան, և Ս. Հարությունյան (գլխավոր անդամները, շտաբային), Ս. Մ. Հարությունյան, Վ. Հ. Ղազարյան, Գ. Ա. Կոնստանտինյան, Գ. Գ. Ղազարյան, Ս. Մ. Սահակյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ):

Խմբագրական խմբույթ՝ է. Գ. Աֆրիկյան (խմբագրիչ), Գ. Ն. Արթուրյան, Վ. Ն. Ավարարյան, Հ. Ս. Ավետիսյան, Գ. Ս. Գալստյան, Ա. Ա. Գալստյան, Գ. Ա. Կոնստանտինյան, Ս. Գ. Հակոբյան, Է. Է. Հակոբյան, Է. Ս. Ղազարյան, Ա. Ա. Սահակյան, Ս. Ն. Չարությունյան, Գ. Ա. Չարությունյան:

Редакционная коллегия: Э. К. Африкян (главный редактор), И. М. Авакян, В. Е. Аветисян, Ж. И. Акосян, Ю. Т. Алексанян, Е. С. Арутюнян (ответственный секретарь), Р. М. Арутюнян, О. Г. Багдасарджян, П. А. Гаццлиян, М. А. Давтян, Н. О. Кларян, К. Г. Карагезян, С. О. Мовсисян (заместитель главного редактора).

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

Ответственный за номер Э. К. Африкян Техн. ред. Г. А. Алабян

Տպագրված է 1991 թ. Մարտի 24-ին թիվ 260190-ը ՎՓ 2807
Բույսերի թիվ 2-ը և 6-ը 9-ը պատկեր, ֆորմատ 70x108 մմ ընդհանուր թիվ 2807
Պատկերասրահները և ծառ. 40 ր. Կամուրջադրությունները և Ստյուդենտների բնակարանները:
Թիվ 220-ը և 221-ը ընդհանուր թիվ 2807 Կենդ 20 կ.

Адрес редакции: 375019, Ереван, пр. Маршала Баграмяна, 24 г, комн. 41, 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.

Օսպիյան Լ. Լ., Ռատիկյան Հ. Գ., Տաղասովա Ե. Հ., Պապյան Ս. Ս. <i>Մազրու- և միկրո- կենդանիների կազմի փոփոխությունը բորբոսապատված ստամաքի պտուղներում և ստամաքի մածուկում</i>	169
Քոպիապյան Վ. Ս. <i>Robinia pseudacacia</i> -ի <i>էպիբիոտու</i> ծրուծակոթյունը և փոշիա- զովակի էրիտրոթյունը ձազկաբույսի տարբեր մասերից բաց փեղեկագիսյան փուլերի	170
Տաղասովա Ե. Հ., Նդիգաբադյան Ա. Գ., Ավետիսյան Ս. Վ., Ստեփանյան Տ. Գ., Նդիյան Կ. Ա. <i>Տամաքի սերմերի և ձաղիկների բիոթիական եղանակի դեմոստրիկան</i>	171

СОДЕРЖАНИЕ

Գաբրիելյան Ա. Գ., Գրուսյան Ն. Ա., Զախարյան Ք. Ա. <i>Взаимодействие ДНК-связыва- ющих белков плазматических мембран клеток тимуса крупного рогатого скота с ДНК</i>	93
Տանանկ Գ. Շ., Դանյան Մ. Ա., Դաշնովա Ե. Ք. <i>Протеолитическая активность мезо- фильных и термофильных дрожжей <i>Candida maltosa</i> при температурном и этанольном стрессе</i>	96
Նազարով Դ. Մ., Մուսաբեկյան Զ. Գ., Տարգումյան Ե. Գ., Ազատյան Ա. Մ., Ներսիսյան Վ. Ա., Առաքելյան Ա. Շ. <i>Биологический статус кишечной микрофлоры при опухолевом поражении толстой кишки</i>	100
Բախչադյան Մ. Յ. <i>Внутриорганные различия ультрамикроскопического строения макрофагов</i>	104
Կորյուկով Կ. Ա. <i>Влияние гентамицина на количество иммунных Т- и В-лим- фоцитов в лимфоидных органах кролика</i>	107
Նիկոլսկի Ա. Ա., Կուրյակով Դ. Ք., Կուրյակով Ե. Վ., Կուրյակով Դ. Մ. <i>Очистка и не- которые свойства очищенной поджелудочной железы крысы</i>	111
Առաքելյան Ե. Ս., Կուրյակով Ե. Վ. <i>Специфичность развития клубеньковых бак- терий на поверхности корней бобовых и других растений</i>	116
Մախարով Ե. Ս., Լոբանով Ե. Մ., Բախչադյան Մ. Յ. <i>Биоконверсия в кормовой бе- лках остатков производств гераниевого масла</i>	119
Կրամարյան Ս. Գ. <i>Пролин как показатель фертильности пыльцы кукурузы</i>	123
Կիսրիկով Կ. Օ. <i>Пчела преобладает землятрясение</i>	127
Տախչադյան Մ. Յ. <i>Материалы к микобиоте Ширака (Армянская ССР) I. Муцисто- образные грибы (пор. <i>Erysiphales</i>)</i>	130
Առաքելյան Ա. Ա., Կանայան Ա. Փ., Կուրյակով Կ. Մ., Առաքելյան Ս. Գ. <i>К вопросу о природе патогенности энтеробактерий</i>	139

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Կոստյան Ս. Ա., Տախչադյան Մ. Յ., Կուրյակով Կ. Մ., Կուրյակով Կ. Մ., Կրամարյան Ս. Գ., Կրամարյան Ս. Գ., Տախչադյան Մ. Յ., Կուրյակով Կ. Մ. <i>Зависимость выжи- ваемости клеток бактерий <i>E. coli</i> K 12 в электрическом поле от амплитуды колебания</i>	143
Առաքելյան Ա. Շ., Դաշնովա Ե. Ք., Առաքելյան Ս. Շ., Առաքելյան Կ. Փ., Զախարյան Ք. Ա. <i>Влияние низкомолекулярных форм РНК на размножение микроорганизмов</i>	145
Կանայան Ա. Վ., Կրամարյան Ս. Գ., Կանայան Ջ. Ք., Կանայան Կ. Շ. <i>Изучение бак- терицидных свойств хлористых солей эритрокетиларболизметил-диметил-(5- метил-2,4-гексадиенил) аммония</i>	148
Կանայան Ա. Վ., Կանայան Ջ. Ք., Կանայան Կ. Շ. <i>Изучение бактерицидных свойств N,N'-[2-бутилен-бис-[N-(алкилоксикарбонил)метил]-диметиламмоний] хлор- идов</i>	150
Մախարով Ե. Ս. <i>Исследование биологического действия бобовых трав люковыми компонентами</i>	152
Կանայան Ս. Գ. <i>Синтез нового вида шпеленцы с генетической формулой A⁺A⁺AA⁺BB</i>	154
Նիկոլսկի Վ. Գ. <i>Agosipillium</i> в почвах Армении	155
Կանայան Ա. Վ., Կանայան Ս. Մ. <i>Микробиологическое исследование мелиорированных почв содового засоления</i>	158

<i>Боласаян Р. Г., Варагян К. А., Галстян Я. И.</i> Использование биомассы метанобактерий в птицеводстве	161
<i>Абрамян Э. Г., Абовян Ю. Г.</i> Биохимические показатели крови телят в зависимости от породы и возраста	165
<i>Ладаян А. А.</i> Морфофункциональные показатели балантидий	167

РЕФЕРАТЫ

<i>Огоян Л. Л., Батикян А. Г., Таросова Е. О., Папян С. С.</i> Изменение содержания макро- и микроэлементов в плодах томатов и томатной пасте, подвергшихся плесневению	169
<i>Тадмасян В. С.</i> Прорастаемость пыльцы и длина пыльцевой трубки у <i>Robinia pseudacacia</i> L. из разных частей соцветия по фазам вегетации	170
<i>Таросова Е. О., Егиазарян А. Г., Аветисян С. В., Степанян Т. Г., Есаян К. А.</i> Динамика химического состава цветков и семян томатов	171

CONTENTS

<i>Gabrielyan A. G., Ghukasyan N. A., Zakarian R. A.</i> Interaction of DNA-Binding Proteins of Bovine Thymus Cells Plasmatic Membranes with DNA	93
<i>Sinanian E. S., Davtian M. A., Davidov E. H.</i> Proteolytic Activity of Thermosensitive and Thermotolerant Yeasts <i>Candida maltosa</i> under Thermal and Ethanol Shock Conditions	96
<i>Nazarov L. U., Mugnetyan E. G., Sarkisian B. G., Aghaveltan A. M., Nersisyan A. A., Aghababian A. S.</i> Biological Status of Intestinal Microflora in Case of Colon Cancer	100 ¹
<i>Bakhshinian M. Z.</i> Interorganic Differences of Ultramicroscopic Structure of Macrophages	104
<i>Ter-Avetisians I. A.</i> Influence of Gentamycin on the Quantity of Immune T- and B-Lymphocytes in Lymphoid Organs of Rabbit	107
<i>Nikoyan A. A., Tumanyan L. R., Chubarian S. V., Harutunyan L. M.</i> Purification and Some Properties of Rat Pancreas Arginase	111
<i>Avakumova E. N., Harutunyan S. H.</i> Specificity of Growth of Nodule Bacteria on the Root Surface of Legume and Other Plants	116
<i>Makarova Ye. N., Dobina Ye. M., Balayan A. M.</i> Bioconversion of Geranium Oil Industry Wastes into Fodder Protein	119
<i>Yeroundian S. G.</i> Proline as an Index of Maize Pollen Fertility	123
<i>Gasparian A. O.</i> The Bee Feels the Earthquake	127
<i>Simonian S. A.</i> Data on the Mycobiota of Shirak (Armenia, SSR). I. Powdery Mildews (order <i>Erysiphales</i>)	130
<i>Lulayn A. A., Kazanchian A. P., Harutunian N. M., Mnatsakanov S. T.</i> The Problem on the Pathogenicity of Enterobacteria	139

SHORT COMMUNICATIONS

<i>Tenoyan S. A., Saghatelian R. A., Ataklian G. M., Avakian Ts. M., Avakian V. I., Janpoladian N. L., Simonian N. V., Stepanian L. G.</i> Dependence of <i>E. coli</i> K-12 Bacteria Cells Viability in Electric Field on the Impulse Amplitude	143
<i>Aghabalian A. S., Davtian O. Ya., Aghamalian S. S., Humbardtsmian K. P., Zakarian R. A.</i> Influence of Low Molecular Forms of RNA on the Microbial Multiplication	145
<i>Babakhanian A. V., Grigorian L. G., Balayan Zh. R., Hakobian G. S.</i> Study of Bactericidal Properties of Chlorine Salts of Alkylloxycarbonylmethyl-Dimethyl-(5-Methyl-2,4-Hexadienyl) Ammonium	148
<i>Babakhanian A. V., Babayan Zh. R., Hakobian G. S.</i> Study of Bactericidal Properties of N,N'-(2-Butylen) Bis [N-(Alkylloxycarbonylmethyl) Dimethylammonium of Chlorides]	150

<i>Shatvorian P. V.</i> , Use of Biological Nitrogen of Legume Grasses by Cereal Components	152
<i>Ghandilian P. A.</i> , Synthesis of a New Species of Wheat with Genome Formula A ⁵ AbAABB	154
<i>Nikoghosian V. G.</i> , <i>Azospirillum</i> in the Soils of Armenia	155
<i>Khachikian L. A.</i> , <i>Arazian S. M.</i> , Microbiological Activity of Meliorated Soils of Soda Salting	158
<i>Balasanian R. G.</i> , <i>Varagian K. A.</i> , <i>Galslan Ya. I.</i> , Use of Methanobacteria Biomass in Poultry Farming	161
<i>Abrahamian E. G.</i> , <i>Abovian Yu. G.</i> , Biochemical Indices of Calf Blood in Dependence on the Species and Age	165
<i>Lalayan A. A.</i> , Morphofunctional Indices of Halantidia	167

ABSTRACTS

<i>Osipian L. L.</i> , <i>Batikian A. G.</i> , <i>Tarosova E. H.</i> , <i>Papian S. S.</i> , Change of Macro- and Microelements Content in Tomatoes Fruits and Tomato Paste, Grown in Mould	169
<i>Tchumasian V. S.</i> , Germination of the Pollen and the Length of Pollen Tube of <i>Robinia pseudoacacia</i> L. from Different Parts of Floscule according to Vegetation Phases	170
<i>Tarosova E. H.</i> , <i>Yeghiazarian A. G.</i> , <i>Avetisyan S. V.</i> , <i>Stepanian T. G.</i> , <i>Yeghiyan K. A.</i> , Dynamics of Tomatoes Flowers and Seeds Chemical Composition	171

ВЗАМОДЕЙСТВИЕ ДНК-СВЯЗЫВАЮЩИХСЯ БЕЛКОВ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН КЛЕТОК ТИМУСА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ДНК

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

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван

Исследование методом дифференциальных кривых плавления структурные изменения ДНК в комплексе с 4 различными белками выявили неодинаковый эффект белков на параметры плавления ДНК. Наблюдалась корреляция между содержанием ароматических аминокислот в белке и стабилизирующим действием белка на ДНК. Предполагается, что взаимодействие происходит по интеркаляционному механизму.

Կիրառված դիֆերենցիալ լուծման կորերի մեթոդը թույլ է տվել եզրակացնել ԳնՔ-ի կառուցվածքի փոփոխությունների մասին՝ առաջված չորս ստորեր սպիտակուցների հետ կոմպլեքսավորման ընթացքում: Սպիտակուցներից յուրաքանչյուրը յուրովի է ներգործում ԳնՔ-ի լուծման պարամետրերի վրա: Ի նախ է դասակարգվում կառուցվածքի արամատիկ ամինաթթուների քաղաքական և ԳնՔ-ի պարույրը կառուցվածքը նրա ազդեցության միջև: ենթադրվում է սպիտակուց—ԳնՔ փոխազդեցության ինտերկալացիոն մեխանիզմի գոյությունը:

The structural alterations of DNA in the complexes with four different proteins were studied using the differential melting curves. The effect of these four proteins on the DNA melting parameters was different. A correlation was observed between the aromatic amino acids contents in the protein and the protein stabilizing action on DNA. It was suggested that the interaction took place using the intercalating mechanism.

Белки плазматической мембраны — ДНК — комплекс — дифференциальные кривые плавления.

Механизм транслокации полвизелектролитной молекулы ДНК через гидрофобный липидно-белковый бислой клеточной мембраны изучен недостаточно. В основном исследованы движущие силы процесса переноса ДНК через поверхностную мембрану прокариотических клеток [6], взаимодействие ДНК с искусственным липидным бислоем [1]. Проникновение молекул ДНК в клетку и последующая экспрессия наиболее эффективны при предварительном заключении ДНК в липосомы, внутри которых она защищена от нуклеаз и сохраняет свою биологическую активность [1]. Возможен и прямой путь проникновения ДНК через мембрану цитоплазмы клетки. Участки связывания ДНК находятся на плазматической мембране клеток [11]. Имеются данные, свидетельствующие о важной роли ДНК-связывающихся белков плазматических мембран [5, 8, 13] в процессах трансмембранного перехода ДНК. Од-

нако почти ничего не известно об особенностях комплексообразования ДНК-связывающихся мембранных белков с ДНК, о структурных изменениях последней в комплексе с этими белками [2, 8].

Нами изучались некоторые свойства ДНК в комплексе с ДНК-связывающимися белками клеток тимуса крупного рогатого скота.

Материал и методы. ДНК тимуса теленка фирмы «Сигма» использовали после 3-кратной фенольной депротеинизации. ДНК плазмиды рА03 [12] с молекулярной массой $1,1 \times 10^6$ Д была переведена в линейную, пригодную для плавления форму, рестриктазой EcoRI. Перед плавлением ДНК переводили в буфер 0,1×SSC саль-филитрацией на сефарозе 4В.

Плазматические мембраны из тимуса крупного рогатого скота были выделены по описанной методике [9]. Белки плазматических мембран получали методом солиubilизации тритоном X-100 и последующей аффинной хроматографией на колонках АЭ-целлюлоза-натрия (или денатурированную) ДНК тимуса теленка [7]. Элюирующий буфер (рН 7,5) содержал 0,5 или 1 М NaCl. Элюаты были плавленными и лиофилизваны, затем растворены в 200 м³ 0,1×SSC и фракционированы на колонке с сефарилем S 300 с помощью микрокolumnного жидкостного хроматографа «Обь».

Методом электрофореза в ПААГ с маркерными белками по Демизил [10] были оценены молекулярные массы полученных белков. На спектрофотометре «Сресол М-40» получены спектральные характеристики белков. Комплексы готовили смешиванием растворов ДНК и белка (в весовой пропорции 1:10) непосредственно перед плавлением.

Дифференциальные кривые плавления ДНК ДНК и их комплексов с белками получены на спектрофотометре «Сару-219» с термодриставкой. Скорость нагрева 0,4°/мин.

Кривые, записанные на перфоленту, дифференцировали на ЭВМ «Некра 226» с использованием программы DCF-K («Бейск»).

Результаты и обсуждение. При фракционировании на хроматографе «Обь» по молекулярным массам и спектральным свойствам из тотального ДНК-связывающегося белка плазматических мембран было получено 4 белка [1] с молекулярными массами: I—51.000, II—42.000, III—38.000, IV—25.000 Д и максимумами УФ-поглощения: II—при 260, III—при 270, IV—при 275 нм.

Для оценки влияния каждого из белков на параметры плавления ДНК было проведено плавление ДНК тимуса теленка в присутствии этих белков. Как видно на рис. 1, белок I проявляет заметный эффект

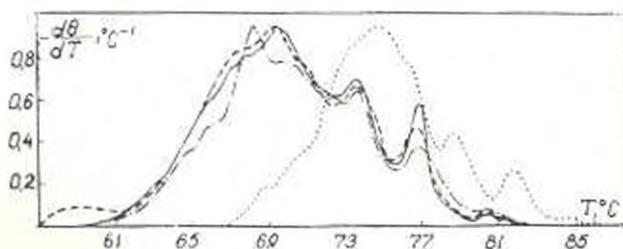


Рис. 1. Нормированная дифференциальная кривая плавления ДНК тимуса в 0,1×SSC без белка I (—) и в присутствии 10 весовых долей белков II (— · —), III (· · · · ·), IV (— · — · —).

предплавления, не изменяя самой ДНК ДНК тимуса. Белок II, деформируя ДКП, в заметным изменением параметров плавления также не приводит. Белок III, сужая кривую плавления, сдвигает ее вправо, вызывая значительное увеличение термостабильности ДНК.

Для более детального изучения особенностей комплексобразования этих белков с ДНК были получены ДКП ДНК рАОЗ в линейной форме. Как известно, ДКП этой ДНК имеет два сильно разнесенных по температуре пика, отвечающих выделению АТ-обогатенных и GC-богатых участков. Как показали полученные результаты, белки I и II практически не влияют на ДКП рАОЗ. Заметим, что эффект предплавления I белка наблюдается и в этом случае. Белок III, а еще больше белок IV (рис. 2, 3) приводят к сдвигу ДКП вправо и некоторому суже-

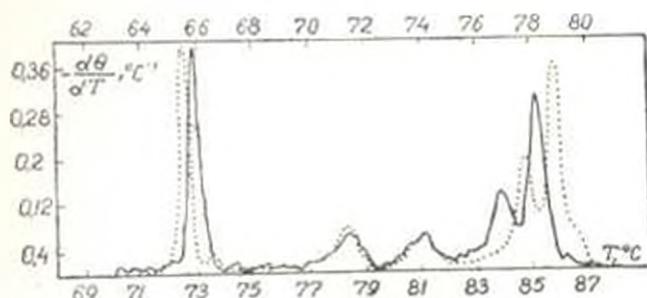


Рис. 2. Нормированная ДКП ДНК рАОЗ без белка (---) и в присутствии белка III (—).

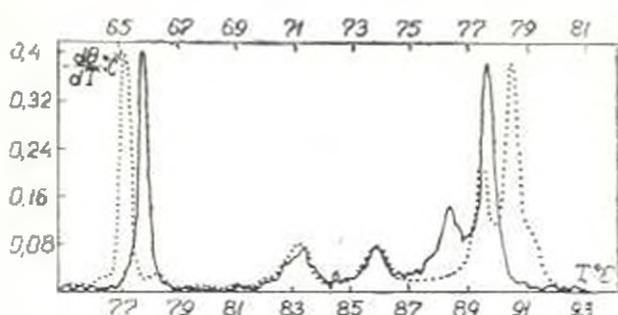


Рис. 3. Нормированная ДКП ДНК рАОЗ без белка (---) и с белком IV (—).

нию кривой плавления (сближению пиков). Таким образом, белки III и IV являются стабилизаторами ДНК. Однако заметной специфичности к АТ- или GC-парам не обладают. Это отличает их от белка-стабилизатора плазматической мембраны печени крысы, для которого нами была обнаружена АТ-специфичность [2]. Кроме того, мембранный белок-стабилизатор печени крысы получался лишь при элюции с нативной ДНК-целлюлозной колонки, но не с денатурированной [3]. А мембранные белки, получаемые из тимуса крупного рогатого скота, выделяются при элюции как с нативной, так и с денатурированной ДНК-целлюлозных колонок. Различаются лишь относительные количества разных белков [4].

Отметим также лучшую реассоциацию после денатурации ДНК, если плавление происходило в присутствии белков III и IV. Разумеется, любые факторы, стабилизирующие ДНК, имеют неспецифическим своим выражением сдвиг кривой плавления вправо, сужение ее и лучшую реассоциацию ДНК при охлаждении. Однако в данном случае су-

шествует корреляция между сдвигом максимума поглощения белка вправо, происходящим при увеличении содержания ароматических аминокислот в белке [14], и стабилизирующим действием белка. Можно предположить, что стабилизация структуры ДНК происходит по интеркаляционному механизму.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бубкер В. М., Соколов А. Р., Вайкер Л. М., Крайнов А. Г. Биол. мембраны, 4, 1, 55, 1987.
2. Габриелян З. Г., Аракелян А. Г., Захарян Р. А. Докл. АН СССР, 298, 3, 1250, 1986.
3. Габриелян А. Г., Аракелян А. Г., Захарян Р. А. Докл. АН АрмССР, 85, 4, 177, 1987.
4. Габриелян А. Г., Гукисян Н. А., Захарян Р. А. Докл. АН АрмССР, 89, 5, 1986.
5. Габриелян А. Г., Карагезян К. С., Захарян Р. А. В сб.: Вопросы молекулярно-клеточной биологии, 10. Ереван, 1983.
6. Гриню. Э. -Т Транспорт макромолекул у бактерий. М., 1986.
7. Рожиков В. В., Старостина В. К. Биотехнология, 3, 5, 618, 1987.
8. Sabat C., Benoit R. M. Biochem. Biophys. Res. Commun., 122, 3, 1034, 1984.
9. Datta H. Biochem. Biophys. Acta, 291, 93, 1973.
10. Linnit C. K. Nature, 227, 620, 1970.
11. Okthum A., Szanyi S., Antoni F. Acta Biochem. et Biophys. Acad. Sci. Hung. 14, 3, 165, 1969.
12. Oka A., Nomura Y., Morita M. et al. Molec. Gen. Genet., 172, 151, 1979.
13. 5th European meeting on bacterial transformation and transfection (Abstr), Lisbon, 1982.
14. Wolf P. Anal. Biochemistry, 129, 145, 1983.

Получило 9 VI 1989 г.

Биол. журн. Армении, №2(43) 1990

УДК 577.150.3+577.150.36 | 577.150.4

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МЕЗОФИЛЬНЫХ И ТЕРМОФИЛЬНЫХ ДРОЖЕЙ *CANDIDA MALTOSA* ПРИ ТЕМПЕРАТУРНОМ И ЭТАНОЛЬНОМ СТРЕССЕ

Е. С. СИНАЯН, М. А. ДАВТЯН, Е. Р. ДАВИДОВ

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

Выявлена повышенная чувствительность к этанолу мезофильного штамма дрожжей *Candida maltosa* по сравнению с термофильным мутантом, который оказался жизнеспособным как в условиях термошока, так и при наличии высоких концентраций этанола в среде. Показано, что воздействие высокой температуры и этанола приводит к активации системы протеолиза у термотолерантного штамма дрожжей, в то время как у его дикокого предшественника в аналогичных условиях она снижалась.

Հայտնաբերվել է (մանրի) նկատմամբ զգալիության բարձրացում *Candida maltosa* խմորաբանական մեղրիի տեսակի մոտ ջերմափայուն տեսակի նամեմատու- թյամբ թե՛ ջերմության բարձրացման և թե՛ էթանոլի բարձր կոնցենտրակցիայի դեպքում:

Сокращения: БТШ—белки термошока.

բամ: Այդ պարմաներով նրանք էլ սրտեղծորէ համազարդ խիւստով
մքայն զերմակայան խնարաններէ մտ, իսկ վայրի նորաստեղծներէ մտ, բնդ-
նախապէր, սրտեղծորէ սխտիւթնան անհոմ:

Increased sensitivity of the thermosensitive strains of *Candida maltosa* yeasts to ethanol in comparison with the thermotolerant type not only in case of increase of temperature but also in case of addition of ethanol was shown. Under these conditions the stimulation of proteolytic activity in thermotolerant mutant of yeasts and decrease of this activity in wild type was observed.

Дрожжи *Candida maltosa* — протам — температурной и этанолюму стресса.

Повышенная устойчивость организмов к воздействию высоких температур, выработанная предварительной обработкой в условиях умеренных температур, получила название термотолерантности [1]. Установлено, что под воздействием разнообразных стрессорных факторов, в том числе температурного, этанола и ряда других, происходит синтез специфических белков, получивших название «стрессовых», или БШ [2]. Изучение чувствительности дрожжей к этанолу выявило задержку роста под воздействием температуры [3]. Показано, что этанол оказывает влияние на организацию мембран, вызывая повышение проницаемости для ионов и малых клеточных метаболитов [4]. Повышенной резистентностью к этанолу наделена плазматическая мембрана *Sacharomyces cerevisiae* [5]. По всей видимости, плазматическая мембрана представляет собой ту самую «мишень» воздействия, которая, ингибируя внутренний транспорт, спасает клетку от токсикоза. Воздействие стрессоров приводит к драматическим изменениям в клеточном метаболизме, затрагивая функционирование многих ферментативных систем. Установлено, что в эукариотических клетках существует центральная, универсальная система протеолиза для снижения уровня полипептидов, основным компонентом которой является белок убиквитин. Эта система обеспечивает избирательный протеолиз белков [6]. Можно заключить, что изменение протеолитической активности может представлять собой один из компонентов системы для «ощущения» стресса и передачи соответствующего сигнала в ядро, приводящего к синтезу БШ. В настоящей работе представлены результаты сравнительного изучения влияния различных концентраций этанола на рост и развитие штамма *C. maltosa* и его термотолерантного мутанта, а также особенностей активации протеолитической системы указанными дрожжевыми штаммами при пролонгации этанолюму стресса.

Материал и методика. Объектом исследования служили аспирогенные мезофильные дрожжи *C. maltosa* и его термотолерантный мутант. Дрожжи поддерживали на аспирогенной среде при комнатной температуре. Выращивали на жидкой минеральной среде при 32° и 10° соответственно для дикого штамма и его термотолерантного мутанта. Источником углерода служила глюкоза в концентрации 2%. Прирост биомассы определяли спектрофотометрически при длине волны 540 нм (ЛКВ, Швеция). В момент резкого прироста биомассы отбирали пробы в объеме по 1,5 мл, которые инкубировали при указанных температурах. В каждую пробу вносили этанол в различных концентрациях — от 1 до 10% в расчете на указанный объем. Пробу отбирали через

каждые 10 мин в течение одного часа. Непосредственно сразу после отбора и пробу вносили ^{35}S -метионин (в концентрации 30 мкд) и инкубировали в течение 2 минут. По окончании инкубации к суспензии добавляли раствор меченого метионина, количество которого в 100 раз превышало таковое в среде, и 50%-ный раствор ТХУ до конечной концентрации ее 7—8%. Суспензию прогревали на кипящей бане в течение 10 мин, замораживали при -40° , осадки переносили на фильтр из стекловолокна типа GF/C (фирма «Ватман», Великобритания), предварительно смоченный 5%-ным раствором метионина в ТХУ. Осадки на фильтрах промывали тем же раствором и переносили во флаконы с диоксидным синтиллятором. Уровень радиоактивности образцов определяли на синтилляционном счетчике Марк-2 (фирма «Серл», Голландия) с последующим расчетом абсолютной радиоактивности. О протеолитической активности в дрожжевом экстракте судили по степени деградации азоказеина. Биомассу отбирали в экспоненциальной фазе роста. Одну часть подвергали термошоку при 37° и 44° в течение 2 ч соответственно для дикого штамма дрожжей и его термотолерантного мутанта; а другую — этанольному стрессу также в течение указанного времени, причем конечная концентрация этанола в среде составляла 6%. Разрушение клеток для экстракции из них водорастворимых белков проводили в дезинтеграторе («Браун Мензунген», ФРГ) в Трис-буфере (рН 7.4) с бусами баллотон размер 0.4 мм. Гомогенат, полученный после разрушения клеток, центрифугировали при 18 000 g в течение 15 мин при температуре 4°C . Полученный супернатант повторно осаждали при 50 000 g в течение 2 часов. Надосадочную жидкость сконцентрировали ПЭГОм 6000 в целлюлозных мешочках с размером пор 3000—5000 дальтон. Полученный гомогенат анализировали против буфера, содержащего 30 mM Tris-HCl (рН 7.5) в течение суток. Содержание белка в пробе определяли по Лоури; протеолитическую активность — в 3,3 мл смеси, содержащей 100 mM Tris-HCl (рН 8), 50 mM KCl, 6 mM 2-меркаптоэтанол, в расчете 10 мкг/мл азоказеина на 0,5 мкг/мл белка в пробе. С целью проведения спонтанной деградации азоказеина пробы прединкубировали в течение часа с добавлением 0,5 мл ТХУ к 0,6 мл инкубируемой смеси. Пробы осаждали при 50 000 g в течение 10 мин и измеряли спектрофотометрически (ЛКВ, Швеция) против контроля, содержащего в том же составе указанные компоненты, за исключением белка, при длине волны 335 нм. За единицу протеолитической активности была принята величина 1 единица = A_{335} нм/час/мл.

Результаты и обсуждение. При сравнительном исследовании дикого штамма дрожжей *S. maltosa* и его термотолерантного мутанта были выявлены существенные различия в скорости включения ^{35}S -метионина в полимеры биомассы при этанольном стрессе. Мезофильный штамм оказался гораздо более чувствительным к присутствию в среде этанола, что выражалось в явном подавлении синтеза ряда высокомолекулярных соединений даже при незначительных концентрациях его в среде — от 10 до 50 и почти полное подавление при 10%, термотолерантный же мутант его проявлял повышенную резистентность по сравнению со своим диким предшественником. При низких концентрациях этанола для термотолерантного мутанта обнаружено даже некоторое повышение интенсивности включения ^{35}S -метионина в высокомолекулярные соединения. Когда концентрация этанола в среде составляла 2%, отмечалось максимальное включение ^{35}S -метионина в высокомолекулярные фракции и интенсивность включения была близка к значению, полученному при пролонгации термошока у термотолерантного мутанта при 44° .

Представляют интерес результаты изучения в экстремальных условиях изменения системы протеолиза у изучаемых дрожжевых штаммов. Обнаружены существенные различия в протеолитической активности обоих дрожжевых штаммов при пролонгации термошока соответственно при 37° и 44° для мезофильного штамма дрожжей и его термотоле-

рантного мутанта, а также при добавлении в культивируемую среду этанола. Измерение протеолитической активности проводили в течение 3ч с момента воздействия на дрожжевые культуры экстремальных условий окружающей среды.

Как видно из приведенных рисунков, получены диаметрально противоположные результаты. Для термотолерантного мутанта обнаружено резкое повышение протеолитической активности по сравнению с кон-

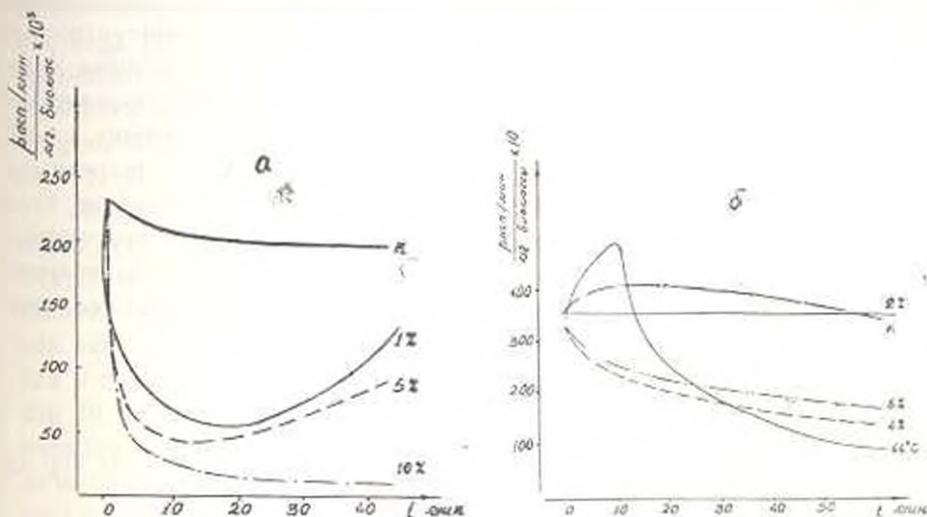


Рис. 1. Влияние концентрации этанола в среде на скорость включения ^{35}S -метионина в высокомолекулярные ТХУ-нерастворимые фракции белков: а) у мезофильного штамма дрожжей; б) у термотолерантного мутанта.

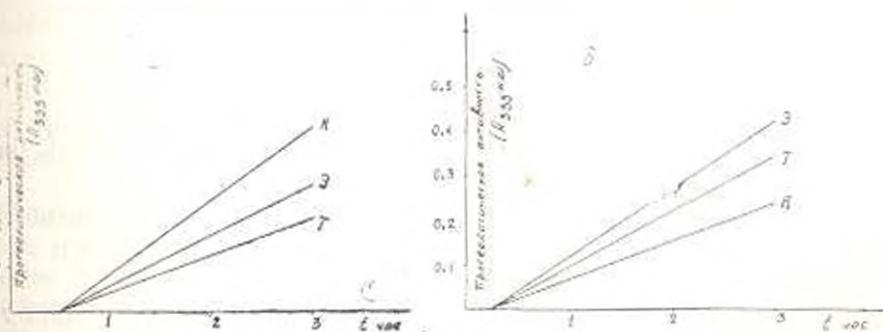


Рис. 2. Влияние температуры инкубации и присутствия этанола в среде на изменение протеолитической активности: а) у мезофильного штамма дрожжей; б) у термотолерантного мутанта.

тролем (оптимальная температура для роста и среда без добавления этанола) как под воздействием супраоптимальных температур, так и при наличии этанола в среде. Для дикого исходного штамма выявлена инактивация протеаз в указанных условиях. Причем у мезофильного штамма *S. maltosa* происходит существенное снижение протеолитической активности при термошоке по сравнению с контролем, тогда как при наличии этанола в среде оно не так выражено.

На наш взгляд, подобные расхождения, обнаруженные при сравни-

тельном изучении указанных дрожжевых штаммов при воздействии стрессорирующих агентов, могут определяться несколькими причинами.

Понижение скорости включения ^{35}S -метионина в высокомолекулярные фракции при добавлении в среду этанола и почти полная остановка роста при высоких концентрациях его у мезофильного штамма этих дрожжей обусловлена повышенной чувствительностью плазматической мембраны к неблагоприятным факторам среды, выражающейся в повышенной проницаемости мембраны. У термотолерантного мутанта, очевидно, плазматическая мембрана наделена повышенной резистентностью.

Активация системы протеолиза у термотолерантного штамма дрожжей, по всей вероятности, связана с индукцией убиквитин-зависимой системы, обеспечивающей избирательный протеолиз в условиях воздействия супраоптимальных температур, а также при наличии в среде этанола. Таким образом, можно сделать заключение, что исходная культура термотолерантного мутанта, наделенная повышенной чувствительностью как к воздействию термошока, так и к этанолу, характеризуется низкой протеолитической активностью, что связано с дефектами ферментативной, убиквитин-активирующей систем.

ЛИТЕРАТУРА

1. McAlister L. and Flatteisen D. B. Biochem. Biophys. Res. Commun., 95, 819—824, 1980.
2. Susan Lindquist. Ann. Rev. Biochem., 55, 1151—1191, 1986.
3. Jones R. P., Pamment, N. and Greenfield P. F. Proc. Biochem., 16, 42—49, 1981.
4. Gutknecht J. and Totoson P. C. J. Gen. Physiol., 53, 359—374, 1970.
5. Leao C. and A. van Vden. Biochem. Biophys. Acta, 774, 43—48, 1984.
6. Salvosen G., Lloyd C., Farley D. Nucl. Acids Res., 1, 15, 5485, 1987.

Получено 15.XI.1989 г.

Биол. журн. Армении, № 2, (43) 1990

УДК 568.575.24:616.348—098

БИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ ПРИ ОПУХОЛЕВОМ ПОРАЖЕНИИ ТОЛСТОЙ КИШКИ

Л. В. НАЗАРОВ, Э. Г. МУГНЦЯН, Б. Г. САРКИСЯН, А. М. АГАВЕЛЯН,
А. А. ПЕРСЕСЯН, А. С. АГАБАЛЯН

НИИ проктологии МЗ АрмССР, Ереванский государственный университет,
НИИГА Минздрава СССР, Ереван

Показано, что в кишечной микрофлоре больных раком толстой кишки доминируют энтерики, у которых выявлены количественные и качественные изменения в ряде генетически детерминированных — маркированных признаков.

Ցույց է տրվել, որ հստակ աղու շարժրակ ևրոսցրով Շիվանդեերի աղիրային միկրոֆլորայում էլերիխաները շարունակում են մնալ որպես դոմինանտ մեքր. որակց մոտ մի շարք գենետիկորեն դետերմինացված հատկություններ կրում են որակական և քանակական փոփոխություններ:

It has been shown that in Intestinal microflora of patients with colon cancer, dominate escherichia with quantitative and qualitative changes of some genetically determined-marked indices.

Микрофлора кишечника—толстая кишка—опухоль.

Известно, что общей чертой природных популяций любых видов живых организмов является их генетическая гетерогенность, являющаяся при критических изменениях направления отбора мобилизационным резервом вида [10], что довольно легко регистрируется в популяции микроорганизмов. Описанию микробного пейзажа природных экосистем, определению видовой принадлежности, концентрации отдельных видов микроорганизмов в различных средах обитания посвящен ряд публикаций [1, 6].

Микрофлора человека—система, сложившаяся эволюционным путем в результате взаимодействия макроорганизма с микроорганизмами. Бактерии кишечной группы входят в один общий биоценоз, заполняя единую экологическую нишу. В норме у взрослых людей концентрация кишечных бактерий достигает: в тонкой кишке 10^5 — 10^6 кл/мл, слепой и ободочной 10^8 — 10^{10} , в сигмовидной и прямой кишке до 10^{11} кл/мл, или 10—20% общего кишечного содержимого [1, 4]. В литературе имеются разрозненные, часто противоречивые данные относительно количественного состава микрофлоры кишечника при различных патологиях его. Эти данные в основном представлены без учета такого селективного фактора, как прием антибиотиков, которые могут нарушить сложившийся симбиоз, следствием чего может явиться временный дисбактериоз. В то же время практически отсутствуют данные о генетическом статусе популяций микроорганизмов кишечной микрофлоры при различных заболеваниях, несущих элемент генетической обусловленности.

Цель настоящей работы заключалась в изучении гетерогенности а популяции кишечной микрофлоры в естественной экологической нише—организме больных раком толстой кишки.

Материал и методика Кишечную микрофлору 70 больных с опухолью толстой кишки, не принимавших антибиотика на протяжении двух и более месяцев, изучали методом посева бактериального содержимого фекалий на соответствующие плотные питательные среды [1, 4, 6]. К числу генетически детерминированных признаков относили: активность β -галактозидазы, регистрируемой на среде Эндо, потребности в факторах роста, определяемые высевом на минимальные среды, термочувствительность, определяемую инкубацией бактериальных колоний, полученных методом отпечатков, при различных температурах, в частности, при 37° и 42°. Осмоустойчивость изучали потенциометрически по транспорту ионов K^+ и H^+ [8, 9].

Активность L-аспарагиназы и L-глутаминазы определяли микродиффузионным методом [5]. Чувствительность к 17 антибиотикам изучали методом диффузии в лгар на дисках, пропитанных антибиотиками [6]. Плазмидный состав доминантного вида кишечной флоры определяли при помощи электрофореза в 1%-ном геле агарозы [7].

Результаты и обсуждение. Полученные данные свидетельствуют о том, что грамотрицательные палочки, в том числе лактозонегативные и гемолитические формы энтерихий, у больных, длительное время не при-

живавших антибиотики, продолжают оставаться доминирующим видом. Они составляют 35—51% от всех выделенных аэробных и анаэробных видов. Отмечалось повышение содержания стафилококков, количество которых, однако, никогда не превышало количество эшерихий. Количество стафилококков вместе с клебсиеллами, энтеробактером, интрабактером и дрожжеподобными грибами рода *Candida* не превышало 20%. В соответствии с содержанием энтерококков кишечника микрофлора больных была разделена на две группы: в одной из них уменьшение энтерококков сопровождалось повышением содержания эшерихий, в другой — стафилококки, содержание которых значительно повысилось, конкурировали с эшерихиями, которые доминировали несмотря на повышение до 35% (табл. 1).

Таблица 1. Частота выделения групп кишечной микрофлоры из фекалий больных раком толстой кишки, %

Грамотрицательные палочки		Грамположительные и грамотрицательные кокки		
Лактозо-негативные гемолитические формы эшерихий	Клебсиеллы, условно-патогенные бактерии	Протей	Стафилококки	Энтерококки
3—51	1—18	20—30	10—20	5—8

Гетерогенность по количественным показателям популяции микроорганизмов, выделенных из кишечного содержимого больных раком толстой кишки, четко указывает на отсутствие выраженного дисбактериоза в соотношении грамотрицательных палочек и грамположительных кокков. Такой дисбактериоз, наблюдаемый в более ранние периоды заболевания, сменяется восстановлением гетерогенности популяции за счет измененных форм по ряду генетически детерминированных признаков. Поскольку эшерихии остаются доминирующим видом во всей популяции, они являются индикаторами, позволяющими однозначно судить о реакциях основных групп биом на меняющуюся среду обитания. Учитывая их вклад в обмен веществ и энергию макроорганизма, по обстоятельству, что, являясь доминирующим видом, они не представляют серьезных затруднений в многофакториальном анализе, а также роль в обеспечении синтеза витаминов группы В, Е, К и экскретируемых протеолитических, сахаролитических и других ферментов, участие в конверсии желчных кислот и пигментов, в поддержании иммунной системы организма, эти микроорганизмы явились объектом наших дальнейших исследований. Наряду с некоторыми другими представителями, эшерихии используются как модельные системы в мутагенезе и канцерогенезе [2—4].

В литературе имеются данные относительно полирезистентности и полирезистентности штаммов возбудителей различных инфекций у онкологических больных, в формировании которых основная роль принадлежит широкому применению антибактериальных препаратов, являющихся мощным селективным фактором, однако далеко не единственным, поскольку нельзя исключить важную роль мутагенеза и обмена генами.

ческим материалом между отдельными представителями микроорганизмов.

В табл. 2 представлены данные о степени отклонения некоторых генетически маркированных признаков бактериальных культур эшерихий, выделенных из фекалий больных раком толстой кишки, от таковых лабораторных штаммов *E. coli* K12 (D) и бактериальных культур, выделенных из фекалий практически здоровых людей. Поскольку нас инте-

Таблица 2. Качественная и количественная регистрация генетически детерминированных признаков бактериальных культур *E. coli*, выделенных из фекалий больных раком толстой кишки

Признак	Метод изучения среды	Процент отклонения от значимых штаммов других типов
Утилизация углеводов, в частности, лактозы	методом отпечатка в индикаторной среде	20—40
Наличие устойчивости к 17 антибиотикам	методом дисков на среде индикаторной	80—95
Активность ферментов L-аспарагиназы, L-глутаминазы	микротитриметрическим методом	30—50
Осмопроницаемость	потенциометрически по транспорту K^+ и Cl^-	60—80
Плазмидный состав	гель-электрофорезом	80—90

ресовали отклонение и степень его, в таблице мы не приводим количественные характеристики изученных признаков. Утилизация углеводов, в частности лактозы, и активность L-аспарагиназы и L-глутаминазы в культурах бактерий из фекалий больных составляли 20—40% по сравнению с таковыми у контрольных культур. Чувствительность к такому мутагенному фактору, как ультрафиолетовое облучение изучали на клонах, выделенных из фекалий трех больных. Во всех этих случаях обнаружено повышение УФ-чувствительности по сравнению с контролем. Данные, представленные в табл. 2, свидетельствуют также о резком изменении осмопроницаемости отдельных клонов и популяций бактериальных культур по сравнению с тем же показателем лабораторных штаммов и культур, выделенных из фекалий практически здоровых людей.

Особого внимания заслуживают данные о плазмидном составе в отношении к 17 антибиотикам бактериальных культур более чем 20 больных, у которых данные клонального анализа указывают на одновременную устойчивость к 4—6 и более антибиотикам. В этой связи возникла необходимость определения тотального содержания плазмид, где контролями служили плазмиды с канамидиновым маркером, PqB, PqB-791, PSC 101, легко экспрессирующиеся в коринебактериях. Контрольные плазмиды были детерминированы и четко разграничены на электрофореграммах по их молекулярным весам, с которыми сравнивались электрофореграммы плазмид бактериальных культур, выделенных из фекалий 5 больных. Сделано заключение о высокой гетерогенности плазмидного состава.

Таким образом, изучение гетерогенности по ряду генетически маркированных, четко детерминированных и легко регистрируемых признаков доминирующего индикаторного вида кишечной микрофлоры в популяции естественной экологической ниши при опухоли толстой кишки свидетельствует о различной степени отклонений, в некоторых случаях указывающих на изменение среды его обитания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дрокова О. М. *Лабораг. дело*, 6, 36—41, 1982.
2. Мидлер Дж. В. *кн. Эксперименты в молекулярной генетике*, М., 1976.
3. Пожарский К. М. *Аран пат*, 4, 72—78, 1979.
4. Пшеничников Р. А., Колотиния С. В. *В кн. Основы цитохимии системы генетического мониторинга природных популяций микроорганизмов*. Свердловск, 1986.
5. Силакова А. Н., Тресня Г. П. *Вопр. мед. хим.*, 8, 11—14, 1962.
6. Смолянская А. Э. *Антибиотики и мед. биотехн.*, 1, 43—49, 1986.
7. *Mantata T., Fritsch E. F. et al. Cold Spring Harbor Lab.*, 1982.
8. Nielsen E., Fritsch C. *Acta path. microbiol. scan.* 891: 121—126, 1980.
9. Rhoads D. B., Epstein W. J. *J. Physiol.*, 263, 72, 5, 1978.
10. *Schmiedeknecht S. S. In: Kunst, Veterb., Berlin*, 2, 149—150, 1927.

Поступило 22 VI 89 г.

Биол. журн. Армении № 2 (43), 1990

УДК 616.097.612.017—11/12

ВНУТРИОРГАНЫЕ РАЗЛИЧИЯ УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ МАКРОФАГОВ

М. З. БАХШИНЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра гистологии

Выявлены различающиеся ультрамикроскопическим строением внутриорганные разновидности макрофагов печени, селезенки, лимфатического узла и легкого.

Ի հարկուսն ձև բերվել է պարզեցված, աբսոլյտի համալսմանը և թվային քանակական հիմնարկների կառուցմանը առաջնորդող մակրոֆագ բջջերի ներքինային տարատեսակները:

Intraorganic varieties of liver, spleen, lymphatic node and lung macrophages, differing by ultrastructural structure are revealed.

Макрофаги — ультрамикроскопическое строение — органоспецифичность

Высокие адаптационные возможности макрофагов отмечаются в ряде исследований [4, 6, 9], однако при этом почти не затрагивается органоспецифический аспект. Между тем, по наш взгляд, различия тканевая локализация макрофагов способствует проявлению у них высоких приспособительных возможностей, вырабатывающихся в процессе дифференцировки занесенных в тот или иной орган крошечки моноцитов и макрофаги. Ранее нами были описаны органоспецифические особенности строения макрофагов различных органов [1].

Сокращения: ГЭР — гранулярный эндоплазматический ретикулум.

Целью данной работы явилось выявление ультраструктурных особенностей макрофагов одного и того же органа.

Материал и методы. В норме и в условиях антигенной стимуляции изучали макрофаги печени, селезенки лимфатических узлов (мезентериальных) и легкого 15-недельных беспородных белых мышей в 12 крыс массой соответственно 40-50 и 100-120 г. Для электронной микроскопии кусочки указанных органов толщиной не менее 1 мм фиксировали в 2%-ном растворе glutаральдегида на каптолиатном буфере с последующей фиксацией в 1%-ном растворе того же буфера, дегидратацию проводили в ацетонах возрастающей концентрации.

В процессе обезжиривания материал контрастировали 0,5%-ным раствором уранил-ацетата и 20%-ным ацетоном. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKV, контрастировали цитратом свинца по Рейнвальду и просматривали в электронном микроскопе JEM при ускоряющем напряжении 30 кВ.

Результаты и обсуждение. На основании выявленных особенностей строения в норме нами были описаны три разновидности макрофагов и печени. Первая характеризуется высоким содержанием лизосом, шероховатой поверхностью и тесным взаимодействием с телиоцитами по типу взаимной делегации клеточных границ на большом протяжении (рис. 1)*. Макрофаги второй разновидности отличаются гладкой поверхностью, отсутствием или слабой выраженностью лизосомального аппарата, обилием рибосом и развитым ГЭР в цитоплазме (рис. 2). Ингактивные макрофаги третьего типа содержат в цитоплазме липидные капли или находятся в контакте с телиоцитами или с жиросодержащими участками телиоцитов (рис. 3).

Полученные данные свидетельствуют о внутриорганной специализации печеночных макрофагов. первая разновидность их, вероятно, осуществляет в первую очередь фагоцитарную функцию, вторая и третья совместно с телиоцитами участвуют в белковом и межклеточном обмене органа.

В норме в селезенке нами выявлены две разновидности макрофагов: одна имеет многочисленные липидные цитоплазматические вкрапления, выраженный лизосомальный аппарат (рис. 4). Макрофаги другой разновидности мы условно обозначали их как «спокойный тип», имеют гладкую поверхность и цитоплазму, их лизосомы единичны, развит ГЭР. Если первый тип макрофагов выполняет преимущественно фагоцитарную функцию, то второму свойственна белково-синтетическая функция. Частые контакты второго типа макрофагов селезенки с клетками лимфоидного ряда позволяют допустить совместное участие их в процессах иммунного ответа организма. Не исключается при этом и выработка макрофагами медиаторов, способствующих пролиферации лимфоидных клеток, тем более что имеются данные о влиянии моноцитов на лимфоидные клетки не только гуморальным путем, но и при непосредственном контакте клеток [7].

* Здесь и далее см. вкладку.

Разновидности макрофагов лимфатических узлов близка к селезеночным. Сinusные макрофаги характеризуются обилием лизосом, и

том числе и вторичных, их большим полиморфизмом. Паренхиматозные макрофаги, напротив, имеют сравнительно слабо развитый лизосомальный аппарат, выраженные рибосомы, комплексе Гольджи и характеризуются тесными контактами с лимфоидными клетками. Функциональная специфика разновидностей макрофагов данного органа схожа с таковой селезенки.

В макрофагах легкого в норме также выявлены два-три типа клеток— у одних в цитоплазме постоянно встречаются осmioфильные пластинчатые тельца (рис. 5), у вторых—и липидные капли (рис. 6). Можно выделить и третий промежуточный тип макрофагов в данном органе. Макрофаг первого типа, вероятно, регулирует сурфактальный гомеостаз легкого, второй участвует в липидном обмене его. Можно допустить, что выделение указанных разновидностей макрофагов в легком условно, так как сурфактант состоит из сложного комплекса липидов, протенинов и мукополисахаридов [2, 3], так что описанные разновидности макрофагов, возможно, представляют различные стадии переработки фагоцитированного сурфактанта.

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют заключить следующее:

Во-первых, макрофаги являются клетками с исключительно широкими адаптационными возможностями, проявляющимися внутриорганными различиями ультрамикроскопического строения.

Во-вторых, в процессе дифференшировки моноцитов в каждом отдельном органе, вероятно, образуются отдельные разновидности макрофагов, деятельность каждой из которых формируется в соответствии с функциональными особенностями органа и максимально приспособляется к ним.

В-третьих, участие макрофагов в жизнедеятельности того или иного органа сводится не только к фагоцитозу, но и к выполнению ряда других малоисследованных функций. Например, их участие в липидном обмене тесно связано со способностью поглощать, накапливать и метаболизировать липиды [10]. Белково-синтетическая функция макрофагов связана не только с синтезом ферментов, например, в клетках, бедных лизосомами, но и продукцией ряда биологически активных веществ, влияющих на многочисленные тканевые элементы [7, 9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Бахшиянц М. З. Биолог. ж. Армения, 41, 3, 238—241, 1988.
2. Ерохин В. В. Проблемы туберкулеза, 11, 54—60, 1980.
3. Ерохин В. В. Функциональная морфология респираторного отдела легких, М., 1987.
4. Маянский Д. И. Клетки Купфера и системы мононуклеарных фагоцитов. Новосибирск, 1981.
5. Маянский А. И., Маянский Д. И. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск, 1983.
6. Маянский Д. И. Успехи совр. биол., 93, 1, 73—88, 1982.
7. Серов В. В., Шехтер А. Б. Соединительная ткань. М., 1981.
8. Шехтер А. Б. Изучение репаративных процессов и методов их коррекции. М., 1985.
9. Фрейдлин И. С. Система мононуклеарных фагоцитов. М., 1984.
10. Rhodes J., O'Brien S. Immunol., 40, 3, 467, 1980.

Поступило 5 IX 1989 г.

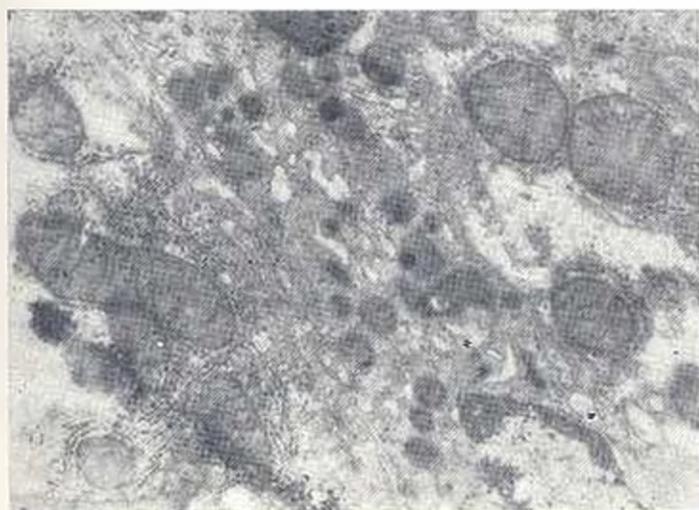


Рис. 1. Фрагмент макрофага печени с многочисленными лизосомами (ЛЗ) и цитоплазме ГЭР—сератоциты. Ув. 12,000.

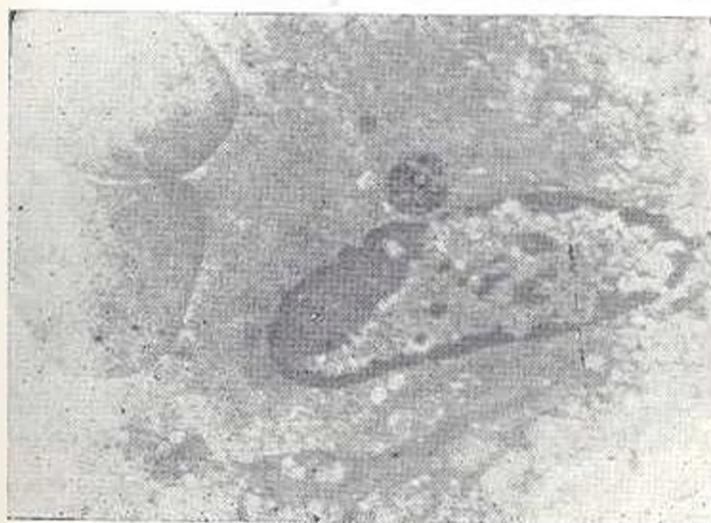


Рис. 2. Макрофаг печени с гладкой поверхностью, единичной лизомой (ЛЗ и ГЭР) и цитоплазме. Ув. 16,000.



Рис. 3. Взаимодействие макрофага (МФ) печени с фрагментом лимфоцита
... (Ш1). Ув. 16.000.

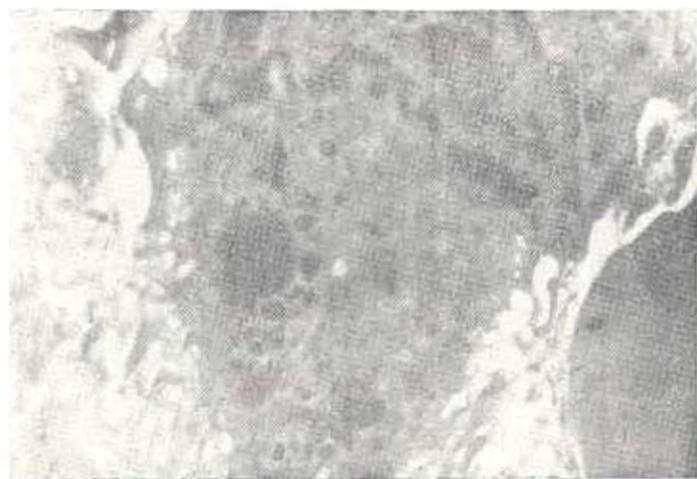


Рис. 4. Фрагмент макрофага селезенки с обилием различных по размерам
лизосом (ЛЗ) и цитоплазме. Э — эритроцит, ЦО — цитоплазматические
отростки. Ув. 18 000.



Рис. 5. Фрагмент макрофага легкого с электронными пластинчатыми тельцами (ОИТ) в цитоплазме, КГ — комплекс Гольджи.

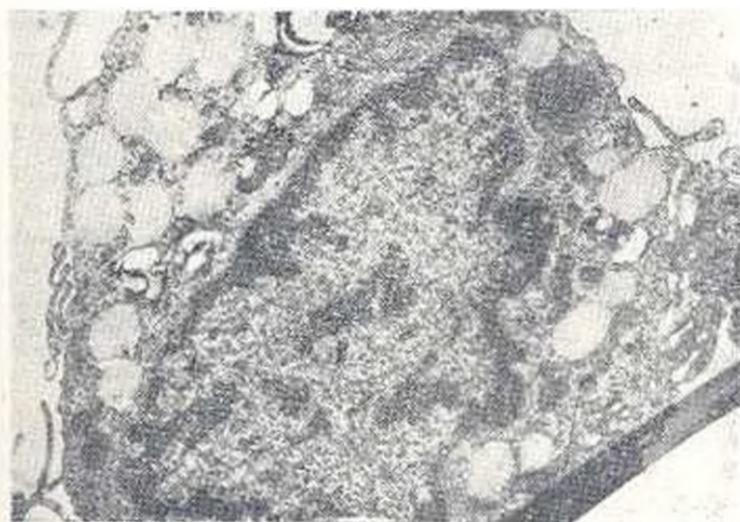


Рис. 6. Фрагмент макрофага легкого с многочисленными липидными каплями (ЛД) в цитоплазме

ВЛИЯНИЕ ГЕНТАМИЦИНА НА КОЛИЧЕСТВО ИММУННЫХ Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ В ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНАХ КРОЛИКА

И. А. ТЕР-АВЕТИСЬЯНЦ

Ереванский зоотехнический ветеринарный институт, кафедра микробиологии

Показано, что гентамицин, примененный аэрозольно, после иммунизации эритроцитами барана увеличивает количество иммунных Т- и В-лимфоцитов в селезенке и Т-лимфоцитов в лимфатических узлах. В тимусе количественное изменение розеткообразующих клеток незначительно. При введении антибиотика с одновременной иммунизацией эритроцитами барана существенных изменений в количестве розеткообразующих клеток не установлено.

Հաստատված է, որ խոչի էրիթրոցիտներով իմունիզացիայի ենթարկելուց հետո անբազոլ գենտամիցինն օգտագործելիս Т- և В-լիմֆոցիտների քանակը ավելանում է փայծաղում, իսկ Т-լիմֆոցիտներին՝ ափսոսելի նախաբաններում: Քիմոսուում աչք ըզջիների բանակը փոփոխություններ անելան են: Հուկարիտների և խոչի էրիթրոցիտների համալրված օգտագործման դեպքում իմուն լիմֆոցիտների քանակը բանակական փոփոխություն չի եկառվում:

It has been shown that gentamycin, used in aerosole form, after the immunization by ram erythrocytes increases the quantity of immune T- and B-lymphocytes in spleen and T-lymphocytes—in lymphatic ganglia. In thymus the quantitative change of rosetteforming cells has been insignificant. The administration of antibiotic simultaneously with the immunization by ram erythrocytes does not arise essential changes in the quantity of rosetteforming cells.

Гентамицин—розеткообразующие клетки—эритроциты барана.

Изучение влияния антибиотиков на Т- и В-лимфоциты имеет не только теоретическое значение для понимания функционирования иммунокомпетентных систем, но и большое практическое значение. Однако работ, посвященных изучению влияния антибиотиков на иммунокомпетентные клетки лимфоидных органов, очень мало [1—3], а работ о действии аэрозоля гентамицина на эти клетки в доступной нам литературе не обнаружено.

В настоящей работе представлены результаты изучения влияния аэрозоля гентамицина на количество РОК селезенки, тимуса и лимфатических узлов у кролика к эритроцитам барана [4].

Материал и методы. Опыты проводили на 58 кроликах породы шиншилла массой 2,0—2,5 кг. Гентамицин применяли в дозе 1000 мг/м³ аэрозольной камеры.

Для определения иммунных РОК кроликов иммунизировали эритроцитами барана в дозе 2,5 · 10⁹ клеток на кг живой массы. Опыты ставили на четырех группах. Животных первой группы иммунизировали эритроцитами барана, а затем ингаляровали антибиотик; при этом они получали антибиотик на 5, 3 и 3 сутки иммуногенеза, но в первом случае кроликов забивали через 1, 3, 6, 12, 18 ч, во втором—через 24 ч, а в третьем—через 48 ч после ингаляции гентамицином. Второй группе одновременно вводили эритроциты барана и ингаляровали гентамицин. Третья группа кроликов полу-

Сокращения: РОК—розеткообразующие клетки.



чала аэрозоль гентамицина за 2, 4, 11 и 15 суток до введения эритроцитов барана, но забивалась соответственно на 7, 9, 15 и 20 сутки после ингаляции. Четвертая группа—контрольные животные, которых иммунизировали только эритроцитами барана. Всех животных забивали на 5 сутки иммунизации, извлекали органы, в которых определяли число РОК на 100 клеток. РОК дифференцировали в зависимости от их функциональной активности: лимфоциты, сформированные 4—6 эритроцитами барана, относили к Т-1 (Т-1 РОК), 7—10—к Т-2 (Т-2 РОК), более 10—к В-клеткам (В-РОК) [5].

Результаты и обсуждение. Из табл. 1 видно, что применение гентамицина в дозе 1500 мг/м² после иммунизации эритроцитами барана увеличивало число Т-1 и Т-2 РОК в селезенке. Число Т-1 РОК постепенно повышалось и превышало исходные данные на 18—35 клеток, причем максимальное увеличение их количества (на 32,1%) было отмечено через 6 ч (от $109,0 \pm 1,8$ до $141 \pm 1,3$ клеток). Через 48 ч отмечалась тенденция к снижению числа Т-1 РОК до $112,5 \pm 2,4$. Аналогичное увеличение числа Т-2 РОК установлено через 3 ч—на 52,2% (от $23,0 \pm 1,2$ до $35,0 \pm 2,0$ клеток), этот уровень сохранился до 18 часа. Через 48 ч наблюдалась тенденция к снижению этих клеток до $25,0 \pm 0,0$. Увеличение уровня Т-2 клеток имеет большое значение, так как известно, что они предназначены для обнаружения чужеродных антигенов, и эта популяция клеток постоянно рециркулирует в организме [6].

Одновременно происходило увеличение В-РОК, которые являются прямыми предшественниками антителообразующих клеток, максимум их отмечался через 18 часов. В это же время был зарегистрирован высокий процент связывания гентамицина с тканью селезенки (100%), что указывает на взаимодействие антибиотика с клетками этого органа. Вероятнее всего, гентамицин оказывает раздражающее действие, на которое организм отвечает увеличением числа иммунокомпетентных клеток.

В лимфатических узлах через 6 ч после применения гентамицина имело место увеличение количества Т-1 РОК на 18,6%. Однако через 18 ч число их приближалось к контролю, а затем через 48 ч повторно повышалось на 138,4%, т. е. достигало $192,5 \pm 12,9$, количество Т-2 РОК через 18—24 ч повышалось в пределах 12—14 клеток, в первые же часы исследования была установлена их ингибция.

В тимусе по сравнению с селезенкой и лимфатическими узлами изменению количества РОК незначительно. Это, вероятно, объясняется существованием гемато-тимусного барьера. Наибольшее количество Т-1 клеток отмечено через 48 ч— $57,5 \pm 8,5$, что на 30,7% больше, чем у контрольных животных. Несмотря на это, РОК не приобретали повышенной функциональной активности, т. е. не обнаруживалась популяция Т-2 клеток.

В опытах с одновременным введением антибиотика и эритроцитов барана количественное изменение РОК в селезенке и тимусе было несущественным, лишь в лимфатических узлах отмечалось увеличение числа Т-1 РОК на 35,6% (до $58,3 \pm 6,66$ клеток).

Однако при введении гентамицина до иммунизации (табл. 2) установлено увеличение количества Т-1 и Т-2 РОК в селезенке. Максимальное увеличение числа Т-1 РОК (на 37,6%) отмечалось через 9 сут., на 20 сут. оно приближалось к контролю и составляло $113,3 \pm 1,6$ клеток.

Таблица 1. Влияние аэрозольной ингаляции гентамицином на количество РОК в органах лимфатической системы кролика после и одновременно с иммунизацией эритроцитами барана на 10^3 клеток ($M \pm m$)

Органы		Селезенка			Лимфатические узлы			Тимус		
Клетки		T ₁	T ₂	B	T ₁	T ₂	B	T ₁	T ₂	B
Контроль	Время	39,9±1,8	23,0±1,2	15,0±1,5	43,0±1,2	10,1±2,7	единиц	41,0±1,0	—	—
	после ингаляции	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	р	32,5±4,6 <0,01	33,3±1,6 <0,001	16,6±1,6 <0,5	45,5±2,9 <0,25	единиц	—	42,5±1,1 <0,5	—	—
3	р	31,0±2,0 <0,001	35,0±2,0 <0,002	16,2±1,2 <0,5	45,0±0,0 <0,25	единиц	—	43,7±1,2 <0,5	—	—
6	р	34,0±4,3 <0,01	34,0±1,0 <0,001	21,0±0,05 <0,01	51,0±1,8 <0,02	единиц	—	54,0±1,0 <0,01	—	—
12	р	39,0±1,0 <0,001	34,0±1,0 <0,001	20,0±0,0 <0,01	52,0±1,2 <0,002	14,0±1,0 <0,5	—	40,0±0,0 <0,01	—	—
18	р	36,0±0,05 <0,001	31,0±1,8 <0,001	31,0±0,05 <0,001	55,0±0,0 <0,25	12,0±3,0 <0,5	—	41,0±1,0 <0,01	—	—
24	р	32,0±5,1 <0,05	26,0±1,2 <0,02	27,0±2,0 <0,001	47,0±2,0 <0,25	11,0±1,0 <0,25	—	52,0±2,5 <0,02	—	—
48	р	112,5±2,4 <0,5	25,0±0,0 <0,25	15,0±0,0 <0,01	102,5±12,9 <0,01	3,5±4,3 <0,5	единиц	57,5±8,3 <0,25	—	—
120	р	115,0±2,5 <0,1	21,7±1,2 <0,5	13,7±6,6 <0,5	58,3±6,6 <0,05	единиц	—	45,8±8,4 <0,5	—	—

1 до 18 ч — ингаляция гентамицином после иммунизации эритроцитами барана; 120 ч (7 дней) — ингаляция с одновременной иммунизацией эритроцитами барана. — — — розеткообразующие клетки не обнаружены.

Таблица 2. Влияние аэрозольной ингаляции гентамицином на количество РОК в органах лимфоидной системы до иммунизации эритроцитами барана на 10^3 клеток ($M \pm m$)

Органы		Селезенка			Лимфатические узлы			Тимус		
Клетки		T_1	T_2	B	T_1	T_2	B	T_1	T_2	B
Время исследования, Дней	Контроль	$109,0 \pm 1,8$	$23,0 \pm 1,2$	$15,0 \pm 1,5$	$43,0 \pm 1,2$	$10,0 \pm 2,7$	единич.	$44,0 \pm 1,0$	—	—
	7	$121,6 \pm 1,6$	$20,0 \pm 0,9$	$16,6 \pm 1,5$	$36,6 \pm 1,6$	единич.	—	$50,0 \pm 0,9$	—	—
	P	$< 0,002$	$< 0,05$	$< 0,5$	$< 0,001$	—	—	$< 0,001$	—	—
	9	$150,0 \pm 5,0$	$20,0 \pm 0,0$	$18,7 \pm 1,2$	$63,7 \pm 5,9$	единич.	—	$48,7 \pm 2,3$	—	—
	P	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,1$	$< 0,02$	—	—	$< 0,25$	—	—
	15	$126,0 \pm 1,6$	$33,3 \pm 1,6$	$18,3 \pm 1,6$	$55,0 \pm 2,8$	единич.	—	$45,0 \pm 2,8$	—	—
	P	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,25$	$< 0,01$	—	—	$< 0,5$	—	—
	20	$113,3 \pm 1,6$	$26,6 \pm 1,6$	$16,6 \pm 1,6$	$56,6 \pm 1,6$	$6,6 \pm 1,6$	—	$46,6 \pm 1,6$	—	—
	P	$< 0,25$	$< 0,25$	$< 0,5$	$< 0,001$	$< 0,5$	—	$< 0,25$	—	—

Число же Т-2 РОК максимально увеличивалось через 15 суток — на 44,8%.

В лимфатических узлах количество Т-1 РОК увеличивалось и держалось на высоком уровне в течение всего периода исследований, а в тимусе наибольшее количество их отмечалось на 7 сутки, что на 13,6% больше, чем в контроле, причем популяция Т-2 РОК не была обнаружена.

Таким образом, при применении гентамицина до иммунизации эритроцитами барана наблюдающееся увеличение числа РОК выражено меньше, чем при введении его после иммунизации; исключение составляют клетки Т-1 на 9 сут и Т-2 на 15 сут в селезенке, а также клетки Т-1 в лимфатических узлах. В случае антигенного раздражения эритроцитами после введения гентамицина, когда уже имело место взаимодействие антибиотика с иммунокомпетентными клетками, эритроциты не в состоянии в той же степени стимулировать эти клетки, что согласуется с литературными данными [3].

Исходя из изложенного, важно отметить, что пролиферация иммунокомпетентных клеток особенно чувствительна к гентамицину в индуктивной фазе клеточного митоза.

Следовательно, применение гентамицина аэрозольно в дозе 1500 мг/л аэрозольной камеры после и до иммунизации эритроцитами барана повышает количество иммунокомпетентных клеток. При одновременном введении антибиотика с эритроцитами существенных изменений не установлено.

ЛИТЕРАТУРА

1. Курцис И. М. Антибиотики, 1, 71—74, 1976.
2. Славина Е. К. Антибиотики, 1, 75—79, 1976.
3. Гальдберг Е. Д., Михайлова Т. Н., Зингер Г. В., Щубина Т. С., Колзона Ю. Т., Крафт Л. А. Антибиотики, 8, 734—739, 1977.
4. Zaalberg O. B. Nature, 1231—1233, 1961.
5. Hashitt J. S. J. Exp. Med., 133, 1113—1116, 1972.
6. Gowans J. L., Knight A. J. Proc. Roy. Soc. Biol., 159, 257, 1968.

Поступило 5.1.1980 г.

Биолог. журн. Армении, № 2, (43), 1990

УДК 576.85.5:577.15

ОЧИСТКА И НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА АРГИНАЗЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС

А. А. НИКОЯН, Л. Р. ТУМАНЯН, С. В. ЧУБАРЯН, Л. М. АРУТЮНЯН

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

Осуществлена частичная очистка аргиназы поджелудочной железы крыс. Обнаружены два изоэнзима аргиназы. Они обладают одинаковым сред

Сокращения: ГАМК—γ-аминоякельная кислота ЭДТА—этилендиаминтетраацетат; ПХМБ—парахлормеркурибензоат.

ством к аргинину и не ингибируются ГАМК. Лизин ингибирует конкурентно, а пролин — некокурентно один из выделенных изоэнзимов, не влияя на другой. ЭДТА и ПХМБ в разной степени подавляют активность обоих изоэнзимов аргиназы поджелудочной железы крысы.

Իրականացվել է տոնետի Լեթատամբուսային գեղմի արգինազայի մասնակի մաքրում. Հայանարևրվել են արգինազայի երկու իզոէնզիմներ: Փրանք ջուրյարևում են միեկույն ինամակցոսթյուն արգինինի եկամամբ, չեն արգելակվում պամինակարազամբովով: Կրկին՝ մրցակցային, իսկ պրոլինը ոչ մրցակցային կետով արգելակում են անգամաված իզոէնզիմներին մեկը՝ շարժելով մյուսի վրա: ԷԴՏԱ-ն և ՊՔՄԲ-ն տարբեր չափով ընկճում են տոնետի Լեթատամբուսային գեղմի արգինազայի երկու իզոէնզիմներին ակտիվությունը:

The rat pancreas arginase has been partially purified. Two isoenzymes of arginase have been found. They have the same specificity with arginine and are not inhibited by glutamic acid. Lysine competitively and proline — non-competitively inhibit one of the isoenzymes, but do not affect the other one. EDTA and p-chloromercuribenzoate in different degrees inhibit the activities of both isoenzymes of rat pancreas arginase.

Аргиназа — поджелудочная железа

Общепризнанной ролью аргиназы в метаболизме уреотелических организмов является ее функция в цикле мочевинообразования. Наиболее полно охарактеризована аргиназа печени крысы, находящаяся в высокоочищенном состоянии. Она состоит из четырех субъединиц с молекулярной массой 30000, активизируется ионами марганца и для полной активности нуждается в четырех молекулах металла на молекулу фермента [7]. Показано, что триптофановые и гистидиновые остатки важны для проявления активности аргиназы печени крысы [5]. Роль этих остатков в механизме действия фермента пока не выяснена. Ясно только, что падение активности аргиназы вследствие модификации этих остатков не связано с нарушениями в четвертичной структуре фермента, поскольку не наблюдается ни диссоциации фермента на субъединицы, ни агрегации.

Однако наряду с ферментом (уреотелическим), участвующим в цикле мочевины, в природе широко представлены и другие, неуреотелические, формы его, не связанные с циклом мочевинообразования [1, 16]. Этот тип аргиназы обнаружен в различных органах и, как показано на крысах, в отличие от уреотелического печеночного фермента, обнаруживаемого уже в зародышевой ткани, появляется позднее [6]. Эта аргиназа может принимать участие в биосинтезе пролина, регуляции содержания полиамнов, лимитировании аргининбогатых гистонов [8]. Из неуреотелических форм аргиназы довольно подробно изучен почечный фермент, что позволило выявить различия между указанными двумя типами по ряду свойств: локализации, поведению при ионообменной хроматографии, активированию ионами марганца, иммунологическим свойствам и т. д. [8, 15].

Исследования по аргиназе поджелудочной железы в доступной литературе нами не обнаружено, лишь в работе Грингард и сопр. [6] отмечается наличие аргиназной активности в поджелудочной железе крысы.

Нами осуществлена описка аргиназы поджелудочной железы крысы

и изучены некоторые свойства (Km, Ki, влияние ПХМБ и ЭДТА) выделенных в ходе очистки двух изоэнзимов фермента.

Материал и методика. Опыты проводили на белых крысах. Животных декапитировали, быстро шпателькали поджелудочную железу (2—3 г), промывали и готовили гомогенат (20%) в 0,05 М трис-НСl буфере (рН 7,4) с 0,01 М $MnCl_2$ и 0,005 М аргинина. Гомогенизацию проводили в стеклянном гомогенизаторе типа Поттера-Элвельджа с тефлоновым пестиком (5 раз по 30 секунд).

Аргиназную активность определяли методом Ратшер [14], выражали в микромолах мочевины, удельную активность—в мкМ мочевины/мг белка. При необходимости реакционную смесь после инкубации центрифугировали. Мочевину определяли методом Арчибалда [4]. Белок по Лоури или спектрофотометрически на СФ-16 при длине волны 280 нм.

Ki определяли графическим методом Лайнувер-Бэрка, L-аргинин добавляли в инкубационную среду в количестве 1, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 и 480 мкМ. Ki определяли по методу Диксона, аминокислоты добавляли в инкубационную среду в количестве 5, 10, 25, 50 и 100 мкМ в присутствии 50 и 200 мкМ аргинина. ПХМБ применяли в концентрации 10^{-4} — 5×10^{-5} М.

Результаты и обсуждение. Очистку аргиназы поджелудочной железы крыс осуществляли нижеприведенными этапами.

После центрифугирования при 18000 об/мин в течение 30 мин 20%-ного гомогената основная часть активности (2980 из 3320) обнаруживалась в надосадочной жидкости (табл. 1). Последнюю затем нагревали при 15° в течение 10 минут. Предварительно температуру ферментного

Таблица 1. Этапы очистки аргиназы поджелудочной железы крыс

Этап	Общая актив- ность, мкМ мочевины	Общая белок, мг	Уд. актив- ность, мкМ мочевины/мг	Очи- тка	Вы- ход, %
Гомогенат	3320	8,4	3,8	—	—
Надосадочная жидкость	2980	4,0	8,3	—	89,7
Осадок	340	4,4	7,7	—	10,3
Термическая обработка	3020	112	27,0	7,1	91,2
Гельфильтрация, сефадекс G-150	2790	1,0	28,3	10,1	91,7
Высаживание (NH ₄) ₂ SO ₄	578	3,0	66,4	17,4	77,3
ДЭАЭ—целлюлоза					
I фракция	169	—	—	—	—
II фракция	2807	17	168,0	44,3	86,0

препарата доводили до необходимой в более горячей водяной бане (55°). По истечении указанного времени смесь охлаждали в ледяной бане, затем центрифугировали при 18000 об/мин 30 минут.

Полученную после термической обработки надосадочную жидкость подвергали гельфильтрации на колонке с сефадексом G-150 (2X75 см), насыщенным трис-НСl буфером (рН 7,4) с 0,01 М $MnCl_2$ и 0,005 М аргинина. Объем фракций 5 мл. Аргиназа элюировалась с высокомолекулярными белками во фракциях 14—25 одним пиком.

Смесь активных фракций после гельфильтрации подвергали высаживанию сульфатом аммония при постоянном перемешивании в течение 30 мин на магнитной мешалке. Аргинин осаждался в пределах насыщения 20—30%. Для избавления от сульфата аммония выпавший осадок после центрифугирования при 18000 об/мин в течение 30 мин растворяли в 4 мл используемого буфера и пропускали через колонку с сефадексом G-50 (1,6X45 см).

После высаливания ферментный препарат наносили на колонку с ДЭАЭ—целлюлозой, насыщенной используемым буфером (1,6×18 см). Аргиназа выходила двумя пиками: первый, слабо выраженный—элюировался буфером, второй, более активный—0,5—0,75 М NaCl в буфере. Таким образом, получен очищенный в 44 раза препарат с высоким выходом—86%.

Полученные частично очищенные препараты аргиназы использовались далее для изучения некоторых свойств фермента.

Предварительное изучение влияния продолжительности хранения препаратов при +4° на сохранность активности выявило различия в выделенных двух формах (табл. 2). Оказалось, что активность первого

Таблица 2. Влияние продолжительности хранения на активность изоэнзимов аргиназы поджелудочной железы крыс (активность в мкМ мочевины в пробе)

Изоэнзим	Дни							
	I	IV	VIII	XII	XVI	XX	XXIV	XXVIII
I	0,45	0,49	0,0	0,43	0,39	0,37	0,36	0,37
II	1,86	1,75	1,17	0,98	0,34	0,29	0,23	0,21

фермента остается на первоначальном уровне в течение 8 дней, затем она несколько падает и к концу месяца сохраняется около 80% ее. Вторая же форма уже к 12 дню теряет почти половину активности, сохраняя к концу месяца лишь 11% ее.

Определение кажущихся K_m выделенных двух форм аргиназы поджелудочной железы крыс для аргинина показало их высокое сродство к субстрату 10^{-3} М для первого и $1,8 \times 10^{-2}$ М для второго изоэнзима.

Согласно литературным данным, орнитин, лизин, ГАМК, пролин являются ингибиторами аргиназ различного происхождения [2, 8, 9]. Наши исследования показали, что ГАМК не влияет на активность обеих выделенных форм аргиназы, а лизин и пролин ингибируют лишь I изоэнзим, причем лизин—конкурентно, а пролин—неконкурентно (табл. 3).

Для выяснения роли и степени участия функциональных групп в проявлении активности и сохранении нативной конформации фермента широко используются реагенты на различные функциональные группы. ПХМБ, согласно литературным данным, не ингибируя уреотелическую аргиназу, полностью подавляет активность урикоглицерических форм фермента [3, 10—12].

Результаты наших исследований обнаружили некоторые различия в поведении выделенных новообменной хроматографией двух изоэнзимов аргиназы поджелудочной железы крыс в присутствии ПХМБ. Если I изофермент сохраняет свою активность в присутствии реагента (за исключением его наиболее высокой концентрации), то II—обнаруживает некоторое падение активности при концентрации 10^{-3} — 10^{-4} М (табл. 4). Подобное поведение может говорить об отсутствии сульфгидрильных групп в активном центре I изофермента, но не исключает возможности их участия в проявлении активности второго.

Таблица 3. Значение кажущихся K_i (М) изоэнзимов аргиназы поджелудочной железы крыс

Аминокислоты	Изоэнзимы	
	I	II
Лизин	6.7×10^{-2}	не инг.
Пролин	4.2×10^{-2}	не инг.
ГАМК	не инг.	не инг.

Таблица 4. Ингибирование ПХМБ активности изоэнзимов аргиназы поджелудочной железы крыс (%).

ПХМБ (М)	Изоэнзимы	
	I	II
10^{-4}	8.6	16.3
10^{-5}	0	16.3
$5 \cdot 10^{-7}$	0	9.3
10^{-6}	0	7.0
$5 \cdot 10^{-7}$	0	0

Нами исследовалось также влияние ЭДТА, который, связывая обратимо двухвалентные катионы, может ингибировать ферменты, каталитическая активность которых проявляется лишь в присутствии этих ионов. Диссоциация аргиназы печени крыс в присутствии ЭДТА и потеря ею активности показано Порембской [13]. Добавление ионов марганца приводило к реассоциации субъединиц и восстановлению ферментативной активности. В используемой нами концентрации (0,01 М) ЭДТА в разной степени подавлял активность I и II изофермента аргиназы поджелудочной железы крыс (на 13 и 39% соответственно), что может указывать на наличие в наших препаратах двухвалентных катионов, связанных с проявлением аргиназной активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давтян М. А., Бунягян Г. Х. Биохимия, 10, 412, 1970.
2. Давтян М. А., Арцунян Т. Г., Хачатрян М. А. Биолог. ж. Армении, 29, 7, 28, 1976.
3. Туманян Л. Р., Чубарян С. В., Торчян Р. О., Мозесян А. С. Биолог. ж. Армении, 36, 6, 485, 1983.
4. Archibald R. M. J. Biol. Chem., 156, 121, 1941.
5. Greengard O., Sahib M. K., Klotz W. E. Arch. Biochem. Biophys., 137, 477, 1970.
6. Baranczyk-Kurta A., Poremska Z., Mochnacha I. Acta Biochim. Polon., 23, 151, 1976.
7. Hirsch-Koib H., Koib H. J., Greenberg D. M. J. Biol. Chem., 246, 395, 1971.
8. Kajsen G. A., Strecker M. J. Biochem. J., 133, 779, 1973.
9. Kesava R. K. V., Pals S. F., Barat C. V. J. Brit. Cancer., 30, 129, 1974.
10. Mora J., Mariuscillo L., Ortiz-Pineda L., Soberon G. Biochem. J., 95, 28, 1965.
11. Mora J., Tarrach R., Bojalil L. F. Biochem. Biophys. Acta, 118, 206, 1966.
12. Muszynska G., Rdzfer J. Acta Biochim. Polon., 17, 217, 1970.
13. Poremska Z. Enzyme, 15, 193, 1973.
14. Ratner S., Pappas A. J. Biol. Chem., 179, 1483, 1949.
15. Szzyper-Osiecka I., Robin L., Poremska S. Acta Biochim. Polon., 30, 83, 1983.
16. Spolarics Z., Bond J. S. Arch. Biochem. Biophys., 260, 469, 1988.

Получено 27.II 1989 г.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ РАЗВИТИЯ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ НА ПОВЕРХНОСТИ КОРНЕЙ БОБОВЫХ И ДРУГИХ РАСТЕНИЙ

Е. Н. АВБАКУМОВА, С. А. АРУТЮНЯН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Установлено, что приживаемость специфичных и неспецифичных штаммов клубеньковых бактерий на поверхности корней бобовых растений неодинакова. Адгезивная способность клубеньковых бактерий в отношении злаковых растений зависит от штаммовых особенностей, вида и сорта растений.

Մասնագումար է պարզարկվածների սպեցիֆիկ և ոչ սպեցիֆիկ շտամերի ոչ միասեռակ ներմարմնագոյաները քիմիանոստրոֆներ շուշերի արմատների վրա: Փոխարկվածների ադհիզիան նախաստիկային հյուսվածքների նկատմամբ կարգված է շտամային առանձնահատկությունները, բույսի տեսակը և սորտը:

Different growth of specific and non-specific strains of nodulate bacteria on the surface of roots of legume plants was revealed. Adhesion of nodulate bacteria to the cereal plants depended on the strains' peculiarities, on the species and sort of plants.

Бактерии клубеньковые—идея—бобовые и злаковые растения—биологическая спецификация.

Образование клубеньков и эффективность симбиоза зависят от многих факторов, в том числе от способности клубеньковых бактерий развиваться на поверхности корней растения—хозяина, т. е. от микробной адгезии [3, 5—8]. Найдены различия между специфичными и неспецифичными штаммами клубеньковых бактерий в способности адсорбироваться на корнях бобовых растений [4, 9, 10]. Существует мнение, согласно которому корни бобовых растений токсичны как для специфичных, так и неспецифичных штаммов [2]. Имеются данные также о том, что количество клеток клубеньковых бактерий, адсорбированных на корнях, не зависит от вида растения и способности образовывать клубеньки [1], что корни пшеницы и риса в гидронтной культуре также хорошо адсорбируют клубеньковые бактерии. В задачу настоящего исследования входило изучение способности клубеньковых бактерий приживаться на корнях бобовых растений—хозяев и корней небобовых—пшеницы и овса.

Материал и методика. Использовали клубеньковые бактерии из коллекции Института микробиологии АН АрмССР (ИММИА), природные штаммы и мутанты, полученные с помощью коллицины [1]: *Rhizobium leguminosarum* ИММИА В-5509 (исходный), ИММИА В-5518, ИММИА В-5520 (мутанты); *Rhizobium meliloti* ИММИА В-5502 (исходный), ИММИА В-5520, ИММИА В-5521 (мутанты); *Bradyrhizobium lotum* —647 из коллекции ВНИИСХМ. Растения—хозяева: горох, люцерна, пшеница, овес.

Определение способности клубеньковых бактерий развиваться на поверхности корней растений проводили в стерильных лабораторных условиях. Для получения стерильных проростков семена гороха и люцерны стерилизовали концентрированной серной

Сокращение: ФЭК—фотозлектроколориметр.

кислотой в течение 10 и 5 мин соответственно. Семена пшеницы и овса стерилизовали 20% раствором перекиси водорода 10 минут. Затем все семена промывали стерильной водой и проращивали до образования корешков длиной 2,5—3 см. Корешки проростков инокулировали путем погружения их в суспензию клубеньковых бактерий на 2 с и помещали в чашки Петри на влажную фильтровальную бумагу.

Количество бактерий на поверхности корня проверяли в момент инокуляции и через 1, 3, 7 суток инкубации путем смыва с корней в определенной объеме воды после встряхивания в течение 40 минут. Количество клеток в смыве определяли по оптической плотности суспензии по показателю ФЭК и сравнивали с кривой, построенной для каждого штамма. Одновременно готовили препараты оптически инокулированных корней, которые окрашивали по Гутштейну (фиксатор по Буэну) и просматривали под световым микроскопом (ув. 1000X).

Результаты и обсуждение. При инокуляции проростков гороха и люцерны клубеньковыми бактериями различной специфичности была выявлена неодинаковая интенсивность их роста на корнях своего и чужого растения-хозяина (табл. 1). Различия в интенсивности роста клеток клубеньковых бактерий на корнях проявляются уже через 1 сутки после инокуляции, а в дальнейшем становятся более четкими. Поэтому в таблицах приведены данные о приживаемости клубеньковых бактерий через 7 суток после инокуляции.

Таблица 1 Развитие различных штаммов клубеньковых бактерий на поверхности корня гороха и люцерны (учет через 7 суток)

Штамм бактерий	Специфичность к растению-хозяину	Количество клеток на поверхности 1 корня			
		горох		люцерна	
		внешено, млрд	прирост в число раз	внешено, млрд	прирост в число раз
В-5609—исходный	горох	0,2	14,30	0,70	4,60
В-5618—мутант	горох, люцерна	0,1	10,0	0,05	12,00
В-5620—мутант	горох, люцерна	0,62	6,60	0,25	21,00
В-5502—исходный	люцерна	0,70	0,29	0,25	23,00
В-5621—мутант	люцерна	1,50	2,6	0,22	10,20
В-5521—мутант	люцерна, горох	0,70	22,0	0,20	4,1

Штамм В-5609 из клубеньков гороха лучше развивался на корнях своего растения, т. е. на корнях гороха, и хуже—на корнях люцерны. Через 7 суток количество клеток этого штамма на корнях гороха увеличилось в 54 раза, а на корнях люцерны—в 1,6 раза. Подобная закономерность отмечалась и для штамма из клубеньков люцерны В-5502, количество клеток которого на корнях люцерны увеличилось в 23 раза, а на корнях гороха уменьшилось по сравнению с внесенным.

При инокуляции проростков бобовых растений мутантными штаммами В-5618, В-5620, В-5521 с измененной специфичностью последние хорошо развивались на корнях нового растения-хозяина, люцерне или горохе. Мутантный штамм В-5520 (*R. meliloti*) не изменил специфичности к хозяину, и количество клеток на корнях люцерны увеличилось через 7 суток в 18 раз, а на горохе—всего в 2,6 раза. Мутантный шт. В-5520 на люцерне развивался медленнее исходного шт. В-5502.

Кроме различий в способности клубеньковых бактерий развиваться на корнях растений-хозяев выявлено неодинаковое расположение бактериальных клеток на поверхности корней. При инокуляции растений специфическими штаммами бактериальные клетки располагались на поверхности корня, в основном у кончика его и у корневых волосков. У неспецифических штаммов клетки бактерий находились на некотором расстоянии от поверхности корня, а большая их часть — у основания корня.

Изучение способности клубеньковых бактерий приживаться на корнях небобовых растений — овса и пшеницы 3 сортов — выявило различия между штаммами и сортами растений (табл. 2). Исходные штаммы

Таблица 2. Приживаемость клубеньковых бактерий на поверхности корней растений (учет спустя 7 суток после инокуляции)

Штаммы бактерий	Овес		Сорта пшеницы					
			Армения		Шираки		Безостая-1	
	внесено клеток на корень, млрд	прирост в число раз	внесено клеток на корень, млрд	прирост в число раз	внесено клеток, млрд	прирост в число раз	внесено клеток на корень, млрд	прирост в число раз
В-5609 — исходный, <i>R. leguminosarum</i>	3.6	1.4	1.3	6.46	1.3	8.15	1.75	3.03
В-5618 — мутант, <i>R. leguminosarum</i>	0.6	0	0.2	8.25	0.2	39.0	0.25	3.8
В-5620 — мутант, <i>R. leguminosarum</i>	1.2	0.5	0.1	1.4	0.1	11.0	0.1	103.0
В-5502 — мутант, <i>R. meliloti</i>	1.5	0	2.0	4.75	2.2	2.4	5.9	2.27
В-5521 — мутант, <i>R. meliloti</i>	1.5	10.3	0.2	90.0	0.25	12.0	0.15	23.3
647 — <i>B. japonicum</i>	0.6	34.3	2.2	0.18	1.1	3.2	0.2	22.5

клубеньковых бактерий гороха В-5609 и люцерны В-5502 достаточно слабо росли на корнях указанных растений, неключенные составляли корни пшеницы сорта «Шираки», на которых количество клеток шт. В-5609 увеличилось в 8,15 раз. На корнях овса и пшеницы интенсивнее развивались мутантные штаммы: В-5618 — на пшенице «Шираки», В-5620 — на «Безостая», шт. В-5521 — на пшенице «Армения» и «Безостая-1». Штамм 647 (из клубеньков сои) хорошо рос на корнях овса и пшеницы «Безостая-1».

На корнях злаковых растений клубеньковые бактерии проявляют штаммовые различия: некоторые из них дают больший прирост клеток корней пшеницы и овса, чем на бобовых растениях.

В результате проведенных исследований обнаружена специфичность приживаемости клубеньковых бактерий на корнях бобовых растений. Специфические штаммы лучше растут на поверхности корней своего растения-хозяина по сравнению с неспецифическими.

Мутантные штаммы клубеньковых бактерий с измененной специфичностью хорошо развивались на корнях нового растения-хозяина.

Специфичные и неспецифичные штаммы различались также по расположению клеток на поверхности корней бобовых растений-хозяев.

Адгезивная способность клубеньковых бактерий к небобовым растениям—пшенице и овсу неодинакова и зависит от штаммовых особенностей, а также сорта растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакумова Е. Н., Овсепян М. В., Нилосян В. С. Вопросы микробиологии, Ереван, 8, 18, 43—50, 1981.
2. Самцевич С. А., Равинская А. С., Артишевская С. Ф. Изв. АНБССР, 6, 109—112, 1977.
3. Currier W. W. Can. J. Microbiol., 11, 7, 589—599, 1985.
4. Dazzo F. B., Napoli C., Hubbell D. Appl. and Environ. Microbiol., 32, 1, 166—171, 32, 1, 1976.
5. Dazzo F. B., Truchet G. L., Shorrocks J. E., Hrabak E. M., Mikko A. Pan-Am. L. Appl. and Environ. Microbiol., 48, 6, 1140—1156, 1984.
6. Dixon B. Biotechnology, 2, 34, 208, 1984.
7. Egeraat A. W. S. M. Plant and Soil, 42, 2, 367—379, 1975.
8. Gulash M., Ames P., Larosiller R. C. Appl. and Environ. Microbiol., 18, 149—152, 1984.
9. Macgregor A. N., Alexander M. Plant and Soil, 40, 1, 129—139, 1972.
10. Marshall K. C., Cruickshank R. H., Buskby H. W. A. J. Gen. Microbiol., 91, 1, 198—200, 1975.
11. Pardo S. G. Plant Physiol., 75, 4, 924—928, 1984.
12. Shumshick E. Y., Hebert P. R. Biophys. Res. Commun., 84, 3, 736—741, 1978.

Получено 10.11.1989 г.

Биологический журнал Армении, № 2 (43) 1990

№ 18 577 157.063

БИОКОНВЕРСИЯ В КОРМОВОЙ БЕЛОК ОСТАТКОВ ПРОИЗВОДСТВА ГЕРАНИЕВОГО МАСЛА

Е. Н. МАКАРОВА, Е. М. ДОБИНА, А. М. БЛАЖАН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Показана возможность использования ФГ остатков производства гераниевого масла для получения биомассы кормовых дрожжей. ФГ представляет собой благоприятный субстрат для выращивания дрожжей с высоким выходом биомассы (9,0—11,0 мг/мл), полноценной по содержанию белка (42—44%) и аминокислот.

Առյժ է արդեն խորհեն: չորի արտադրության մնացորդների ՖԳ կիրառան ներախորհչուն կերակրել շարահանների կենսազանգված ստանալու համար: ՖԳ-ն նպաստաբար ստրատրատ է շարահանների կենսազանգվածի բաժնը էլը (9,0—11,0 մգ/մլ) ստանալու համար, որը լիարժեք է ամինաթթուներ (42—44%) և ամինաթթուների պարունակությամբ:

The possibility of use of FII of geranium oil industry wastes for the receipt of fodder yeasts biomass is shown. It is proved that the FII of geranium oil industry wastes is a favourable substrate for cultivation of

Сокращения: ФГ—ферментационный гидролизат; ВС—возлеживающиеся сахара; КЖ—культуральная жидкость.

yeasts with biomass yield 9.0—11.0 mg/ml containing 43—44 per cent of protein.

Кормовой белок—ферментативный гидролизат—целлюлозы—гераниевые отходы.

Биоконверсия целлюлозосодержащих материалов в белок в настоящее время может быть осуществлена только путем иммобилизации микроорганизмов на этих материалах (прямая биоконверсия) или их гидролиза (двухстадийная биоконверсия) в качестве субстратов [1].

Имеются немногочисленные данные по использованию многостадийных процессов получения белка на целлюлозосодержащих субстратах, хотя этот способ обладает рядом преимуществ и может рассматриваться как перспективный. Достижения в области получения ферментов уже могут обеспечить неплохие показатели всего процесса ферментативного гидролиза. Кроме того, именно этот способ позволяет получить продукт с высоким содержанием белка. Так, при выращивании дрожжей *Candida tropicalis* на ФГ опилок древесных пород была получена биомасса с выходом 17,0 г/д и содержанием белка 42,0—44,0% [3]. При выращивании *Candida utilis* на ФГ рисовой соломы было получено 0,8—1,05 г/100 мл биомассы [11], что ниже продуктивности данной культуры на ФГ соломы пшеницы [8]. На ФГ стеблей табака при смешанном культивировании дрожжей *Candida tropicalis* и *Candida helvtiae* получена биомасса с выходом на единицу заданных сахаров (ЭК) 56,0% и содержанием белка 41,0—43,0% [4].

Исследование ферментативных и микробиологических превращений растительных остатков диктуется не только требованиями экологии, они перспективны и в отношении снижения экологической опасности.

Цель настоящего исследования состояла в изучении возможности использования ФГ остатков герани для получения кормовых дрожжей.

Материал и методика. В качестве целлюлозосодержащего материала были использованы отходы эфиромасличного производства в Армянской ССР. После измельчения и обработки с помощью 1,5%-ного раствора гидроксида натрия и 28%-ного раствора этаноламина остатки герани подвергали ферментативному гидролизу с помощью гриба *Trichoderma reesei*, шт. ИИМНА 10206 с общей целлюлазной активностью 0,5—6,0 ед/мл, определяемой по методу Мандельс-Вебера [9].

Гидролиз 10%-ной суспензии растительного материала в КЖ (рН 1,7) проводили при 50° в течение 6 часов. За это время образовывалось 6,0—6,5 мг/мл ВС. Реакционную смесь отделяли и повторно использовали для гидролиза новой порции остатков герани в течение 18 часов. Получался ФГ уже с содержанием ВС 1,5—2,0%. Затем вновь повторяли процедуру отделения смеси и использования для гидролиза новой порции герани. Так получали ФГ с содержанием ВС 3,0%. Углеводный состав ФГ был следующий (% от общей суммы ВС): глюкоза—20—22 (определялась глюкозооксидазоксидазным методом [2]), целлюлоза—25—30, ксилоза—20, а также арабиноза, галактоза, уроновые кислоты, определяемые методом хроматографии на бумаге [6]. Содержались также аминокислоты, которые определяли на автоматическом аминокислотном анализаторе ААА-339 (Чехословакия), уксусная кислота, применяемая для подкисления среды до рН 4,7, и золевые элементы растительной ткани, на которой культивировали продуцент целлюлазы.

Разнообразие соединений, входящих в состав ФГ, позволяет охарактеризовать его как полноценную питательную среду для культивирования дрожжей. Этим обусловле-

на также целесообразность использования ассоциации культур микроорганизмов для более полного потребления всех компонентов ФГ.

С этой целью были выбраны культуры дрожжей *Candida guilliermondii* шт. ВКМ У-43, хорошо использующих кеплозу, и *Candida shehatae*, шт. ИИМИА №10204, обладающих высокой усвояемостью целлобиозы.

Использовался ФГ с содержанием ВС 1,0—3,0%, обогащенный сульфатом аммония—0,3% (рН 5,0—5,5). Культивирование проводили в 250-миллилитровых колбах с 40 мл среды на качалках со скоростью вращения 200—250 об/мин при 30° в течение 24 часов. Посевной материал дрожжей выращивали на среде Биэли с соев. [7] в течение 18 ч и вносили в ФГ в количестве 2%. После выращивания биомассу дрожжей отделяли центрифугированием, высушивали при 80° до постоянной массы. Определяли выход биомассы (мг/мл), ЭК, а также оценивали на основании содержания сырого протеина, истинного белка по методу Тер-Мхитаровой и Шульги [5] и содержания аминокислот, ВС в КЖ определяли по Шомоды [10].

Результаты и обсуждение. В табл. 1 приведены данные по выращиванию смешанной культуры дрожжей на ФГ остатков герани.

Таблица 1. Сравнительная оценка раздельного и совместного культивирования *C. guilliermondii* и *C. shehatae* на ФГ остатков герани

Показатель	Концентрация восстанавливающих сахаров, %		
	1.0	2.0	3.0
<i>Candida guilliermondii</i>			
Потребление ВС из среды, %	97	90	70
Количество биомассы, мг/мл	4.23	11.24	11.1
ЭК, %	42.3	40.2	31.0
Содержание в биомассе сырого протеина, %	50.3	52.5	52.5
Содержание в биомассе белка, %	41.3	41.5	42.6
<i>Candida shehatae</i>			
Потребление ВС из среды, %	91	86	70
Количество биомассы, мг/мл	4	7.6	10.1
ЭК, %	40.0	48.3	51.6
Содержание в биомассе сырого протеина, %	52.5	52.5	51.6
Содержание в биомассе белка, %	43.6	41.6	42.8
<i>Candida guilliermondii</i> — <i>Candida shehatae</i>			
Потребление ВС из среды, %	100	95	67
Количество биомассы, мг/мл	4.62	10.1	12.5
ЭК, %	48.2	50.5	41.0
Содержание в биомассе сырого протеина, %	52.5	53.5	51.5
Содержание в биомассе белка, %	42.0	42.8	43.7

Независимо от концентрации сахаров в ФГ преобладание смешанной культуры выражалось не только в более полном потреблении углеводов из среды, но и во всех других показателях, в том числе в более высоком содержании белка в биомассе.

Исследование влияния концентрации сахаров в ФГ на рост дрожжей показало, что за 24 ч культивирования при содержании ВС 2% выход биомассы в смешанной культуре дрожжей составил 10,1 мг/мл, или 50,5% от заданных сахаров. При концентрации ВС 3% он составил

Таблица 2. Аминокислотный состав белка в биомассе дрожжей *C. guilliermondii* и *C. shehatae*, выращенных на ферментативном гидролизате герани

Аминокислоты	% к биомассе	Аминокислоты	% к биомассе
Цистеин	0,50	Метионин	3,70
Аспартиновая кислота	2,32	Изолейцин	4,80
Треонин	2,15	Лейцин	1,60
Серин	2,41	Тирозин	1,80
Глутаминовая кислота	4,14	Фенилаланин	2,00
Пролин	1,20	Гистидин	1,10
Глицин	1,50	Триптофан	0,30
Аланин	3,70	Лизин	4,30
Валин	4,50	Аргинин	1,40

12,2 мг/мл, или 11,0% от заданных сахаров, т. е. повышение содержания сахаров на 50% способствовало увеличению выхода биомассы на 23%, выход от заданных сахаров снижался на 20%, а потребление их из среды составляло 95 и 67% соответственно. Содержание сырого протеина и белка в биомассе в зависимости от варианта накопилось в пределах 50,3—53,5% и 41,5—43,7% соответственно.

В табл. 2 представлены данные об аминокислотном составе белка биомассы дрожжей, выращенных на ФГ остатков герани. Белок содержит полный набор аминокислот, в том числе незаменимых.

Таким образом, для выращивания дрожжей на ФГ герани как в монокультуре, так и при смешанном культивировании в условиях настоящего эксперимента оптимальными являлись концентрация ВС 2%, продолжительность культивирования 24 часа. Смешанная культура дрожжей при этом имеет преимущество перед монокультурой по всем показателям: потребление сахаров—95%, выход биомассы—10,1 мг/мл, содержание белка—42,8—44,0%. В биомассе содержались 18 аминокислот, все незаменимые, что свидетельствует о полноценности полученного белка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бекер М. Г. Трансформация продуктов фотосинтеза 83—131, Рига, 1984
2. Бершман И. В., Рабинович М. Г., Симицин А. П. Биохимия, 12, 1631—1636, 1977
3. Бончарова Н. Г., Лосякова Л. С., Серебрянников В. М. Тез. докл. 2-го Всес. научн. семинара ДЭМ, 40—51, Рига, 1985.
4. Макарова Е. Н., Добина Е. М., Гаспарян А. Н. Тез. докл. 3-го Всес. научн. семинара ДЭМ, 195—201, Рига, 1988
5. Тер-Малитарова Н. Г., Шимко А. В. Прикл. биохим. и микробиол., 6, 928—930, 1974.
6. Лиш Н. М., Мицек К. Хроматография на бумаге 251—296, М., 1962.
7. Wely P., Kratky J., Kochova K., Kralovicova A., Haner S. Folia microbiologica, 235, 366—371, 1978

8. Gupta J. K., Shirkot C. K., Dhawan S. Acta microbot. Acad. Sci. hung., 28, 131—140, 1981.
9. Mandels M., Vebrr J., Perizek P. Appl. microbiol., 21, 152—156, 1971.
10. Somogni M. A. I. Biol. Chem., 190, 145, 61—69, 1945.
11. Toyama N., Ogawa K. In Chose T. K. (ed.) Proc. Bioconversion Symp., 373—375, T—Delhi, 1977.

Поступило 25.V 1989 г.

Бюллетень журн. Армении, № 2.(43).1990

УДК 575.24.541.4

ПРОЛИН КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ФЕРТИЛЬНОСТИ ПЫЛЬЦЫ КУКУРУЗЫ

С. Г. ЕРВАНДЯН

Ереванский государственный университет, кафедра генетики и цитологии

На кукурузе сорта Жеребковский 90 МВ показано, что метод пролино-изатинового окрашивания один из эффективных для определения качества пыльцы, особенно при учете генетических последствий факторов окружающей среды.

Եզրապատճառների փերկրհոգուի 90 ՄՎ սորտի սրինակով ջուլյոյ է սրվել, որ պրոլին-իզատինային ներկումը կարելի է համարել ծաղիկափռու ֆերտիլության որոշման լավագույն մեթոդներից մեկը, հատկապես միջավայրի դործոնների դեմքին-իկանան ազդեցությունը գնահատելու:

Using the Zherebkovski 90 MV sort maize it has been shown that the proline-izatine colouring method is one of the most effective ones for the definition of pollen quality, especially for calculation of genetic consequences of environment factors action.

Фертильность пыльцы кукурузы—пролин—изатин.

Известно, что фертильность, жизнеспособность и морфологическая однородность пыльцы являются определяющими параметрами в растениеводстве, особенно при действии различных факторов. Эти показатели определяют разными методами (ацетокарминовым, с помощью реагента Люголя, определением ферментативной активности, проращаемости) [1]. Одним из эффективных способов исследования качества пыльцы можно считать метод платинового окрашивания. При этом степень фертильности определяют по интенсивности окраски зрелой пыльцы, которая зависит от концентрации содержащегося в ней свободного пролина. Метод разработан Палфи с сопр. [8], которые исследовали различные виды из восьми семейств насекомоопыляемых и ветроопыляемых растений. Высказано предположение, что для многих видов растений концентрация аминокислоты в вытяжке из пыльцы пропорциональна степени фертильности [6—9]. Кукуруза относится к растениям пролинового типа (содержание пролина в зрелой пыльце этой культуры составляет 1,37—2,51%) и поэтому является удобным объектом для исследования.

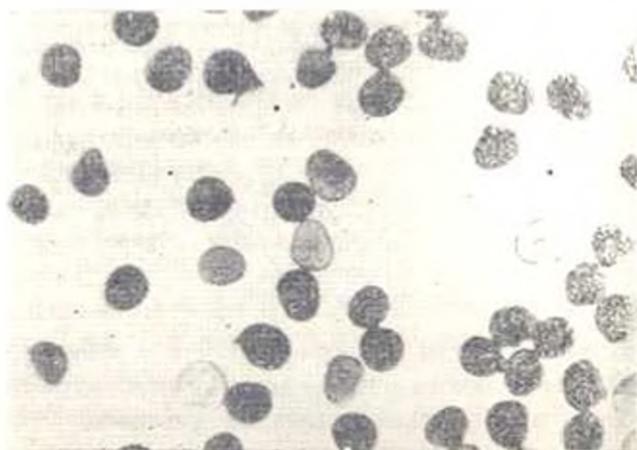
Сокращения: ТМД—тетраметилицурвадисульфид.

В настоящем сообщении приводятся результаты определения жизнеспособности пыльцы кукурузы с использованием метода пролино-изатинового окрашивания.

Материал и методы. Изучались пыльца растений кукурузы сорта Жеремьевский 90 МВ, выращенных и обработанных пестицидами ГМД и фентиурином семян. Пыльца собрана с 15—20 растений в полевых и тепличных условиях. Пыльцевые зерна красили платиновым реагентом.

Для убедительности и правильной оценки отдельных вариантов учет проводили в полевых и тепличных условиях зрелая, несмотря на данные литературы [8] о достоверности в полевых условиях. Реакцию на пролин выявляли по интенсивности окрашивания пыльцевых зерен. Определяли фракции фертильных, полуфертильных, стерильных пыльцевых зерен. Исследования пыльцы нами проведено как на свежесобранной так генциперином (10%), так и на сохранившейся в полевых условиях пыльце. Преимуществом этого метода является возможность проведения анализа спустя несколько месяцев.

Результаты и обсуждения. Результаты исследования показали, что у сорта кукурузы Жеремьевский 90 МВ реакция на данную аминокислоту весьма своеобразна. Известно, что пролинположительные пыльцевые зерна фертильны и окрашиваются в черно-синий цвет (рис.). При наличии большого количества пыльцевых зерен нами выявлены интерес-



Фракции пыльцевых зерен после окрашивания платиновым реагентом (из опыта в тепличных условиях). 1. темные—фертильные, 2. светлые—на фотографии соответствуют розовым и серым стерильным пыльцевым зернам, 3. типичные стерильные.

ная закономерность. В богатой пролином пыльце окраска почти черная, но с уменьшением количества этой аминокислоты ослабляется и интенсивность окрашивания появляются синие, голубые оттенки. Такие пыльцевые зерна считаются фертильными, однако качественно эти фракции отличаются и неравнозначны по своей полноценности. Особенности изатинового окрашивания проявляются и в том, что в общей массе пыльцы помимо нормальных, окрашенных полностью выделков, наблюдаются и полукрашенные (табл.). Последние мы условно назвали полустерильными (полуфертильными). В такой пыльце наблюдается целая гамма переходных оттенков (синий, сине-зеленый, голубой

Число просмотренных пылевых зерен

Варианты опыта	общие		стерильные		полустерильные (полуфертильные)		t
	число	%	число	%	число	%	
Теплица							
Контроль	2010	1,2	58	5,15	58	2,9	
ТМГД	6137	26,1	206	3,38	206	3,35	<0,001
Февтнурам	417	9,8	65	22,42	65	15,10	<0,001
Поле							
Кон: роль	14761	11,9	985	7,8	985	6,67	
ТМГД	7437	6,7	614	9,37	614	8,25	<0,001
Февтнурам	17460	4,74	2041	12,45	2041	11,68	>0,01

сине-желтый). Причем в таких пылевых зернах зона окрашиваемости сильно колеблется: в одних случаях окрашена полонина пылевых зерен, в других — большая (1/5) часть. При этом и полуфертильных пылевых зерен спектр окраски колеблется так же, как в фертильных. Примечательно, что в отдельных полуфертильных пылевых зернах продолжается дальнейшее развитие мужского гаметофита: в них наблюдаются различные стадии деления генеративной клетки. Такие пылевые зерна можно отнести к категории фертильных.

Полуфертильные пылевые зерна выделяются и при использовании других методов, в частности — с реагентом Люголя. В таких пылевых зернах отмечаются только два цвета — черный и белый. Наличие же переходных оттенков цветовой гаммы в фертильных и полуфертильных пылевых зернах с использованием изатнинового метода показывает степень интенсивности синтеза пролина, а следовательно, и уровень жизнеспособности. Это говорит о большой чувствительности и информативности указанного метода, что подтверждается также и анализом стерильной пыльцы. Если при других способах окрашивания стерильные пылевые зерна остаются желтыми (белыми), то при изатниновом окрашивании, как и в случае фертильности, наблюдаются переходные оттенки. В этом аспекте стерильные пылевые зерна условно разделены на следующие фракции: желтые, неокрашенные (основная масса); розовые, светло-розовые; серые (рис.). Последние две фракции составляют незначительную долю. Следует отметить, что эти фракции особенно типичны для пылевых зерен растений, обработанных пестицидом ТМГД. В общей массе таких стерильных пылевых зерен доля розовых составляла довольно высокий процент — 3,9, а серых — 0,40. Возможно, причиной появления этих необычных для стерильной пыльцы зерен (розовых, серых) являются точковые мутации. Следует учесть и то, что пыльца может быть стерильной по пролину, но по форме и наличию цитоплазмы нормальной.

Для другой фракции стерильной пыльцы характерны деформация, лишение содержимого, сморщенность. Это типичная стерильная пыльца. Такая картина в нашем опыте отмечалась часто. Иногда при первом изатниновом окрашивании реакция не имеет место. Однако это не означает, что исследуемый вид относится к непротиновому типу, причиной может быть и незрелость пыльцы, в которой не накопился пролиин, или же какое-то упущение в методике. В таких случаях окрашивание повторяли в нескольких пробах. Следует отметить, что в обоих условиях выращивания с применением пестицидов, особенно фентиурема, наблюдалось снижение фертильности. При этом отмечалась коррелятивная взаимосвязь между типичными стерильными и полустерильными фракциями. Примененная методика окрашивания пыльцы растений дает возможность определить степень фертильности зрелой пыльцы независимо от жизнеспособности ее к моменту начала анализа.

Таким образом, наличие гаммы цветов в отдельных фракциях пыльцы указывает на сложность становления того или иного качественного показателя. В этом отношении изатниновый реагент является лучшим индикатором, при помощи которого можно выявить переходные реакции метаболизма, охарактеризовать нюансы перехода из одного качественного состояния в другое. При других методах окрашивания промежуточные этапы почти не прослеживаются, и в этом же случае можно определить малейшие колебания уровня фертильности (стерильности).

Вышеизложенное дает основание утверждать, что такой параметр, как фертильность (стерильность) нельзя принимать за абсолютное качество. Последнее доказывается степенью интенсивности окрашивания (при использовании изатнинового реагента), которая и лежит в основе изменения жизнеспособности пыльцы. Отсюда следует вывод о коррелятивной связи между интенсивностью синтеза пролина и уровнем фертильности. Такого рода данные приводятся и другими исследователями для разных культур [5, 6, 8, 9]. Показано также [2, 3], что пролин способствует росту пыльцевых трубок, регулирует водный режим, является активатором дыхания.

На основании полученных данных можно заключить, что пролин-изатниновое окрашивание является одним из лучших методов определения фертильности пыльцы. Для сорта кукурузы Жеребковский 90 МВ он является индикатором жизнеспособности, при помощи которого можно определить малейшие колебания физиологического состояния пыльцы. Считаем, что использование данной методики целесообразно при скрининге мутагенности факторов окружающей среды, для точной оценки генетических последствий исследуемых веществ. Воздействие пестицидами в нашем опыте привело к повышению стерильности и морфологическим отклонениям в пыльцевых зернах. Это мы предлагаем учесть в дальнейших исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аларкин Н. Я., Тарноков В. А., Минаев Е. Г. и др. Физиол. раст., 28, 4, 855, 1978.
2. Бритиков Г. А. Биологическая роль пролина. 79, М., 1979.
3. Курсаков А. Т., Рыжков С. А. Физиол. раст., 27, 4, 735—749, 1980.

4. Пацшва З. П. Практикум по цитологии растений. 213—220. М., 1974.
5. Поддубная-Арнольди В. А. Цитоземблиология покрытосемянных растений. М., 1976.
6. Palfi G., Ginter L., Palfi Z. Acta Bot. Acad. Sci. Hung. 27, 1—2, 179, 1981.
7. Palfi G., Palfi Z. Magyar. 27, 2, 107, 1982.
8. Palfi G. and Erzsöte Mikulik, Acta Botanica Hungarica: 31, 1—4, 15—121, 1985.
9. Zhand H. Q., Gross A. F. Planta, 139, 1, 36, 1953.

Получено 12 IX 1988 г.

Биол. журн. Армения, № 2 (43), 1990

№ 1К 638.1 | 638.178.8

ՄԵԳԱՐԵ ԶԳՈՒՄ Է ԵՐԿՐԱՇԱՐԺԸ

Ա. Օ. ՊԱՊՊԻՐՅԱՆ

Բ. Մալտոցի տեխնիկական մասնագիտացման կենտրոն

1988 թ. դեկտեմբերի 7-ը Երևանի մարտիկների համալսարանի Քաղնի շրջանում (այսօր Մալտոցի) մեգարեի զգումը դիտարկելու վերաբերյալ են արվում մտափնտրությունները և գտնվում էր մեգարեի կենտրոնի կենտրոնական մասի մեկ մեգարեի կենտրոնը:

Наблюдения за поведением пчел перед Спитякским землетрясением 1988 г. (в Талинском районе АрмССР) позволяют отнести их к числу биопредела землетрясения.

Observations of bees' behavior in Armenia (in region (village Dushadem) on the eve of December 7, 1988 earthquake testify that the bees are one of the bio-indicators of earthquake.

Ճանաչելով իր մասը իր իրավունքների մեջ հարցի տեսանկյունից կարգապահության գաղափարում, որը ձևավորվում էր դեռևս չի եղել: Մեր մեկուսները, ինչպես միշտ, հանգրվանել էին Քաղնի շրջանի Մալտոցի գյուղում (Ուրարտական շրջանի վեհաշուր Քաղնի ամրոցը), որով Ուրարտական գյուղում սահմանադրվում է Շիրակի սարահարթից: Արդեն կատարել էին մեգարեների ձևավորման նախապայմարանական աշխատանքները՝ բների խառնուրդ, փեթակներից հանել էին ավելորդ մոմանյացներն ու մեգարեացիները, զրկել միակողմանի միջնաառաջատակներն ու տարագնող բարձրը: Մեգարեները կատարել էին մարման վերջին թորչները, սրտիկից հասարակ որովայնով զնան ձմեռման, կծիկալորվել էին և կարծես սպասում էին, թե երբ ևն զնալու ձմեռուց: Կատարել էին կանխարդելի: Միջոցառումները՝ սրտիկները և զեղամիջոցներ վարդաառուցի և այլ իրավանդությունների զնան, ախտախնայ ու տեղափոխել զույրն ու սարքավորումը, ախտախնայն ու օգտափոխել էին փեթակատուներ (ձմեռուց և սպասում էին նորմար եղանակի՝ մեգարեներին):

Ինչպես 1988 թ. դեկտեմբերի 6-ը իրանալի նախապայմարանները բնականորեն Տար ու արևոտ, առանց բամբակների այլ որևիցե փաթույն մեկվարնասերների արկանոցները փակեցին և շատ զգույշ անգամափոխելները ներս՝ փեթակատուն, որը անդամորդ էր մեր տան ներքնահարկում՝ շերմութան, խոնավության, աղափոխության, լույսի, ձառնի, ձմեռուցի բոլոր պահանջներին բավարարող կիսաառաջատակ նախապայմանով սենյակում: Մինչև ձմեռուց սարված փեթակները հանգստացան, մինչև նրանց արկանոցները բացեցին:

ուչ էր արդեն, մյուս վաթսուներ մնացին զբաւում, նրանց էլ թողեցինք հաշորդ օրը ներս տանելու: Զմեռոցում (փեթակաաանք) նույնիսկ մեղգափեթակների արկանոցները պիտք է բաց թողնել, այն էլ միայն մեկ մեղզի դուրս գալու շարժով, նախ՝ ողբ մարտը լինելու համար և երկրորդ՝ չէ՛ որ ձմեռոցում էլ է մեղու մեռնում: Մեղուն իր մաշը դրում է և երբեք ստանը չի մեռնում, անկախ նրանից, թե փեթակը սրանց է՞ զբաւում, թե՛ ներսում, անզր մութ է, թե՛ լույս: Մեղուն զգալով իր մաշը՝ դուրս է գալիս փեթակից, ապա միայն մեռնում, դրա համար էլ խորհուրդ է տրվում ձմեռոցում փեթակի արկանոցը բաց թողնել, բանի որ մեղուն նույնիսկ մեռնելիս չի սպանում նեղութիւն տալ իր համայնքին: Արայնագի նրանք շարժարանքով իրեն դուրս չտանեն, ինքն է դուրս գալիս, քիչ հետանում փեթակից, բնկնում մի կողմ վրա, ապա շրջվում մեջքի: Ատրերի ու թեերի անշարժանալուց յետո, շարժվում են րեզիկներն ու մեռնում է:

Հաշորդ օրը՝ 1988 թ. դեկտեմբերի 7-ին առաջոտայան մոտավորապես մասը 10-ն էր, երբ տանից իջանք զբաւում մնացած փեթակները ներս ձմեռոց տանելու: Եվ ով գարմանք, դրսում մնացած այդ վաթսուն մեղգափեթակների մեղունները դուրս թափվեցին: Աննպատակ թափառում էին օդում, թռչում այս ու այն կողմ: Նրանց թռիչքը ոչ նման էր ձագախաղի, ոչ մեղվապարսի, ոչ էլ մեղգամոր հարսանեկան (ղուգավորման) թռիչքի: Նման աննպատակ, անբարեխաղ, անարեկիված թռիչք չէինք տեսել, ողբալի ձայներ չէինք լսել, բանի որ մեր ակունցները սովոր էին մեղզի մար շոյանքին, բերրադաշտը թռչելու, ընդհանուր շափարելու, մեղգամոր հարսանեկան թռիչքի շախմատի մեղունների կատույցի, գիշերային մեղրի վերամշակման, թրթուրների կերակրելու բազմազան շրջան շրջան շրջաններին: Մեղունների տարօրինակ թռիչքն ու թվով՝ որ հիշեցնում էր մեղգամորը կորցրած որը մեղգաբնուանիքի սղբը, որը լսում է միայն նոր մայր ունենալուց հետո: Ինչն էր պատճառը, որ մեղունները դուրս էին թափվել իրենց տարուկ կացարաններից, ինչ ուժ էր, որ քանդել էր նրանց սուր մեղգակծիկն ու մղել դուրս, որակց անսովոր սանտուխունը բաւում, հալում ու մաշում էր նրանց: Զարմացած ու գայլապան նայում էինք իրար: Զայրացած, որովհետև կարծում էինք, թե փեթակների մեջ շրջելիս մեկն ու մեկն կպչել է նրանց փեթակին, բայց չէ՛ որ մեկը չէր, մի քանիսը չէին այլ ողջ վաթսուներ: Քաջ գիտենալով, որ այդ վաթսուն մեղգաբնուանիքներն էլ կփռանան, սրով լիտե նման եղանակներին բանդված մեղգակծիկի մեղուններն այլիս չեն կարող չքիվ վերագառնալ իրենց մեղգափեթակները: Խալում էինք փեթակների արկանոցներին ու մեր սչքերին չէինք շափատում, թե ինչպես է մեղունն ու՛ր թաւնութիւնը իրար խեղդելով, արբերով գուր՝ թափվում արկանոցի այդ փորթիկ անցրից: Զգիշելով իրար, հարգանաւ քիտոց աղբյուրի նման թափվում ու թափվում էին դուրս, թափվում թռիչքառախաղաներին, զեանին, պատմանգանների վրա, թռչում օդում:

Եւս չէինք հասցրել րեզիկները կարծիքի գալ, մտածել, գուշակել, երբ մի փոքր գորշոյուն լողեց, ողբ երկրոց արեւերիս տակ: Հարեց մեր մեղգաբնուանը՝ ապագա թանգարանի տանիքի կոմիտեից, շարժ ու փշուր եղան էրբեք հարկի գոնների ու լուսամտանների ապակիները, ճարեց մի պատը, իրարից հեռացան քարերն ու բետոնը, և ճանձվելով խանարճից երկրորդ հարկի բաւնըս մեռարանոց բաց պատշգամբը իր գեղեցիկ ութ հենասյուներով:

Երկրաշարժի Մեկուսն զգում է երկրաշարժը։ Ուժ գարմանալի մեղմաշարժ... Այդ մասին չէինք յսկ անգամ։ Գիտեինք, որ մեկուսն զգում է անձրևի ու կարկուտի գալը, ձյան տեղալը, զգում է եռուցնիսկ սպասվող բամուռուժը, որ նա եղանակի, տեղումների գուշակ է։ Գիտեինք նաև, որ մեղմաշարժին դեռ երբևէ կայծակ չի խփել, չինի այն անտառի ամենաբարձր կաղնու ծառափշակում, թև ամենաբարձր բարածերպի խոտոշներում, չինի պարտեզում դրված ներկված փեթակներում, թև այլուր։ Կայծակը չի խփում, սրովետև մեղմաբուշը հասանքը վանում է։ Գիտեինք նաև, որ մեղուսն զգալով «բզե՛ն» մեղրապարկը չիբք մեղր լցնելով, չեռանում է բնից մինչև վաանդի անցնելը։ Բայց որ մեկուսն զգում է երկրաշարժը՝ չգիտեինք։

Երկրաշարժի աճ ու սարսափից հուսահատ նստել էինք դրսի փեթակներին վրա ու հետևում էինք մեկուսների անցուցարձին։ Խնարկե նկարաանցյինք մի բանի կադր այդ բացատրիկ երեսվթից։

Անցան ժամեր, խաղաղփեց փեթականոցը, խաղաղփեցին մեղուները, կամաց-կամաց վախճորած բաշփեցին իրենց բները, բայց, ցափսք, գուրս թափված մեղուների մոտափորապես կեսը սառեց գրսում և սչեց ցափ, իսկ բայն մտածների մի մասն էլ հալմանարար շկաշողանալով կծիկավարվել, որ իրար սաբացնեն, կորուստի մոտանից։ Ցափալի էր նաև, որ չինք մեղմաբնաանիքներից մայրեր էին մնացել գրսում ու մահացել թռիչքատախառակների վրա։ Պարզվում է, որ երկրաշարժի վաանցից ստիպված գուրս էին եկել թռիչքատախառակի վրա նաև մայրերը, որոնք ավելի ուրբք էն ու շին գեմացել դրսի ցրտին։

Եվ երբ խաղաղփեց փեթականոցը, փակեցինք փեթակների արկանոցներն ու փեթակները, զգուշ աարանք ներս՝ փեթակատուն, ուք պեկանրերի Ե-ին սարել էինք նախորդները։ Երբ բացեցինք փեթակատան գուրս, ահանատես եղանք ավելի դարձանալի ու ցափալի տեսարանի։ Երկրաշարժի պատճառով բաց արկանոցներից գուրս էին թափվել նաև ներս աարած փեթակների մեղուները։ Ողջ փեթակատունը ծածկվել էր մեղմադիակներով։ Այստեղի կորուստը ավելի մեծ էր։

Հետևարար, մեղուսն որակեղ էլ որ չինի, գրսում, թև ներսում, բարածերգում, թև ծառափշակում, զգում է երկրաշարժը և մոտ մեկ ժամ աաա՛՛ վախենալով այդ վաանդից, բնից գուրս է թռչում։

Այս երեսվթր գրեթե նույն ձևով՝ բիշ ավել կոտ պակաս ցնցումներով, տեսել և զգացել էին Աշտարակում՝ մեղմաբուշ Սարիկ Թոմասյանը, որի մեղուները ձմեռում են գրսում, Ղառսում՝ վազդեն Կալթյանը, Պողեի Ճոռում՝ Աղաջան Մարգարյանը, նոր երդեկալի մաշքարուծարանում՝ Կայս Արտանյանը և շատ ուրիշներ։

Ավերացնենք նաև, որ մեղուներն ավելի շատ անհանդատացել, խտոնվել ու գուրս են թափվել, ինչպես նաև կորուստի մատնվել հատկապես երկրաշարժից ավելի շատ ալիբվող գրսում, որակեղ ցնցումն ավելի ուժեղ է եղել, իսկ թույլ ալիբվող սարածրում փնաար բիշ է եղել, կամ չի եղել։

Ստազվել է Տ. Ա 1989 թ.

МАТЕРИАЛЫ К МИКОБИОТЕ ШИРАКА (АРМЯНСКАЯ ССР)

Мучнисторосяные грибы (Пор. *Uromyces*)

С. А. СИМОНЯН

Институт ботаники АН АрмССР Ереван

Приведен список видов паразитных мучнисторосяных грибов Ширака, большая часть которого расположена в зоне землетрясения 1988 г., с указанием растений-хозяев и местонахождений с целью наблюдения в дальнейшем за возможными изменениями видового состава.

Քերպան է Շիրակի, որի մեծ մասը դրվագում է 1988 թ. երկրաշարժի տարածումը, մանրամասն ներկայացված սեփական շուրջակա, նշված է ներ-տեսակերը և Երանց տարածվածը՝ հարստակ սեփականի գրասրահի Կրանց ապագա ձևաբանական փոփոխությունները:

The list of parasitic powdery mildew fungi of Shirak, the most part of which is located in the zone of the earthquake of 1988, is given. The host plants and locations are indicated to observe in future the possible changes in the list of powdery mildew, their hosts and locations.

Микробиота Армении — грибы мучнисторосяные

Большая часть территории Ширака (Верхне-Ахурянский и Ширакский флористический районы [10]) оказалась в зоне разрушительного землетрясения. Стихийное бедствие не может не оказать определенного влияния на видовой состав и распространение микобиоты, так как неминуемо произойдут изменения, связанные с мощным воздействием в первую очередь антропогенного фактора (перераспределение территории населенных пунктов, пастбищных площадей, сельскохозяйственных угодий, освоение ранее неиспользуемых природных участков, создание скотомогильников и свалок строительных отходов, возможность завоза новых видов со строительной и сельскохозяйственной техникой и т. д.). В этой связи представляется целесообразным подытожить имеющиеся о микробиоте Ширака сведения с тем, чтобы при дальнейших исследованиях имелся материал для сравнения.

Микробиота Ширака в целом изучена недостаточно. В начале 30-х и 40-х годов текущего столетия в окрестностях г. Ленинакана проводили сборы различных микробиот Д. Н. и А. А. Бабабяны, в 1948–49 гг. довольно богатый материал по разным группам грибов в Амасийском районе был собран Д. Н. Бабабян, в 1949 г. в окр. с. Паник Артикского района работал В. Акумян, в 1952–53 гг. в Ленинакане, Спитякском, Амасийском и Гукасянском районах был собран материал мною, в 1955–57 гг. сборы по гифальным и перовостранным грибам в Шираке проводила Я. М. Ослыян. Эти материалы по соответствующим группам грибов в свое время были опубликованы [1–6]. Позднее, в 70-х годах, в Ленинакане, Артике и их окрестностях сборы проводили С. Г. Батикян, Н. А. Мартиросян и Дж. А. Гарегинян [7], обобщившие все име-

шлись к тому времени сведения. По их данным в рассматриваемом районе встречаются 215 видов и форм грибов, в том числе 67 видов и форм мучнисторосяных (видимо, по системе Ячевского).

В 1969, 1980, 1984—88 гг. сотрудники группы микологии Института ботаники неоднократно собирали микромицеты в Спитакском, Ахурянском, Амасийском и Гукасянском районах, а также в г. Ленинакане и его окрестностях. Основное внимание уделялось мучнисторосяным грибам, однако одновременно был собран материал и по другим группам грибов, сведения о которых будут опубликованы в дальнейшем.

Ширакская котловина расположена между Ширакским и Памбакским хребтами и массивом г. Арагац, средняя высота ее 1500—1600 м над ур. м., климат континентальный, абсолютный минимум -42° , абсолютный максимум $+33^{\circ}$, количество атмосферных осадков—500—600 мм в год. Наиболее характерным типом растительности являются горные степи, значительно больше половины которых освоены под сельскохозяйственные культуры, природная растительность сохранилась лишь по неудобьям и крутым склонам [8].

Мучнисторосяные грибы Ширака представлены 40 видами из 7 родов телеоморф и 1 вида анаморфы. Ведущими родами являются *Golovinomyces* (11 видов), *Erysiphe* (9) и *Sphaerotheca* (8). Растения-хозяева мучнисторосяных грибов относятся к 145 видам из 94 родов и 25 семейств цветковых растений. Ведущими семействами хозяев являются *Asteraceae* (поражается 31 вид), *Lamiaceae* (22), *Rosaceae* (2), *Fabaceae* (11). Эти семейства растений входят в число ведущих во флоре Ширака [9].

Мучнисторосяные грибы в Шираке поражают почти исключительно травянистые растения. Единичные виды отмечены на интродуцированных деревьях и кустарниках в Ленинакане (*Podosphaera leucotricha*, *Microrosphaera lonicerae*, *M. trifolii*) и лишь *Sphaerotheca pannosa* часто встречается в природе на дикорастущих шиповниках.

Рассматривая приуроченность мучнисторосяных грибов к растительным группировкам Ширака [8], можно констатировать следующее. Для участков с фриганоидной растительностью характерны *Leveillula lactucarum* (на *Astragalus lagurus*), *L. duriaei* (на *Teucrium polium*, *T. orientale*), *Golovinomyces biocellatus* (на *Thymus kotschianus*). В горностепных формациях часто отмечается *Blumeria graminis* (на *Agropyron cristatum*), (*Sph. epilobii* (на *Chamaenerium angustifolium*) — в увлажненных стациях. В трагакантиках нередко встречается уже указанная *L. lactucarum* (на *Astragalus lagurus*). Среди степных кустарников отмечены *Sphaerotheca pannosa* (на видах *Rosa*), *Erysiphe buhrii* (на различных гвоздичных). Много видов обнаружено в разнотравных луговых степях (*Sph. dipsacearum*, *Golovinomyces cichoraceorum*, *G. riedlianus*, *Microrosphaera trifolii* и др.). В луговых формациях нередки *Blumeria graminis* на *Dactylis glomerata*, *Poa bulbosa*, *Bromus squarrosus* и др. Растения разнотравных лугов также часто поражаются мучнисторосяными грибами, это *Golovinomyces galeopsidis* на *Betonica macroantha*, *Sph. dipsacearum* на *Cephalaria gigantea* и др. В альпийском поясе Ширака мучнисторосяные

представлены очень слабо (*Sph. aphanis* на видах *Alchemilla*, *Sph. ferruginea* на *Poterium polygamum* и др.).

Ряд видов мучнисторосяных отмечался и Шираке во вредоносной степени (*E. betae* на свекле, *G. orontii* на тыквенных, *L. lactuorum* на эспарцете).

В приводимом списке указаны в алфавитном порядке роды и виды мучнисторосяных грибов Ширака, растения-хозяева, пункты и даты сбора, коллектор упоминается в случаях, если это не автор статьи. Гербарий приводимых видов хранится в Институте ботаники АН Арм. ССР (EREM).

1. *Blumeria graminis* (DC.) Speer на *Agropyron cristatum* L. — Талинский р-н, окр. Талина, 22.VII.1980 г.; на *Bromus squarrosus* L. — Артикский р-н, окр. сел. Голгат, 1840 м над ур. м., 6.VII.1948 г. (III. Асланян); на *Dactylis glomerata* L. — Гукасянский р-н, Гукасян, устье реки, под скалами, 18.VII.1953 г.; Ахурянский р-н, Джадзурский перевал, правый борт ущелья, 1920 м над ур. м., 26.VII.1984 г.; на *Flytrigia repens* (L.) Nevski — Амасийский р-н, оз. Арна, субальпийский луг, 14.VIII.1984 г. (Г. Гукасян); Талинский р-н, окр. сел. Мастара, 15.VIII.1984 г.; на *Hordeum bulbosum* L. — Гукасянский р-н, Гукасян, вдоль реки, 18.VII.1953 г.; на *H. vulgare* L. — Гукасянский р-н, Гукасян, поле, 18.VIII.1953 г.; Амасийский р-н, сел. Шурабад, поле, 14.VII.1948 г. (А. Бабаян); Спитакский р-н, сел. Налбанд, 6.VII.1952 г.; на *Poa bulbosa* L. — Ленинакан, городской парк, 24.V.1981 г.; на *P. pratensis* L. — Амасийский р-н, окр. с. Ени-Ед, сухие склоны вдоль шоссе на Гукасян, 14.VIII.1984 г.; на *Trisetum flavescens* (L.) Beauv. — Амасийский р-н, между сс. Амасия и Тапакёй, горный луг, 13.VIII.1984 г. (Г. Гукасян).

2. *Erysiphe aquilegiae* DC. var. *ranunculii* (Crev.) Zhenz. et Chen на *Ranunculus caucasicus* Bleb. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, горная степь, 15.VIII.1984 г.; Амасийский р-н, берег оз. Арна, субальпийский луг, 14.VIII.1984 г. (Г. Гукасян).

3. *Erysiphe betae* (Vahl) Weltzien — Ленинакан и окр. сел. Артик, постоянно отмечалась, начиная с 1929 г. в августе — октябре.

4. *Erysiphe buhrii* U. Braun — на *Eremogone gypsophlloides* (L.) Fenzl — Талинский р-н, г. Артеви, 22.VII.1984 г.; на *Eremogone steuertiana* (Boiss.) Kopp. — Гукасянский р-н, Гукасян, 18.VIII.1953 г.; на *Melandrium album* (Mill.) Garcke — Талинский р-н, г. Артеви, 10.VII.1984 г.; на *M. divaricatum* (Reichenb.) Fenzl. — Спитакский р-н, сел. Налбанд, 6.VIII.1953 г.; на *Silene arguta* Fenzl. — Талинский р-н, г. Артеви, 10.VII.1984 г.; окр. с. Мастара, 15.VIII.1984 г.

5. *Erysiphe convolvuli* DC. var. *convolvuli* — на *Convolvulus arvensis* L. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, горная степь, 15.VIII.1984 г.; г. Ленинакан, повсеместно, 19.VIII.1953 г.; Талинский р-н, окр. Талина, горная степь, 13.IX.1980 г.

6. *Erysiphe cruciferarum* Ditz. ex Juelin — на *Alyssum parviflorum* Bleb. — Амасийский р-н, окр. сел. Ени-Ед, сухие склоны, 14.VIII.1984 г.; на *Bunias orientalis* L. — Гукасянский р-н, Гукасян

скалы над ущельем, 18.VIII.1953 г.; между сел. Салут и Какавасар горная степь, 2200 м. над ур. м., 15.VIII.1984 г.; на *Camelina sativa* (L.) Crantz. — Ленивакан, 1.VII.1930 г. (Д. Бабаян); на *Draba nemorosa* L. — Амасийский р-н, сел. Шурабад, 13.VIII.1948 г. (Д. Бабаян); на *Sinapis arvensis* L. — Гукасянский р-н, Гукасян, вдоль дорог, 18.VIII.1953 г.; между сел. Салут и Какавасар, горная степь, 15.VIII.1984 г. (Г. Гукасян); Ленивакан, Свекловичная опытная станция, 23.IX.1952 г. (А. Бабаян); селекционная станция, 19.VIII.1953 г.; на *Sisymbrium loeselii* L. — Ахурянский р-н, Джаджурский перевал, правый борт ущелья, 1920 м над ур. м., 25.VII.1984 г.; на *Thlaspi huettii* Boiss. — Ленивакан, селекционная станция, 19.VIII.1953 г.; на *Tarritis glabra* L. — Талинский р-н, г. Артеви, 22.VII.1980 г.; на *Papaver fugax* Poit. — Артикский р-н, сел. Паник, в русле высохшей реки, 8.VII.1949 г. (В. Акунян); Талинский р-н, окр. сел. Мастара, между скал, 15.IX.1980 г., 15.VIII.1984 г.

7. *Erysiphe heraclei* DC. — на *Anethum graveolens* L. — Амасийский р-н, сел. Шурабад, 6.VIII.1949 г. (Д. Бабаян); на *Anthriscus nemorosa* (Bieb.) Spreng. — Ахурянский р-н, Ширакский хребет, степенный травянистый склон над Джаджурским перевалом, сырой овраг, 2300 м над ур. м., 23.VII.1980 г.; на *Eryngium* sp. — Ленивакан, у стадиона, 20.VII.1974 г.; на *Pimpinella* sp. — Амасийский р-н, берег оз. Арпа, 2020 м над ур. м., субальпийский луг, 14.VIII.1984 г.; на *P. confusa* Wogonow — Амасийский р-н, берег оз. Арпа, 2020 м над ур. м., субальпийский луг, 14.VIII.1984 г.; на *P. saxifraga* L. — Ахурянский р-н, Ширакский хребет, остепненные травянистые склоны над Джаджурским перевалом, 2000–2300 м над ур. м., 23.VII.1980 г.

8. *Erysiphe pisi* DC. var. *pisi* — на *Vicia* sp. — Ленивакан, селекционная станция, 19.VIII.1953 г.; на *V. truncatula* Fisch. ex Bleb. — Ленивакан, селекционная станция, 19.VIII.1953 г.

9. *Erysiphe polygoni* DC. — на *Polygonum aviculare* L. — Гукасянский р-н, Гукасян, массово, 18.VIII.1953 г.; Ленивакан, опытное поле, 7.IX.1939 г. (Н. Кечек); 29.VII.1952 г. (Т. Степанян); 19.VIII.1983 г.; Талинский р-н, горная степь, 13.IX.1980 г.; на *Rumex alpinus* L. — Ленивакан, свекловичная опытная станция, 23.IX.1952 г. (А. Бабаян); на *R. crispus* L. — Гукасянский р-н, Гукасян, вдоль реки, 18.VIII.1953 г.; Ленивакан, селекционная станция, массово, 19.VIII.1953 г.; Аникийский р-н, между сел. Маралик и г. Ленивакан, вдоль шоссе, 13.VIII.1984 г.

10. *Erysiphe thesii* Junell — Талинский р-н, окр. сел. Мастара, горная степь, 15.VIII.1884 г.

11. *Golovinomyces blotcellatus* (Ehrenb.) Zet. — на *Ajuga* sp. — Гукасянский р-н, Гукасян, под скалами, 18.VIII.1953 г.; на *Lallemantia peltata* (L.) Fisch. et Mey. — Артикский р-н, сел. Паник, у реки и по огородам, 19.VII.1949 г. (В. Акунян); на *Nepeta cataria* L. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, горная степь, 15.VIII.1984 г.; на *N. betonicifolia* C. A. Mey. — Амасийский р-н, окр. сел. Ели-Елсухне склоны, 14.III.1984 г. (Г. Гукасян); берег оз. Арпа, субальпийский луг, 14.VIII.1984 г. (Г. Гукасян); на *N. sulphurea* C. Koch —

Ширакский хребет, оштетненный травянистый склон над Джаджурским перевалом, 2000—2300 м над ур. м., 23.VII.1980 г.; на *Salvia staminea* Montbr. et Auch. subsp. *armeniaca* Bordz. — Амасийский р-н, оз. Арпа, субальпийский луг, 14.VIII.1984 г.; окр. сел. Ени-Ел, сухой склон вдоль шоссе на Гукасян, 14.VIII.1984 г. (Г. Гукасян); Спитакский перевал, 2300 м над ур. м., 23.VII.1980 г.; на *Thymus* sp. — Гукасянский р-н, Гукасян, между скал, 18.VIII.1953 г. на *Th. kotschianus* Boiss. et Hohl. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, горная степь, 15.VIII.1984 г.; Талинский р-н, окр. сел. Мастара, между скал, 13.IX.1980 г.

12. *Golovinomyces cichoraceorum* (DC.) Gel. — на *Achillea millefolium* L. — Амасийский р-н, сел. Шурабад, каменные склоны, 15.VIII.1948 г. (Д. Бабаян); на *Cirsium acule* (L.) Scop. — Талинский р-н, сел. Мастара, между скал, 13.IX.1980 г.; на *C. arvense* (L.) Scop. — Ахурянский р-н, Ширакский хребет, оштетненные травянистые склоны над Джаджурским перевалом, 2000—2200 м над ур. м., 23.VII.1980 г.; на *C. ciliatum* (Murr.) Moench. subsp. *szovitsii* (C. Koch.) Petrak — Ахурянский р-н, между сел. Маралик и г. Ленишаканом, вдоль шоссе, 13.VIII.1984 г. (совместно с *Puccinia cnici* Mart.); на *C. echinus* (Bieb.) — Талинский р-н, вдоль шоссе, горная степь, 13.IX.1980 г.; на *C. kosmii* (Adam.) Fisch. ex Hohen — Гукасянский р-н, Гукасян, 18.VIII.1953 г.; Амасийский р-н, сел. Шурабад, 17.VII.1948 г. (Д. Бабаян); между сел. Амасия и Тапакей, горный луг, 13.VIII.1984 г.; (совместно с *Puccinia cirsii* Laeshr.); на *C. lappacearum* Bieb. var. *anatolicum* (Petrak) Tamamsch. — Амасийский р-н, сел. Ени-Ел, сухой склон, 14.VIII.1984 г. (совместно с *Puccinia cnici* Lasch.); на *C. obvallatum* (Bieb.) Fisch. — Талинский р-н, горная степь, 13.IX.1980 г.; на *Hieracium* sp. — Гукасянский р-н, Гукасян, 18.VIII.1953 г.; на *H. cymosum* L. — Талинский р-н, г. Артени, 22.VII.1980 г.; на *H. murorum* L. — Талинский р-н, г. Артени, в укрытии под скалами, 10.VII.1984 г.; на *H. prenanthoides* Vill. — Амасийский р-н, берег оз. Арпа, субальпийский луг, 14.VIII.1984 г.; на *Inula auriculata* Boiss. et Bal. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, горная степь, 15.VIII.1984 г. (Г. Гукасян); на *I. britannica* L. — Гукасянский р-н, Гукасян, 18.VIII.1953 г.; Амасийский р-н, сел. Шурабад, луг у истоков р. Арпачай, 13.VIII.1948 г.; Артикский р-н, сел. Паник, среди посевов озимых, 24.VIII.1948 г. (В. Акумян); на *I. helenicum* L. — Артикский р-н, сел. Меграшен, на поле эспарцета, 2.VII.1949 г. (В. Акумян); на *I. oculus — christi* L. — Талинский р-н, г. Артени, 22.VII.1980 г.; на *Lactuca serriola* L. — Талинский р-н, Талин, окр. церкви Зарника, 15.VII.1982 г. (К. Карапетян, А. Барсегян); на *Picris hieracioides* L. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, горная степь, 15.VIII.1984 г.; на *Pyretrum balsamita* (L.) Willd. — Гукасянский р-н, Гукасян, ущелье реки, на скалах, 18.VIII.1953 г.; Амасийский р-н, между сел. Амасия и Тапакей, горный луг, 13.VIII.1984 г.; Ахурянский р-н, Джаджурский перевал, сухой овраг, близ ручья, 2160 м над ур. м., 23.VII.1980 г.; на *Sonchus oleraceus* L. — Ленишакан, селекционная станция, 19.VIII.1953 г.; на *Tanacetum abrotanifolium*

(L.) Druce — Гукасянский р-н, Гукасян, склоны ущелья, 18.VIII.1953 г.

13. *Golovinomyces cynoglossi* (Wallr.) Gel. на *Alcorno orientalis* (L.) Boiss. — Талинский р-н, г. Артеви, остепненный склон, 1650 м над ур. м., 9.VII.1986 г.; на *Anchusa arvensis* (L.) Bieb. subsp. *orientalis* (L.) Nordh. — Амасийский р-н, берег оз. Арпа, субальпийский луг, 14.VIII.1984 г.; Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, склоны вдоль дороги, горная степь, 15.VIII.1984 г.; г. Ленинакан, опытное поле, 6.VII.1929 г. (А. Бабаян); Спитакский р-н, сел. Налбанд, пшеничное поле, 6.VIII.1952 г.; на *Buglossoides arvensis* L. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, горная степь, 2200 м над ур. м., 15.VIII.1984 г.; на *Cerithe minor* L. — Ахурянский р-н, сел. Дзадзур, 24.VIII.1988 г. (Г. Гукасян); Талинский р-н, горная степь в окр. Талина, 1650 м над ур. м., 13.IX.1980 г.; Спитакский р-н, сел. Налбанд, сухие облаженные склоны, 1650 м над ур. м., 6.VII.1952 г.; на *Cynoglossum officinale* L. — Ахурянский р-н, между сел. Маралик и Ланджик, вдоль дороги, 1900 м над ур. м., 26.VIII.1984 г.; на *Lappula spinocarpos* (Forsk.) Aschers. ex O. Kuntze — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, 2200 м над ур. м., горная степь, 15.VIII.1984 г.; на *Nonea versicolor* (Stev.) Sweet — Амасийский р-н, оз. Арпа, склоны над сел. Гюлленджа, 2000–2200 м над ур. м., 9.VIII.1986 г. (М. Оганезова); на *Pulmonaria angustifolia* L. — Ленинакан, опытное поле, 30.VI.1930 г. (Д. Бабаян); на *Symphytum asperum* Leresch. — Амасийский р-н, между сел. Амасия и Тапакёй, 1950 м над ур. м., горный луг, 13.VIII.1984 г.; Гукасянский р-н, сел. Гукасян, 1975 м над ур. м., ущелье вдоль реки, 18.VIII.1953 г.; между сел. Салут и Какавасар, 2200 м над ур. м., горная степь, 15.VIII.1984 г. (Г. Гукасян); Спитакский р-н, сел. Налбанд, 6.VIII.1953 г.

14. *Golovinomyces depressus* (Wallr.) Gel. — на *Arctium lappa* L. — Ахурянский р-н, между пос. Маралик и Ленинаканом, 1718 м над ур. м., 13.VIII.1984 г.; на *Centaurea* sp. — Артикский р-н, сел. Пашк, у реки, 19.VII.1949 г. (В. Акумян).

15. *Golovinomyces galeopsidis* (DC.) Gel. — на *Betonica macrantha* L. — Спитакский р-н, сел. Налбанд, 1665 м над ур. м., в увлажненном месте, обильно, 6.VIII.1953 г.; на *B. orientalis* L. — Гукасянский р-н, Гукасян, 1975 м над ур. м., по соседству, 18.VIII.1953 г.; на *Lactium album* L. — Амасийский р-н, между сел. Амасия и Тапакёй, горный луг, 1900 м над ур. м., 13.VIII.1984 г.; на *L. maculatum* L. — Амасийский р-н, сел. Шурабад, восточный склон, 17.VIII.1948 г. (Д. Бабаян); на *Marrubium catarifolium* Desc. — Ленинакан, ботанический сад, 19.VIII.1953 г.; на *Phlomis pungens* Willd. — Гукасянский р-н, сел. Гукасян, ущелье реки, между скал, 18.VIII.1953 г.; на *Ph. tuberosa* L. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, горная степь, 15.VIII.1984 г.; Талинский р-н, г. Артеви, 22.VII.1980 г.; 10.VII.1984 г.; Спитакский р-н, Спитакский перевал, 2300 м над ур. м., 23.VII.1980 г.; на *Sideritis montana* L. — Ленинакан, свекловичное поле, 23.IX.1952 г. (А. Бабаян); на *Stachys thersalifolia* (L.) Kuntze — Гукасянский р-н, Гука-

сиян, ущелье реки, на скалах, 18.VIII.1953 г.; между сел. Салут и Какава-сар, горная степь, 2200 м над ур. м., 15.VIII.1984 г.; Талинский р-н, окр. сел. Мастара, горная степь, 1775 м над ур. м., 15.VIII.1984 г. (совместно с *Puccinia stachydis* DC.), на *S. iberica* Vieb. — Гукасянский р-н, сел. Гукасян, ущелье между скал, 18.VIII.1953 г.; на *S. spectabilis* Choisy ex DC. — Ахурянский р-н, Джаджурский перевал, правый борт ущелья, 1920 м над ур. м., 26.VII.1984 г.

16. *Golovinomyces huoscyami* (Zheng et Chen) Gel. — на *Huoscya niger* L. — Амасийский р-н, сел. Шурабад, сорные места, 7.VIII.1948 г. (Д. Бабаян); Ленивакан, опытное поле, 15.VII.1930 г. (Г. Азарян).

17. *Golovinomyces orontii* (Ces.) Gel. — на *Cucumis melo* L. — Ленивакан, опытная станция АрНИИТК, 23.IX.1952 г. (А. Бабаян); на *C. sativus* L. — Ленивакан, 23.IX.1952 г., 9.VIII.1953 г.; на *Veronica gentianoides* Vahl. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какава-сар, горная степь, 15.VIII.1984 г.; на *Solanum tuberosum* L. — Ленивакан, опытное поле, 15.VII.1930 г. (А. Бабаян); 6.VIII.1957 г. (Д. Бабаян).

18. *Golovinomyces riedlianus* (Speg.) Gel. — на *Galium* sp. — Амасийский р-н, сел. Ени-Ел, сухой склон, 2040 м над ур. м., 14.VIII.1984 г.; на *G. verum* L. — Талинский р-н, г. Артеми, 1700 м над ур. м., 22.VIII.1968 г.; Ахурянский р-н, сел. Джаджур, 24.VIII.1988 г. (Г. Гукасян).

19. *Golovinomyces simplex* (Gel.) Gel. — на *Salvia verticillata* L. — Гукасян, 18.VIII.1953 г.; Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какава-сар, горная степь, 15.VIII.1984 г. (Г. Гукасян); Амасийский р-н, окр. сел. Ени-Ел, сухие склоны вдоль шоссе на Гукасян, 14.VIII.1984 г.; между сел. Амасия и Танакей, горный луг, 13.VIII.1984 г.; Ахурянский р-н, сел. Джаджур, 24.VIII.1988 г. (Г. Гукасян).

20. *Golovinomyces sordidus* (Juppell) Gel. — на *Plantago major* L. — Ленивакан, 19.VIII.1953 г.

21. *Golovinomyces verbasci* (Jacz.) Gel. — на *Verbascum* sp. — Амасийский р-н, берег оз. Арва, субальпийский луг, 14.VIII.1984 г.; Ахурянский р-н, Ширакский хребет, остепненные склоны над Джаджурским перевалом, 2000—2300 м над ур. м., 23.VII.1980 г.; между сел. Ланджик и Маралик, 1800 м над ур. м.; 26.VII.1984 г.; Талинский р-н, окр. сел. Мастара, 15.VIII.1984 г.

22. *Leveillata braunii* (Gel. et Stm.) — на *Eryngium billardieri* Delarocche — Артакский р-н, сел. Паник, 13.VII.1949 г. (Акумян); Талинский р-н, окр. Талина, горная степь, 13.IX.1980 г.

23. *Leveillula durtaei* U. Braun — на *Scabiosa bipinnata* L. — Талинский р-н, сел. Арег, г. Артеми, восточной макросклону, 29.VIII.1953 г. (Я. Мулкиджанян); на *Marrubium pycnanthum* Fisch. et C. A. Mey. — Талинский р-н, окр. сел. Мастара, среди скал, 15.VIII.1984 г.; на *Phlomis pungens* Willd. — Талинский р-н, окр. сел. Мастара, горная степь, 15.VIII.1984 г.; на *Teucrium chama edrys* L. — Талинский р-н, окр. сел. Мастара, между скал, 13.IX.1980 г.; на *T. orientale* L. — Талинский р-н, окр. сел. Мастара, горная степь, 15.VIII.1984 г.; на *T. polium* L. — Талинский р-н, окр. сел. Мастара, горная степь, 15.VIII.1984 г.

24. *Leveillula lactucarum* Durricm et Rostam — на *Gaillardia aristata* Pursh. — Ленинакан, городской сквер, 19.VIII.1953 г.; на *Melichrysum armenium* DC. — Ахурянский р-н, между сел. Капе и Азизбеков, сев. скл., 31.VIII.1973 г. (Я. Мулкиджанян); на *H. plicatum* DC. — Талинский р-н, г. Артени, восточный макросклон, 19.VIII.1953 г. (Я. Мулкиджанян); на *Astragalus lagurus* Willd. — Талинский р-н, окр. сел. Мастара, 15.VIII.1984 г.; на *Medicago hemicycla* Grossh. — Талинский р-н, окр. сел. Мастара, между скал, 13.IX.1980 г.; на *Medicago sativa* L. — Ленинакан, опытное поле, 12. VIII. 1939 г.; 16.VI.1940 г. (совместно с *Rumularia onobrychidis* All.); 11.X.1940 г.; 5.X.1945 г. (все сборы Н. Кечер.), 19.VIII.1953 г.

25. *Leveillula taurica* (Lev.) Arnaud — на *Nicotiana affinis* T. Moore — Ленинакан, городской сквер, 7.IX.1969 г.

26. *Leveillula verhasii* (Jacz.) Golovin — на *Verbascum* sp. — Талинский р-н, окр. сел. Мастара, между скал, 13.IX. 1980 г.

27. *Microsphaera astragali* (DC.) Trev. — на *Astragalus* sp. — Гукасян, под скалами в ущелье, 18.VIII.1953 г.; на *A. arenarius* L. — Артыкский р-н, сел. Паник, на меже поливного ячменя, 23.VII.1949 г. (В. Акунян); на *A. falcatus* Lam. — Ахурянский р-н, Джаджурский перевал, сырой овраг, 2000—2300 м над ур. м., 23.VII.1880 г.; на *A. galegiformis* L. — Ахурянский р-н, между сел. Маралик и Ленинкаканом, у обочины шоссе, 13.VIII.1984 г.; на *A. incertus* Ledeb. — Амасийский р-н, сел. Шурабад, каменистый восточный склон, 15.VII.1948 г. (Н. Аслаян).

28. *Microsphaera bacumleri* Magu. — на *Vicia cracca* L. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавазар, горная стена, 13. III. 1984 г.

29. *Microsphaera loniceriae* (DC.) Wint. var. *ehrenbergii* (Göze) U. Braun — Ленинакан, городской сквер и парк им. Шаумяна, 7.IX.1969 г.

30. *Microsphaera trifolii* U. Braun — на *Caragana arborescens* L. — Ленинакан, парк им. Шаумяна, 7.IX.1969 г.; на *Mellilotus officinalis* (L.) Rad. — Талинский р-н, у церкви Зарника, 15.VII.1982 г. (К. Еларпетян, А. Барсегян); на *Trifolium hybridum* L. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавазар, горная стена, 15.VIII.1984 г. (совместно с *Uromyces fallens* (Grossh.) Koenig. et Barth.), на *T. pratense* L. — Ленинкакан, 9.VIII.1930 г. (Д. Бабяян).

31. *Podosphaera leucotricha* (Eh. et Gr.) Sam. — на *Malus domestica* Borkh. — Ленинакан, селекционная станция, 23.VIII.1974 г. (Барегинян)

32. *Sphaerotheca arvensis* (Walt.) U. Braun — на *A. hemilla* sp. — Гукасян, 18.VIII.1953 г.; на *A. epipsila* Juz. — Амасийский р-н, между сел. Амасия и Талакей, горный луг, 13.VIII.1984 г.; Ахурянский р-н, сел. Джаджур, 24.VIII.1989 г. (Г. Гукасян); на *A. persica* Rothm. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавазар, горная стена, 13.VIII. 1984 г. (Г. Гукасян), на *S. schlegelii* (Göze) Juz. — Гукасянский р-н, близ сел. Башеюк, северо-восточный склон, 4.IX.1953 г. (Я. Мулкиджанян).

на *A. vulgaris* L. — Амасийский р-н, сел. Шурабад, 13.VIII.1948 г. (Д. Бабаян); Араратский р-н, сел. Паник, 9.VII.1949 г. (В. Акунян); на *Potentilla* sp. — Гукасян, 18.VIII.1953 г.; на *P. bifurca* Wallroth, Ленинакан, 30.VIII.1930 г. (Д. Бабаян).

33. *Sphaerotheca dipsacorum* (Gal. et Tul.) Junell — на *Cephalaria gigantea* (Ledeb.) Bobr. — Гукасян, 18.VIII.1953 г.; Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, горная степь, 15.VIII.1984 г.; Ахурянский р-н, Ширакский хребет, Джаджурский перевал, сырой овраг, 23.VII.1980 г.; на *S. procera* Fisch. et Ave-Lall. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, горная степь, 15.VIII.1984 г.

34. *Sphaerotheca epilobii* (Wallr. ex Link) Sacc. — на *Chamaenerium angustifolium* (L.) Scop. — Ширакский хребет, оштетненный травянистый склон над Джаджурским перевалом, сырое место у родника-паятника, 23.VII.1980 г.; на *Epilobium montanum* L. — Гукасян, вдоль реки, 18.VIII.1953 г.; на *E. roseum* Schreb. — Амасийский р-н, Шурабад, на болоте, 19.VIII.1948 г. (Д. Бабаян).

35. *Sphaerotheca euphorbiae* (Cast.) Salm. — на *Euphorbia* sp. — Ленинакан, в посевах свекловичной опытной станции, 23.IX.1953 г.; Артикский р-н, сел. Паник, 8.VIII.1949 г. (В. Акунян); на *E. azerbaijdanica* E. Bordz. — Ленинакан, селекционная станция, в посевах, 19.VIII.1953 г.

36. *Sphaerotheca ferruginea* (Schlecht. ex Fr.) Junell — на *Potentium polygamum* Waldst. et Kit. — Галинский р-н, окр. сел. Мастара, между скал, 13.IX.1980 г.; вдоль шоссе Аштарак—Галин, 22.VII.1980 г.; на *Sanguisorba officinalis* L. — Амасийский р-н, сел. Шурабад, сухие луга, 13.VIII.1948 г. (Д. Бабаян).

37. *Sphaerotheca fusca* (Fr.) Blumer — на *Erigeron acer* L. — Галинский р-н, г. Арени, 22.VII.1980 г.; на *E. orientalis* Boiss. — Амасийский р-н, сел. Шурабад, луга, 10.VIII.1948 г. (Д. Бабаян); на *Leontodon asperimus* (Willd.) Boiss. — Гукасянский р-н, между сел. Какавасар и Башлюх, левый борт р. Чичкан, горная степь, каменистый склон, 17.VII.1957 г. (Я. Мулкиджаян); на *L. hispidus* L. — Ленинакан, в посевах селекционной станции, 19.VIII.1953 г.; на *Taraxacum officinale* Wigg. — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, горная степь, 15.VIII.1984 г.; Ахурянский р-н, между сел. Маралик и Ланджик, вдоль дороги, 26.VII.1984 г.; Галинский р-н, окр. сел. Мастара, между скал, 18.IX.1980 г.; вдоль шоссе Аштарак—Галин, 22.VII.1980 г.; на *T. serotinum* (Willd. et Kit.) Poir. — Амасийский р-н, сел. Шурабад, 19.VIII.1948 г. (Д. Бабаян).

38. *Sphaerotheca pannosa* (Wallr. ex Fr.) Lév. — на *Rosa* sp. — Ахурянский р-н, между сел. Амасия и Гапакей, горный луг, 13.VIII.1984 г.; на *R. canina* L. — Ахурянский р-н, Ширакский хребет, оштетненный травянистый склон над Джаджурским перевалом, 23.VII.1980 г.; на *R. spinosissima* L. — Артикский р-н, сел. Паник, 23.VII.1949 г. (В. Акунян).

39. *Sphaerotheca plantaginis* (Cast.) Junell — *Plantago atrata* Horre — Гукасянский р-н, между сел. Салут и Какавасар, горная степь,

торов патогенности у энтеробактерий неоднозначно. В таком случае весьма существенным является тот факт, что штаммы, выделенные от больных ОКН детей раннего возраста [3], часто отличаются сочетанным носительством отдельных факторов патогенности. По-видимому, именно такая сочетанность придает штаммам патогенность и не позволяет им выступать в роли эпидемиологического агента [2, 4]. При этом чрезвычайно важно выяснение вопроса о природе такой сочетанности, т. е. носит она хромосомный или плазмидный характер. Выяснению этого вопроса посвящено настоящее исследование.

Материал и методы. Исследовали 6 штаммов энтеробактерий, выделенных нами от больных ОКН детей. Энтеротоксигенность проверяли на инфицированных отрезках тонкой кишки крыс-реципиентов. Адгезивность и гемолитическую активность выявляли на основании соответствующих методических рекомендаций [5].

Плазмидные ДНК выделены по Бирнбаум-Долли [6]. Идентификацию плазмид проводили методом электрофореза в 0,8% -ной агарозе в поле в бифере, содержащем 0,04 М триацетат pH 7,6), 0,02 М Na-ацетат, 0,02 М Na₂ EDTA.

Трансформацию бактерий плазмидными ДНК проводили по экспресс-методу [1]. В качестве реципиента использовали штамм *Escherichia coli* 2102 PS (получен из ЦНИИИО им. И. И. Мечникова). После проверки на стабильность трансформантов на полученных колониях выделяли плазмидную ДНК, которую также анализировали электрофорезом в 0,8% -ной агарозе [2].

Результаты и обсуждение. У выделенных и использованных штаммов энтеробактерий были определены следующие факторы патогенности, приведенные в табл. 1.

Таблица 1. Характеристика штаммов энтеробактерий

Вид энтеробактерии	Наличие факторов патогенности	Имя энтеробактерии	Наличие фактора патогенности
<i>E. coli</i>	Ent ⁺ , Adh ⁺ , Hly ⁺	<i>S. typhimurium</i>	Ent ⁺ , Adh ⁺ , Hly ⁺
<i>K. oxytoca</i>	Ent ⁺ , Adh ⁺ , Hly ⁺	<i>E. coli</i>	Ent ⁺ , Adh ⁺ , Hly ⁺
<i>Citr. baculifer</i>	Ent ⁺ , Adh ⁺ , Hly ⁺	<i>K. oxytoca</i>	Ent ⁺ , Adh ⁺ , Hly ⁺

Ent⁺—энтеротоксигенная; Adh⁺—наличие адгезивной активности; Hly⁺—цител гемолитичности.

Для выяснения природы патогенности энтеробактерий в культуру необходимо было установить, связана ли адгезивность с наличием плазмиды в клетках бактерий или же она определяется хромосомальными генами. С этой целью был проведен анализ выделенных культур на наличие внехромосомальных генов, определяющих адгезивные свойства микроорганизма.

Анализ включал следующие этапы идентификации ДНК плазмиды: определение функциональной значимости этих плазмид (доказательство наличия экстрахромосомных генов адгезивности).

Электрофоретический анализ выделенной внехромосомной ДНК исследуемых культур выявил наличие как высокомолекулярных, так и относительно низкомолекулярных плазмид (рис. 1). Следует отметить, что наличие плазмид еще не определяет патогенности штамма, так как не всякая плазмиды детерминирует факторы патогенности. Примеча-



Рис. 1. Электрофорез в 1%-ной агарозе. Плазмидные ДНК выделенных штаммов. 1. *K. oxytoca* E_{nt}^{-} , Adh^{+} , Hly^{-} . 2. *E. coli* E_{nt}^{-} , Adh^{-} , Hly^{+} . 3. *S. typhimurium* E_{nt}^{-} , Adh^{-} , Hly^{+} . 4. *Hind III* рестрикта ДНК флага лябля. 5. *Streptococcus* spp. E_{nt}^{-} , Adh^{+} , Hly^{-} . 6. *K. oxytoca* E_{nt}^{-} , Adh^{-} , Hly^{-} . 7. *E. coli* E_{nt}^{-} , Adh^{-} , Hly^{-} . I, II, III, IV — указаны плазмиды, предназначенные для трансформации.



Рис. 2. Электрофорез в 1%-ной агарозе. Плазмидные ДНК трансформантов, трансформация ДНК а (1), ДНК б (2), ДНК с (3), ДНК д (4). Маркеры — *Hind III* рестрикта флага λ , (5).

тельно, что независимо от вида выделенного микроорганизма выявляемая нами высокомолекулярная ДНК плазмид идентична по размерам во всех культурах, а длины остальных плазмид варьируют в среднем от 2,5 до 50 тпн.

Для выяснения функциональной значимости плазмидных ДНК исследуемых патогенных микроорганизмов проводили трансформацию плазмидами I, II, III, IV (рис. 1) штамма реципиента *E. coli* 200PS Hfr , Ent^- , Hly^- , Adh^- . Фенотип полученных трансформантов показан в табл. 2.

Таблица 2. Фенотип доноров и трансформантов

ДНК плазмиды	Фенотип доноров	Фенотип трансформантов	ДНК плазмиды	Фенотип доноров	Фенотип трансформантов
I	A	EAH	III	EH	AH
II	EII	AH	IV	EAH	AH

E—энгеротоксигенность; II—гемолитическая активность; A—адгезивность (специфическая и общая).

Как видно из табл. 2, плазмиды I, II, III, IV, выделенные из *Citrobacter* spp., *S. typhimurium*, *K. oxytoca* соответственно, содержат одинаковый набор факторов патогенности. Несмотря на функциональную эквивалентность этих плазмид, о чем свидетельствуют фенотипы трансформантов исходных штаммов, экспрессия генов, кодирующих факторы патогенности, различается в оригинальных штаммах. Так, например, плазмида I, выделенная из штамма *Citrobacter* Ent^- , Adh^+ , Hly^- в *E. coli* экспрессирует сразу три фактора патогенности Ent , Adh , Hly . С другой стороны, плазмида IV, выделенная из *K. oxytoca* Ent^+ Hly^- , Adh^+ , в трансформантах *E. coli* экспрессирует только два фактора патогенности Adh^+ , Hly^+ .

Эти факты свидетельствуют о том, что экспрессия генов, кодирующих факторы патогенности в исследованных штаммах, зависит от клетки-хозяина, и патогенность всегда может проявиться в благоприятных условиях при смене хозяина, как, например, при естественной циркуляции конъюгативных плазмид в популяциях кишечных бактерий.

Анализ плазмидного состава трансформантов показал существование в них как высокомолекулярных, так и низкомолекулярных плазмид, что наводит на мысль о возможности диссоциации высокомолекулярной плазмиды на ряд меньших (рис. 2). Оказалось также, что плазмиды I, II, III и IV в трансформантах дают одинаковый профиль диссоциации, в связи с чем становится вероятным их структурное родство.

Таким образом, функциональная эквивалентность и структурная диссоциация плазмид в исследованных штаммах позволяет предположить существование одной или нескольких родственных плазмид, циркулирующих одновременно среди многих видов энтеробактерий. Вероятно, генетическая организация плазмид, несущих гены па-

тогенности, может играть определенную роль в формировании потенциальной патогенности микробов. Так, различного рода генетические структуры (типа повторов ДНК, инвертируемых сегментов и т. п.) могут повышать возможности генетической реорганизации микроорганизмов и существенно изменять экспрессию генов. Основываясь на вышеприведенных результатах, можно сказать, что решающее влияние на проявление генов патогенности могут оказывать внутриклеточные факторы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Казянчи А. Ф.* Вопросы молекулярно-клеточной биологии. Мат-лы научн. конф. ЦЭБ АН АрмССР. 13—14, Ереван, 1983.
2. *Макинташ Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж.* Молекулярное клонирование, 79, М., 1984.
3. *Мтицишвили С. Т.* Автореф. докт. дисс., М., 1984.
4. *Покровский В. И., Полоцкий Ю. Е., Юцук И. Л.* и др. ЖМЭИ, 4, 77—80, 1988.
5. *Рахимов А. Х.* и др. Методические рекомендации, М., 1987.
6. *Тимиков В. Д., Кудлай Д. Г., Петровская В. Г., Ларкина Т. И.* ЖМЭИ, 3, 3—15, 1968.
7. *Винфилд Н. С., Daly G. A.* Nucl. Acids Res., 6, 1513—1523, 1979.

Поступило 21.VII 1989 г.

ЗАВИСИМОСТЬ ВЫЖИВАЕМОСТИ КЛЕТОК БАКТЕРИИ *E. coli* K-12 В ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОЛЕ ОТ АМПЛИТУДЫ ИМПУЛЬСА

С. А. ТОПОЯН, Բ. Ա. ՏԱԳԱՏԵՂՅԱՆ, Դ. Մ. ԱՎԱԿՅԱՆ, Շ. Մ. ԱՎԱԿՅԱՆ,
 Վ. Բ. ԱՐԱԿԵՂՅԱՆ, Ն. Ա. ԺՅԱՆՍԵՂՅԱՆ, ՈՒ. Վ. ՏԻՄՈՆՅԱՆ, Ա. Դ. ՏԵՐԱՄՅԱՆ

Противодействие объединение «Молоко», Ереван,
 Ереванский физический институт ГКАЭ

Бактерия E. coli—выживаемость клеток—поле электрическое.

В работе [1] было показано, что гибель клеток бактерий *E. coli* K-12 «дикого» типа в электрическом поле происходит в результате электрического пробоя мембраны бактерий. Этот вывод был сделан на основании теоретического расчета линейной зависимости выживаемости от длительности импульса электрического поля, который хорошо описывает экспериментальную кривую. Дополнительным доказательством в пользу предложенного механизма гибели клеток *E. coli* K-12 в электрическом поле послужило то, что экспериментально определенное значение коэффициента линейного натяжения кромки поры γ в мембране хорошо совпадает в экспериментально определяемый диапазон значений γ для биологов [2]. В данной работе приведены дополнительные экспериментальные данные о действии сильного электрического поля на выживаемость клеток *E. coli* K-12.

В [1] описана экспериментальная установка, на которой проводилась электрическая обработка суспензии клеток *E. coli* K-12. Там же описана микробиологическая часть эксперимента. Исходя из результатов работы [1], длительность импульса (220 мкс) была подобрана такой, чтобы обеспечить максимальный эффект, а амплитуда импульса варьировалась от 8 до 16 кВ/см.

На рис. 1 приведена зависимость логарифма процента выживших клеток *E. coli* K-12 от амплитуды импульса электрического поля (E). Из рисунка видно, что эта зависимость в интервале значений E от 8 до 16 кВ/см имеет вид линейной функции. Тангенс угла наклона составляет $\approx -0,24$ кВ/см, что близко к литературным данным [3]. Аппроксимируя линейную зависимость на большие значения напряженности электрического поля, можно показать, что при $E = 28$ кВ/см имеем 99% гибели клеток *E. coli* K-12. Чтобы добиться выживаемости 0,1%, следует увеличить напряженность амплитуды электрического поля до ≈ 37 кВ/см. Однако конструирование таких генераторов прямоугольных импульсов сопряжено с рядом технических проблем. Другой путь снижения выживаемости клеток *E. coli* K-12 в электрическом поле связан с увеличе-

нием числа импульсов, которые нужно приложить к суспензии клеток. Результаты, представленные на рис. 2, свидетельствуют, что с увеличением числа импульсов резко падает выживаемость: при увеличении числа импульсов от 1 до 10 летальный эффект увеличивается примерно в десять раз.

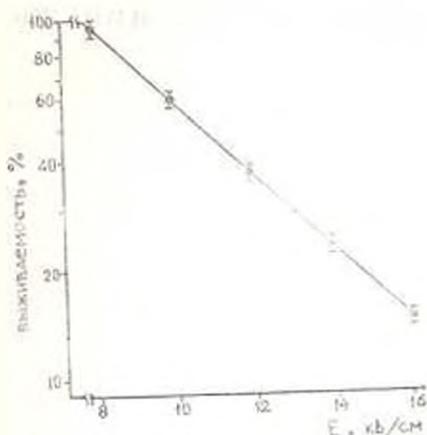


Рис. 1.

Рис. 1. Зависимость выживаемости клеток *E. coli* K-12 от амплитуды импульса (длительность импульса 220 мкс. По оси абсцисс—амплитуда импульса (кВ/см), по оси ординат—выживаемость (%).

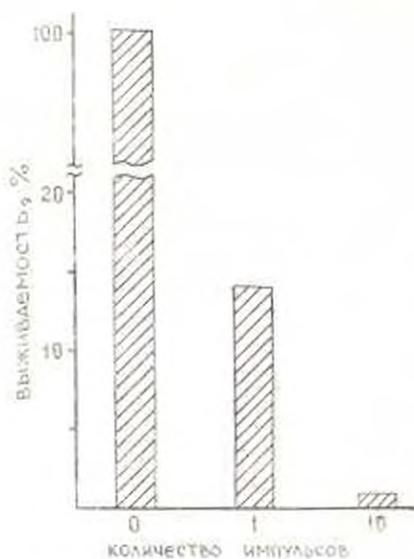


Рис. 2

Рис. 2. Зависимость выживаемости клеток *E. coli* K-12 от числа импульсов (высота импульса—16кВ/см, длительность—22 мкс)

Таким образом, на практике целесообразно снизить выживаемость клеток, увеличив число импульсов электрического поля с достаточно большим значением амплитуды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тоноян С. А., Сивателая Р. А., Авакян Г. М., Левонц М., Аракелян В. Д., Джинполян Н. Л., Симонян Н. В., Степанян Д. Г. Биол. журн. Армении 42, 9—10, 919—922, 1989.
2. Черногорник Л. В., Мелакян Г. Б., Чизмаджев Ю. А. Биологические мембраны, 4, 117—164, 1987.
3. Hulseher H., Pate J., Demoran E. *et al.* *Radiat. Environ. Biophys.* 20, 53—65, 1981.

Поступило 6.XII 1989 г.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ФОРМ РНК НА РАЗМНОЖЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

А. С. АГАБАДЯН, О. Я. ДАВТЯН, С. С. АГАМАЛЯН,
К. Ф. АМБАРЦУМЯН, Р. А. ЗАХАРЯН*

НИИ проктологии МЗ АрмССР, Ереван
*НИИ экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван

РНК—размножение микроорганизмов.

Проблема патогенеза и лечения ран имеет многовековую историю. С полным основанием можно утверждать, что лечение ран—одна из основных проблем хирургии. Несмотря на существование многих разнообразных методов и способов лечения ран, ни один из них не удовлетворяет хирургов в полной мере. В связи с этим поиск новых способов борьбы с раневой инфекцией до настоящего времени остается крайне актуальной проблемой.

Появление лазера, ультразвука, применение вакуумной и гидروвакуумной обработки ран и другие средства значительно расширили возможности хирургической обработки ран.

Как известно, на течение раневого процесса серьезные влияния оказывают изменения, возникающие под воздействием таких факторов, как микрофлора раны и ее биологические свойства, газ и реактивность организма.

В настоящее время ведется поиск высокоактивных, нетоксичных антисептиков биологического происхождения. В этом смысле особый интерес представляет применение низкомолекулярных РНК, обладающих широким спектром биологических эффектов, основными из которых являются иммуномодулирующий, детоксицирующий, стимулирующий метаболизм, регенерацию и др. [3, 4—8]. Низкомолекулярные РНК с успехом были применены для предупреждения послеоперационных гнойных осложнений, в терапии бронхо-легочной патологии, ревматизма, язвы желудка, двенадцатиперстной кишки, для лечения длительно незаживающих трофических язв [2, 10—12].

В настоящем сообщении представлены результаты изучения влияния различных форм низкомолекулярных РНК на рост и размножение микроорганизмов, выделенных из инфицированных ран.

Материал и методы. Применяли различные формы РНК: деРНК, любезно предоставленную членом ЦРР АМН СССР Ф. В. Ершовым (НИИ им. Гамалея, Москва), сеРНК (г. Олави), иРНК-стандарт (Бергск) и коммерческой препарат НИИ Очистки всех препаратов РНК, за исключением деРНК, проводили путем гельфильтрации на колонках с сефадексом С25 в последующие трехкратным перекаждением сжеженерганиями этанолом.

На микроорганизмы использовали стандартные культуры: *Staph. aureus* (стандарт), *Proteus mirabilis*, *St. pneumoniae* и *S. flex.*

Сокращения: деРНК—деполимеризованная РНК, иРНК—одноцепочечная РНК, НИИ—научно-исследовательский институт.

Таблица 1. Влияние различных форм РНК на размножение микроорганизмов

Материал	Время взятия материала, ч																			
	осРНК (рН 7.0-7.2)				НН (рН 7.0)				осРНК-стандарт (рН 7.0)				осРНК рН (1.5-2.0)				Контроль			
	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12
<i>E. coli</i>	—	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	—	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	—	10 ⁶	10 ⁷	10 ¹⁰	—	—	—	—	—	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>Ps. aeruginosa</i>	—	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	—	—	10 ⁶	10 ⁶	—	—	10 ⁶	10 ⁶	—	—	—	—	—	—	10 ⁶	10 ¹⁰
<i>Pr. mirabilis</i>	—	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	—	—	10 ⁶	10 ⁶	—	—	10 ⁶	10 ⁶	—	—	—	—	—	—	10 ⁶	10 ¹⁰
<i>St. aureus</i>	—	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁶	—	—	10 ⁶	10 ¹⁰	—	—	10 ⁶	10 ⁶	—	—	—	—	—	—	10 ⁶	10 ¹⁰

Таблица 2. Влияние различных доз осРНК (рН 1.5-2.0) на размножение микроорганизмов

Дозы мг	осРНК	РНК-аза	осРНК+NaOH	осРНК+РНК-аза	осРНК+NaOH	осРНК+РНК-аза	осРНК+NaOH	Контроль
70	—	—	10 ⁶	—	10 ⁶	—	10 ⁶	10 ⁶
60	—	—	10 ⁶	—	10 ⁶	—	10 ⁶	10 ⁶
50	—	—	10 ⁶	—	10 ⁶	—	10 ⁶	10 ⁶
40	—	—	10 ⁶	—	10 ⁶	—	10 ⁶	10 ⁶
30	—	—	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	—	10 ⁶	10 ⁶
20	—	—	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	—	10 ⁶	10 ⁶
10	10 ⁵	—	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
0.700	10 ¹⁰	—	10 ⁶	10 ¹⁰	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
0.350	10 ¹⁰	—	10 ⁶	10 ¹⁰	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
0.175	10 ¹⁰	—	10 ⁶	10 ¹⁰	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶

Влияние препаратов низкомолекулярных РНК на рост и размножение микроорганизмов исследовали добавлением препаратов РНК в среду обогащения—1%-ный сахарный бульон с последующей инкубацией микроорганизмов при 37° в течение 18—24 ч и пересевом на плотные питательные среды (агар Эпдо, 5%-ный кровяной агар, желточно-солевой агар), а также добавлением препаратов РНК непосредственно в плотные питательные среды для выращивания микроорганизмов.

Результаты и обсуждение. Установлено, что использованные препараты РНК отличались не только по структуре (двухспиральные и односпиральные формы), но и значениями рН. Так, если рН дсРНК, осРНК-стандарта и НН были нейтральными, то рН осРНК была кислой (1,5—2,0). В процессе очистки препаратов значения рН не изменялись.

При выращивании микроорганизмов в присутствии дсРНК в концентрации 100 мкг/мл выявлено стимулирующее влияние ее на рост как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Динамическое наблюдение за размножением кишечной палочки, протей и синеозной палочки в среде с 100 мкг/мл дсРНК показало, что титр бактерий повышается по сравнению с контролем на 1—2 порядка уже через 6 ч после посева на плотные питательные среды. Разница в титрах бактерий в опытных и контрольных флажках сохранялась в течение 12—15 ч (табл. 1). Аналогичные данные об ускорении роста медленно растущих бактерий были получены нами ранее на модели *Salmonella derby* [1]. Эти результаты свидетельствуют о целесообразности использования препаратов дсРНК для стимуляции роста микроорганизмов в экспресс-диагностике островоспалительных заболеваний и при проведении своевременной и специфической терапии. Подобным образом влиял также препарат НН, хотя и в менее выраженной степени. При добавлении в среду обогащения осРНК-стандарта (рН 7,0) размножение бактерий оставалось на уровне контроля. В то же время размножение микроорганизмов, инкубируемых в среде с осРНК (рН 1,5—2,0), полностью подавлялось. Ингибирующий эффект сохранялся и после обработки осРНК РНК-азой, однако гидролиз биополимера 0,3 N NaOH снимал эффект подавления. Эти данные указывают на тот факт, что ингибирующее свойство осРНК целиком зависит от кислых свойства препарата, т. е. в данном случае осРНК выступает в качестве анионного биополимера, нетоксичного для тканей организма.

В следующей серии экспериментов была определена МПК осРНК. С этой целью в питательную среду вносили различные концентрации препарата, от 175 мкг/мл до 70 мг/мл (табл. 2). Из данных, представленных в таблице, видно, что несмотря на сохранение низких значений рН, осРНК в концентрации меньше 40 мг/мл (для протей) и 20 мг/мл (для синеозной палочки) не вызывает подавления роста микроорганизмов.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о возможности применения анионного биополимера осРНК (рН 1,5—2,0) в качестве высокоэффективного, нетоксичного антисептического препарата биологического происхождения в целях эффективной терапии послеоперационных гнойных осложнений и быстрого заживления ран.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асабян А. С., Казимян А. Ф., Сафарян А. С. ДАН АрмССР, 5, 228—231, 1983.
2. Белоус А. М., Годин В. П., Никлов Е. А. В кн.: Экстенсивные нуклеиновые кислоты и восстановительные процессы, 3—44, М., 1974.
3. Земсков А. М., Провоторов В. М., Никитин А. В. Антибиотики, 11, 853—855, 1979.
4. Земсков А. М. ЖМЭИ, 3, 90—84, 1980.
5. Земсков А. М. Микробиол. журнал, 42, 2, 219—225, 1980.
6. Земсков А. М., Сулейманов С. М. ЖМЭИ, 42, 88—93, 1981.
7. Земсков В. М., Медуницын Н. В., Алексеев Л. П. Памунион, 1, 27—30, 1981.
8. Земсков В. М., Родионов С. В., Хроицов А. В. и др. ЖМЭИ, 2, 38—63, 1983.
9. Островский А. Б. Тер. архив, 2, 37—40, 1986.
10. Провоторов В. М., Земсков А. М., Никитин А. В. в сб. Функционалы, 1, 75—76, 1984.
11. Фуке Б. Б., Шершеская С. Ф., Попов Л. М. и др. Вестн. высш. биол. и медицин. 9, 23—26, 1969.

Поступила 1.11.1990 г.

Биолог. журн. Армении, № 2,(43) 1990

УДК 616.288.153

**ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНЫХ СВОЙСТВ ХЛОРИСТЫХ СОЛЕЙ
АЛКИЛОКСИКАРБОНИЛМЕТИЛ ДИМТИЛ (5-МЕТИЛ-
2,4-ГЕКСАДИЕНИЛ) АММОНИЯ**

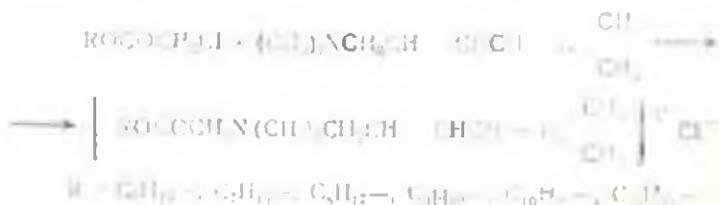
А. В. БАБАХАНЯН, Л. Г. ГРИГОРЯН, Ж. Р. БАБЯН, Г. С. АКОПЯН

Армянский государственный педагогический институт им. А. Абовяна, Ереван

Вещества: ненасыщенные поверхностно-активные—четвертичные аммониевые—бактерицидные вещества.

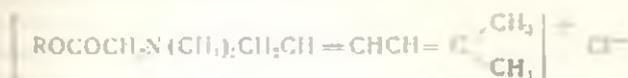
Антимикробные свойства галогидных солей ЧАС зависят в значительной степени от их химического строения. Ранее нами была установлена бактерицидная активность в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов ненасыщенных поверхностно-активных ЧАС, синтезированных на базе сопряженных 1,3-диенов [1—3]—многокомпонентных продуктов производства НИО «Наирит», с целью создания новых эффективных антимикробных средств в настоящей работе изучены бактерицидные свойства вновь синтезированных поверхностно-активных ЧАС, содержащих 5-метил-2,4-гексаденильную группу.

Материал и методика. Указанные ЧАС получены взаимодействием эквивалентных количества алкиловых эфиров монохлоруксусной кислоты и 1-диметил-5-метил-2,4-гексадена при комнатной температуре:



Сокращения ЧАС—четвертичные аммониевые соединения.

Бактерицидная активность ЧАС общей формулы:



Соединения	R	Концентрация растворов, по препарату, %	Гибель микроорганизмов мин	
			кишечная палочка	золотистый стафилококк
I	$\text{C}_6\text{H}_{13}-$	0,1	5	5
		0,01	>30	20
II	$\text{C}_7\text{H}_{15}-$	0,1	25	10
		0,01	>30	25
III	$\text{C}_8\text{H}_{17}-$	0,1	15	5
		0,01	>30	20
		0,025	-	>30
IV	$\text{C}_9\text{H}_{19}-$	0,1	10	5
		0,01	25	10
		0,025	>30	30
V	$\text{C}_{10}\text{H}_{21}-$	0,1	5	5
		0,05	20	5
		0,025	30	20
VI	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}-$	0,1	15	10
		0,05	30	15
		0,025	>30	>30

Исходный 1-диметиламино-5-метил-2,4-гексадиен синтезирован на основе доступного диметилвинилэтилкарбинола.

Испытания бактерицидной активности синтезированных нами соединений проводили на бациловых тест-объектах, обеспеченных культурой кишечной палочки (штамм 1257) и золотистого стафилококка (штамм 906), по общепринятой методике [4].

Результаты и обсуждение. Установлено, что 0,5–0,25%-ные водные растворы всех изученных ЧАС обладают бактерицидной активностью в отношении указанных микроорганизмов в течение 5–30 минут (табл.). Полученные данные подтверждают зависимость бактерицидной активности от длины R. Данные, представленные в таблице, показывают, что наиболее сильное бактерицидное действие оказывает соединение V ($\text{R}-\text{C}_{10}\text{H}_{21}-$). При уменьшении или увеличении длины цепи радикала наблюдается снижение активности соединений. При сравнении времени экспозиций 0,1%-ных водных растворов исследованных соединений установленная закономерность сохраняется.

Таким образом, экспериментально установлена зависимость бактерицидной активности от химического строения вновь синтезированных поверхностно-активных ЧАС, содержащих 5-метил-2,4-гексадиенильную группу. Выявлена эффективность хлористой соли децилоксикарбонилметил-диметил (5-метил-2,4-гексадиенил) аммония, 0,1%-ный водный раствор которой обеспечивает при экспозиции 5 мин гибель кишечной палочки и золотистого стафилококка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабалян Ж. Р., Солонян Н. Ф., Алалян Г. С., Бабалян А. П. Актуальные вопросы краевой патологии. № 21. Ереван, 1988.
2. Бабалян А. В., Бабалян Ж. Р., Алалян Г. С. Биолог. ж. Армении. № 4, 328, 1987.

3. Бабахян А. В., Бабян Ж. Р., Аюнян Г. С. Ж. эксперим. и клин. мед. АН Арм. ССР, 28, 1, 96, 1988.

4. Инструкция по определению бактерицидных свойств новых дезинфицирующих средств, утвержденная МЗ СССР от 6.05.68 г., за № 739-68.

Поступило 20.VI 1989 г.

Биолог. журн. Армении, № 2, (43), 1990

УДК 617.28.615.31

ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНЫХ СВОЙСТВ N,N'- (2-БУТИЛЕН) БИС [N-(АЛКИЛОКСИКАРБОНИЛМЕТИЛ) ДИМЕТИЛАММОНИИ ХЛОРИДОВ]

А. В. БАБАХЯН, Ж. Р. БАБАЯН, Г. С. АЮНЯН

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

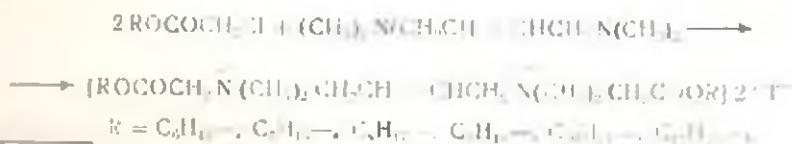
Вещества поверхностно-активные—соединения четвертичные аммониевые—бактерицидные вещества.

Многочисленные исследования, касающиеся синтеза и биологических свойств ЧАС—производных дикарбоновых кислот, свидетельствуют об их физиологической активности и возможности широкого применения в медицине [6]. Изучение антимикробных свойств ненасыщенных поверхностно-активных ЧАС, содержащих алилидепочечный алкоксигенильный радикал, показало, что они проявляют бактерицидное действие в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [1, 2].

Известно, что диаммониевые соли, в частности, 1,2-[N,N'-бис(диметил-N,N'-бис(децилацетат)] этилендиаммоний дихлорид (этоний), обладают бактерицидной активностью и могут найти применение в фармацевтической промышленности для приготовления мазей, суспензий, растворов [5].

В продолжение исследований в области изучения ненасыщенных поверхностно-активных ЧАС нами изучены бактерицидные свойства ряда N,N'- (2-бутилен) бис [N-(алкилоксикарбонилметил) диметиламмоний хлоридов].

Условия и методика. Изучена бактерицидная активность шести ненасыщенных поверхностно-активных бис-ЧАС в отношении кишечной палочки и золотистого стафилококка. Соединения получены при комнатной температуре взаимодействием 1,4-бис-диметиламино-2-бутена с алкиловыми эфирами моноклоуксусной кислоты.



Сокращения: ЧАС—четвертичные аммониевые соединения.

Исходный 1-4-бис-диметиламино-2-бутен синтезирован на базе 1,4-дихлор-2-бутена—инотоннажного промышленного продукта [3].

Полученные ЧАС представляют собой хорошо растворимые в воде белые кристаллические вещества.

Бактерицидные свойства ЧАС изучали по общепринятой методике [4] на батлестовых тест-объектах, обсемененных культурой эталонных штаммов кишечной палочки (штамм 1257) и золотистого стафилококка (штамм 906) как наиболее устойчивыми видами кишечной и кокковой группы бактерий.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что все шесть соединений обладают бактерицидной активностью в отношении кишечной палочки и золотистого стафилококка (табл.). Подтверждена зависи-

Бактерицидная активность бис-ЧАС общей формулы:



Соединение	R	Концентрация раствора, по препарату, %	Гибель микроорганизмов, мин	
			кишечная палочка	золотистый стафилококк
I	C ₁₂ H ₂₅ —	1,0	20	15
		0,5	более 30	более 30
II	C ₁₁ H ₂₃ —	1,0	10	5
		0,5	25	15
III	C ₈ H ₁₇ —	0,5	5	5
		0,1	25	20
		0,05	более 30	30
IV	C ₆ H ₁₃ —	0,025	15	10
		0,0125	более 30	25
V	C ₇ H ₁₅ —	0,025	20	15
		0,0125	более 30	более 30
VI	C ₂ H ₅ —	0,1	20	10
		0,05	более 30	более 30

мость между бактерицидной активностью и химическим строением молекулы ЧАС. Изученные соединения более активны по отношению к золотистому стафилококку, нежели к кишечной палочке. Наибольшей активностью в изученном ряду веществ обладает соединение IV; его растворы в концентрации 0,025% вызывают гибель золотистого стафилококка и кишечной палочки в течение 10 и 15 мин соответственно. Увеличение или уменьшение длины цепи радикала ведет к снижению активности соединений. Так, например, для соединений III и IV, содержащих в радикалах 8 и 12 атомов углерода, аналогичный эффект достигается при увеличении концентрации их растворов в 4 раза (0,1%-ный раствор).

Резюмируя результаты экспериментальных исследований, можно констатировать наличие высокой бактерицидной активности у изученных соединений в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, которая зависит от химического строения молекул ЧАС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабахян А. В., Бабалян Ж. Р., Акопян Г. С. Биолог ж. Армения, 40, 4, 328, 1987.
2. Бабалян Ж. Р., Соколова Н. Ф., Акопян Г. С., Бабахян А. В. Актуальные вопросы краевой инфекционной патологии, 8, 21, Ереван, 1988.
3. Гегелян Ж. Г., Нонелян И. Г., Бошнякяна М. И., Муртиросян Г. Т. Арм. хим. ж. 28, 2, 107, 1975.
4. Инструкция по определению бактерицидных свойств новых дезинфицирующих средств, утвержденная МЗ СССР от 6.05.68 г., № 739—58.
5. Поверхностно активные вещества, Справочник, 294, Л., 1979.
6. Синтез новых физиологически активных соединений, 62, Ереван, 1980.

Поступило 20 VI 1989 г.

Биолог. журн. Армения, № 2, (43), 1990

УДК 633.2

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО АЗОГА БОБОВЫХ ТРАВ ЗЛАКОВЫМИ КОМПОНЕНТАМИ

П. В. ШАТВОРЯН

Ереванский зоотехническо-ветеринарный институт,
кафедра агрономии и ботаники

Бобово-злаковые травы — биологический азот.

С целью увеличения посевов зерновых культур в трудные военные и послевоенные годы сотни тысяч гектаров горных естественных сенокосов и пастбищ были распаханы. После многократной перепашки почвенный покров этих склонов разрушился и подвергся смыву. Эти территории необходимо вернуть кормовой базе.

Целью наших исследований явилось выявление лучших компонентов злаково-бобовых травосмесей для создания искусственных сенокосов и пастбищ, изучение возможностей использования биологического азота бобовых трав злаковыми компонентами травостоя, а также влияния травосмесей на плодородие почвы.

Материал и методы. Опыты проводили в собственном степном поясе (Севянский бассейн АрмССР) на склоне крутиной 8—10° на высоте 2000 м над ур. моря.

На таких территориях, заросших травами, средний урожай воздушно-сухого сена составляет около 7 ц/га, а на участках, засеянных ячменем — 6—7 ц/га зерна.

Результаты и обсуждение. Урожай воздушно-сухого сена в ц/га на опытном участке в среднем за шесть лет пользования приведены со схемой опытов (см. стр. 153).

Из сеяных травосмесей лучшими оказались фон + клевер красный, урожай которых превосходил фон на 11,5 ц/га сена; фон + люцерна синяя — на 16,6 ц/га; фон + клевер красный + люцерна синяя — на 16,6 ц/га.

Из пастбищных травосмесей максимальную прибавку получили от четырехкомпонентной травосмеси — фон + клевер красный + люцерна синяя + клевер белый + мятлик луговой — 13,1 ц/га сена.

1. Овсяница луговая—гипофосфит луговая (фон)	33,4	8,3
2. Фон+клевер розовый	45,1	12,0
3. Фон+клевер розовый+лядвенец рогатый	47,2	—
4. Фон+клевер красный	54,9	—
5. Фон+клевер красный+лядвенец рогатый	1,6	—
6. Фон+люцерна синяя	59,6	12,2
7. Фон+люцерна синяя (двухукосное не использов.)	61,0	—
8. Фон+лядвенец рогатый	18,2	10,0
9. Фон+клевер красный+люцерна синяя	60,0	—
10. Фон+клевер красный+клевер белый	52,5	—
11. Фон+клевер красный+клевер белый+люцерна синяя	56,0	—
12. Фон+клевер красный+клевер белый+люцерна синяя+мятли- луговой	56,5	11,6

При посеве злаков с бобовыми травами содержание протеина в злаках возросло от 8,3 до 12%, что свидетельствует об использовании азота клубеньковых бактерий бобовых трав.

При сравнении продуктивности ячменя с продуктивностью травосмесей оказалось, что с 1 га ячменя получается около 700, а с травосмесей—более 3000 кормовых единиц.

Травосмеси способствуют значительному улучшению агрономических свойств почвы. В пределах 0—40 см почвы за три года пользования содержание гумуса увеличилось от 6 до 14 г/га, общего азота—на 2—4 г/га. Количество легкодоступных форм азота и фосфора соответственно увеличилось на 58—65 кг/га.

Улучшились также структурное состояние почвы, водопрочные агрегаты в 0—20 см слое увеличились на 19%.

Травосмеси способствуют почти полному предотвращению смыва почвы и резкому сокращению поверхностного стока.

Ис. тушло 21.IX 1989 г.

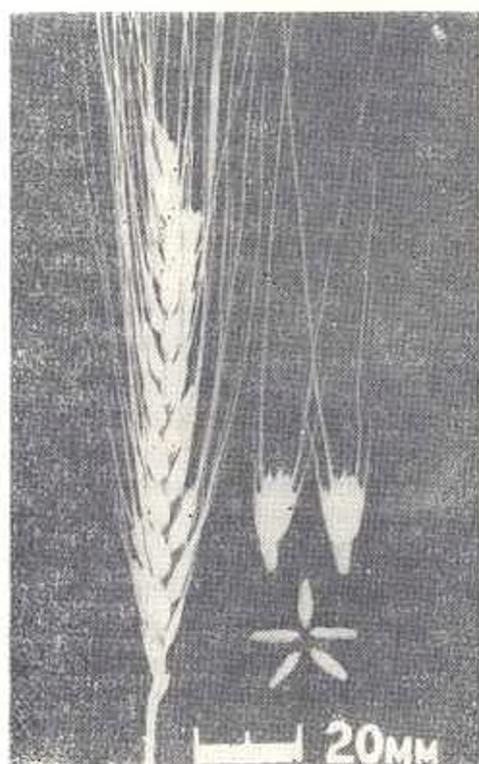
СИНТЕЗ НОВОГО ВИДА ПШЕНИЦЫ С ГЕНОМНОЙ ФОРМУЛОЙ А^hААВВ

П. А. ГАНДИЛЯН

Армянский сельскохозяйственный институт, Ереван

Синтез пшениц—геномная формула

В проблемной лаборатории по изучению генетического фонда культурных растений и их диких сородичей АрмСХИ синтезировали ряд новых амфидиплоидов¹. В данном сообщении приводятся результаты одного нового синтеза. На этот раз удалось получить новый аллогексаплоид ($2n = 42$).



Колос, колоски и зерновки нового аллогексаплоида (*T. sinuatae* × *T. boeoticum*) × *T. urartuensis* — 42.

Сначала мы скрещивали *Triticum sinuatae* A. Filat et Kurk. с *T. boeoticum* Bolss. Оба вида являются диплоидами ($2n = 14$): первый—культурный голозерный (единственный среди диплоидных пшениц), второй—дикий (плечатый со спонтанно ломкими колосками). Оба легко скрещиваются друг с другом и потомство получается фертильным. Поэтому их геномы обозначаются одинаково—А^b

¹ Гандилян П. А., Шакарян Ж. О., Петросян Э. А. Биолог. журн. Армении. 39, 1, 1986.

(геном А от *boeoticum*). В F_1 доминировала пленчатость и осыпаемость колосков (фенотип дикого родителя), а в F_2 происходило расщепление 3:1 (по типу *boeoticum* и *sinskajae*). Второй биотип, являясь синсковидным, по некоторым признакам отличается от «натуральной» *T. sinskajae*. Не вдаваясь в подробности морфологического и биологического характера, отметим лишь, что эта форма характеризуется большей продуктивностью, легким обмолотом и большей устойчивостью к болезням по сравнению с родительской.

В 1987 г. выделенное нами *sinskofomae* скрещивали с культурной голозерной пшеницей *T. persicum* Vav. (геном AABB, $2n=28$). Как и можно было ожидать, первое поколение (амфиантоид) отличалось промежуточностью и абсолютной стерильностью (контрольное растение), в соматических клетках число хромосом $2n=21$. Путем удвоения числа хромосом при помощи колхицина в 1988 году был синтезирован новый вид гексаплоидной пшеницы, т. е. амфидиплоид (*Triticum sinskajae* \times *T. boeoticum*) \times *T. persicum*, $2n=42$, с геномной формулой $A^aA^b AABB$.

Во втором поколении (C_2 , 1989 г.) зерновки нового амфидиплоида проросли, получились нормальные растения, но пока наблюдается в некоторой степени «чреззрелость». Колос (как и целое растение) отличается более крупными размерами и промежуточными признаками (рис.).

Поступило 6.III 1989 г.

AZOSPIRILLUM В ПОЧВАХ АРМЕНИИ

К. Г. НИКОГОСЯН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Azospirillum — ризосфера — пшеница — ячмень.

В последнее десятилетие в СССР и за рубежом проводятся разнообразные исследования свободноживущего азотфиксатора — *Azospirillum*, который фиксирует атмосферный азот в условиях ассоциативного симбиоза со злаковыми растениями. Мартин и др. показали, что *Azospirillum* проникает в межклеточное пространство корней растений [9]. Доберайнер считает, что он является типичным представителем бактерий ризосферы тропических культур [6]. Однако в дальнейшем было установлено его широкое распространение и других почвенно-климатических зонах [11]. В Закавказье *Azospirillum* обнаружен в различных почвах Грузии [1]. В Армении аналогичных исследований не проводилось.

В настоящем сообщении обобщены результаты изучения распространенности *Azospirillum* в почвах Армении.

Материал и методика. Использовали образцы почв и корней пшеницы и ячменя, произрастающих в различных районах Армении: Эчмиадзинском (совхоз им. Ленина), Октемберянском (Джрашен, Октембер), Аштаракском (Огпаван), Абовянском (Ахунк, Нор-юг, Зар), Наирйском (Лусакерт), Талинском (Кяквалдор) и Вардениском (Советакерт). Корни растений многократно промывали водопроводной, а затем стерильной водой, разрезали на куски по 0,5 см. Корни и почву ризосферы инокулировали в глюкозосодержащую среду Эшби [4] и помещали в термостат при 37° на 7 суток. Затем проводили пересев *Azospirillum* в питательную среду RC, содержащую малахит и дрожжевой экстракт [7], а также картофельную среду [5].

Количество клеток *Azospirillum* определяли по интенсивности азотфиксации ацетиленовым методом [2], а нитрогеназную активность — в полужидкой питательной среде RC по ранее описанной методике [3].

Результаты и обсуждение. При инокуляции корней и ризосферной почвы в питательной среде RC в течение 1—2 суток при 37° в верхних слоях среды наблюдается помутнение и образование на поверхности белой пленки. Микроскопические исследования показали, что наряду с клетками других микроорганизмов в питательной среде имеются также клетки *Azospirillum*, представленные в основном вибрионами, а иногда короткими спиральками диаметром 1 мкм. Движение клеток *Azospirillum* весьма своеобразно, благодаря чему их легко отличить от других микроорганизмов; в процессе роста среда становится щелочной.

Установлено также, что описанные бактерии широко распространены на корнях пшеницы и ячменя, культивируемых в различных почвенно-климатических условиях Армении. Этими бактериями особенно богат ризоплан указанных растений (табл. 1, 2).

Таблица 1. Распространенность *Azospirillum* в ризосфере и ризоплане пшеницы и ячменя

Районы	Высота над ур. моря, м	Образцы	Число исследованных образцов	Из них положительных	
				число	%
Аштаракский,	130—1400	пшеница, ризосфера	6	2	33,3
Наирйский,		пшеница, ризоплан	5	5	100
Абовянский		пшеница, ризосфера пшеница, ризоплан	4 12	3 10	75 83,3
Эчмиадзинский,	0—900	пшеница, ризосфера	7	3	42,8
Октемберянский		пшеница, ризоплан	4	4	100
		пшеница, ризосфера	4	2	50
		пшеница, ризоплан	2	2	100

Количество *Azospirillum* больше в бурьян почвах Араратской долины, в черноземах высокогорных районов их значительно меньше (табл. 2).

Из корней и ризосферной почвы выделены чистые культуры *Azospirillum*. На агаризованных пластинках RC (без конго-красного) в течение 3—4 суток образуются беловатые колонии диаметром 0,7—2 мм, которые в дальнейшем иногда приобретают розовую окраску. Колонии круглые или неправильной формы, радиально исчерченные с выпуклым центром. Консистенция плотная и полностью отделяется от поверхности агаризованной среды.

Таблица 2. Количество *Azospirillum* в ризосфере и ризоплане пшеницы и ячменя (тыс/г почвы и корней)

Районы	Тип почвы	Высота над уровнем моря, м	Растение	Ризосферная почва	Ризоплан
Тимназинский (совхоз им. Ленина)	бурые	800—900	пшеница	6.0	25.0
Ашгаджский (Отначан)	горные каштановые	1400	пшеница	0.025	0.05
Таллинский (Жаканадзор)	горные черные земли	1900	ячмень	0.025	2.5
Варденисский (Сотакерт)	горные черные земли	2600	пшеница	2.5	11.0

Все выделенные культуры обладают нитрогеназной активностью в пределах 10,5—185,2 н моль C_2H_4 /час. По своим признакам они соответствуют роду *Azospirillum*, описанному Тарандом [10] и в определителе Берги [8].

Таким образом, обнаружение *Azospirillum* на корнях пшеницы и ячменя в условиях Армении (наряду с азотобактером) пополняет наши представления о несимбиотической азотфиксации, одновременно диктуя необходимость глубокого изучения азотфиксации при ассоциативном симбиозе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бисидашвили Л. А., Нуцубидзе Н. Н. Сообщ. АН ГССР, 114, 3, 617—620, 1984.
2. Калининская Т. А., Редькина Т. В., Белов Ю. М., Ипполитов Л. Т., Кокунов А. В. Микробиология, 50, 5, 224—227, 1981.
3. Никогосян В. Г. Биолог. ж. Армения, 34, 3, 269—273, 1981.
4. Шляева О. Н., Яковлева Э. М. Микробиология, 57, 2, 284—287, 1988.
5. Dohereiner J., Martin J. R., Nery M. Canad. J. Microbiol., 22, 1461—1473, 1976.
6. Dohereiner J. In: Isotop. Biol. Dinitrogen Fixat., Proc., 51—69, Vienna, 1976.
7. Enrique A. Rodriguez Caceres. Appl. and Environm. Microbiol., 44, 4, 296—291, 1982.
8. Krieg K. R. and Holt J. G. (eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1. The Williams and Wilkins, 220—229, Baltimore, 1984.
9. Martin P., Glatze A., Kolb W. Landwirt. Porsch, 40, 241—249, 1978.
10. Tarrand J. J., Kleg D. R., Dohereiner J. Canad. J. Microbiol., 24, 8, 967—980, 1978.
11. Tyler M., Milan J., Smith R. Can. J. Microbiol., 25, 6, 693—697, 1979.

Получено 20.XII 1989 г.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МЕЛИОРИРОВАННЫХ ПОЧВ СОДОВОГО ЗАСОЛЕНИЯ

Л. А. ХУЧИЯН, С. М. АРЗЯН

НИИ земледелия в агрохимии Госагропрома АрмянСР, Ереван

Мелиорированные солончаки-солончаки — микробиологическая активность — плодородие.

Почвы содового засоления Араратской равнины, имеющие гидроморфное происхождение, характеризуются очень низкой микробиологической активностью и низким содержанием гумуса. Установлено, что уровень микробиологической активности отражает степень окультуренности почв. По нему можно судить также о степени мелиорированности почв содового засоления.

Материал и методика. Исследования проводили в 1970 и 1986 гг. на образцах мелиорированных серной кислотой солончаков-солончаках Грасхаунского государственного экспериментального хозяйства различной продолжительности сельскохозяйственного использования и на немелиорированных почвах. Учет урожая люцерны по вариантам опыта определяли на люцерниках 2-го года пользования по сумме пяти укосов. Использовали метод почвенных разведений с высевом на плотных и жидких синтетических и органических питательных средах. Посевы производили из разрядков свежих почвенных образцов глубинным способом.

Результаты и обсуждение. Установлено, что при окультуривании мелиорированных солончаков-солончаков имеет место качественная перестройка микробного ценоза, указывающая на интенсификацию процесса распада и накопления гумуса. Широкое отношение ККА/МПА в них и высокая численность микроорганизмов, приходящаяся на 1 г углерода, свидетельствуют о более активной атакуемости микроорганизмов гумуса, не способствующей его накоплению, а также интенсивности течения минерализационных процессов [1].

Особое место в почвенном биоценозе занимает группировка бактерий, играющих важную роль в жизни растений.

За 20 лет возделывания виноградной лозы на мелиорированных солончаках-солончаках численность бактерий, по сравнению с исходной (1,0 млн/г), повысилась до 22,0 млн/г. Подобная закономерность выявлена и в почве под плодовым садом (табл. 1).

За 25 лет сельскохозяйственного использования мелиорированной почвы численность бактерий под люцерной достигла 19,4 млн/г, а по сравнению с исходными показателями она увеличилась в 5—7 раз.

Практическое значение люцерны не ограничивается кормовыми достоинствами. Она играет большую мелиорирующую роль: образуя мощную корневую систему, способствует повышению порозности и фильтрационных свойств почвы, обогащает ее одновременно органическим веществом и азотом. Густой травостой люцерны уменьшает нагревание поверхности почвы, испарение влаги и капиллярную солеотдачу, предупреждая вторичное засоление. Корневая система люцерны способствует

Таблица 1. Сравнительная микробиологическая активность мелиорированных солонцов-солончаков и орошаемых лугово-бурых почв (в числителе данные 1970 г., в знаменателе — 1966 г.)

Почва, культура, год посадки	Сумма солей, %	Микроорганизмы, м.г/г					Активность инвертазы, мг/мл/мин
		Ф.П.П.	Ф.У.У.С.	Бактерии	Грибы	Целлюлоза разрушаю- щие	
Солонч.-солонч.-с. люц.-с.	2.80	10.6	0.4	1.05	0.31	0.01	нет
	2.40	10.0	0.2	1.4	1.29	0.07	
Мелиорированная, люцерна, 1965	0.02	8.2	0.7	58	0.28	0.18	0.8
	0.08	8.2	1.2	19.40	9.60	0.28	13.7
Мелиорированная, люцерна, 1965	0.48	8.3	0.8	6	0.46	0.10	4.0
	0.67	8.1	1.3	22.68	10.45	0.56	16.8
Мелиорированная, люцерна, сав. 1965	0.04	8.2	0.7	1.20	0.38	0.07	3.9
	0.07	8.1	1.3	19.40	8.50	0.37	14.3
Орошаемая лугово-бурая, овсяные культуры	0.13	8.3	2.0	14.15	9.15	0.63	12.2
	0.12	7.1	2.2	16.30	10.20	0.55	18.0

ет активизации микробиологических процессов [2], существенно влияет на численность отдельных филологических групп микроорганизмов (табл. 2).

Таблица 2. Биологическая активность мелиорированных солонцов-солончаков под люцерной, манг почвы

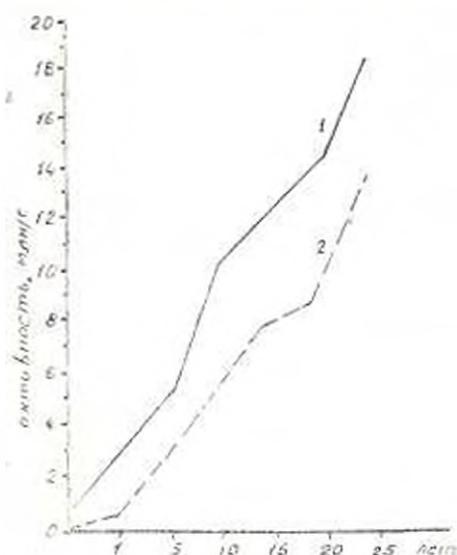
Продолжительность использования почвы	Сумма солей	Бактерии	Угнетенные группы	Бактерии	Целлюлоза разрушаю- щие	Инвертаза с/г/мин	Активность инвертазы мг/мл/мин	Урожай семя, ц/га
Солонч.-солончак	0-25	1.16	—	0.01	0.18	0.05	0.64	—
	25-50	0.50	—	0.01	0.01	0.01	0.30	—
Новомелиорированный участок	0-25	2.95	—	0.02	0.30	0.08	0.78	0.8
	25-50	0.74	—	0.01	0.10	0.01	0.38	—
5	0-25	3.94	—	0.01	0.67	0.17	1.2	1.2
	25-50	2.14	—	0.01	0.12	0.07	1.25	—
10	0-25	11.07	0.19	0.09	1.58	0.12	1.25	1.4
	25-50	6.74	—	0.02	0.28	0.08	1.25	2.5
15	0-25	13.07	0.21	0.16	3.97	0.14	1.37	8.1
	25-50	7.97	—	0.01	2.16	0.10	1.25	3.4
20	0-25	14.71	0.17	0.28	7.95	0.20	1.30	12.6
	25-50	8.95	0.46	0.03	4.88	1.23	6.5	6.5
25	0-25	19.40	0.58	0.36	8.60	0.33	1.35	13.6
	25-50	9.29	0.18	0.09	5.20	0.22	1.31	9.2
Орошаемая лугово- бурая	0-25	19.88	0.67	0.30	1.82	0.39	1.37	13.7
	25-50	14.17	0.42	0.10	1.20	0.26	1.28	10.2

Аналогичная закономерность отмечается при повышении активности инвертазы и отдельных филологических групп микроорганизмов (споровых бактерий, целлюлозоразрушающих и др.).

Активность бактерий в мелиорированных солонцах-солончаках под люцерной в зависимости от продолжительности сельскохозяйственного использования представлена на рисунке.

В новомелиорированной почве и в первые годы сельскохозяйственного использования в мелнированных солонцах-солончаках биогенными являются пахотные слои. В дальнейшем активность микроорганизмов по всему профилю повышается, численность бактерий в них стабилизируется.

В процессе длительного сельскохозяйственного использования мелнированных солонцов-солончаков создались условия для жизнедеятельности ряда микроорганизмов: темнокветных актиномицетов, грибов железомарганцевых рода *Metallogenium*, миксобактерий, *Sorangium*, которые выявляются в содовом солонце-солончаке. Присутствие их в почве способствует повышению агрономической значимости ее. Существенно возросло число клеток *Bac. megaterium*, что также указывает на повышение степени окультуренности почвы.



Активность бактерий в мелнированных солонцах-солончаках под люцерной 1—слой почвы 0—25 см, 2—25—50 см слой.

Поступление в почву органического вещества за счет разложения растительных остатков и внесенного навоза способствует постепенному накоплению гумуса и повышению плодородия мелнированных почв. Содержание гумуса в 0—25 см слое почвы в 20—25 годах сельскохозяйственного использования с 0,5 повысилось до 1,3%.

В зависимости от продолжительности сельскохозяйственного использования мелнированных солонцов-солончаков и уровня применяемых агрофитотехнических мероприятий улучшаются основные свойства почвы, биологическая активность, коррелирующая с урожайностью: выход сена люцерны с 60 ц/га в первые годы сельскохозяйственного использования мелнированных почв возрастает до 150—170 ц/га [3]. Примечательно, что урожайность сена люцерны на этих почвах из-за высокой обеспеченности их подвижными формами фосфора и калия превышает такую же с орошаемых лугово-бурых почв Араратской равнины.

Многолетнее (20—25 лет) сельскохозяйственное использование мелнированных солонцов-солончаков Араратской равнины, где три по-

ля в севообороте культур, применяемом в экспериментальном хозяйстве, отведены под люцерну, приводит к активизации микробиологических процессов, которая приближается к таковым орошаемых лугово-бурых почв (табл. 2). Уровень микробиологической активности достоверно отражает степень мелниорированности и окультуренности освоенных содовых солонцов-солончаков.

Таким образом, в мелниорированных солонцах-солончаках при длительном сельскохозяйственном использовании регулируется и стабилизируется микробиологическая активность. Основным фактором, регулирующим уровень плодородия мелниорированных солонцов-солончаков, является численность бактерий: по их содержанию можно оценить биологическое состояние исследуемых почв.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берестейский А. О. В кн. Плодородие почв и пути его повышения. 73—77. М., 1983.
2. Машина Г. А. В кн. Возделывание люцерны и сои в Нижнем Поволжье. 53—58. Волгоград, 1983.
3. Аразян С. М. Сб. науч. тр. НИИ почвоведения и агрохимии Госагропрома АрмССР. 21, 92—99, 1986.

Поступило 26.IV 1988 г.

Биолог. журн. Армении, № 2 (13), 1990

УДК 636.51:576.8

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОМАССЫ МЕТАНОБАКТЕРИИ В ПТИЦЕВОДСТВЕ

Р. Г. БАЛАСАНИАН, К. А. ВАРАГЯН, Я. И. ГАЛІСТЯН

Институт физиологии им. Г. А. Орбели АН АрмССР, Ереван

Метанобактерии—белково-витаминный кормовой продукт—птицеводство

Метановое брожение экскрементов животных и других органических субстратов с глубокой деградацией органических веществ позволяет, наряду с получением биогаза и обезвреживанием отходов, выработать БВП, содержащий биомассу метанобактерий и пригодный для кормления животных (частичной или полной) взамен традиционных белковых добавок.

Нами испытана и изучена кормовая и биологическая ценность БВП в качестве добавок к комбикормам и влияние на рост цыплят, перезаринность и на продуктивность кур-несушек.

Материал и методика. Испытанию подвергали БВП, полученный в Институте микробиологии АН АрмССР на проточной установке многоступенчатого метанового брожения экскрементов крупного рогатого скота с использованием термофильных ассоциаций метанобактерий путем осаждения метановой бражки и тепловой сушки. Полученный осадок содержит (в процентах на сухой вес): сырого протеина—21,0, сырого жира—2,5; клетчатки—10,5, антамина В₁₂—50—70 мг/кг.

Сокращения: БВП—белково-витаминный продукт.

Эксперименты по испытанию продукта проводили на экспериментальной базе Института животноводства Госагропрома АрмССР на цыплятах и курах ереванской породы, отселекционированных на высокую яйценоскость. Были поставлены 3 научно-хозяйственных опыта на цыплятах в возрасте 1—75 дней по 100 голов в каждом в клетках типа КБУ-3. Затем из этих групп были отобраны только курочки и цыплята продолжены по достижении ими возраста 150 дней. Следующая серия опытов состояла из шести групп по 40 голов кур-несушек в контроле и 60 голов в опытах. Учитывали продуктивность кур, массу и морфологические качества яиц. Продолжительность эксперимента составляла 26 недель.

В первом опыте (группы 2 и 3) с суточного до 75-дневного возраста частично заменяли рыбную муку на БВП при исключении из рациона других продуктов микробиологического синтеза, т. е. первая группа (контрольная) получала 7,0% рыбной муки, вторая, опытная, 5,0% рыбной муки и 3,5% БВП. Третья, опытная группа получала 4,4% рыбной муки и 5,0% БВП, четвертая, контрольная группа, взамен рыбной муки получала 1,7% кормовых дрожжей, а соответствующая опытная пятая группа—3,0% БВП.

Во втором периоде выращивания молодняка (75—150 дней) сельская опытная группа получала 3,5% БВП взамен 1,96% рыбной муки (контрольная группа—шестая).

В третьем опыте зерновые корма (ячмень) частично заменили БВП. Восьмая контрольная группа получала 3,0% ячменя, девятая, опытная—2,0% БВП, десятая—контрольная—4,5% ячменя, одиннадцатая группа—3,0% БВП, двенадцатая, контрольная,—7,5% ячменя и тринадцатая опытная группа получала 5,0% БВП.

В целом кормосмеси для первых пяти групп содержали в пределах 9,5—9,7% сырого протеина, 1189,7—1195,8 кДж обменной энергии и первый период выращивания и 11,3% сырого протеина, 1111,3 кДж обменной энергии—во втором (75—150 дней).

В третий период в опытах на курах-несушках корма содержали 16,24—16,28% сырого протеина и 1146,9—1155,4 кДж обменной энергии.

Тип кормления—сухой. Все кормосмеси были сбалансированы по питательности и соответствовали нормативам «Рекомендации по нормированию кормления св. птицы», 1983 г.

Результаты и обсуждение. Полученные данные показали (табл. 1), что БВП не оказывает отрицательного влияния на сохранность поголовья, их живую массу и оплату корма. По сравнению с цыплятами контрольной и других опытных групп цыплята 5 группы, получавшие комбикорм с 3,0% БВП в течение 75 дней, имели наибольшую живую массу при более низких затратах корма на 1 кг привеса; отмечены также высокие коэффициенты перевариваемости сырого протеина на 0,82% и жира на 3,6%.

Результаты дегустации показали, что по всем вкусовым показателям мясо грудных и ножных мышц (аромат, вкус и прозрачность) цыплят 5 опытной группы было оценено в 8,78 и 8,87 из 9 возможных, а контрольных—соответственно 8,29 и 8,42 балла. Подсчеты показали, что экономическая эффективность при выращивании 1000 цыплят до 75-дневного возраста составит 128,7 рублей.

На следующем этапе исследований мы изучали влияние БВП на продуктивность кур-несушек (третий опыт) при замене в их рационе части зерновых кормов.

Как говорилось выше, в начале опыта было укомплектовано 6 групп, т. е. каждая опытная группа имела свой контроль. Однако внесение в рацион кур 5,0% БВП не дало ожидаемых результатов, поэтому спустя два месяца ликвидировали 12 и 13 группы.

Таблица 1. Основные показатели опытов по испытанию БВН на шельгах

Показатель	Группы						
	1	2	3	4	5	6	7
Сохранность поголовья, %	48,8	98,8	98,3	97,0	97,0	100,0	100,0
Средняя живая масса одной голубки в возрасте							
30	222,5±7,1	230,6±8,2	227,5±9,6	267,3±9,5	262,7±9,8		
60	692,2±11,7	661,2±11,4	633,5±13,1	746,2±11,2	702,1±11,5		
75	1087,5±12,1	1060,0±12,0	1047,7±14,3	1072,5±11,2	1150,6±11,5		
150 дней						1598,3±10,8	1531,1±8,1
Сравнение с контролем, %	100,0	97,1	95,0	100,0	107,5	100,0	95,3
Среднесуточный прирост живой массы, г	14,0	13,6	13,3	13,8	14,8	10,4	10,0
Расход корма на 1 кг прироста, кг	3,00	3,08	3,19	3,19	2,96	8,50	8,35
Преобразованность скармливаемого корма, %							
По возраст. 36-60	85,0	85,7	84,1	85,1	85,8		
145-150 дней						87,9	85,6

Наибольшая продуктивность выявлена во II группе (65,8%). Как свидетельствуют данные табл. 2, в среднем в этой группе на одну несушку в течение опытного периода получено 120,5 яиц против 111,3 в контроле. Средняя масса их составляла 51,6 и 51,4 г. Затраты корма на 10 яиц—1,52 и 1,60 кг, т. е. опытная группа израсходовала на 5,0% меньше комбикорма. Более низкие результаты получены при испытании дозы 2,0% (60,5).

При изучении морфологических показателей яиц не установлено достоверных различий между опытными и контрольными.

Данные опытов показали, что наиболее эффективное влияние на продуктивность кур оказало внесение 3,0% БВП.

Таблица 2. Результаты внесения БВП в комбикорм для кур-несушек в течение 26 недель

Показатели	Группы			
	8 контроль	9 2,0% БВП	10 контроль	11 3,0% БВП
Сохранность, %	95,6	95,2	96,9	97,1
Получено яиц на 1 несушку, шт.	113,7	110,6	111,3	120,5
Интенсивность яйценоскости, %	92,2	90,7	62,3	65,8
Средняя масса яиц, г	54,5	54,3	54,6	54,4
Расход корма на 10 яиц	1,61	1,65	1,60	1,52

Таким образом, БВП, полученный при переработке отходов животноводства, может быть использован в полнорационных комбикормах для цыплят и кур ереванской породы, частично заменив им зерновые корма, рыбную муку и кормовые дрожжи. Он благоприятно влияет на усвояемость питательных веществ. В период проведения исследований не было обнаружено отравлений и заболеваний желудочно-кишечного тракта. Оптимальной дозой БВП в полнорационных комбикормах для цыплят и кур является 3,0% по массе, что повышает живую массу цыплят на 7,2%, а продуктивность кур на 5,4%. Экономический эффект от применения БВП взамен кормовых дрожжей составит 128,7 рублей на 1000 голов цыплят до 75-дневного возраста.

Поступило в ВПН 1989 г.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ТЕЛЯТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОРОДЫ И ВОЗРАСТА

Э. Г. АБРАМЯН, Ю. Г. АБОВЯН

Ереванский зоотехническо-ветеринарный институт, кафедра
зоологии и основ ветеринарии

Телята — иммунобиохимические показатели крови.

В хозяйствах Ширакской зоны АрмССР в течение последних лет ведется целенаправленная работа по улучшению резистентности кавказско-бурого и черно-пестрого скота путем межпородного скрещивания с использованием быков айрширской и голштинофризской пород.

Целью настоящей работы явилось изучение возрастных сдвигов общего белка, гликопротеидов и лизоцимной активности сыворотки крови чистопородных животных и их помесей. Указанные показатели весьма информативны и отражают уровень обменных процессов и иммунобиологической реактивности организма животных [1—8]. Однако сведения о количественных сдвигах гликопротеидов в процессе роста и развития животных, а также при формировании механизмов естественной защиты в породном аспекте отсутствуют. Между тем они играют важную роль в жизнедеятельности организма и реализации его защитных функций [4, 9].

Материал и методика. Исследования проводили в хозяйствах агрофирмы «Маралик» Анииского района, расположенного на высоте 1900 м над ур. моря, на 3-, 6-, 12- и 20-месячных чистопородных животных кавказской бурой и айрширской пород и их помесей. Группы животных по 30 голов в каждой были подобраны по принципу аналогов, в соответствии с живой массой. Животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания (стойловое).

Количество общего белка определяли рефрактометрическим способом, гликопротеиды — методом Веймара и Мошина, активность лизоцима — фотоэлектрокалориметрическим способом, описанным Марковым и др.

Полученные данные подвергнуты статистической обработке.

Результаты и обсуждение. Данные таблицы показывают, что как у чистопородных, так и у помесных телят содержание общего белка и гликопротеидов в крови с возрастом увеличивается и достигает наивысшего уровня в двадцатимесячном возрасте. Аналогичная картина выявлена в активности лизоцима.

При общей закономерности возрастных сдвигов в биохимических показателях прослеживаются породные особенности, определяющие их уровень.

Как видно из таблицы, телята кавказской бурой породы во все исследуемые периоды имели сравнительно более высокие показатели общего белка и лизоцимной активности, чем телята айрширской породы. Разница в содержании общего белка более выражена в шестимесячном возрасте с достоверностью $P < 0,05$, а в активности лизоцима она не существенна.

Биохимические показатели крови чистопородных и помесных телят

Показатели	Возраст, мес.	Кавказская бурая	Айрширская	Помесн (КБ X А)
		M±m	M±m	M±m
Общий белок, г/л	3	53,19±0,9	53,55±2,02	62,99±1,6
	6	61,4±1,35	66,2±1,4	68,8±2,1
	12	65,2±1,24	62,2±1,3	69,6±1,1
	20	68,70±1,28	68,8±1,4	70,9±0,68
Гликопротеиды, мг-%	3	111±3,15	121±4,5	133±4,0
	6	127±2,6	134±4,0	137±3,5
	12	129±2,15	135±4,1	137±2,9
	20	135±2,33	136±3,8	138±3,58
Активность лизоцима, %	3	1,82±0,79	3,91±0,38	4,98±0,4
	6	7,78±0,44	7,3±0,4	3,1±0,6
	12	8,19±0,55	7,7±0,9	9,08±0,51
	20	8,49±0,55	5,8±0,43	9,76±0,66

Плая картина отмечалась и уровне сывороточных гликопротеидов. Телята айрширской породы отличались от аналогов кавказской бурой сравнительно высоким содержанием углеводобелковых комплексов, что более заметно в трехмесячном возрасте ($P < 0,005$).

Данные таблицы свидетельствуют также, что помесные телята в аналогичные периоды исследования превосходили чистопородных телят как по содержанию общего белка, гликопротеидов, так и по активности лизоцима. Содержание общего белка в 3-месячном возрасте у них превышало аналогичный показатель телят айрширской породы на 9,44 г/л, в 6-месячном — на 12,6, в 12-месячном — на 7,4 г/л ($P < 0,05$), а лизоцимная активность сыворотки крови была достоверно высока в 12- и 20-месячном возрасте ($P < 0,05$).

В содержании сывороточных гликопротеидов существенной разницы не обнаружено.

Помесные телята отличались также от чистопородных телят кавказской породы достоверно более высоким уровнем общего белка и гликопротеидов ($P < 0,05$), а лизоцимной активности существенных различий не наблюдались.

Таким образом, полученные результаты дают основание заключить, что в уровне общего белка, сывороточных гликопротеидов и лизоцимной активности существуют породные различия.

Сыворотка крови телят кавказской бурой породы отличается более высоким содержанием общего белка и сравнительно более высокой лизоцимной активностью, что следует рассматривать в качестве факторов, определяющих уровень естественной резистентности.

Сравнительно высокое содержание сывороточных гликопротеидов у телят айрширской породы в раннем возрасте обусловлено, очевидно, интенсивностью обменных процессов и, вероятно, тем, что гликопротеиды, участвующие в реализации специфической защиты, компенсируют недостаточность лизоцимной активности как одного из факторов естественной резистентности.

Отмеченные сдвиги в иммунобиохимических показателях с максимумом в 20-месячном возрасте свидетельствуют о том, что и этом возрасте, вероятно, и формируется статус естественной защиты организма животных, уровень которого зависит от породной принадлежности их. В этой связи более высокий уровень иммунобиохимических показателей у помесных телят в сравнении с анилогичными показателями чистопородных следует рассматривать как фактор более высокой их устойчивости и приспособляемости к природным условиям Ширакской зоны Армянской ССР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Демидов В. М. Проблемы повышения резистентности животных. 27—30, 85—126, 49—1983.
2. Биев Е. Г. и др. Сельскохозяйственная биология. 6, 99—102, 1988.
3. Бельков Г. П., Андриян Н. В. Повышение генетического потенциала молочного скота. 203, 206, М., 1986.
4. Герасименко В. Г. Биохимия продуктивности и резистентности животных. 222. Киев, 1977.
5. Дурманов В. С. Новое в диагностике и профилактике заболеваний животных при промышленной технологии содержания. 35—37, Ульяновск, 1981.
6. Костомаров И. М. Сб. научн. тр. ОСХИ, 35—37, 1985.
7. Кулаков С. П., Кипушкин Ф. Р., Дьякова И. П., Попович А. И. Естественная резистентность и продуктивность. 1985.
8. Пискин В. Н. Возрастная физиология животных. М., 1967.
9. Хьюз А. Гликопротеиды. 22—27, М., 1985.

Поступило 16.XI 1989 г.

МСРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ БАЛАНТИДИЕВ

А. А. ТАТАЯН

Ереванский государственный медицинский институт,
кафедра медицинской биологии и генетики

Балантитидей—дикомалярий.

Изучены пищевые потребности балантидий посвящены единичные работы¹. Для выяснения хозяин-паразитных взаимоотношений при балантидиозе необходимо изучить влияние на рост и размножение балантидий других питательных веществ и, в частности, ферментов крови. В предлагаемой работе представлены результаты изучения влияния лейкоцитарной массы крови человека на скорость размножения и рост балантидий в культуре.

Материал с *А. Табатака* Опыты ставили на балантидиях, выделенных от свиней. Культуры выращивали на стандартной среде Павловой с pH 6,8. Перевели со сме-

¹ Гилсонсон Р. В кн. Практикум медпаразитологии. 365—395, 1935.

ной питательной среды производили через каждые 18 часов. Пробирки просматривали лупой (ув. X10) в проходящем свете. Подсчет количества инфузорий проводили с помощью камеры Фукса-Розенталя. Содержимое 5 пробирок перемешивали и подсчитывали количество балантидий в 1 мл среды, затем в пробирки, содержащие по 4 мл среды Павловой, вносили инфузории. В десять опытных пробирок к стандартной среде добавляли 0,1% лейкомаксы (1 мл содержит 28 млн лейкоцитов). Культивирование явля в течение трех суток без смены питательной среды. Затем измеряли длину и ширину балантидий (по 100 балантидий контрольных опытных культур). Статистическую обработку данных производили по методу Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Наблюдения показали, что при подкормке лейкомаксом темп размножения балантидий ускоряется. При первом посеве количество их в 1 мл содержимого контрольных и опытных пробирок равнялось 3120. Спустя 24 ч в контрольных пробирках оно увеличилось до 3590, а в пробирках с лейкомаксом — до 13.031; через 48 ч составляло соответственно 3.400 и 4.837 инфузорий; через 72 ч — 4.375 и 3.968.

Изучалось также изменение размеров балантидий в контрольных и опытных пробирках (измерялось по 100 особей). Средняя длина контрольных инфузорий оказалась равной $79,20 \pm 0,1$ мкм, ширина — $64,60 \pm 0,4$ мкм. У опытных же балантидий она составляла $116,0 \pm 0,4$ и $89,0 \pm 0,4$ мкм ($P < 0,001$) соответственно.

Таким образом, при подкормке культур балантидий лейкомаксом, полученной из крови человека, ускоряются темпы размножения и увеличиваются их размеры.

Поступило 24 VI 1989 г.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ПЛОДАХ ТОМАТА И ТОМАТНОЙ ПАСТЕ, ПОДВЕРГШИХСЯ ПЛЕСНЕВЕНИЮ

Л. Л. ОСИНЯН, А. Г. БАГИКЯН, Е. О. ТАРОСОВА, С. С. ПАПЯН

В доброкачественных и заплесневелых плодах и томатной пасте обнаружено до 24 элементов: 8 макроэлементов—Si, Al, Fe, Ca, Mg, Na, K, P; 14 микроэлементов—Ti, Mn, Cr, Ni, Co, V, Mo, Cu, Pb, Zn, Sr, Ga, Zr, Ba и 2 ультрамикроэлемента—Ag, Au.

При заплесневении свежих плодов томата и томатной пасты, вызываемом грибами *Aspergillus* и *Penicillium*, наблюдается сдвиг в сторону снижения содержания макроэлементов. Исключение составляют Si и Al, содержание которых в плодах повышается на 37%. Отрицательное воздействие грибов-контаминаторов на качество плодов томата и томатной пасты проявляется в резком снижении количества таких жизненно важных для потребителя элементов, как K, P, Mg, Ca, Na. В то же время отмечается повышение содержания микроэлементов. Кроме того, в контаминированных плодах выявлены Co, Sr, Ga, Ba, не обнаруживаемые в доброкачественных плодах, и не выявлены Ag и Au, зарегистрированные в контроле. Известно, что в консервной промышленности основным оценочным критерием плодов для выхода концентрированных томатопродуктов является содержание сухих веществ. Так, их количество в доброкачественных плодах составляет 6,8%, и в заплесневелых—5%, в томатной пасте—соответственно 27,1—18,7%.

Приведенные данные должны учитываться при решении вопроса о вторичной переработке консервированных томатопродуктов, в частности томатной пасты, контаминированной видами *Aspergillus* и *Penicillium*.

9 с., библиогр. 8 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНИТИ, № 1468 В 90, от 16.III 1990 г.

Поступило 20.VII 1988 г.

ПРОРАСТАЕМОСТЬ ПЫЛЬЦЫ И ДЛИНА ПЫЛЬЦЕВОЙ ТРУБКИ У *ROBINIA PSEUDACACIA* L. ИЗ РАЗНЫХ ЧАСТЕЙ СОЦВЕТИЯ ПО ФАЗАМ ВЕГЕТАЦИИ

В. С. ТОВМАСЯН

Армянский педагогический институт им. Х. Абовяна, Ереван

Исследование проводилось в течение трех лет. Пыльцевые зерна, взятые из различных частей соцветия, проращивали в 5–25%-ных растворах сахарозы. Пыльцу хранили в течение четырех недель в эксикаторе, в присутствии CaCl_2 .

Фаза бутонизации. Наиболее высокий процент проращивания (88,0%) отмечался в 20%-ном растворе сахарозы у пыльцы, взятой из нижней части соцветия. В средней части его прорастаемость пыльцы несколько ниже (87%), причем такой процент зарегистрирован в 15%-ной сахарозе. Наконец, наиболее низкая прорастаемость (77,0%) наблюдалась у пыльцы, взятой из верхней части соцветия, в 10%-ном растворе сахарозы. Самая высокая прорастаемость зарегистрирована на четвертой неделе.

Фаза цветения. В этой фазе наиболее высокая прорастаемость отмечалась в нижней и средней части соцветия на первой неделе (74,0 и 73,0%) при проращивании в 20%-ном растворе сахарозы. Максимальная прорастаемость пыльцы, взятой из верхней части соцветия (78,0%), наблюдается на второй неделе, но при более высокой концентрации сахарозы (25%).

Фаза отцветания. Самый высокий показатель прорастаемости пыльцевых зерен, взятых из нижней части соцветия, отмечен на второй неделе (69,0%) в 10%-ном растворе сахарозы. У пыльцы из средней части соцветия (77,0%) — на третьей неделе при 10%-ной сахарозе. Пыльца, взятая из верхушечных цветков, в первую неделю имела максимальный показатель (78%) в 25%-ной сахарозе.

Длина пыльцевой трубки не всегда коррелирует с максимумом прорастания. Наиболее длинные пыльцевые трубки образуются в фазе цветения у пыльцевых зерен средней части соцветия в 15%-ном растворе сахарозы на второй неделе, достигая 3600 мкм.

Таким образом, прорастание пыльцы и длина пыльцевой трубки зависят от фазы вегетации и местонахождения цветков в соцветии.

7 с., библиогр. 10 назв., табл. 2

Полный текст статьи деп. в ВИНИТИ, № 7125 В 89 от 29.XI.1989 г.

Поступило 5.I.1988 г.

ДИНАМИКА ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЦВЕТКОВ И СЕМЯН ТОМАТОВ

Е. О. ТАРОСОВА, А. Г. ЕГИАЗАРЯН, С. В. АБЕТИСЯН,
Т. Г. СТЕПАНЯН, К. А. ЕГИЯН

Республиканская селекционно-семеноводческая станция
овощных и бахчевых культур, пос. Даракерт

Изучались изменения химического состава, в том числе и аминокислотного спектра в цветках в отдельные фазы развития растений и семенах в процессе созревания плодов томатов разных сроков созревания.

Анализы сухого веса цветков выявили увеличение оводненности на поздних этапах развития растений.

Установлено, что при переходе растений от фазы цветения к фазе плодоношения содержание азота как растворимой, так и нерастворимой фракции понижается. При массовом цветении общий азот спирторастворимой фракции почти на 50%, а спиртонерастворимой—около 20% представлен аминной формой.

Согласно полученным данным, важной особенностью является относительно высокое содержание азотистых веществ на ранних фазах развития растений, при массовом же плодоношении оно снижается.

Высокий уровень накопления глутаминовой кислоты, пролина и ГАМК в спирторастворимой фракции, как в ранней, так и в поздней фазах развития растений свидетельствует об их определенном физиологическом значении в обмене веществ. В литературе имеются данные о прямой связи поступления и связывания пролина с интенсивностью ростовых процессов при формировании органов цветка и возможной роли пролина пыльцы в половом процессе. Поэтому высокое содержание свободного пролина в цветках указывает на особую его значимость среди других аминокислот.

Содержание как спирторастворимых аминокислот, так и аминокислот белков достигает своего максимума при массовом цветении. Период же массового плодоношения характеризуется оттоком свободных аминокислот, так и аминокислот белков в репродуктивные органы. Аминокислоты в обеих фракциях в отдельные периоды развития растений преобладают у одних и тех же сортов. Так, высокий уровень накопления аминокислот наблюдался у позднеспелых сортов, а низкий—у раннеспелых. Несмотря на изменения содержания аминокислот, сортовые различия при этом сохраняются.

Установлено, что сравнительно высокий уровень содержания воды в семенах зеленых плодов указывает на понижение оводненности при созревании семян. В процессе их созревания количество общего азота почти не изменяется, но в содержании его преобладает белковая фракция. Темпы накопления белкового азота, более высокие в начальные фазы развития семян, чем в конце созревания, что, по-видимому связано с интенсивным синтезом белка.

Уровень накопления жира в семенах красных плодов несколько выше, чем в зеленых, и способность их накопления у сортов не одинакова.

По мере созревания семян содержание золь не изменяется.

В процессе созревания плодов отмечаются существенные сдвиги в метаболизме, поскольку возрастает потребность в пластических веществах, в том числе и аминокислотах, возможно, и синтез белка способствовал их уменьшению. Постоянное наличие значительного количества определенных аминокислот в красных плодах свидетельствует вероятнее всего об их активном участии в созревании семян.

Нами обнаружена положительная корреляционная зависимость содержания аминокислот между цветками, плодами и семенами, что может явиться весьма перспективным в селекции для раннего прогнозирования на данный признак при создании новых сортов.

Таким образом, сорта томатов разных сроков созревания отличаются между собой темпами прохождения физиолого-биохимических процессов, что отражается на накоплении основных метаболитов в цветках, репродуктивных органах, а также в семенах. Изучение этой зависимости дает определенную возможность улучшения качества семян и тем самым повышения продуктивности сорта.

18 с. библиогр. 14 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНТИ, № 4345-В 89 от 30 VI 89 г.

Поступило 5.X 1989 г.