

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
Հ Ա Ն Դ Ե Ս

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
Ж У Р Н А Л
АРМЕНИИ

Բ Ո Վ Ա Ն Ի Ա Կ Ո Ւ Ժ Յ Ո Ւ Ն

Հովհաննիսյան Ի. Գ., Բաբսկյան Ա. Ա., Հովհաննիսյան Մ. Գ. Ռիբոսումային և ԲնԻ-պոլիմերային մոտոցիսների ազդեցությունը <i>Escherichia coli</i> և <i>K-12</i> շտամներին պլազմիդային տրանսֆորմացիայի	729
Հաբուրյունյան Ի. Բ., Արամանյան Լ. Գ., Սարգիսյան Տ. Զ., Սասնախանյան Տ. Զ., Սևեդեցին Գ. Գ., Պուրոն Ա. Գ. Լուսնազենների մոլեկուլային ազդեցության հոմալոգս ցինհատակներ մարզու լիմֆոցիտների կուլտուրայում	733
Ազատյան Վ. Ա., Ազատյան Ի. Ա., Ամիրլիսյան Վ. Ա., Սևակյան Ա. Ջ., Հայրապետյան Ի. Բ. Տարբեր տեսակի սեռերի ուսումնասիրումը լուսնալույսի միջավայրի մոտոցենների բաղադրատեսակի գործում	735
Հաբուրյունյան Ա. Գ., Լեւոնյան Պ. Ա., <i>Agglutination of E. coli</i> L. ներառականի պոլիմերիզացիայի դասակարգման փորձը	744
Պետրոսյան Հ. Հ. Ճարենի և էպիդեմիայի սինթետիկ միջավայրերի և պատմությունների հետազոտման համակարգիչները	749
Դավթյան Ա. Ա. Բայալի բարձրության մոտոցենտրալ խառնուրդում աղ առումով առկայություն փափուկ էպիդեմիոլոգիայի մոտոցենտրալ հետ	754
Ազատյան Ա. Ա. Ներկայի ֆեկտուրային ինտենսիվության զրոյումը մոտոցենտրալ տարբեր ծաղում ունեցող ներառականի ինտենսիվության մոտ	759
Պետրոսյան Վ. Ա., Ազատյան Է. Ա., Կոստանյան Ն. Կ. Նախադրում համակարգի մոլեկուլային ազդեցություն ֆեկտուրային ինտենսիվության ազդեցության վրա	768
Իրախանյան Ա. Ա., Կոստյան Մ. Ա., Վարդապետյան Գ. Ի. Առանձինների կուլտուրայի ազդեցության ազդեցության փոփոխությունը գերազանցական լուսնալույսի հետազոտման համակարգիչներով	772
Սարգիսյան Ա., Մարտիրոսյան Ա., Հաբուրյունյան Ա. Տրիպոլիտիկ մոտոցենտրալ նշանակությունը <i>Salmonella</i> ազդեցության էպիդեմիոլոգիայի փոփոխման պրոցեսում	773
Բախյան Պ. Ա., Անտոնյան Ս. Ա., Մարտիրոսյան Ի. Ա., Հովհաննիսյան Հ. Գ. Հայաստանի մի քանի լուսնալույսի ինտենսիվության փոփոխության ունեցող լուսնալույսի հետազոտման համակարգիչները	784
Ազատյան Ն. Գ., Կոստյան Ի. Ա., Սարգսյան Ն. Կ. Սարգսյանի միջավայրի մոտոցենտրալ համակարգի հետազոտման փոփոխությունների վրա առաջադրում ինտենսիվության ինտենսիվության փոփոխությունների վրա առաջադրում	788

ՀԱՄԱՐՈՒՄ ՀԱՄԱՐՈՒՄՆԵՐ

Արիսյան Վ. Ա., Արիսյան Ի. Ա., Մարտիրոսյան Կ. Ա. Պոլիպոլիմերային կոլոնիալիզացիայի փոփոխությունը <i>Escherichia coli</i> կոլոնիալիզացիայի բաղադրատեսակի փոփոխությունները	793
Ներսիսյան Ա. Կ., Կոմկուսյան Վ. Ա., Պիլիպյան Վ. Ն. Հայաստանի արդյունաբերությունում կիրառվող որոշ թիմոկոլիմերային մոտոցենտրալ ազդեցության լուսնալույսի հետազոտման համակարգիչները	796
Պիլիպյան Վ. Ն., Ներսիսյան Ա. Կ., Կոմկուսյան Վ. Ա. Տրիպոլիտիկ մոտոցենտրալ ազդեցության նվազումը տույրային մոտոցենտրալ ինտենսիվության տարբեր տեսակի լուսնալույսի կենտրոնների մոտ	797
Սարգսյան Լ. Գ. Մոտոցենտրալ ազդեցության փոփոխությունը կոլոնիալիզացիայի մոտոցենտրալ լուսնալույսի հետազոտման համակարգիչները	800
Սարգսյան Լ. Լ., Կոստյան Կ. Ա., Կոմկուսյան Վ. Ա., <i>Aspergillus versicolor</i> (Wulf) Tirabochi և <i>A. nidulans</i> (Idam) շտամների մոլեկուլային ազդեցության ուսումնասիրությունները	801
Պոլիպոլիմերային Լ. Կ. Արիսյանի մոլեկուլային <i>Engleza nitida</i> կենտրոնների լուսնալույսի ինտենսիվության հետազոտման համակարգիչները	804

ԻՆՏԵՐՆԱԿՆԵՐ

Սարգսյան Լ. Կ., Հայաստանի համար նոր ֆիտոպաթոգեն միկրոօրգանիզմներ Սևանա լճի սփռվածության լուսնալույսի	805
Վարդանյան Ջ. Ա. Սարգսյանի արդյունաբերության լուսնալույսի մոտոցենտրալ լուսնալույսի	808
Սարգսյան Լ. Ա. Սարգսյանի լուսնալույսի լուսնալույսի	809

СОДЕРЖАНИЕ

Оганесян Р. Г., Барсегян А. А., Оганесян М. Г. Влияние рибосомных и РНК-полимеразных мутаций на эффективность плазмидной трансформации <i>ion</i> штаммов <i>Escherichia coli</i> K-12	726
Арутюнян Р. М., Абрамян Л. Г., Саркисян Т. Ф., Засухина Т. Ф., Середенко Г. Д., Дурнев А. Д. Комплексная оценка модификации действия мутагенов в культуре лимфоцитов человека	733
Аевян В. А., Азатян Р. А., Азирбекян В. А., Ионкян А. Д., Айрапетян Р. Б. Использование различных тест-систем для выявления мутагенной окружающей среды	738
Арутюнян М. Г., Гандилян П. А. Опыт классификации аутоэпидемиологического полиморфизма <i>Aggllops trituncialis</i> L.	741
Петросян Э. А. Количественные признаки синтетических амфилоидии и ауто-тетраплоидии пшеницы и ячменя	749
Галян А. А. Исследование высоты растений и скрепления их с нестабильным по этому признаку мутантом у озимой мягкой пшеницы	754
Гаджаниян А. М. Интенсивность фенотипического проявления некроза у межвидовых гибридов томата различного происхождения	759
Ногосян В. С., Асладжаниян Э. А., Горюнов А. Н., Хачатрян Н. К. Модифицирующее действие гунгата натрия на генетическую активность фентиурама	768
Ишакян А. С., Дангян М. А., Вираджян Г. Р. Изменение активности аргининазы печени крысы в процессе гепатокашероноза, индуцированного диэтилнитрозоамином	772
Саркисян Е., Марджанян С., Арутюнян А. Удаление остатков гризотрифена НАДФН-азредуктазы в переносе электронов на азредуктазы	778
Бахиян П. А., Антонян О. А., Матевосян Р. А., Оганесян Л. Г. Оценка фактического питания населения некоторых городов Армении	784
Исатрян Н. Г., Григорян Р. А. Связи гистаминового обмена желудочно-кишечного при хронической язве желудка под влиянием минеральной воды Карашамб	788

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Лизинин В. А., Семенова Л. В., Махариан А. В. Конъюгационный перенос плазмиды из <i>Escherichia coli</i> в клетки молочнокислых бактерий	798
Нерсисян А. К., Кумкумаджян В. А., Зильфян В. Н. Оценка активности некоторых химических соединений, применяемых в промышленности Армении	796
Зильфян В. Н., Нерсисян А. К., Кумкумаджян В. А. Снижение мутагенного действия циклофосфана у разных видов лабораторных животных, иммунизированных туляреинной вакциной	797
Хачатрян Б. Г. Мутагенная активность в соматических клетках <i>Chromomycin</i>	800
Осипян Л. Л., Григорян К. М., Эллер К. Н., Тугеллян В. Г. Микотоксикологическое исследование штамма <i>Aspergillus versicolor</i> (Wall) Tirabochi и <i>A. nidulans</i> Eidam	802
Ишакян Р. А. Особенности жизненного цикла двустворчатого моллюска <i>Euglesa nitida</i> в озере Севан	803

РЕФЕРАТЫ

Хачатрян Р. В. Новые для Армении виды фототрофных микроорганизмов из районов бассейнов озера Севан	807
Варонян Д. А. Некоторые свойства аргиназы семян гороха	809
Бабаханян М. А., Аствацатурян Н. А., Калачян Л. М. Питательный раствор для растений томата на зимний период	809

CONTENTS

<i>Oganesyan R. H., Parsegian A. H., Oganesyan M. G.</i> The Influence of Ribosome and RNA-Polymerase Mutations upon Transformation Efficiency of <i>Escherichia coli</i> K-12 lon^- Strains by Plasmid DNA	729
<i>Haroutunian R. M., Abramian L. G., Sarkisyan T. F., Zasukhina T. F., Seredenin G. D., Durnev A. D.</i> Complex estimation of mutagen action modification in the culture of mans lymphocyte	733
<i>Avakian V. A., Azarian R. A., Antrbekian V. A., Voskunan A. Z., Hatripetian R. B.</i> The Use of Different Test-Systems to Find out the Environment Mutagens	738
<i>Haroutunian M. G., Giandtian P. A.</i> Classification of Intraspecific Polymorphism <i>Aegilops Triuncialis</i> L.	744
<i>Petrosyan H. H.</i> Quantitative Signs of the Synthetic Amphidiploids and Autotriploids wheat and <i>Aegilops</i>	749
<i>Gulian A. A.</i> Inheritance of Plant Height in Crosses with Unstable Plant Height in Soft Winter Wheats	754
<i>Agajanian A. M.</i> The Intensity of Phenotypical Development of Necrosis of the Hybrids of Tomato of Different Origin	759
<i>Poghosyan V. S., Aghadianian E. A., Gorovaya A. E., Khachatryan N. K.</i> The Modified Action of Sodium Humate on Genetic Activity of Phenyluram	765
<i>Michurlian A. S., Vardapetian H. R., Davtian M. A.</i> Changes in Rat Liver against Activity during Diethylnitro-amine-Induced Hepatocarcinogenesis	772
<i>Bakalian P. A., Antonian O. A., Matevosyan R. A., Oganesyan L. G.</i> The Estimation of Nutrition of Some Urban Population in Armenia	784
<i>Asatryan N. G., Grigorian R. A.</i> Displacement of Histamine Exchange in Gastric Tissue for the Patients with Chronic Gastric Ulcer under the Influence of the Mineral Water "Carashamb"	788

SHORT COMMUNICATIONS

<i>Livshits V. A., Semyonova E. A., Mukharlan K. V.</i> Conjugational Transfer of the Plasmide from to the Cells of Acido Lactic Bacteria	793
<i>Nersesyan A. K., Koumkoumdjian V. A., Zulfian V. A.</i> Evaluation of Activity of Some Chemical Substances being in Use in the Industry of Armenia	796
<i>Zulfian V. N., Nersesyan A. K., Koumkoumdjian V. A.</i> Decrease of Mutagenic Action of Cyclophosphamide on Various Species of Animals Immunized by Tularemic Vaccine	797
<i>Khachatryan B. E.</i> The Mutagenic Activity in Somatic Cells of Mammals	800
<i>Osipian L. L., Ortgarlan K. M., Eller K. I., Tutelian V. A.</i> Mycotoxicological Study of Strains	802
<i>Gukasian E. Kh.</i> Peculiarities of Vital Cycle in Lake Sevan	80

ABSTRACT

<i>Khachatryan R. V.</i> New In Armenia Species of Phytotrophic Micromycetes from the Regions of the Lake Sevan Basin	807
<i>Vardanian J. Q.</i> On some peculiarities of pea seed arginase	808
<i>Babakhanyan M. A., Astvatsatryan N. Z., Kotachyan L. M.</i> Nutrient solution for tomato plants growing in winter time	809

ВЛИЯНИЕ РИБОСОМНЫХ И РНК-ПОЛИМЕРАЗНЫХ МУТАЦИЙ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЛАЗМИДНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ION⁻ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* K-12

Р. Г. ОГАНЕСЯН, А. А. БАРСЕГЯН, М. Г. ОГАНЕСЯН

Биотехнологический центр при ЗИИ АН Армении, Ереван

Эффективность трансформации *E. coli* K-12 плазмидной ДНК у ion⁻ мутантов существенно ниже, чем у штаммов дикого типа. Были сконструированы двойные рекомбинанты, несущие ion⁻ мутацию в сочетании с различными аллелями РНК-полимеразного (rpoB) и рибосомного (rpsL) генов. Некоторые аллели этих генов повышают эффективность плазмидной трансформации ion⁻ штаммов в 3—10 раз, в предельном случае доводя ее до уровня таковой у исходной культуры.

Փլազմիդային ԴՆԲ-ով տրանսֆորմացիայի արդյունավետությունը ion⁻ մուտանտների մոտ, վայրի շտամների համեմատությամբ, զգալիորեն ցածր է: Ստեղծվել են երկակի ռեկոմբինանտներ, որոնք իրենց մեջ կրում են ion⁻ մուտացիայի տարրեր զուգորդումներ (ԻՆԲ-պոլիմերազային (rpoB) և ռիբոսոմային (rpsL) գենների տարրեր ալելների հետ: ԻՆԲ-պոլիմերազային և ռիբոսոմային գենների որոշ ալելները 3—10 անգամ բարձրացնում են պլազմիդային ԴՆԲ-ով ion⁻ մուտանտների տրանսֆորմացիայի արդյունավետությունը, մասնակի զեպրում այն հասցնելով ծեղղական կուլտուրայի մակարդակին:

Transformation efficiency of *E. coli* K-12 by plasmid DNA is essentially less for ion⁻ mutants than for wild type strains. Double recombinants carrying ion⁻ mutation in combination with variety alleles of RNA-polymerase (rpoB) and ribosome (rpsL) genes have been constructed. Some alleles of RNA-polymerase and ribosome genes about 3—10 times increase transformation efficiency of ion⁻ strains leading in the top case to a level of the same of the parent culture,

ion⁻ мутация—РНК-полимераза—рибосома—трансформация.

Одним из барьеров на пути создания эффективных систем экспрессии гетерологичных генов в бактериальных клетках является деградация продуктов клонированных генов. По-видимому, клеточная система протеолиза распознает белковые продукты чужеродных генов как аномальные (например, результат ошибок биосинтеза или посттрансляционной модификации, преждевременной терминирования трансляции или включения аналогов аминокислот) и подвергает их деградации. Этот барьер заметно снижает уровень экспрессии клонированных в *E. coli* генов [13]. Исходя из этого, мы предположили, что

при генно-инженерных работах по созданию штаммов-продуцентов особенную ценность могут представлять штаммы, дефектные по способности деградировать белки, воспринимаемые клеткой как аномальные.

Ранее было показано, что подобным свойством обладают lon^- мутанты [8]. Было установлено, что lon^- мутации увеличивают время полужизни аномальных для клетки белков [6, 10], и что именно lon ген-продукт, обладающий протеазной активностью [7], обуславливает в нормальной клетке высокую скорость деградации чужеродных белков. Поэтому мутации в гене lon снижают скорость деградации клеточных белков и полипептидов [11], что можно использовать для оптимизации генно-инженерных конструкций. В то же время известно, что lon^- штаммы проявляют дефектность и в наследовании экстрахромосомных факторов [9], что препятствует использованию описанного выше преимущества lon^- мутантов. Целью данной работы являлось исследование возможности преодоления барьера на пути переноса и (или) поддержания клонированной ДНК в lon^- культуре с сохранением ее дефектности по деградации чужеродных белков.

Материал и методика. Список исходных штаммов приведен в табл. 1.

В качестве реципиентов использовали исходные культуры CA154 и JC335. Штамм A200 получен следующим образом: lon^- мутацию из штамма мук. 154-2 (полученного в результате спонтанной мутации в lon гене штамма CA154) пере-

Таблица 1. Исходные штаммы, использованные в работе

Бактериальные штаммы	Генотип	Источник получения
CA 154	$\text{Hfr lacI}^- \text{lacZ}^- \text{thi}^-$	Получен от С. Бреннера
мук 154 - 2	$\text{Hfr lon}^- \text{lacI}^- \text{lacZ}^- \text{thi}^-$	Получен нами
29-180*	$\text{Hfr lacZ}^- \text{thi}^- \text{supE}^- \text{rpsL}^- 29$	Получен от И. И. Барегаяна
77-180*	$\text{Hfr lacZ}^- \text{thi}^- \text{supE}^- \text{rpsL}^- 77$	Получен от И. И. Барегаяна
JC 335	$\text{F}^- \text{leu}^- \text{his}^- \text{arg}^- \text{metB}^-$	Получен от Дж. С. Флакся
A 200	$\text{F}^- \text{lon}^- \text{his}^- \text{arg}^- \text{metB}^-$	Получен нами
CH.r 2*	$\text{F}^- \text{trp}^- \text{rpsL}^- \text{arg}^- \text{supE}^- \text{groB}^- 402$	Получен от А. В. Арутюняна
CH.r 3*	$\text{F}^- \text{trp}^- \text{rpsL}^- \text{arg}^- \text{supE}^- \text{groB}^- 403$	Получен от А. В. Арутюняна
CH.r 23*	$\text{F}^- \text{trp}^- \text{rpsL}^- \text{arg}^- \text{supE}^- \text{groB}^- 423$	Получен от А. В. Арутюняна

Примечание. знаком * отмечены штаммы-доноры РНК-полимеразных и рибосомных генов в экспериментах по трансдукционному переносу.

носили путем конъюгации в культуру JC335. Для этого культуры донора и реципиента, находящиеся в экспоненциальной фазе роста ($1 \cdot 10^8$ кл/мл) смешивали в соотношении 1:5 и помещали в водяную баню на 37° . Инкубацию вели в течение часа, что достаточно для передачи lon области. Конъюгацию прерывали и производили высев культуры на синтетическую среду M9 [3]. Рекombинанты отбирали среди leu^- эксконъюгантов по муконидной морфологии.

Перенос groB -аллелей осуществляли путем трансдукции фагом P1 vir [4]. Трансдукционный перенос rpsL -аллелей проводили с использованием фазы P1_{ks} по тому же методу, а отбор трансдуктантов, в связи с доминантностью дикого аллеля на мутантным,—по методу Лебоа [12].

Трансформацию бактерий проводили по методу Мандела [3]. В качестве трансформирующего агента использовали плазмиду pBR322. Поскольку способность к трансформации у бактерий в значительной мере зависит от фазы роста клеток, все эксперименты по трансформации выполняли с культурами, находящимися в одной и той же среднелогарифмической фазе роста. Трансформанты отбирали по способности расти на среде, содержащей ампициллин и тетрациклин. Эффективность трансформации определяли как число образовавшихся трансформантов по отношению к исходному числу жизнеспособных клеток. Количество трансформирующей ДНК во всех экспериментах оставалось постоянным. Результаты экспериментов обрабатывали на компьютере «Apple II» по прикладной программе, составленной в нашей лаборатории.

Результаты и обсуждение. В обеих сериях экспериментов эффективность трансформации *E. coli* плазмидной ДНК у *lon* мутантов была существенно ниже, чем у исходных культур (в 10 раз при сравнении мук 154-2 с СЛ154 и в 160 раз при сравнении А200 с JS335).

Ранее нами было показано, что мутации в генах основных компонентов белоксинтезирующего аппарата клетки, а именно, РНК-полимеразы и рибосом, влияют на такие признаки проявления *lon* гена, как синтез полисахаридов [5], клеточное деление и радиочувствительность [1, 2]. Исходя из этого, мы предположили возможность влияния этих мутаций и на эффективность плазмидной трансформации *lon*-штаммов *E. coli*. Для проверки такой возможности были сконструированы двойные рекомбинанты, несущие *lon*-мутацию в сочетании с различными аллелями *grsI* и *groV* генов. Характеристика сконструированных штаммов приведена в табл. 2.

Таблица 2. Сконструированные штаммы

Бактериальные штаммы	Генотип
М — с29	Hfr <i>lon</i> ⁺ <i>lacI</i> ⁺ <i>lacZ</i> ⁺ <i>thr</i> ⁺ <i>grsI</i> 29
М — с77	Hfr <i>lon</i> ⁺ <i>lacI</i> ⁺ <i>lacZ</i> ⁺ <i>thr</i> ⁺ <i>grsI</i> 77
А — p2	F ⁺ <i>lon</i> ⁺ <i>his</i> ⁺ <i>arg</i> ⁺ <i>gro</i> B402
А — p4	F ⁺ <i>lon</i> ⁺ <i>his</i> ⁺ <i>arg</i> ⁺ <i>gro</i> B403
А — p23	F ⁺ <i>lon</i> ⁺ <i>his</i> ⁺ <i>arg</i> ⁺ <i>gro</i> B423

Вновь сконструированные штаммы, исходные культуры и их *lon*-мутанты были трансформированы плазмидной ДНК. Результаты экспериментов (рис.) позволяют сделать вывод о том, что рибосомные и РНК-полимеразные мутации по-разному влияют на эффективность плазмидной трансформации *lon*-штаммов *E. coli* K-12. Так, если аллели РНК-полимеразного гена *groV* повышают способность к трансформации *lon*-штаммов в 3—5 раз, то аллели рибосомного гена *grsL* — в 6—10 раз. В случае с аллелем *grsL*77 эффективность трансформации повышается до уровня такового у исходного *lon*-штамма.

Сравнительный анализ некоторых характеристик (табл. 3) позволяет сделать следующие предположения: во-первых, внесклеточные полисахариды, повышенный уровень синтеза которых характерен для *lon*-культур, по-видимому, не оказывают существенного влияния на способность клеток к трансформации. Действительно, РНК-поли-

меразные мутанты А-р2 и А-р3, резко отличающиеся друг от друга по количеству синтезируемых ими внеклеточных полисахаридов, характеризуются почти равной эффективностью трансформации. Во-вторых, наблюдается положительная корреляция между радиоустойчивостью и эффективностью трансформации рибосомных мутантов М-с29 и М-с77. Так, штамм М-с77, характеризующийся почти равной с родительской культурой радиоустойчивостью, приближается к исходному штамму и по значению эффективности плазмидной трансформации.



Влияние РНК-полимеразных (а) и рибосомных (б) мутаций на способность к трансформации 100^+ мутантов *E. coli* К-12: 1а—IC325 ($5,0 \cdot 10^{-4}$), 2а—A200, ($3,1 \cdot 10^{-4}$), 3а—А-р2 ($1,4 \cdot 10^{-4}$), 4а—А-р3 ($1,5 \cdot 10^{-4}$), 5а—А-р23 ($1,1 \cdot 10^{-4}$), 16—CA154 ($1,2 \cdot 10^{-4}$), 26—мук154-2 ($1,3 \cdot 10^{-4}$), 36—М-с29 ($8,8 \cdot 10^{-4}$), 45—М-с77 ($1,1 \cdot 10^{-4}$), (в скобках даны абсолютные значения эффективности плазмидной трансформации).

Таблица 3 Сравнительная характеристика исследуемых штаммов

Бактериальные штаммы	ВПС-синтезирующая способность	Радиоустойчивость	Эффективность трансформации
IC335	+	++++	++++
A200	++	++	+
A-р2	++	++	+++
A-р3	++++	+	++
A-р23	++	+	++
CA154	+	++	++
мук154-2	+	+	++
М-с29	++	+++	+++
М-с77	++	++++	++++

Примечание: + — очень низкое значение, ++ — низкое значение, +++ — среднее значение, ++++ — высокое значение.

Изложенные в настоящей работе экспериментальные данные свидетельствуют о том, что рибосомные мутации, по-видимому, являются более перспективными для повышения эффективности трансформации юп-мутантов, чем РНК-полимеразные мутации. Сконструированный штамм М-с77, для которого характерны дефектность по протеазной активности в отношении чужеродных белков и высокая способность к трансформации, что особенно ценно на начальных этапах создания генно-инженерных систем, может быть рекомендован для использования в биотехнологических процессах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барсегян А. А., Оганесян Г. Г. Биолог. журн. Армении, 35, 1136—1141, 1983.
2. Барсегян А. А., Оганесян Г. Г., Оганесян М. Г. Биолог. журн. Армении, 35, 479—484, 1983.
3. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. В кн.: Молекулярное клонирование, М., 1984.
4. Миллер Дж. В кн.: Эксперименты в молекулярной генетике, М., 1976.
5. Оганесян Г. Г., Барсегян А. А., Оганесян М. Г. Биолог. журн. Армении, 36, 398—404, 1984.
6. Рыжовская А. С., Кайдалов Н. В., Анухин Ю. М., Клячко Е. В., Лилищ В. А., Стронгин А. Я. Молекуляр. биология, 22, 201—208, 1988.
7. Chung C. H., Goldberg A. L. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 78, 4931—4935, 1981.
8. Gottesman S., Zipser D. J. Bacteriol., 133, 844—857, 1978.
9. Falkinham III J. O. J. Bacteriol., 139, 1051—1057, 1979.
10. Kowit J. D., Goldberg A. L. J. Biol. Chem., 257, 4187—4195, 1982.
11. Larimore F. S., Waxman L., Goldberg A. L. J. Biol. Chem., 257, 4187—4195, 1982.
12. Leboy P. S., Cox D. C., Flaks J. C. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 52, 1367—1374, 1964.
13. Remaut E., Stanssens P., Fiers W. Nucleic Acids Res., 11, 4677—4688, 1983.

Получено 24.VIII 1989 г.

Биолог. журн. Армении, № 9 (43), 1990

УДК 575.324.23:599.9

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА МОДИФИКАЦИИ ДЕЙСТВИЯ МУТАГЕНОВ В КУЛЬТУРЕ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Р. М. АРУТЮНЯН, Л. Г. АБРАМЯН, Т. Ф. САРКИСЯН, Т. Ф. ЗАСУХИНА,
Г. Д. СЕРЕДЕННИ, А. Д. ДУРНЕВ

Ереванский государственный университет, кафедра генетики и цитологии,
Институт общей генетики АН СССР, Москва,
НИИ фармакологии АМН СССР, Москва

Исследованы различия в модификации мутагенного действия фотрина и диоксилина природными и синтетическими протекторами по тестям вилочкового синтеза ДНК, включения четки в ДНК и возникновения одноклеточных разрывов в ДНК на культуре лимфоцитов периферической крови человека.

Հետազոտված են ֆոտրինը և դիօքսիլինը մուտագեն ազդեցության տարբեր մոդիֆիկացիաները մարդու ակտիվների արյան լիմֆոցիտների (պոլիոմերազ) վրա բնական և սինթետիկ պրոտեկտորների ազդեցությունը աուտոմատիզմով և ճեղքային անկետայով ՅՆԲ-ի արտապլանային օրինակ ՎՆԲ-ի մեջ ՅՈՒ-թիմոցինի նյութի կուտակման և մեկ թվանի ՅՆԲ-ի կտրվածքների աուտոպոլիմերի:

Сокращения: ГАП — гидроксипатит, ТХУ — трихлоруксусная кислота, ДРИ-ДНК — репарационный индекс.

The differences in the modification of mutagenic action of phosphen and oxidin, by syntral and synthetic protectors are demonstrated. The unscheduled synthesis of DNA, incorporation of ^3H -thymidine and strand-breaks of DNA in human lymphocytes culturis were investigated.

Мутагены химический—культура лимфоцитов человека—протекторы—репарация ДНК.

В настоящее время нет общепринятой теории о вкладе тех или иных первичных повреждений ДНК в процесс образования хромосомных aberrаций и СХО, однако не вызывает сомнений возможность модификации их эффектов, индуцированных мутагенами. Поэтому нас интересовало сравнение эффектов модификации на цитогенетическом уровне с возможностью однонитевых разрывов, внеплановым синтезом ДНК и репликацией ДНК.

В работе приводятся результаты исследования мутагенного действия фотрина и диоксидина и его модификации природными и синтетическими протекторами на культуре лимфоцитов периферической крови человека, а также данные о роли свободных форм кислорода и антиоксидантов в механизмах мутагенеза и антимутагенеза.

Материал и методика. В экспериментах использована культура лимфоцитов периферической крови здоровых доноров. Гепаринизированную кровь отстаивали при комнатной температуре 40 мин—1 ч, затем отбирали сыворотку вместе с клетками и культивировали по стандартной методике [9]. Плотность посева— $1 \cdot 10^6$ клеток/мл.

Индукцию однонитевых разрывов исследовали методом хроматографии клеточных лизатов на колонках с ГАП.

Репаративную активность клеток определяли по уровню резистентного к окислительному синтезу ДНК (внеплановый синтез). В первом случае клетки метили в логарифмической фазе роста ^3H -тимидином (удельная активность 18,6 Ки/ммоль)—конечная концентрация 1,3—1,5 мкКи/мл в течение 22 ч, потом метку отмывали. Во втором случае, после отмывания мутагена, в культуральную среду добавляли окислительницу (5 мМ) для подавления репликативного синтеза, а через 20 минут вносили метку и концентрацию 5 мкКи/мл на 3 часа.

Мутагенную обработку проводили за 46 час до культивирования. Протекторы и мутагены вводили в культуру одновременно и инкубировали 28—30 часов. Затем клетки отмывали, часть их фиксировали сразу же, а другую инкубировали в свежей среде 24 ч для изучения восстановления повреждений ДНК. Клетки фиксировали методом щелочного лизиса 15 мин при комнатной температуре в темноте. Лизирующий раствор: 0,03 N NaOH, 0,01 M NaH_2PO_4 , 0,9 M NaCl с pH=11,8—12,0. Лизат нейтрализовали до pH 7,0 путем добавления 0,2 N HCl, обрабатывали ультразвуком (УЗДН-2Т, 22 кГц, 10 с). В пробы добавляли SDS (додецилсульфат натрия) до 4%. Пробы наносили на предварительно уравновешенные 0,01 M натрий-фосфатным буфером колонки с ГАП и промывали 0,01 M и 0,06 M буфером для освобождения от свободной метки и солей. Хроматографию проводили посредством ступенчатого градиента натрий-фосфатного буфера с pH 6,8 при 60°C. Однонитевую ДНК элюировали 0,12 M буфером, а двунитевую—0,45 M буфером. В собранные фракции добавляли бычий сывороточный альбумин, ТХУ до 5%, затем осаждали на нитроцеллюлозные фильтры («Синпор №6», диаметр пор 0,4 мкм, промывали 50%-ной ТХУ, фиксировали этанолом и считали на счетчике методом жидкостной сцинтилляции (в толуеновом сцинтилляторе) [11]. О возможности однонитевых разрывов в ДНК судили по уменьшению доли двунитевой ДНК по сравнению с контролем.

Для оценки индуцированного внепланового (репаративного) синтеза в клетках сравнивали репаративный синтез в обработанных и необработанных (контроль) химическими соединениями клетках. С этой целью после инкубации с меткой $1 \cdot 10^6$ клеток

лизировали 10 мин в 1% SDS, осаждали на фильтры («Сыппор № 6»), определяли счет радиоактивной метки в кислотонерастворимой фракции после промывания холодной 5%-ной ТХУ и флюксировали этанолом [7].

Сравнивали также включение ^3H -тимидина во всех вариантах опыта в общий пул клеток в условиях отсутствия оксимочевины в тех же пробах крови.

Изучались эффекты следующих мутагенов и протекторов

Фотрин (2,2,4,6-пентаэтиленимино-6-морфолиноциклотрифосфатазтриен)-пентафункциональное алкилирующее соединение, цитостатик (действует подавляюще на синтез ДНК). Имеется много работ, посвященных изучению эффектов фотрина в культуре клеток человека [1, 3].

Диоксидин (1,4-ди-N-окись 2,3-бис(оксиметил)хинокалинил—антибактериальный препарат, применяется в педиатрической практике, имеет выраженные мутагенные свойства [6].

Бемитил (2-этилтиобензамидола гидробромид) проявил четкий защитный эффект в культуре лимфоцитов человека и клетках костного мозга мышей от мутагенного действия ряда соединений, в том числе фотрина и диоксидина [5]. Механизм этого эффекта, возможно, связан со способностью препарата снижать уровень индуцированных активных форм кислорода.

Гаммафос (аминоэтилвинилпропилатиофосфорная кислота—2,3 или WR 2721), благодаря своей малой токсичности и радиозащитным свойствам используется в качестве протектора в онкологической клинике [8].

Интерферон рекомбинантный человеческий—природный протектор. Широко известна антимутагенная, антипролиферативная, антивирусная активность интерферона [2, 10].

Использовались нецитотоксические дозы веществ: фотрин— $0,5 \cdot 10^{-5}$ М, диоксидин— $1,3 \cdot 10^{-4}$ М, бемитил и гаммафос— $0,7 \cdot 10^{-2}$ М, интерферон—37 ед/мл.

Результаты и обсуждение. Фотрин и диоксидин в изученных концентрациях оказывали мутагенное действие на культуру клеток человека.

Инкубация клеток с фотрином вызывала понижение уровня двунизовой ДНК до 80—81% относительно контроля, после инкубации в свежей среде наблюдалось незначительное восстановление. Бемитил проявил хорошее защитное действие в этом варианте. Такая же закономерность обнаружена цитогенетическими методами. Гаммафос защищал от повреждающего действия фотрина на ДНК слабее бемитила. Одновременное введение с фотрином интерферона снижало уровень индуцированных однонитевых разрывов в ДНК, хотя постинкубация не стимулировала дальнейшую репарацию ДНК.

Разрывы в ДНК, вызываемые диоксидином (двунизовая ДНК—82% от контроля), практически не репарировались. Бемитил защищал от мутагенного действия диоксидина слабее, чем в варианте с фотрином, но репарация повреждений несколько стимулировалась (91%). Гаммафос лучше предохранял ДНК от возникновения однонитевых разрывов, но еще более выраженным оказалось защитное действие интерферона.

В вариантах с одним интерфероном или только с бемитилом, или гаммафосом индукции разрывов не наблюдалось.

Таким образом, интерферон—эффективный и универсальный протектор, гаммафос защищает ДНК слабее, а защитный эффект бемитила лучше проявляется в вариантах с фотрином. Критерием этих эффектов являлись возникновение и репарация однонитевых разрывов в цепи ДНК, определяемые методом хроматографии на гидроксипапитите. Не

менее интересные, на наш взгляд, данные были получены при анализе индуцированного (внепланового) синтеза ДНК сразу после обработки указанными веществами во всех вариантах с мутагенами и протекторами. В качестве показателя, отражающего способность клеток к репарации поврежденной ДНК, нами был взят ДРИ:

имп мин (клетки, обработанные веществами)

имп мин (клетки необработанные)

Показано, что резкие изменения ДНК-репарационного индекса наблюдаются в вариантах с протекторами, обработанными фотрином. Отмечено почти полное отсутствие изменений в вариантах с протекторами, обработанными диоксидом (рис. 1).

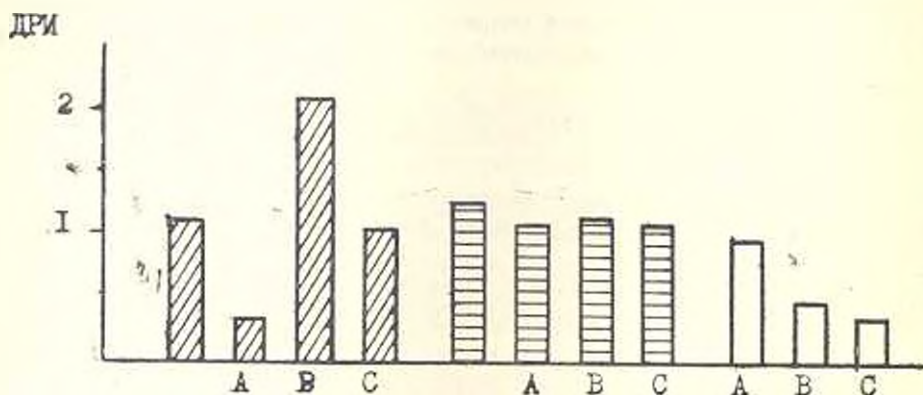


Рис. 1. Значения ДНК-репарационного индекса в лимфоцитах после инкубации с мутагенами и протекторами.

□ — фотрин, ▨ — диоксин, ▤ — бемитил, ▧ — 2721, ▨ — интерферон.

Внутри вариантов, обработанных фотрином, наблюдались следующие зависимости. Бемитил, который резко снижает уровень одионитовых разрывов, в три раза снижает уровень репарационного индекса относительно контроля. Менее значительный эффект гаммафоса сопровождается неожиданным удвоением уровня внепланового синтеза. И, наконец, в случае с интерфероном изменений ДРИ не наблюдалось. Сравнивая эти результаты с уровнями включения ^3H -тимидина в условиях отсутствия подавления репликативного синтеза ДНК оксимоченой, можно заметить, что включение подавлено в вариантах мутаген + бемитил (рис. 2). В вариантах с гаммафосом наблюдалось интенсивное включение метки по сравнению с контролем. Можно предположить, что эффект ингибирования бемитилом процессов репарации и репликации и в то же время хорошая защита ДНК клеток от повреждений (разрывов) связаны с тем, что в комплексе с фотрином он сильно «тормозит» различные процессы в клетке, в том числе, вероятно, и мутагенные, подобно тому, как пурамицин модифицирует мутагенное действие фотуринна в отношении СХО посредством ингибирования репарации [4]. Стимулирующее действие гаммафоса на репаративный синтез и включение тимидина, возможно, связаны с тем, что у части клеток, которые к 46

часу культивирования (когда вносятся мутагены и протекторы) не вышли еще из синтетической фазы. И только в случае интерферон + фотрин можно с большой уверенностью сказать, что защитный эффект интерферона связан с его стабилизирующим действием на структуру ДНК.

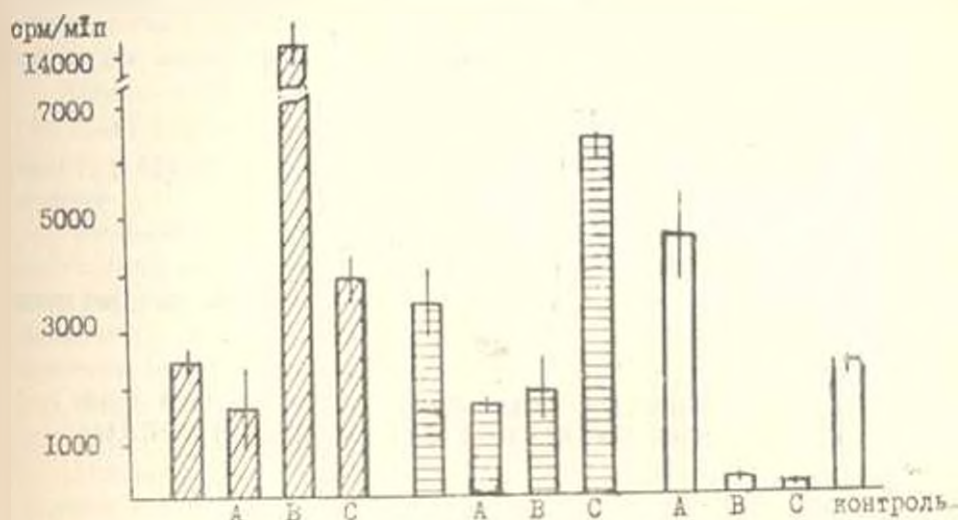


Рис. 2. Включение ³H-тимидина в ДНК клеток после инкубации с мутагенами и протекторами.

▨ — фотрин, ▨ — диоксидин, A — бемитил, B — WH 2721, + интерферон

Внутри вариантов, обработанных диоксидином, как уже отмечалось, во внепластовом синтезе резких различий не было, в отношении включения метки в пробах без оксимочевины заслуживает внимания вариант диоксидин + интерферон, где этот процесс интенсивно протекал.

Интересно сравнить также эффекты самих протекторов. Бемитил практически не повышал уровень внепластового синтеза и активировал включение метки, гаммафос и интерферон снижали уровень ДРН относительно контроля и, кроме того, ингибировали включение тимидина в условиях отсутствия оксимочевины.

Итак, примененный комплекс тестов позволил в максимальной степени выявить специфичность каждого из модификаторов, относящихся к различным классам соединений, показать разную природу модификации каждым из изученных протекторов для двух мутагенов, имеющих разный характер действия на ДНК. Проблема заключается в том, чтобы оценить соотношение репаративных систем клетки в наблюдаемом защитном эффекте.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Р. М. В кн. Модификация химического мутагенеза в клетках человека. 164, Ереван, 1985.
2. Засухина Г. Д., Македанова Г. П. и др. В кн. Мутагены и репарации в системе вирус—клетка. 230, М., 1983.
3. Кириченко О. П., Чеботирев А. Н. Генетика, 12, 10, 155—160, 1976.

4. Тютенко Ю. Р. Автореф. канд. дисс., 24, М., 1987.
5. Середенко С. Б., Дурнев А. Д., Дубовская О. Ю., Корниина Л. Г., Величковский Г. Т. Химико-фарм. журн., 12, 1245—1428, 1986.
6. Фокинштейн А. М., Золотарева Г. Н., Ревазова Ю. А. и др. Химико-фарм. журн., 12, 2, 24—29, 1978.
7. Чеботарев А. И., Титенко И. В., Селезнева Т. Г., Фоменко В. Н., Китасова Л. М. Цитология и генетика, 20, 2, 109—115, 1986.
8. Harris J. W., Phillips T. L. Radiat. Res., 46, 362—379, 1971.
9. Hungerford D. A. Stain—Technol., 40, 6, 333—338, 1955.
10. Ortaido R. Moloy Radiat. Res., 81, 232—266, 1981.
11. Rydberg B. Radiat. Res., 61, 271—281, 1975.

Поступило 3.1 1990 г.

Биол. журн. Армении, № 9(43), 1990

УДК 581.15:668:15.502.7

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАГЕНОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

В. А. АВАКЯН, Р. А. АЗАТЯН, В. А. АМИРБЕКЯН,
А. З. ВОСКАНЯН, Р. Б. АИРАПЕТЯН

Институт земледелия Министерства с-х Армении, г. Эчмиадзин

На различных тест-системах выявлена мутагенная активность большинства из применяемых в республике пестицидов как на хромосомном, так и на организменном уровне. Установлено, что комбинированное применение пестицидов и фитогормона гибберелловой кислоты на модельных объектах приводит к снижению уровня мутационной изменчивости. Промышленные выбросы и выхлопные газы автотранспорта оказывают отрицательное влияние на растения.

Показана достаточно высокая чувствительность и надежность биосферных и модельных тест-систем.

Տարբեր տեսակ-ախտեմների վրա բացահայտվել է հանրապետությունում կիրառվող պեստիցիդների մեծ մասի մուտագեն ակտիվությունը ինչպես օրգանիզմային, այնպես էլ օրգանիզմի մակարդակով։ Ցույց է տրվում, որ պեստիցիդների և ֆիտոհորմոն հիբերելայինթիկ խմակից մազերացությունը մոդելային օբյեկտների վրա առաջացնում է մուտացիոն փոփոխականության մակարդակի իջեցում։ Բացահայտվում է արդյունաբերական թափոնների և ավտոտրանսպորտի արտա-նետումների եկամտիվ ազդեցությունը բույսերի վրա։

Ինչպես սուր, այնպես էլ չարոնականոր փորձարկումները վկայում են կենսոլորտային և մոդելային տեսակ-ախտեմների բարձր զգայնությունը և ռուս-իվությունը։

The mutagenic activity of the majority of pesticides being in use in the Republic on both chromosome and organism levels has been found out on different test-systems. It has been found that the combined use of pesticides and phytohormone of gibberellin acid on model objects brings to the decrease of the level of mutational changeability. The industrial wastes and traffic gases have negative influence on plants.

Quite a high sensibility and fidelity of biospheric and model test-systems are shown.

Сокращения: ВТН—волоски тычиночных нитей.

Источниками загрязнения природной среды служат как естественные процессы, происходящие в приземном слое атмосферы, так и процессы, являющиеся результатом деятельности человека. В связи с этим эволюция живых организмов на начальных этапах шла в сторону сохранения видов, выработавших те или иные защитные механизмы.

Однако в современных условиях антропогенное загрязнение достигло таких размеров, что ни один живой организм не в состоянии противостоять ему даже при наличии самых совершенных защитных механизмов.

Экологическая ситуация усложняется еще и тем, что нормирование допустимых концентраций загрязнителей и основанные на них мероприятия берутся не в расчете на окружающую среду, а с точки зрения влияния на человека. А ведь в биосфере множество живых существ, чувствительность которых к вредным воздействиям в десятки и сотни раз выше, те же ПДК вызывают вымирание целых популяций и ценозов [1].

Отсюда важность работ по выбору тест-систем для выявления мутагенов среды и решения конкретных практических задач охраны природы и улучшения окружающей среды.

Выбор тест-системы для выявления мутагенов среды зависит от решения конкретных задач контроля состояния окружающей среды и охраны генофонда природы. В отделе агроэкологии и генетического мониторинга растений НИИ земледелия Армении проводятся работы по скринингу мутагенов среды, попадающих в биосферу с выбросами сельскохозяйственного и промышленного производства. В каждом конкретном случае выбор тест-систем проводится исходя из характера источника эмиссии загрязнения и состава загрязнителей.

Материал и методика. Использовали следующие тест-системы: на модельных—частота аббераций хромосом в клетках *Cr. capillaris*, *Al. cepa* L., соматические мутации в ВТН традесканции, из биосферных—частота морфозов и видимых мутаций у сортов пшеницы и ячменя, *Ваху*—мутации у ячменя, частота изменения сортовых и популяционных признаков в пшеничных агроценозах. Чувствительность растений к мутагенам среды изучали в M_1 и M_2 . В M_1 выделяли также морфозные растения и проверяли наследование в M_2 . Наследование измененного в M_2 признаки проверяли в M_2 . Цитогенетический анализ структурных изменений хромосом проводили на временных цитотаксиновых препаратах акафазным методом.

Результаты и обсуждение. При помощи лабораторных тест-систем исследовали цитогенетическую активность применяемых в республике пестицидов. В большинстве случаев отмечена их мутагенная активность и достоверное повышение частоты аббераций хромосом по сравнению с контролем [5—7]. Нами изучены 36 препаратов, которые по мутагенной активности разделены на четыре группы (табл. 1). К первой группе отнесены препараты, имеющие мутагенную активность до 5% (52,77%); ко второй и третьей—препараты, имеющие мутагенную активность 6—20% (25 и 16,66%); а к четвертой группе—от 31 до 30% (5,55%).

Таблица 1. Содержание мутагенов среди пестицидов

Группы пестицидов	Мутагенная активность, %	Количество препаратов	%
I	0—5	19	52,77
II	6—10	9	25,00
III	11—20	6	16,66
IV	21—30	2	5,55

Генетическое действие мутагенов окружающей среды на растения можно обнаружить по изменению морфогенеза растений. Исходя из этого, нами использован этот показатель как тест-система при изучении действия гербицидов на растения [13].

В полевых условиях изучали многолетнее действие гербицида фенагона на пшеницу сорта Севани 4 и Waху мутации у ячменя. Ежегодное опрыскивание фенагоном проводили в фазе кущения.

Выявлено негативное действие гербицида на растения в течение всего онтогенеза, проявляющееся в задержке развития растений и снижении их продуктивности. В частности, отмечено появление стерильных цветков и целых колосьев. Частота последних при воздействии в течение одного года на пшеницу составляла $2,54 \pm 0,84\%$, в течение двух лет— $7,32 \pm 1,28\%$, трех— $11,21 \pm 1,31\%$. При воздействии на ячмень в продолжении года Waху частота стерильных цветков и колосьев составляла $2,17 \pm 0,63\%$, двух лет— $5,39 \pm 1,12\%$.

Полученные данные показывают, что при одногодичном действии фенагоном процент мутантных растений пшеницы составляет $2,78 \pm 1,23\%$, двугодичном— $8,78 \pm 1,96\%$, трехгодичным— $10,31 \pm 2,11\%$. Выявлены разные морфологические изменения колоса (скверхеды, компактоиды, спельтоиды и др.).

Известно, что при многократном применении высоких доз пестицидов в одном и том же агроценозе в растениях возникают генетические изменения, приводящие к снижению продуктивности и устойчивости к болезням и вредителям [4, 9, 11, 12]. В связи с этим предлагается воздержаться или свести к минимуму применение химикатов на семенных участках однолетних культур с целью ограничения накопления генотоксичных химикатов в агроценозах. Рекомендуется также установить очередность применения этих веществ во времени и в пространстве.

В течение трех лет мы изучали действие хлорсодержащих промышленных выбросов на растения ячменя.

Опытные растения ячменя были выращены на территории источника выбросов (Ом) и на расстоянии 500 и 1000 м от него. Опыт был поставлен методом наложения, т. е. действия выбросов подвергались растения трех поколений.

Установлено, что угнетающее действие выбросов хлорпропилового цеха на рост и развитие растений наиболее сильно выражено на территории завода. На расстоянии 500 и 1000 м это действие уменьшается. В каждом последующем поколении угнетающее действие выбросов на растения снижается [2].

Большая частота хлорофилльных мутаций на территории выброса коррелирует с угнетением роста и развития растений (табл. 2).

Таблица 2. Хлорофилльные мутации у растений ячменя

Варианты	Расстояние, м	Покоче- ние	Хлорофилль- ные мутации, %
Источник эмиссии	0	M ₂	5.5
	0	M ₃	3.5
	500	M ₂	4.5
	500	M ₃	3.5
	1000	M ₂	3.0
	1000	M ₃	1.5
Источник эмиссии — Джрвеж	0	M ₂	4.0
	0	M ₃	3.0
	500	M ₂	4.5
	500	M ₃	3.0
	1000	M ₂	2.5
	1000	M ₃	1.0

Такая же закономерность наблюдается и на расстоянии 500 и 1000 м от места выброса, но количество мутаций с удалением от источника загрязнения, уменьшается [10].

Данные об аккумуляции хлора в различных органах ячменя свидетельствуют о том, что больше всего его накапливается в растениях, произрастающих на территории выброса, причем максимальное количество обнаруживается в листьях. С удалением от источника эмиссии у растений ячменя снижается частота хлорофилльных мутаций, что позволяет судить о степени загрязненности воздуха промышленными выбросами.

Одним из основных факторов, загрязняющих окружающую среду, является автотранспорт. При высокой интенсивности движения выделяется огромное количество выбросов, в том числе ряд соединений тяжелых металлов, приводящих к разнохарактерным изменениям в растениях и снижению продуктивности агро- и биоценозов.

В задачу настоящей работы входило изучение действия выбросов автотранспорта на рост, развитие и продуктивность растений в условиях высокогорной автомагистрали Ереван—Севан.

Влияние загрязнения изучали на специально отведенных делянках у автомагистрали на высоте 1800 м над ур. м, на расстоянии 10, 50, 100 и 300 м от дороги. Контролем служили растения, выращенные вдали от автомагистрали. Изучали селекционные сорта яровой пшеницы Шираки I и ячменя ВНР 17. Опыты проводили в течение трех лет на растениях трех поколений методом наложения.

В первый год действия выбросов автотранспорта существенных различий в полевой всхожести семян пшеницы и ячменя в изучаемых вариантах не обнаружено. Некоторое негативное действие на растения наблюдалось начиная с фазы кущения. Оно выражалось в пожелтении листьев и высыхании растений, их полной или частичной гибели, особенно на расстояниях 50 и 100 м от дороги [3]. На втором и особенно в третьем поколениях отрицательное действие выбросов на жизне-

способность растений пшеницы и ячменя сказывалось весьма отчетливо в течение всего периода вегетации. Среди растений обеих культур были выявлены формы с разветвленными и уродливыми колосьями, а также карлики с штевидными и игольчатыми листьями. Хлорофилльные нарушения появлялись в начале выхода в трубку и виде узких светлых полос, лишенных хлорофилла [8].

Результаты трехлетних опытов позволяют сделать предварительное заключение об ингибирующем действии выбросов автотранспорта на рост и развитие растений.

Проведено определение подвижного свинца в почве придорожной полосы. Установлено загрязнение им на расстоянии до 100 м от дороги, особенно сильное на расстоянии 10 и 50 м в горизонтах 0—5 и 5—10 см (табл. 3).

Таблица 3. Содержание подвижного свинца в почвах придорожной полосы, мг/кг

Расстояние от дороги, м	Глубина, см			
	0—5	5—10	10—15	15—30
10	37,0	27,0	7,0	5,0
50	25,0	14,0	5,0	4,0
110	8,0	5,0	5,0	4,0
1000	4,3	4,2	4,0	3,9

ВТН традесканции успешно используются исследователями при разработке проблем мониторинга. В последние годы эта система широко применяется как детектор химических мутагенов. Нами в лабораторных условиях проведено исследование действия некоторых пестицидов, в частности, кельтана и фенагона, на систему ВТН традесканции. Выявлено сильное генетическое действие этих пестицидов даже при их очень низких концентрациях. При этом не отмечено концентрационной зависимости мутагенного эффекта [14].

В связи со сказанным проводится работа по выявлению антимуtagenного и защитного действия физиологически активных веществ при их совместном применении с гербицидами. Изучение действия гербицида глифа на хлоропластические клетки лука показало, что в определенных концентрациях он обладает мутагенным свойством и вызывает в среднем по срокам фиксации до 6,61% хромосомных нарушений (табл. 4). При совместном применении его с гиббереллином мутагенный эффект заметно снижается, однако остается несколько повышенным по сравнению с контрольным уровнем. При этом в варианте гиббереллин-гербицид число перестроек достигает в среднем 4,83%, а в варианте гербицид-гиббереллин—3,55%.

Аналогичные результаты получены при совместном действии фенагона и гиббереллина. В обоих случаях уровень защиты составлял около 40—50%. Полученные данные показывают, что, очевидно, гиббереллин действует на восстановительный аппарат клетки, вследствие че-

Таблица 4. Уровень мутирования хромосом *Al. сера*

Бешество, концентрации	Количество измененных шафаз, %	Количество перестроек, %
Контроль	0.13 ± 0.13	0.52 ± 0.14
Гиббереллин 0.01	0.77 ± 0.16	0.84 ± 0.17
Глин 0.05	6.18 ± 0.47	6.61 ± 0.48
Глин + ГК	3.08 ± 0.31	3.55 ± 0.36
ГК + Глин	4.62 ± 0.41	4.83 ± 0.44

го заметно снижается уровень хромосомных нарушений. Это свойство гиббереллина может быть использовано в практике применения пестицидов с целью снижения потенциальной генетической опасности ядохимикатов.

Полученные результаты имеют важное значение для прогнозирования генетических изменений в агроценозах с целью охраны генофонда культурных растений.

Использование в практической работе различных тест-систем дает возможность выявить более полную картину распределения и концентрации мутагенов среды, определить экологическую и генетическую нагрузку на природную среду с целью установления генетического мониторинга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян В. А. Природа, город, человек. Ереван, 1987.
2. Авакян В. А. Тез. докл. на заседании секции генетических аспектов проблемы «Человек и биосфера». Ереван, 1987.
3. Авакян В. А., Амирбекян В. А., Акопян А. З. Биолог. журн. Армении, 40, 2, 1987.
4. Азатян Р. А., Восканян А. З., Авакян В. А., Айрапетян Р. Б., Мирзоян Г. Н. Биолог. журн. Армении, 40, 9, 1988.
5. Айрапетян Р. Б., Авакян В. А., Азатян Р. А. Биолог. журн. Армении, 37, 5, 1984.
6. Айрапетян Р. Б. Биолог. журн. Армении, 39, 5, 1986.
7. Айрапетян Р. Б. Биолог. журн. Армении, 40, 2, 1987.
8. Амирбекян В. А., Авакян В. А., Акопян А. З. Тез. докл. на заседании секции генетических аспектов проблемы «Человек и биосфера». Ереван, 1987.
9. Воеводкин А. В., Терехов М. А., Казарина Е. М., Хосматуллин Р. Г. Тр. ВНЗР, 43, 171, 1985.
10. Восканян А. З., Авакян В. А. Тез. докл. на заседании секции генетических аспектов проблемы «Человек и биосфера». Ереван, 1987.
11. Гладышев Н. М. Вестн. ЛГУ, 1, 9, 1984.
12. Кириллов Г. А., Тихонович Н. А., Фадеев Т. С. Успехи современной генетики, 10, 1982.
13. Куринный А. И. Тез. докл. на заседании секции генетических аспектов проблемы «Человек и биосфера». Ереван, 1987.
14. Осипов Р. Г. Тез. докл. на заседании генетических аспектов проблемы «Человек и биосфера». Ереван, 1987.

Поступило 8.11.1990 г.



ОПЫТ КЛАССИФИКАЦИИ ВНУТРИВИДОВОГО
ПОЛИМОРФИЗМА *AEGILOPS TRIUNCIALIS* L.

М. Г. АРУТЮНЯН, П. А. ГАНДИЛЯН*

НИИЗ, Отдел агроэкологии и генетического мониторинга, Джрвеж,
*Армянский сельскохозяйственный институт, Ереван

Разработана внутривидовая классификация эгилопса трехдуюмового (*Aegilops triuncialis*). В пределах вида установлены подвиды, группы разновидностей, разновидности и формы. Последние приведены в виде формул, которые являются кратким латинским диагнозом.

Երկնով Հայաստանի տարածքից հավաքած բազմաթիվ նմուշների անալիզից, տարբեր ինստիտուտների հերարխիաների դիտումից և գրականության տվյալների ամփոփումից, մշակված է եռմատնյա ալիսկերի ներտեսակային դասակարգումը: Տեսակի ներսում սահմանվել են ենթատեսակներ, տարատեսակային խմբեր, տարատեսակներ և ձևեր: Վերջիններս բնութագրված են բառակապակցի տեսքով: Քրոնը անդրախումբ են լատինական դիագնոզը:

According to the analysis of numerous samples collected in the territory of Armenia as well as observations of different herbariums and summing up of the data in corresponding literature, we've carried out intraspecific classification of *Aegilops triuncialis* L. Some subspecies are fixed within the species as well as classes of variety and forms. The latter are taken in formulae being a short Latin diagnosis.

Эгилопс трехдуюмовый—внутривидовой полиморфизм.

Эгилопс трехдуюмовый впервые описан Линнеем [10], согласно которому стебель растений этого вида у основания стелющийся, затем прямостоячий, многочисленный; колос суженно-ланцетовидный, почти цилиндрический, 4—5-колосковый; колосковые чешуи трехостные или иногда зубчатые.

Современное описание вида можно представить следующим образом: растения многостебельные с яровым или озимым образом жизни. Колос удлиненный, кверху утончающийся. Колоски не вздутые, на колосковых чешуях по 3 (редко 2—4) ости, иногда вместо остей зубец или остевидные придатки. При созревании не распадаются на колоски, а обламывается целиком у основания (при продавливании колоса ось его ломается и колоски распадаются). Зерно с цветочными чешуями не срастается.

Среди остальных видов эгилопса этот вид в Армении самый полиморфный. Встречается в шести флористических районах Армении на высоте от 500 до 2150 м над ур. моря в полунустиях, на каменистых сухих склонах, у дорог, в населенных пунктах, в сорных местах, в садах, на полях различных культур как сорняк. Почти всегда в фитоценозе с преобладанием э. трехдуюмового встречаются и другие виды эгилопса, чаще всего э. цилиндрический и э. Тауша. Обычно в фитоценозах встре-

чаются тимьян, бессмертник, полынь, дубровник, сухоцвет, дикие виды ячменя, рожь, синеголовник, дикие виды пшеницы и др.

Из-за сильного полиморфизма отдельные экземпляры этого вида иногда путают с другими (*Ae. triaristata* Willd., *Ae. biuncialis* Vis.). Просмотрев гербарные материалы, хранящиеся в гербариях БИПа, ВИРа (Ленинград), мы заметили, что отдельные экземпляры *Ae. triuncialis* определены как *Ae. biuncialis* или *Ae. triaristata*. Эта ошибка в основном связана с числом колосков в колосе и числом остей на колосковых чешуях. Во время экспедиции мы не раз собирали колосья (Ехегнадзорский, Мегринский районы), похожие на колосья *Ae. biuncialis* (двухколосковые), однако после посева мы получали типичные колосья *Ae. triuncialis*.

Анализируя многочисленные образцы *Ae. triuncialis* наших сборов, мы убедились, что количество остей на колосковых чешуях нижних колосков составляет 2—4, иногда и больше. Ости у разных форм разной длины. Колосья отличаются друг от друга множеством морфологических признаков: колосковыми чешуями, которые могут быть опушенными, окраской остей и колоса (белый, желтый, серовато-дымчатый, черный, фиолетовый, красный), верхнего края колосковой чешуи, степенью остистости колосковых чешуй, числом колосков и т. д.

Вид полиморфен не только такими морфологическими признаками, которые считаются разновидностями, но и другими признаками и свойствами: степенью грубости колоса, остей, наличием сильного воскового налета на надземных органах растений или отсутствием его, продолжительностью вегетационного периода, поражаемостью болезнями и др.

На внутривидовую дифференциацию видов эгилопса указывали Буассье, Попова, Фляксберггер [3, 4, 6]. Они исходили из закономерности параллельной изменчивости признаков и выделяли разновидности по схеме Кершике-Фляксберггера [9]. Однако эта система не пошла дальнейшего развития. Жуковский [2], Эйг [7] при выделении разновидностей не обратили внимания на окраску колоса. Буассье [6] для этого вида приводит две разновидности: *var. kotschyi*, с тонкими прижатymi к колосу остями и *var. brachyathera*, с укороченными остями. Жуковский [2], кроме этих, описывает несколько подвидов и разновидностей:

ssp. *Caput medusae* Zhuk. — колосья очень грубые, ости жесткие

ssp. *fascicularis* Zhuk. — ости верхних колосков очень длинные, тонкие

var. *prima* Zhuk. — колосья опушенные

var. *secunda* Zhuk. — колосковые чешуи шелковисто-опушенные

ssp. *typica* Zhuk. — колоски удлиненные, колосковые чешуи волосистые

var. *muricata* Zhuk. — колосковые чешуи неопушенные, по первам
игольчатые

var. *hiria* Zhuk. — колосковые чешуи опушены короткими густыми
волосками

Жуковский, а затем Цвелев и Хамме [2, 5, 8] вид *Ae. persica*, описанный Буассье, переводят в ранг подвида. В пределах *Ae. triuncialis*

Фляксберггер [4] описал новую разновидность с черными остями—*var. nigriaristata*.

Попова [3] в своих работах описывает несколько разновидностей и форм этого вида, произрастающих на территории Туркмении. Хамме [8], обобщая имеющиеся данные, допускает в пределах вида *Ae. triuncialis* подвида, разновидности и формы. При описании форм он обращал внимание на окраску колоса и остей.

Внутривидовой полиморфизм этого вида изучен недостаточно. Разновидностной и формовой состав его в природе гораздо шире, чем указано в литературе [2—4]. Подробное обследование собранного материала дало нам возможность выявить, кроме известных, новые формы. Разновидностям и формам этреджуймового мы даем формульные обозначения латинской формы [1].

В табл. 1 приведен список основных терминов (признаков) для составления формул разновидностей и форм эгилопса. Формула начинается с буквы, характеризующих степень остистости, и кончается буквенными обозначениями окраски зерновки (выделены в скобках). Но так как зерно этого вида красное, в формулах этот признак не приводим.

Таблица 1. Список основных терминов (признаков) для составления формул разновидностей эгилопса

Термины (признаки)	Латинское обозначение	Краткое обозначение
По остистости		
безостый	<i>muticus</i>	mu
остистый	<i>aristatus</i>	ar
полустистый	<i>subaristatus</i>	sar
По поверхности колосковых чешуй		
голый	<i>nudus</i>	nu
покрытый шетновидными шипиками	<i>setosus</i>	se
шершавато-бугорчатый	<i>tuberculatus</i>	tu
опушенный	<i>pubescens</i>	pu
По окраске колоса		
белый	<i>albus</i>	al
желтый	<i>luteus</i>	lu
пепельно-серый, серо-дымчатый	<i>cinereus</i>	ci
темно-серый (шоколадный)	<i>fumigatus</i>	fu
коричневый	<i>hepaticus</i>	he
черный	<i>niger</i>	ni
фиолетовый	<i>violaceus</i>	vi
серо-фиолетовый	<i>lividus</i>	li
красный	<i>rubescens</i>	ru

По окраске колоса, кроме тех, которые приведены в табл. 1, мы выделяем и промежуточные:

lucim (*luteocinereomaculatus*) — с пепельно-серыми, серо-дымчатыми точками на желтом фоне

lunim (*luteonigromaculatus*) — черноватыми точками на желтом фоне

cinim (*cineronigromaculatus*) — с черными точками на сером фоне

Формулы разновидностей в определительных таблицах расположены в строгой последовательности признаков (табл. 2).

Таблица 2. Порядок чередования признаков (их обозначения) в определительных таблицах разновидностей эгилопса

По ости- стости	По поверх- ности ко- лосковых чешуй	По окраске колоса (остей и чешуй)	По окраске зерновок
Mu	nu	al	
ar	se	lu	
sar	lu	cl	
	pu	lu	
		he	ru
		pi	
		vi	
		li	
		ru	
		cinlu	
		lucim	
		lunlu	

При необходимости к основной формуле добавляются краткие обозначения; например, если ости по окраске отличаются от колоса, то перед формулой пишется соответствующее краткое название окраски остей.

Признаки подвидовые и разновидностные

По остистости колосковых и цветковых чешуй

mu (*muticus*) —безостые, чешуи кончаются зубцами или остевидными заострениями

sar (*subaristatus*) —полустистые, характеризуются остями в 1—2 см

ar (*aristatus*) —остистые, характеризуются более длинными остями

По поверхности колосковых чешуй

nu (*nudus*) —голый, на чешуях нет волосков, шипиков, имеются бугорчатые точки

se (*setosus*) —чешуи покрыты щетиновидными шипиками

tu (*tuberculatus*) —чешуи шероховато-бугорчатые

pu (*pubescens*) —опушенные, чешуи в разной степени волосистые

По окраске колоса, остей—белый, черный, желтый, серый.

Для определения групп разновидности (*Convarietus*) берем признак по числу остей:

convar. *biaristatum* —только с двумя остями

convar. *triaristatum* —с двумя остями с зубцом или тремя остями

Признаки формовые—окраска остей

Обобщая имеющиеся данные, внутривидовую классификацию мы представляем следующим образом:

Aegilops triuncialis L. 1753, Spec. Pl.: 1051; (= *Ae. elongata* Lam. 1778, Fl. Fn. 3: 632; = *Ae. echinata* Presl, 1820, Cyp. et Gram. Sic.; 47 = *Tr. triunciale* (L.) Rasp., 1825, Ann. Sci. Nat. ser. 5: 435, ssp. *triuncialis*).

ssp. *persica* (Boiss.) A. Löve, comb. nov. based on *Aegilops persica* Boiss., Diagn. Pl. Or. ser. 1, 7: 129 = *Ae. buschifrica* Roshevitz, 1945, In Kôre, Danish Sci. Inv. Iran 4: 21 = *Ae. triuncialis* ssp. *orientalis* Big, 1929, Feddes Repert, Beih. 55: 129 p. p. = *Tr. persicum* (Boiss.) Hitch &

Hemsl., 1886, Trans. Linn. Soc. 11,3:128 — *Aegilopodes triuncialis* (L.)
A. Löve, 1982, Biol. Zentralbl. 101:207).

Ae. triuncialis L.

ssp. *triuncialis* (— ssp. *typica* Zhuk.),
convar. *triuncialis* (— convar. *triaristatum* m.).

annual — var. *triuncialis* — var. *muricata* Zhuk., 1928:500; var. *albescens*.

Popova, 1924:462; var. *typica* Elg., 1923:133; =f. *triuncialis* Hammer, 1980:63.

annual — var. *nigro-albescens* Popova, 1923:462; — var. *nigriaristata* Flaksb., 1922:484; =f. *nigro-albescens* Hammer, 1980:63.

annual — var. *ferruginea* Popova, 1923:462; =f. *ferruginea* Hammer, 1980:63.

annual — var. *nigro-ferruginea* Popova, 1923:461; =f. *nigro-ferruginea*, Hammer, 1980:64.

annual — var. *brunnea* Popova, 1923:462; =f. *brunnea* Hammer, 1980:63.

annual m., suarnulu m.

annual m., annuli m.

annual m., annulunt m.

annual m., annulucim m.

annual — var. *flavescens* Popova, 1923:462; = var. *hirta* Zhuk., 1928:500; = var. *flavescens* Hammer, 1980:64.

annual — f. *flavescens* Hammer, 1980:64.

annual — var. *nigro-flavescens* Popova, 1923:462. — f. *nigro-flavescens* Hammer, 1980:64.

annual — var. *rubiginosa* Popova, 1923:462; =f. *rubiginosa* Hammer, 1980:64.

annual — var. *nigro-rubiginosa* Popova, 1923:462; =f. *nigro-rubiginosa*, Hammer, 1980:64.

annual m., arseal m.

annual m., arseal m.

annual m., artual m.

annual m., artuci m.

annual m., artuli m.

convar. *triaristatum* m.

annual m., annuci m.

annual m., arseal m.

annual m., artual m.

annual m.

ssp. *persica* (Boiss.) Zhuk.

var. *persica* (Boiss.) Elg.

Таким образом, вид *Ae. triuncialis* мы делим на 2 подвида (ssp. *triuncialis* и ssp. *persica*). В пределах этих подвигов разграничиваются 2 группы разновидностей, а последние включают разновидности и форму. В пределах разновидностей можно выделить и формы с восковым налетом, однако такие экземпляры, наряду с образцами с разными признаками и свойствами (грубость колосьев, вегетационный период, поражаемость болезнями и др.), пока выделяем как биотипы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гандиян П. А. Определитель пшеницы, эгилоса, ржи и ячменя, 285, 1980.
2. Жуковский Н. М. Тр. по прикл. бот., ген. и селек., 28, 491—505, 1928.
3. Попова Г. М. Тр. по прикл. бот., ген. и селек., 13, 461—482, 1923.
4. Фляксберггер К. Тр. по прикл. бот., ген. и селек., 13, 483—484, 1923.
5. Цвелев Н. И. Злаки СССР, 154—160, Л., 1976.
6. Boissier E. Diagnoses plantarum orientalium novarum, 7, Lipsiae, 1844, cited, in Elg 1929h.
7. Ele A. Monographisch-Kritische uebersich der Gattung Aegilops, 130—135, Berlin, 1929e.
8. Hammer K. Kulturpflanze, 28, 1, 63—64, 1980.
9. Körnicke Fr. Handbuch des Getreidebaues, 16, Berlin, 1885.
10. Linnaeus C. Species plantarum, 1, 1051, 1753.

Поступило 3 I 1990 г.

Биолог журн. Армении, № 9 (43) 1990

УДК 633.11 + (633.289.2):575

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПРИЗНАКИ СИНТЕТИЧЕСКИХ АМФИДИПЛОИДОВ И АВТОТЕТРАПЛОИДОВ ПШЕНИЦЫ И ЭГИЛОПСА

Э. А. ПЕТРОСЯН

Институт земледелия Госагропрома Армении, г. Эчмиадзин

Выяснено, что увеличение пloidности растений, независимо от автотетра- или аллотетрапloidности, приводит к снижению фертильности. Изученные амфидиплоиды в первых поколениях (C_1 — C_5), как правило, уступают исходным диплоидным видам и по показателям других количественных признаков.

Փորձված է, որ բույսերի պոլիպլոյան մեծացումը, անկախ ավտոտետրապլոյդ և ալլոտետրապլոյդությունից, բերում է ֆերտիլության փոքրացման ռեսուլտատի։ Քննարկված ամֆիդիպլոյդներն առաջին սերունդներում (C_1 — C_5), որպես կանոն, զիջում են դիպլոյդ և տրապլոյդ տեսակներին նաև որիշ քանակական հատկանիշներին ճյուղանիշերով։

The increase of the ploidy of the plants independly from autotetra- or allotetraploidy leads to the diminution of the index fertility. Investigated amphidiploids in the first generations (C_1 — C_5) as rule concede the initial diploid species and also indexes to other quantitative signs.

Растения пшеницы и эгилоса—авто- и аллотетрапloidны—количественные признаки

Исследованные нами АД синтезированы в 1982—1984 гг. [1] и по-разному сочетают геномы видов, которые считаются возможными донорами мягкой пшеницы—основной хлебной культуры большинства стран мира. С этой точки зрения изученные диплоидные виды и синтетические АД представляют интерес, поскольку в настоящее время не вызывает сомнения, что эволюция мягкой пшеницы шла путем естественной амфи-диплоидизации.

Сокращения: АД—амфидиплоид, АТ—автотетрапloid.

При скрещиваниях в пределах вида мягкой пшеницы генетический потенциал хозяйственно ценных признаков имеет определенный предел [3]. Между тем многие виды пшеницы и эгилопса, не имея производственного значения, обладают значительным резервом полезных и ценных для современной селекции признаков. Но эти виды слабо или вовсе не вовлечены в селекцию. Возможность использования их в селекции сдерживается из-за недостаточных знаний о взаимоотношениях видов. В значительной мере это относится и к сородичам мягкой пшеницы. Каждая новая информация в этой области может способствовать преодолению тех трудностей, которые являются препятствием к использованию разных видов в селекции пшеницы.

Совместное изучение видов, считающихся возможными донорами трех геномов (АВД) мягкой пшеницы, и синтетических АД, по-разному сочетающих геномы этих видов, способствует выявлению тех биологических, хозяйственно полезных и вредных признаков и свойств, которые обуславливаются взаимодействием геномов разных диплоидных видов. Полагаем, что синтез АД и разностороннее их исследование может способствовать разработке путей и методов выведения сортов пшеницы (или новых форм), обогащенных новыми полезными признаками.

Материал и методика. Изучали диплоидные пшеницы (*T. urartu* Thum. ex Gandl., *T. boeoticum* Boiss., *T. monanthum* L., *T. sinensis* A. Filat. et Kirk.) и *Ar. tauschii* Cosson, синтезированные при участии этих видов шесть АД (*T. × boeoticourarticum*, *T. × monesourarticum*, *T. × siniskourarticum*, *T. × siniskoboeboticum*, *T. × boeoticotauscheum*, *T. × tauschourarticum*). АД формы пшениц—Урарту, беотскую, монококкум, эгилопса Тауша и тетраэпискоформу, выделенную из АД синскоурартикум.

Изученные виды и синтетические АД кроме беотикотаушикум и таушоурартикум, обладают в разной степени синтанной жесткостью колосового стержня. Поэтому для индивидуального исследования отбирали лучший колос (или главный) каждого растения (всего 30) еще на стадии молочной спелости. Групповую уборку урожая осуществляли в 2—3 этапа по мере созревания колосков вдоль колосея.

Для определения озеркистости из группового материала повторности были взяты по 100 колосков с каждого номера. Посев всего материала производили в четырех повторностях. Изученные нами формы, за исключением пшеницы Синской, относятся к плечатым.

Результаты и обсуждение. Анализ полученных результатов показывает, что синтезированные АД формы по диагностическим для вида морфологическим признакам существенно не отличаются от диплоидных форм, но различаются количественными признаками. Колосья АД более крупные, чем у диплоидов. Визуально отмечается, что у АД увеличена толщина листа, стебля, колосковых и цветковых чешуй. Число сформированных семян у АД меньше, чем у исходных диплоидных форм. Меньше также число генеративных побегов. У АД более длинный вегетационный период, чем у соответствующих исходных диплоидов.

Синтетические АД по морфологическим признакам существенно отличаются от каждой исходной диплоидной формы. Они проявляют промежуточные морфологические признаки двух родительских видов или совершенно новую морфологию. Например, колосья АД беотикотауши-

кум и таушоурартикум напоминают гексаплоидную пшеницу спельта [1].

Изученные нами АД по показателям количества зерен в колосе, как правило, также уступают диплоидным видам.

Таким образом, выясняется, что увеличение плоидности растений, независимо от автотетра- или аллотетраплоидности, приводит к снижению фертильности (табл. 1, 2). Можно допустить, что у АД чужерод-

Таблица 1. Плоидность генома и озерненность колосков разных видов пшеницы и эгилопса

Вид	Геном*	1987 год		1988 год	
		X	min—max	X	min—max
Пшеница Урарту	A^1A^1	1,56	1,81—1,90	2,07	1,82—2,28
Тетраурарту	$A^1A^1A^1A^1$	0,93	0,81—1,03	0,94	0,84—1,00
Пшеница беотская	A^1A^1	1,54	1,70—1,92	1,54	1,83—1,85
Тетрабеотская	$A^1A^1A^1A^1$	1,85	1,25—1,49	1,51	1,31—1,67
Пшеница монококум	A^1A^1	0,95	0,90—0,98	1,16	1,00—1,25
Тетрамонококум	$A^1A^1A^1A^1$	0,46	0,42—0,50	0,79	0,74—0,86
Пшеница Синской	A^1A^1	0,80	0,66—0,87	0,63	0,51—0,71
Тетра синскоформе от Синскоурартукум	$A^1A^1A^1A^1$	0,35	0,34—0,35	0,33	0,22—0,45
Эгилопс Тауша	ДД	2,56	2,40—2,70	2,70	2,66—2,73
Тетра тауша	ДДДД	1,44	1,30—1,59	1,58	1,36—1,76
Пшеница Тимофеева	$A^1A^1B^1B^1$	—	—	1,97	1,81—2,07
Пшеница тимонсвум	$A^1A^1A^1A^1B^1B^1B^1B^1$	—	—	0,94	0,79—1,04

* Формулы приведены в соответствии с принятым во ВНИИР геномным обозначением.

** С возможными кроссоверными участками или транслокациями от генома пшеницы Урарту.

ные геномы, находясь в одном организме, могут функционировать несогласованно. Но трудно представить то же самое при автотетраплоидии самоопылителей, причем негибридных, а эволюционно константных видов, таких как пшеница Урарту и беотская или эгилопс Тауша. Поэтому полагаем, что уменьшение числа генеративных побегов, величины фертильности цветков и у АТ и у АД, по сравнению с исходными диплоидными видами, является следствием ядерно-плазменных взаимоотношений.

Аллотетраплоиды считаются константными полиплоидами с правильным мейозом [5], поскольку в клетке присутствуют все хромосомы, необходимые для образования бивалентов исходных двух видов. Однако изученные нами аллотетраплоиды по степени фертильности также уступают исходным диплоидным формам. Сейчас становится все более очевидным, что нормальное развитие зависит от очень точного равновесия между соответствующими дозами специфических геновых продуктов. Не исключено, что такое равновесие у авто- или аллотетраплоидов в разной степени расшатано.

Таблица 2. Озерненность колосков синтетических АД и исходных видов (анализ из группового и индивидуального материала)

Вид, АД	Геном	Особь		Групповые повторности	
		$\bar{X}$	min—max	$\bar{X}$	min—max
Пшеница Урарту	A ^a A ^u	1.46	1.82—2.14	2.05	1.83—2.28
Пшеница беотская	A ^b A ^b	1.93	1.59—2.00	1.84	1.83—1.85
Пшеница монококум	A ^b A ^b	1.15	0.87—1.54	1.16	1.00—1.25
Пшеница Сисской	A ^b A ^b	0.83	0.52—1.28	0.63	0.54—0.71
Эгиплос Тауша	ДД	2.56	2.09—3.54	2.70	2.66—2.73
Беотикоурартикум	A ^b A ^b A ^u A ^u	1.11	0.52—1.70	1.09	0.73—1.30
Монококумурартикум	A ^b A ^b A ^u A ^u	0.69	0.18—1.78	0.70	0.37—1.08
Сисскоурартикум	A ^b A ^b A ^u A ^u	1.01	0.81—1.20	1.04	1.02—1.06
Сисскобеотикум	A ^b A ^b A ^b A ^b	1.13	0.81—1.50	1.06	0.90—1.14
Беотикотаушикум	A ^b A ^b ДД	1.13	0.76—1.66	1.09	0.95—1.29
Таушоурартикум	ДДА ^u A ^u	1.03	0.38—1.66	1.00	0.69—1.27

Хотя геномы, входящие в состав изученных аллополиплоидов, обозначаются разными (А, В, Д) буквами, однако имеются данные, что в известной степени они гомологичны [4, 5]. Совершенно справедливо образование 2—3 мультивалентов на клетку у АД таушоурартикум частично объясняется остаточной гомологией хромосом в геномах эгиплоса Тауша и пшеницы Урарту [2].

У двух АД (сисскоурартикум, сисскобеотикум), полученных с участием пшеницы Сисской, показатели озерненности колосков имеют более высокие процентные отношения к среднеарифметическим показателям родителей (77 и 86%), чем у остальных четырех (от 42 до 56%) изученных АД (табл. 3).

Наши десятилетние наблюдения показали, что пшеница Сисская имеет пониженную озерненность по сравнению с исходным видом [6] *T. monosossini* (соответственно 0,8 и 1,2 зерновок на колосок по данным 1988 г.) и тем более с другими диплоидными пшеницами. При кастрации цветков и сборе пыльцы для искусственного опыления регулярно наблюдали также, что пыльники многочисленных цветков пшеницы Сисской бывают в разной степени (уменьшение размера) и в разном количестве редуцированными. Причина этого явления нам не известна (посевы в Араратской долине Армении). Но очевидно, что фактор, действующий на показатель фертильности, у вышеотмеченных двух АД, синтезированных с участием пшеницы Сисской, как бы нейтрализуется или ослабевает.

На основании полученных результатов приходим к заключению, что увеличение пloidности растений, независимо от автогетра- или аллотетрапloidности, приводит к снижению фертильности. Изученные синтетические АД, по крайней мере в первых поколениях, как правило,

Т а б л и ц а 3. Показатели количественных признаков амфидаплоидов и исходных видов

Вид. А.П.	1	2	3	4	Процентное отношение к среднearифметическому исходных форм по			
	Высота растений $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Продуктивная кустистость $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Число колосков в колосе $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Число зерен в колоске $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	1	2	3	4
Пшеница Харту	140 $\pm$ 3,8	16,9 $\pm$ 1,2	36,6 $\pm$ 0,5	1,96 $\pm$ 0,01				
Пшеница беотская	146 $\pm$ 1,8	18,0 $\pm$ 0,6	32,8 $\pm$ 0,6	1,93 $\pm$ 0,01				
Пшеница монококум	110 $\pm$ 2,0	22,4 $\pm$ 3,8	40,0 $\pm$ 0,5	1,19 $\pm$ 0,04				
Пшеница Синской	113 $\pm$ 0,7	24,9 $\pm$ 1,0	31,0 $\pm$ 0,3	0,83 $\pm$ 0,01				
Эксплант Тауши	87 $\pm$ 4,1	35,2 $\pm$ 1,7	11,7 $\pm$ 0,6	2,56 $\pm$ 0,04				
Беотикоурартikum	116 $\pm$ 4,5	13,6 $\pm$ 0,8	24,2 $\pm$ 1,2	1,10 $\pm$ 0,14	81	78	70	56
Монококумурартikum	91 $\pm$ 2,2	12,1 $\pm$ 0,4	30,9 $\pm$ 0,9	0,70 $\pm$ 0,16	75	63	81	43
Синскоурартikum	104 $\pm$ 0,7	11,7 $\pm$ 0,3	33,8 $\pm$ 0,4	1,03 $\pm$ 0,01	82	56	96	77
Синскобеотikum	118 $\pm$ 1,9	11,7 $\pm$ 1,2	30,0 $\pm$ 0,5	1,12 $\pm$ 0,01	91	55	90	86
Беотикотаушиikum	128 $\pm$ 2,8	14,6 $\pm$ 0,3	21,0 $\pm$ 1,2	1,13 $\pm$ 0,10	101	55	90	48
Таушоурартikum	69 $\pm$ 1,5	3,1 $\pm$ 0,3	13,7 $\pm$ 0,1	1,02 $\pm$ 0,10	61	12	72	42

уступают исходным диплоидным видам и по другим показателям количественных признаков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гиндиян П. А., Шакарян Ж. О., Петросян Э. А. Биолог. журнал Армении. 39, 1, 5—15, 1986.
2. Гиндиян П. А., Шакарян Ж. О., Назарова Э. А. Генетика. 24, 3, 494—504, 1988.
3. Дорофеев В. Ф., Якубинский М. М., Руденко М. И., Мигушева Э. Ф., Удачин Р. А., Мережко А. Ф., Семенов Л. В., Новикова М. В., Гридчишникова О. Д., Шитова И. П. Пшеницы мира. М., 1976.
4. Лили Я. Селекция пшеницы (теория и практика). М., 1980.
5. Мюнтцинг А. Генетика. М., 1967.
6. Филатенко А. А., Куркиев У. К. Тр по прикладной ботанике, генетике и селекции, 54, 1, 45—49, 1975.

Поступило 6 IV 1989 г.

Биолог. журн. Армении, № 9.(43).1990

УДК 633.11.631.581.169

НАСЛЕДОВАНИЕ ВЫСОТЫ РАСТЕНИЙ В СКРЕЩИВАНИЯХ С НЕСТАБИЛЬНЫМ ПО ЭТОМУ ПРИЗНАКУ МУТАНТОМ У ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

А. А. ГУЛЯН

Институт земледелия Госагропрома Армении, г. Эчмиадзин

Индукционированный по высоте растений мутант «крупный колос», который расщепляется на короткостебельные нестабильные и высокорослые константные формы. При скрещивании этого мутанта с другими константными формами в F_1 получились растения двух морфотипов: короткостебельные и высокорослые. В F_2 происходит трансгрессивное расщепление по высоте растений в сторону короткостебельности.

Ինդուկցիոն է կարճացողուն, բայց բարձրությունը անկայուն խոշորահասակ մուտանտ, որը ճեղքաժառանգում է. առաջացնելով կարճացողուն անկայուն և բարձրացողուն կայուն ձևեր: Տրամախաչելով այլ կայուն ձևերի հետ, առաջին սերնդում ստացվել են էրկու տիպի բույսեր՝ կարճացողուն և բարձրացողուն: Մեղղական բաղադրիչների կարճացողունության գենների կոմպլեմենտար և ադիտիվ (դոմինանտ) ներգործության ընդհեյվ առաջին սերնդի կարճացողուն բույսերն ունենցել են ափսիս ցածր դրդուն, բան համանման ձնողական բաղադրիչը: Բարձրացողունների մոտ դիտվել է բույսերի բարձրության միջանկյալ ժառանգում: Ներկրորդ սերնդում դիտվել է տրանսգրեսիվ ճեղքաժառանգում, բայց ջրողունի բարձրության ուղղված կարճացողունության կողմը:

The received unstable for plant height mutant "Magnus spikeae" segregating for short-stem unstable and high-stem stable forms has been isolated from crosses with other cultures, mutants and hybrid lines in F_1 form two lines of plants short-stem and high-stem. Outcome of complimentary or additive effects of short-stem plant in F_1 has more low stem than the short stem parent. In high stem plant intermediate type of heritability develops. In F_2 form the transgressive segregation for plant height to the short-stem takes place.

Повторным воздействием на радиомутант сорта Мецамори 16 рентгеновскими лучами в дозе 150 Гр в M_1 получена мутация «крупный колос» в сочетании с четко выраженной короткостебельностью. Крупность колоса проявлялась в последующих поколениях полностью как нерасщепляющаяся мутация, а короткостебельность наследовалась как гетерозиготный признак. В последующих поколениях наблюдалось расщепление с образованием растений двух морфотипов: высокорослых и короткостебельных. Высокорослые оказались константными, а короткостебельные—гетерозиготными по этому признаку и продолжали расщепляться на те же морфотины. Фактически короткостебельные константные формы не образовались. Поэтому этот мутант мы характеризовали как нестабильный по высоте растений. Разность в высоте между этими двумя формами—короткостебельной-нестабильной и высокорослой-константной—составляет 25—35 см. Высота их колеблется соответственно в пределах 90—105 и 120—145 см.

Нестабильный мутант имеет толстые стебли, прямостоячие листья, крупный колос длиной 12—15, нередко до 17 см. Число колосков 24—29, количество зерен в колосе 60—80, иногда 100 и более. Константная высокорослая форма имеет сравнительно тонкие, неэректоидные стебли, проникающий колос. Однако продуктивность его такая же, как и у нестабильного мутанта. Мутант позднеспелый, выколашивается на 8—10 дней позже, чем Безостая 1.

С целью сохранения положительных качеств и устранения отрицательных этот мутант скрестили с другими более раннеспелыми, короткостебельными формами.

В настоящем сообщении представлены результаты изучения проявления признака высоты растений нестабильного мутанта у гибридов F_1 и F_2 , полученных с его участием.

Материал и методики. В скрещиваниях с нестабильным мутантом М-574/51 использовали сорт Безостая 1, созданные нами перспективные мутанты М-293, М-308, М-380, М-430, М-436 и гибридные линии Грекум 2, Грекум 24, Грекум 42, Эритролеукоп 6/47, высота которых колеблется в пределах 90—105 см. В F_1 анализировали все гибридные растения и по 50 растений из родительских компонентов, в F_2 —по 50 растений из родительских компонентов и комбинаций скрещивания. Опыты проводили в 1985—1987 гг.

Результаты и обсуждение. Нестабильный по высоте растений мутант расщепляется на такие же нестабильные короткостебельные и константные высокорослые формы в разных соотношениях, не укладывающиеся в менделевские. Это расщепление носит дискретный характер, наблюдается четкое разграничение между короткостебельными (90—105 см) и высокорослыми (120—145 см) формами.

Во всех комбинациях скрещивания нестабильного мутанта с другими формами, кроме 574/51×Эритролеукоп 6/47, уже в F_1 получались растения двух морфотипов—короткостебельные и высокорослые (табл. 1). У короткостебельной фракции F_1 , куда вошли все растения высотой не выше 105 см (это верхний предел высоты короткостебельного неста-

Таблица 1. Проявление высоты растений в скрещиваниях с участием нестабильного по этому признаку мутанта (F_1 , 1986 г.)

Родительские компоненты	Число растений, КС: ВС	Высота растений, см	
		КС	ВС
Безостая 1	50	105±1.5	—
М-574/51	23:27	98±1.7	130±2.3
М-574/51×Безостая 1	39:17	95±2.2	115±2.4
М-574/51×Грекум 42	8:21	80±2.0	113±2.3
Грекум 12	50	90±1.2	—
М-380	50	109±2.1	—
М-574/51×М-380	30:21	85±2.1	118±1.5
М-574/51×М-293	15:6	75±1.6	110±3.1
М-293	50	103±1.8	—
М-436	50	91±1.3	—
М-574/51×М-436	38:24	89±1.4	115±2.4
М-574/51×Грекум 2	16:2	80±1.7	100±1.9
Грекум 2	50	85±1.5	—
Грекум 24	50	95±2.1	—
М-574/51×Грекум 21	5:3	90±1.9	121±2.3
М-574/51×Эритрол, 6/47	14:0	95±1.6	—
Эритролеукоп 6/47	50	95±1.3	—
М-574/52×Безостая 1	0:33	—	125±1.9
М-574/52×Грекум 12	0:41	—	120±2.4
М-574/52×М-436	0:8	—	113±1.7

Примечание: КС—короткостебельные, ВС—высокорослые, М-574/52—выщепляющаяся у нестабильного мутанта высокорослая фракция.

бильного мутанта), растения заметно ниже низкорослого родительского компонента. Можно предположить, что здесь имело место или комплементарное взаимодействие генов обоих родительских компонентов, или же аддитивное наследование короткостебельности. У высокорослой фракции гибридных растений этих комбинаций, как и в скрещиваниях с высокорослым мутантом 574/52, наблюдалось обычное промежуточное наследование высоты растений. В расщепляющихся комбинациях отмечались различные соотношения короткостебельных и высокорослых форм, что можно объяснить неодинаковой комплементарией аллелей короткостебельности нестабильного мутанта с соответствующими аллелями отцовских компонентов и, конечно, же, случайным характером рекомбинагенеза. В комбинации 574/51×Эритролеукоп 6/47 все растения были на уровне низкорослого родительского компонента—95 см. Возможно, гаметы—носители аллеля высокорослости нестабильного мутанта в данном случае не участвовали в оплодотворении.

Чтобы выяснить, как передается гетерозиготность по высоте растений нестабильного мутанта, только через женские гаметы или через мужские тоже, в следующем году мы провели несколько реципрокных скрещиваний (табл. 2). Выяснилось, что в обратной комбинации Эритролеукоп 6/47×574/51, в отличие от прямого скрещивания, в F_1 появились как короткостебельные (92 ± 1.4 см), так и высокорослые ($120 \pm$

Таблица 2 Проявление высоты растений в реципрокных скрещиваниях с участием нестабильного по этому признаку мутанта (Г., 1987 г.)

Родительские компоненты	Число растений, КС: ВС	Высота растений, см	
		КС	ВС
М-574/51	17:33	100±2.5	125±2.7
М-308	50	90±1.7	—
М-574/51×М-308	17:12	85±1.8	115±2.0
М-308×М-574/51	15:8	95±1.1	120±1.9
М-430	50	100±2.4	—
М-574/51×М-430	12:16	90±1.8	113±2.1
М-430×М-574/51	0:13	—	115±2.3
Эритролеукоп 6/47	50	95±1.7	—
Эритр. 6/47×М-574/51	19:7	92±1.4	120±2.7

2,7 см) формы. Уже одно это доказывает, что гетерозиготность по высоте растений нестабильного мутанта передается потомству также через мужские гаметы. В реципрокной комбинации нестабильного мутанта с М-308 как в прямом, так и в обратном скрещиваниях в F₁ наблюдалось расщепление по высоте с преобладанием короткостебельных форм (17:12 и 15:8). В комбинации с М-430 расщепление по высоте обнаружилось только в прямом скрещивании, когда нестабильный мутант выступает в качестве материнского компонента. В обратном скрещивании все растения высокорослые и имеет место промежуточное наследование этого признака. Отсутствие здесь короткостебельных форм вряд ли можно считать закономерным. Возможно, при большей выборке таковые были бы получены.

Короткостебельные и высокорослые формы растений F₁ анализировали и высевали отдельно, что позволило изучить их потомство в F₂ отдельно. Расщепление по высоте растений изучали в потомстве как короткостебельных, так и высокорослых фракций всех гибридных комбинаций (табл. 3). Показано, что и F₂ пределы варьирования по высоте короткостебельной и высокорослой фракций различны. В потомстве короткостебельной фракции амплитуда вариации смещается в сторону короткостебельности. Соответственно здесь меньше и средняя высота растений. Более узкие границы варьирования отмечались и комбинациях с участием Эритролеукоп 6/47, Грекум 2, Грекум 42 и М-293, где подавляющее большинство растений по высоте стебля находилось на уровне короткостебельных родительских компонентов. В комбинации 574/51×Эритролеукоп 6/47, где все растения F₁ были короткостебельными, в F₂ высокорослых форм не выщеплялось, а в комбинации 574/51×Грекум 2 появились единичные высокорослые растения. В других комбинациях соотношение короткостебельных и высокорослых форм при расщеплении в потомствах разных по высоте фракций было различным, хотя материнский компонент для всех комбинаций был один и тот же. Следовательно, такое различие в соотношении короткостебельных и высокорослых форм можно объяснить разной генетической структурой

Таблица 3. Распределение растений по высоте у гибридов F_2 (1987 г.)

Комбинации	Высота растений, см		В том числе у			
			КС		ВС	
	пределы	средняя	число т.п.	средняя, см	число т.п.	средняя, см
574/51×Безостая 1, КС	85—130	110,2	22	100,2	23	113,0
574/51×Безостая 1, ВС	95—135	115,4	14	101,5	36	123,0
574/51×Грекум 24, КС	90—130	105,6	31	97,0	19	120,0
574/51×Грекум 24, ВС	95—125	112,3	12	102,5	38	118,0
574/51×Грекум 42, КС	80—115	100,3	40	94,5	10	112,0
574/51×Грекум 42, ВС	90—120	106,8	26	96,5	24	113,6
574/51×Грекум 2, КС	80—110	90,2	4	90,0	1	110,0
574/51×Грекум 2, ВС	85—110	95,3	48	95,0	2	110,0
574/51×Эритр 6/17, КС	80—100	89,2	50	89,2	—	—
574/51×М-293, КС	85—115	100,5	42	96,4	8	112,3
574/51×М-293, ВС	90—120	107,7	22	97,8	28	113,7
574/51×М-380, КС	90—130	106,4	24	96,8	26	116,4
574/51×М-380, ВС	100—135	117,4	15	104,2	41	119,5
574/51×М-436, КС	80—130	110,5	18	98,0	32	116,7
574/51×М-436, ВС	95—140	120,0	3	100,0	47	118,5
574/52×Безостая 1	100—135	120,0	2	102,5	48	123,0
574/52×Грекум 42	110—125	114,6	12	102,0	38	117,8
574/52×М-436	105—145	123,5	2	105,0	48	123,0

отцовских компонентов и различным комплементарным эффектом генов, контролирующих короткостебельность у родительских компонентов.

В скрещиваниях высокорослого мутанта 574/52 с сортом Безостая 1, линиями М-436 и Грекум 42, где в F_1 растения были высокорослыми, в F_2 выщеплялись редкие короткостебельные растения, являющиеся, видимо, носителями генов короткостебельности только от отцовских компонентов. Их средняя высота составляла 102—105 см. Почти такую же высоту (101,5—104,5 см) имели короткостебельные рекомбинанты, выщепляющиеся в потомстве высокорослых растений комбинаций 574/51×Безостая 1 (ВС), 574/51×Грекум 24 (ВС) и 574/51×М-380 (ВС). По сравнению с другими комбинациями средняя высота высокорослых рекомбинантов F_2 здесь также оказалась выше—118—123 см.

Таким образом, скрещивание нестабильного по высоте растений мутанта озимой пшеницы с другими формами показало, что нестабильность проявляется уже в F_1 и получаются растения двух морфотипов—короткостебельные и высокорослые—независимо от направления скрещивания. Соотношение короткостебельных и высокорослых форм в F_2 в потомстве разных гибридных комбинаций различно и зависит от эффекта взаимодействия генов короткостебельности обоих родительских компонентов. В F_2 наблюдается трансгрессивное расщепление по высоте растений, направленное в сторону короткостебельности.

Поступило 21.IV 1989 г.

ИНТЕНСИВНОСТЬ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО ПРОЯВЛЕНИЯ НЕКРОЗА У МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ ТОМАТА РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

А. М. АГАДЖАНИЯ

Институт земледелия Госагропрома Армении, г. Эчмиадзин

Гибриды F_1 от скрещивания 78 сортообразцов самосовместимого вида *Lycopersicon esculentum* (♀) с диким самонесовместимым томатом оказались сублетально-некротическими. Вместе с тем между комбинациями скрещивания обнаружено сильное варьирование по степени проявления некроза. Интенсивность некроза в целом находится в прямой зависимости от позднеспелости сорта *L. esculentum*. Примечательно, однако, что позднеспелые сорта культурного вида отличаются относительно лучшей скрещиваемостью с *L. hirsutum*. В поколениях F_2 и BC_1 от скрещивания культурного томата с гибридами F_1 депрессия растений выражается еще сильнее и наблюдается значительная изменчивость по силе некроза в пределах одних и тех же комбинаций.

Ինքնահամատեղելի *Lycopersicon esculentum* տեսակի 78 սորտամուշեկների (♀) և վայրի ինքնահամատեղելի *L. hirsutum* տոմատի խաչամեծից ստացված F_1 հիբրիդները են սուբլետալ նեկրոտիկ ֆենոտիպ: Միևնույն ժամանակ, հիբրիդային կոմբինացիաների միջև հայտնաբերվել է խիստ տատանում՝ բաց ենկրոզի ուժի արտահայտման աստիճանի: Նեկրոզի ուժը ուղղակի կախված է *L. esculentum*-ի սորտերի ուշահասության չափից: Հասկանալի է, որպեսզի, եր կուլտուրական տեսակի ուշահաս սորտերը տարբերվում են խելեց համեմատաբար ավելի լավ խաչամեծելությունը *L. esculentum*-ի սորտերից: Կուլտուրական տոմատի և F_1 -հիբրիդների խաչամեծից ստացված բույսերի ղեկընդմաք ափսոսանք է արտահայտվում F_2 և BC_1 -սերունդներում և նեկրոզի ուժի զգալի փոփոխություն է նկատվում միևնույն գույակցությունից առանձնանկում:

The F_1 hybrids obtained from crossing of 78 sorts of self-compatible species of *Lycopersicon esculentum* (♀) with wild self-incompatible tomato *L. hirsutum* proved to be sublethalnecrotic. A strong variation has been observed on extent of display of necrosis. The intensity of necrosis is wholly in direct dependence on late-ripening sorts of the species are of comparatively better crossing. In progenies F_2 and BC_1 resulting from crossing of cultural tomato with F_1 hybrids the depression of plants is stronger and a variation of necrosis in the one and the same combinations is observed.

Растения томата—гибридный некроз.

Как известно, все формы самосовместимого *Lycopersicon esculentum* Mill при скрещивании с диким самонесовместимым видом *L. hirsutum* Humb. et. Bonpl. (волосистый томат) образуют гибриды с сублетальным некротическим эффектом. Такая форма нежизнеспособности взрослых гибридных растений занимает центральное место в системе изолирующих механизмов между этими видами. Из обширного полиморфного вида *L. esculentum* только внешневидные томаты (var. *cerasiforme*) при скрещивании с *L. hirsutum* не дали некротического эффекта в F_1 . Гибридные растения были не только жизнеспособными, но и гетерозисными. Жизнеспособными оказались и гибриды F_1 от скрещивания *L. pimpinellifolium* (смородиновидные и кистевидные томаты) с *L. hirsutum*.

Это сходство между *L. esculentum* var. *cerasiforme* (A. Grey) Brezh. и *L. pimpinellifolium* Mill. (Jusl), вероятно, дает основание пересмотреть систематическое положение var. *cerasiforme*. Представляется целесообразным перенести эту разновидность в том же ранге и под тем же названием из рамок вида *L. esculentum* в состав вида *L. pimpinellifolium*. Некротический эффект не обнаружен также в скрещиваниях других самосовместимых видов *Lycopersicon* с *L. hirsutum*.

Характер фенотипического проявления гибридного некроза описан ранее [2]. А недавно [7] обсуждались вопросы генетического контроля самого явления. В настоящем сообщении приводятся данные, указывающие на существование закономерности в силе проявления некроза в зависимости от скороспелости исходных сортов *L. esculentum*.

Материал и методики. На наличие генов гибридного некроза испытано 73 сорта культурного томата и 5 образцов других разновидностей *L. esculentum-saccenturatum* (многосемянный томат), *elongatum* (удлиненный томат), *pyriforme* (грушевидный томат; 2 образца) и *pruniforme* (сливовидный томат). Все эти сорта и формы в качестве материнского компонента скрещивали с самонесовместимой формой *hirsutum* вида *L. hirsutum* (обратные скрещивания, как известно, не удаются). В качестве *L. hirsutum* использовали образец под номером 2021 по каталогу ВНРА.

Полученные гибриды проанализировали по многим признакам. Проводились фенотипические наблюдения за развитием растений F_1 и родительских форм. Отмечали дату цветения, проявления некроза, подсчитывали количество некротических и нормальных (здоровых) растений, а также количество плодов и семян в них. В число критериев, по которым судили о депрессивности гибридов, включен и такой, который показывает среднюю степень выраженности некроза. Все растения гибридов по некротическому фенотипу визуальнo относили к одному из следующих типов: сильный некроз (5 баллов), умеренно-сильный (4 балла), умеренный (3 балла), умеренно-слабый (2 балла), слабый (1 балл). Здоровые растения получали 0 баллов. Средняя

сила некроза вычислялась по формуле:

$$\frac{\sum \text{баллов}}{n}$$

Для ряда комбинаций в целях выяснения силы проявления некроза и других генераций изучены также F_2 и ВС₁. Возвратные скрещивания проводили путем опыления кастрированных цветков *L. esculentum* (материнские компоненты соответствующих гибридов) смесью пыльцы некротических растений F_1 . Ввиду самонесовместимости F_1 гибриды F_2 были получены из семян от свободного опыления растений первого поколения.

Результаты и обсуждение. Первые же гибриды, полученные от скрещивания культурного томата с *L. hirsutum*, имели разную силу некротического поражения растений. В 1967–1968 гг. в теплице были изучены две комбинации гибридов культурного с волосистым томатом: Талалихин 186 $\times$ *L. hirsutum* и Midseason 427 $\times$ *L. hirsutum*. В первой комбинации некроз был выражен заметно слабее, чем во второй. Условно первый тип был назван Талалихин-тип, второй—Midseason-тип. Сразу отметим, что сорт Талалихин 186 по скороспелости значительно превосходит Midseason 427. Эти два гибрида в дальнейшем в течение ряда лет испытывали в параллельных опытах, и сравнительная картина по степени проявления некроза оставалась неизменной.

Семена F_1 некротических комбинаций по своей величине занимают промежуточное положение между крупносемянным *L. esculentum* и мел-

косемянным диким видом. Например, если масса 1000 семян у *L. hirsutum* составляет $1,000 \pm 0,007$, у сортов *L. esculentum* Талалихин 186 и *Midseason* 427—соответственно $3,366 \pm 0,001$ и $3,912 \pm 0,013$ г; то масса 1000 семян F_1 равна $2,002 \pm 0,066$ г у комбинации Талалихин $\times$ *hirsutum* и $2,110 \pm 0,08$ г у комбинации *Midseason* $\times$ *hirsutum*. Гибридные семена занимают промежуточное положение и по окраске. У *L. hirsutum* семена темно-коричневые, гладкие, у обыкновенного томата серовато-желтые, хорошо опушенные, в F_1 —серовато-коричневые, достаточно опушенные.

Хотя жизнеспособность гибридных семян F_1 довольно высокая, они заметно уступают родительским формам по всхожести и особенно по энергии прорастания. Так если в среднем по 22 сортообразцам *L. esculentum* энергия прорастания (% взойшедших в чашках Петри семян через 7 дней) составляла 97,4%, а всхожесть (% взойшедших через 14 дней)—98,7%, у *L. hirsutum*—соответственно 93,4 и 98,3%, то в F_1 , полученном от их скрещивания, указанные показатели были равны только 67,8 и 82,4%.

По мере включения в гибридизационный процесс всех новых сортов обыкновенного томата и изучения их гибридов с диким видом *L. hirsutum* нарастало убеждение в наличии довольно тесной связи силы проявления некроза гибридных растений от степени скороспелости культурного компонента гибрида. Попытаемся это показать сводными данными, полученными при изучении значительного числа гибридных комбинаций от сочетания разных сортообразцов культурного томата и других разновидностей *L. esculentum* с общим пыльцевым родителем—*L. hirsutum*. Эти комбинации разбиваются на следующие 3 группы: гибриды, полученные с участием ранних, средних и среднепоздних и поздних сортов и форм *L. esculentum*. Ниже приводится список этих сортов по группам. При включении того или иного сорта в одну из этих групп, кроме собственных данных, использованы также литературные сведения [9, 10].

Раннеспелые сорта

Бизон 639	Пушкинский 1853
Восход 119	Увядающий карлик 1664/8
Желтая груша (<i>L. esculentum</i> <i>var. pyriforme</i>)	Сибирский скороспелый 1450
Красный персик	Сливовидный красный (<i>L. es-</i> <i>culentum var. pruniforme</i>)
Минский ранний 71	Талалихин 186
Штамбовый малиновый	Штамбовый 2688
Малютка 101	Штамбовый Алпатьева 905а
Нобар 1	Dwarf gem
Невский	Fireball
	Queenedburger

Среднеспелые сорта

Брекодей 1638	Cavalier
Гибрид 64-16	California

Грунтовый Грибовский 1180
 Деликатес 312
 Донской 202
 Колхозный 34
 Маяк 12/20-1
 Штабмовый Грибовский
 Донецкий 3/2-1
 Маяк местный
 Midseason 427
 Чудо рынка 670
 Зарево
 Гибрид 64-3
 Гибрид 64-4
 Гибрид 64-18
 Апарати 15
 Tesumseh

Маниоба
 Плановый 904
 Темно-красный 2077
 Многогнездный (*L. esculentum*
var. succenturiatum)
 Одесский ранний
 Бирючекутский 414
 Шунтукский
 Albino
 Любимец Дона
 Приморский ранний
 Штабмовый 5
 Масис 202
 Ferguson
 Victor

Среднепозднеспелые и позднеспелые сорта

Краснодарец 87/23-9
 Желтый Мишурина
 Балтимора
 Золотая королева
 Притчард 1631
 Перцевидный (*L. esculentum*
var. elongatum)
 Большая красная груша
 (*L. esculentum var. pyriforme*)
 Красный дар
 Еренани 14
 Микадо
 Рыбка 52
 Куба 1

Тираспольский 125
 Заря 139
 Гламоур
 Valiant
 Dwarf stone
 Вымпел 311/143
 Киевский 139
 Таманец 172
 Волгоградский 5/95
 Bounty
 Армянский штабмовый 152
 Аргаванди 45
 Юбилейный 261

Результаты изучения гибридов приводятся в табл. 1.

Таблица 1. Проявление депрессивности в некротических комбинациях F_1 *L. esculentum*

Гибриды F_1 , материнские формы которых:	Период посе- щения мате- ринского сорта, дни	Количество комбинаций	Количество растений	
			всего	из них плодонося- щих, %
Раннеспелые	54,8±0,9	19	262	59,2
Среднеспелые	60,4±1,4	34	538	28,6
Среднепозднеспелые и поздне- спелые	64,6±1,3	25	416	16,1

Следует подчеркнуть, что общая характеристика поведения гибридов по годам изучения в целом оставалась постоянной. А картина, как

лидим, такова. Наиболее сильным проявлением некроза (преждевременное пожелтение и отмирание листьев, утончение и побурение стеблей, появление их ломкости) отличаются комбинации, полученные от скрещивания среднеспоздних и поздних сортов *L. esculentum* с диким томатом *L. hirsutum*. Заметно слабее некротическое поражение в сочетаниях, где в скрещивание с *L. hirsutum* вступили среднеспелые сорта *L. esculentum*. И, наконец, наиболее слабый некроз отмечается у гибридов раннеспелых сортов обыкновенного томата с диким видом.

Сказанное убедительно подтверждается всеми изученными признаками. Особенно четко на это указывало время появления симптомов некротических процессов. Например, если в первой группе гибридов (гибриды с раннеспелыми сортами) появление некротического фенотипа совпадало примерно с временем цветения растений, то в третьей группе (гибриды с среднеспоздними и поздними сортами) некроз в среднем проявлялся на 11 дней раньше фазы цветения. В этой группе гибридов, характеризующейся самым длительным периодом от посева до цветения, проявление некроза отмечалось раньше и по абсолютной величине признака «период посев—некроз».

Таким образом, сила некротического поражения у гибридов различных сортов *L. esculentum* с общим отцовским родителем *L. hirsutum* зависит от природы обыкновенного томата. В общем, интенсивность некроза прямо противоположна позднеспелости сорта *L. esculentum*.

Следует отметить, что до начала некротического поражения гибридные растения развиваются вполне нормально. Более того, многие некротические комбинации на начальных стадиях онтогенеза характеризуются эффектом соматического гетерозиса, а в некоторых случаях уровень последнего достигает значительной величины. Особенно ярко это проявляется в комбинациях, которые впоследствии оказываются умеренно и сильнотоматическими. В качестве примера приведем комбинацию Армянский штамбовый 152×*L. hirsutum*. Даже на стадии начинающегося некроза этот гибрид все еще проявляет очень выраженный гетерозис мощности (рис. 1). В конце же вегетации наиболее мощными, наоборот, оказываются слаботоматические и особенно витальные ком-

um×*L. hirsutum* в зависимости от скороспелости материнских компонентов гибридов

Число плодов		Выражен- ность не- кроза по фенотипу (балл)	Период посева— некроз, дни	Период посева— цветение, дни
на 1 плодono- сущее растение	на 1 учтенное растение			
21.8	12.2	2.27	71.3±2.8	71.9±2.0
15.7	4.5	2.92	68.5±2.3	76.5±2.0
21.1	3.3	3.22	66.8±2.0	77.8±2.1

бинации, т. е. те, которые по темпам роста вначале отставали от умеренно и сильнотоматических комбинаций. Интересно, что и комбина-

циях, где наряду с некротическими растениями в небольшом количестве появлялись фенотипически здоровые растения, последние вначале развивались слабо и лишь с течением времени набирали силу в росте и к концу онтогенеза по мощности резко превосходили некротические растения.



Рис. 1. Гибриды *L. esculentum* × *L. hirsutum* и родительские формы на начальных этапах некротических поражений растений F_1 . 4. *L. esculentum* (сорт Армянский шамбовый 152). 5. F_1 . 6. *L. hirsutum*.

О некоторых других закономерностях, выявленных при скрещивании разных групп сортов *L. esculentum* с *L. hirsutum*, мы упомянем в конце статьи. А пока заметим, что в F_2 , получаемом от свободного опыления как некротических, так и нормальных особей первого поколения гибридов, обнаруживается два типа растений—с некротическим и нормальным фенотипом. Не останавливаясь здесь на численном соотношении здоровых и некротических растений и генотипическом контроле некроза вообще, отметим, что в F_2 наблюдается дальнейшее снижение плодоношения некротических растений. Совершенно не образует плодов и часть фенотипически здоровых растений, а другая часть плодоносит слабо.

Растения F_2 по морфологическим признакам в целом напоминают F_1 . Все же фенотипически они заметно ближе к *L. hirsutum*, чем гибриды первого поколения. У F_2 тенденция к возрастанию сходства с *L. hirsutum* наблюдается и в темпах роста и развития. Аналогичным образом ведут себя и растения BC_1 от скрещивания F_1 с *L. hirsutum* [5]. И поскольку некроз, как известно, явление не возрастное, а фазовоспецифическое, то у растений F_2 его фенотипическая фаза (начало появления симптомов некроза) в среднем наступает несколько позже, чем в F_1 (хотя у некоторых растений F_2 наблюдалось более раннее проявление некроза). Несмотря на это, депрессия растений от некротического поражения здесь, как правило, выражается сильнее, чем в F_1 . Более интенсивными темпами развивается некроз и в BC_1 с *L. esculentum*.

Кстати, здесь он и раньше наступает, так как поколение это по скороспелости значительно превосходит F_1 . Тем не менее у некоторых растений BC_1 некроз проявляется в более поздние сроки, чем в F_1 . Таким образом, в F_2 и BC_1 степень проявления некроза заметно варьирует. Данные, показывающие темпы развития некроза в поколениях F_1 , F_2 и BC_1 , приведены в табл. 2. В качестве F_2 испытаны гибридные растения

Таблица 2. Время и сила проявления некроза у гибридов *L. esculentum* × *L. hirsutum*

Поколения гибридов	Число некротических растений	Количество (%) некротических растений через:			Количество растений с сильным некрозом, %	Количество засохших растений, %
		53 дня от посева	61 день от посева	68 дней от посева		
F_1	112	0	37.1	53.8	22.0	14.4
F_2	137	0	0	46.7	65.7	59.1
BC_1	350	45.3	85.9	—	70.9	45.7

из семян от свободного опыления некротических особей F_1 комбинаций Желтый Мичурина × *L. hirsutum*, Талалихин 186 × *L. hirsutum* (по этой комбинации F_2 получено и от нормальных растений F_1), Midseason 427 × *L. hirsutum* и Многогнездный × *L. hirsutum*. В качестве BC_1 взяты сочетания: Притчард 1631 × F_1 (Притчард 1631 × *L. hirsutum*), Большая красная груша × F_1 (Большая красная груша × *L. hirsutum*), Донецкий 3/2-1 × F_1 (Донецкий 3/2-1 × *L. hirsutum*), Quedlinburger × F_1 (Quedlinburger × *L. hirsutum*) и Midseason 427 × F_1 (Midseason 427 × *L. hirsutum*). Контролем служили растения F_1 соответствующих комбинаций F_2 и BC_1 .

Представление о силе некроза в указанных поколениях дают и рис. 2 и 3.

Вернемся, однако, к вопросу о фенотипическом проявлении некроза в зависимости от комбинации скрещивания. Разумеется, наличие связи между скороспелостью сортов *L. esculentum*, выступающего в качестве материнского компонента, и силой действия факторов некроза у гибридов может быть использовано как в подборе пар при отдаленной гибридизации, так и в установлении путей происхождения разных групп сортов обыкновенного томата.

Как выяснилось в дальнейшем, наряду с наличием связи между жизнеспособностью рассматриваемых гибридов и скороспелостью сортов обыкновенного томата, существует и другая, не менее важная закономерность скрещивания *L. hirsutum* (♀) с *L. esculentum* обычно удаются легче, если последний представлен более поздними сортами. Об этом говорят результаты скрещивания той же линии 2021 *L. hirsutum* с позднеспелыми сортами Юбилейный 261, Притчард, Балтимора, Аргаванди 45 с продолжительностью периода от посева до начала цветения 55—61 день и раннеспелыми сортами Побар, Минский ранний, Quedlinburger, Талалихин 186 с периодом от посева до цветения 66—72 дня [8].

Итак, разделительные барьеры между культивируемым видом и *L. hirsutum* имеют свои особенности. Если *L. hirsutum* в качестве женской формы характеризуются наличием мощных барьеров прогамной несовместимости от всех разновидностей *L. esculentum* [1, 6, 12—18], то



Рис. 2. Проявление некроза в F_1 и BC_1 гибридах *L. esculentum* $\times$ *L. hirsutum*. 1. *L. esculentum* (сорт Midseason 421). 2. F_1 , 3—5. BC_1 (*L. esculentum* $\times$ F_1). 6. *L. hirsutum*.

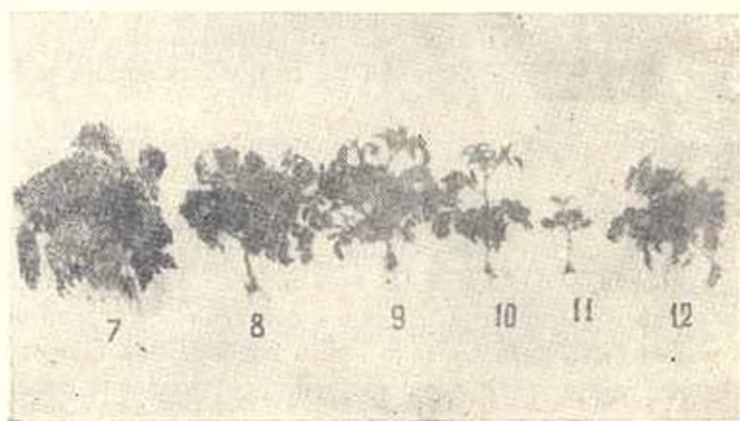


Рис. 3. Проявление некроза в F_1 и F_2 гибридах *L. esculentum* $\times$ *L. hirsutum*. 7. *L. esculentum* (сорт Midseason 427). 8. F_1 , 9—11. F_2 , 12. *L. hirsutum*.

в реципрокных комбинациях скрещивания барьеры изоляции оказываются не только неполными и постгамными [1, 11, 14, 18], но и выявляются существенные различия в их проявлении. Хотя все сорта *L. esculentum* при сочетании с *L. hirsutum* показывают ослабленную скрещиваемость, все же относительная продуктивная скрещиваемость у позднеспелых сортов оказывается выше. И несмотря на то, что все сорта культурного томата при скрещивании с *L. hirsutum* дают сублетальные

некротические гибриды, однако более жизнеспособными оказываются гибриды с ранними сортами *L. esculentum*. Иначе говоря, более жизнеспособными бывают те комбинации, получение которых сопряжено с известными трудностями. Наоборот, если исходное скрещивание удается сравнительно легко, то получаемые гибриды бывают менее жизнеспособными.

Стоит в связи с этим обратить внимание на следующее обстоятельство. Витальные комбинации *L. esculentum* × *L. hirsutum* и особенно *L. pimpinellifolium* × *L. hirsutum* также удаются с трудом [4]. Еще труднее осуществляются скрещивания *L. esculentum*, *L. peruvianum*, а полученные гибриды лишены каких-либо симптомов некроза. Вопрос о сравнительной экономичности двух этих форм сохранения дискретности видов (нежизнеспособность гибридных зигот или взрослых растений) обсуждался нами ранее [3, 6].

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А. М. Биолог. журн. Армении, 25, 5, 61, 1972.
2. Агаджанян А. М. Биолог. журн. Армении, 26, 7, 16, 1973.
3. Агаджанян А. М. Биолог. журн. Армении, 26, 12, 64, 1973.
4. Агаджанян А. М. Биолог. журн. Армении, 28, 12, 40, 1975.
5. Агаджанян А. М. Биолог. журн. Армении, 40, 11, 902, 1987.
6. Агаджанян А. М. Автореф. докт. дисс., Ереван, 1988.
7. Агаджанян А. М. Генетика, 26, 8, 1448, 1990.
8. Агаджанян А. М., Навасардян Е. М. Биолог. журн. Армении, 41, 6, 480, 1988.
9. Брежнев Д. Д. (редакция). Сорта овощных культур СССР. М.—Л., 1960.
10. Брежнев Д. Д. Томаты, Л., 1964.
11. Брежнев Д. Д., Ивацкова К. В., Батыгина Т. Б. В кн.: Отдаленная гибридизация растений. М., 1960.
12. Георгиева Р. Род *Lycopersicon*. Биосистематическое и генетическое исследование, София, 1976.
13. Жученко А. А. Генетика томатов. Кишинев, 1973.
14. Жученко А. А., Глуценко Е. А., Андрущенко В. К., Балашова Н. Н., Самовол Л. П., Медведев В. В. Дикие виды и полукультурные разновидности томатов и их использование в селекции. Кишинев, 1974.
15. Lewis D., Grose L. C. Heredity, 12, 2, 233, 1958.
16. Martin 1961 F. W. Genetics, 46, 1443, 1961.
17. Martin F. W. Genetics, 56, 3, 391, 1967.
18. Sawant A. C. Genetics, 43, 4, 502, 1958.

Поступило 2.XI 1989 г.

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ГУМАТА НАТРИЯ НА ГЕНЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ФЕНТИУРАМА

В. С. ПОГОСЯН, Э. А. АГАДЖАНИН, А. Н. ГОРОВАЯ, Н. К. ХАЧАТРЯН

Ереванский государственный университет, проблемная лаборатория цитогенетики

На высокочувствительной тест-системе—волосках тычиночных нитей Tradescantia clone 02 показано, что гумат натрия значительно снижает частоту соматических мутаций, индуцированных фентиурамом.

Ուսումնասիրվել է Նոմոցասիլի բնույթի ունեցող Նատրիումի հումատի մոդիֆիկացնող ազդեցությունը սերմերի ախտահանիչ նյութի՝ ֆենտիուրամի գենետիկական էֆեկտի վրա: Արդյուն զերդայուն տեստ-սիստեմ օգտագործվել է Լե տրազենկանցիայի 02 կլոնի առկաթիկների մազիկները: Նատրիումի հումատի ազդեցության դեպքում նկատվել է ֆենտիուրամով մակածված սոմատիկ մուտացիաների համախառնության զգալի իջեցում:

The modified action of substance humus-nature sodium humate on genetic effect of mordant seed-phenyuram used with supersensitive test system of stamen hair cells of Tradescantia clone 02 has been studied.

A great decrease of somatic mutation frequency induced by phenyuram is observed with the effect of humatic sodium.

Фентиурам—гумат натрия—соматические мутации—волоски тычиночных нитей

Известно, что в различных сферах производства и в быту ежедневно используется свыше 60.000 химических соединений, из которых большинство искусственно синтезированы и являются загрязнителями окружающей среды с выраженным гонотоксическим эффектом. Возникает необходимость дать не только экологическую, но и генетическую оценку этих веществ. К числу агентов, обладающих потенциальной генетической опасностью, относятся химические средства защиты растений—пестициды, которые занимают девятое место по степени загрязнения биосферы [4, 7]. Однако повышение устойчивости вредителей сельского хозяйства к пестицидам вынуждает не сокращать, а расширять применение комбинированных препаратов, отдельные компоненты которых аддитивно или синергически усиливают их защитное свойство. Одним из таких препаратов, широко применяемых в сельском хозяйстве в качестве протравителей семян, является фентиурам, представляющий собой смесь ТМТД—40%, гамма-изомера ТХЦГ—20%, ТХФМ—10% и каолина—30%. Названный препарат считается малоподопасным. Его ПДК в воздухе составляет 1 мг/м³. Однако уже в 80-х годах стало известно, что он оказывает мутагенное действие на почвенные грибы вертицеллы [5]. Его мутагенный потенциал выявлен и на соматических клетках млекопитающих [1]. Возникает необходимость применения антидотов, которые, не действуя на пестицидные свойства, снижают мутагенную активность подобных ядохимикатов.

Сокращение: ВТН—волоски тычиночных нитей

В условиях создавшегося химического стресса уже разрабатывается достаточно широкий спектр антидотов. В этом отношении весьма целесообразными оказались препараты естественного происхождения, как, например, вещества гумусовой природы, в частности, гумат натрия.

В настоящем сообщении представлены результаты изучения возможности модификации гуматом натрия мутагенного действия фентиурама в соматических клетках высокочувствительного тест-объекта — традесканции клона 02.

Материал и методика. Для выявления возможности модификации гуматом натрия ингибирующего влияния фентиурама на генном соматических клеток традесканции применяли тест-систему ВТН клона 02, регистрирующую рецессивные мутации в виде розовых мутационных событий и генетически неопределенные мутации в виде бесцветных мутационных событий.

Сеянцы традесканции погружали в водные растворы 0,01%- и 0,1%-ного фентиурама на 18 ч, после чего на то же время их помещали в раствор гумата натрия 0,005—0,01- и 0,1%-ной концентрации. Контролем служили растения с необработанными сеянцами. Помимо мутационных событий учитывали и морфологические изменения в полосках (ветвление и низкорослость). В каждом варианте анализировали 32.000—70.000 полосок тычиловых листв.

Результаты и обсуждение. Установлено, что проправитель семян с/х растений фентиурам, считающийся практически безвредным веществом, в тест-системе ВТН традесканции проявляет значительную мутагенную активность.

При 0,01%-ной концентрации его частота рецессивных розовых мутационных событий превосходит контрольный уровень в 13 раз, а при 0,1%-ной — в 23 раза. По сравнению с контролем в 7—10 раз повышается и частота бесцветных — генетически неопределенных мутационных событий (рис. 1). При воздействии проправителя в ВТН традес-

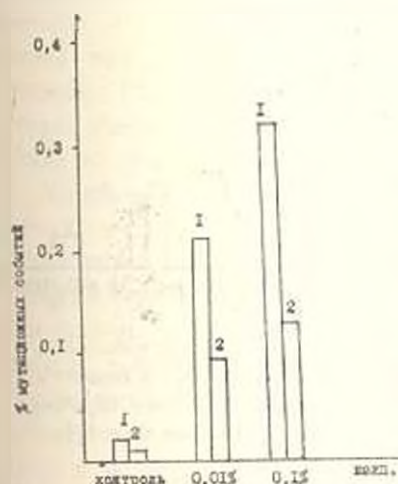


Рис. 1.

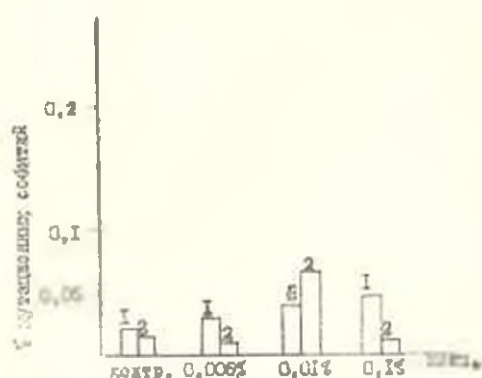


Рис. 2.

Рис. 1. Частота розовых (1) и бесцветных (2) мутационных событий при обработке фентиурамом.

Рис. 2. Частота розовых (1) и бесцветных (2) мутационных событий при обработке гуматом натрия.

капшин выявляется и ряд морфологических изменений. Усиливается процесс разветвления волоска, формируются низкорослые волоски (содержащие не более 10 клеток). Процент последних с повышением концентрации протравителя резко увеличивается. Повышение частоты низкорослых волосков, или невыживших, на фоне протравителя является суммарной реакцией всего метаболизма, проходящего в клетках ВТН. Вероятно, фентиурам, изменяя метаболизм клетки, действует на геном, приводя к появлению соматических мутаций, которые с повышением концентрации учащаются.

Иная картина отмечается при воздействии гумата натрия. Установлено, что в пределах 0,005%-ной концентрации он не увеличивает спонтанный уровень мутационных событий (рис. 2), а появившиеся морфологические изменения составляют незначительное количество. При обработке бутонов традесканции 0,01 и 0,1%-ной концентрациями гумата натрия частично повышается (в 2—3 раза) частота рецессивных розовых мутационных событий (рис. 2). При подсчете генетически неопределенных бесцветных мутационных событий максимальное повышение имело место только при 0,01%-ной концентрации. Эти данные свидетельствуют о том, что высокие концентрации гумата натрия имеют слабо выраженную мутагенную активность, а эффект низких сводится к спонтанному уровню.

При совместной обработке фентиурамом и гуматом натрия существенно снижается частота соматических мутаций по сравнению с фентиковой в вариантах с одним протравителем (рис. 3). Однако и в этом

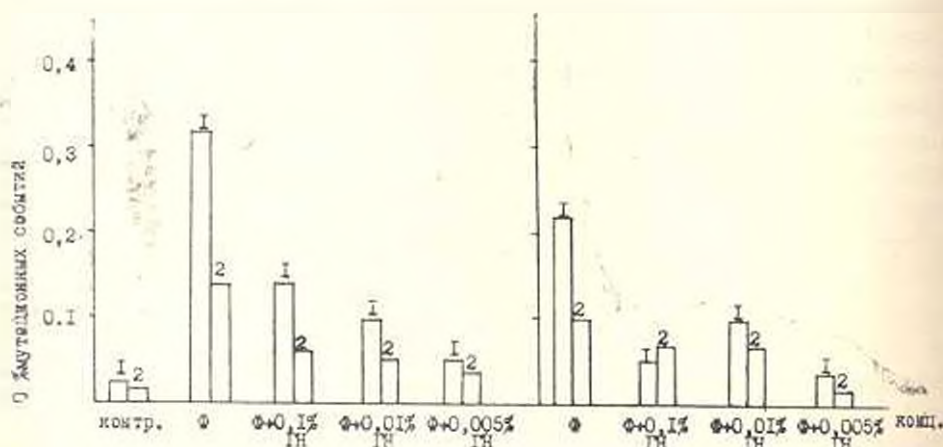


Рис. 3. Частота розовых (1) и бесцветных (2) мутационных событий. а — при обработке бутонов 0,1%-ным раствором фентиурама (Ф) и совместном действии Ф и разные концентрации гумата натрия (ГН); б — при обработке бутонов 0,01%-ным раствором Ф и совместном действии Ф и ГН.

случае частота соматических мутаций (розовых и бесцветных мутационных событий) все же во много раз превышает спонтанный уровень. Наиболее эффективное действие гумата натрия отмечается при самой низкой (0,05%) концентрации его, которая при совместном действии с наименьшей концентрацией фентиурама (0,1%) в 6,2, а

при 0,01%-ной в 5,5 раза снижает частоту рецессивных—розовых мутационных событий, индуцируемых фентиурамом, и в 3—3,5 раза бесцветных—генетически неопределенных мутационных событий. Гумат натрия при совместном действии с фентиурамом резко снижает (в 4,3 раза) частоту рецессивных розовых мутационных событий и в варианте с наивысшей концентрацией (0,1%), которая применялась после обработки 0,01%-ной концентрацией фентиурама (рис. 3). Во всех вариантах совместной обработки биологически активный препарат гуминовых кислот проявляет себя как защитное вещество, обладающее широким спектром действия.

Анализ полученных нами результатов позволяет считать, что при совместной обработке фентиурамом и гуматом натрия появляется тенденция к снижению соматических мутаций и таких морфологических изменений, как разветвление и образование низкорослых волосков, индуцированных фентиурамом. При этом резко снижается частота микростебельных мутационных событий в волосках, большая часть которых, по мнению ряда авторов [8], возникает не в результате случайной ассоциации независимых событий, а гетерозиготности хромосом дочерних клеток (после возникновения мутаций), которые способны выщеплять мутантные клетки в процессе более поздних митотических делений.

Исследования показали, что в случае применения одного только протравителя спектр мутационных событий состоит из 1—12 и более клеток, расположенных в терминальном, субтерминальном, центрическом и базальном участках волоска. При совместном действии уменьшается не только число мутантных клеток и событий, достигая 1—5, но и меняется их расположение. Преобладает терминальное и субтерминальное расположение мутационных событий.

Известно, что гумусовые вещества участвуют в релаксационных процессах в клетке и ускоряют нормализацию белоксинтезирующей системы при неблагоприятных условиях, в том числе при действии пестицидов [2]. В литературе [3—6] указывается, что гумат натрия является биологическим протектором, оказывающим положительное влияние на клеточный цикл и фотосинтетический аппарат. Вероятно, при обработке гуматом натрия указанные выше процессы играют важную роль в снижении частоты соматических мутаций, индуцированных фентиурамом.

Таким образом, снижение частоты индуцируемых протравителем фентиурамом соматических мутационных событий, а также разветвления и низкорослость ВТН говорят о том, что физиологически активное вещество гумат натрия при совместной обработке с протравителем нормализует функциональную активность клеток ВТН традесканции и повышает их резистентность к фентиураму.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бахитова Л. М., Пашиш Ю. В. Цитология и генетика. 21. 1, 54—57, Киев, 1987.
2. Горюзия А. И., Кулик А. Ф., Ткаченко Л. К., Филлипова Т. В., Христеана Л. А. В сб: Нуклеиновые кислоты и хроматин растений. 34—39, Киев, 1981.

3. Горювая А. И., Огинова И. А. V съезд ВОГиС им. П. И. Вавилова. Тез. докл. 107, М., 1987.
4. Ковда В. С., Глазюнская М. А., Сиколов М. С., Стрелков Б. Л. Изв. АН СССР, сер. биол., 1, 120—124, 1977.
5. Королёва Н. С., Кисельяненко А. Г., Нортенко Л. Г., Рядова Н. М. В сб.: Генетические последствия загрязнения окружающей среды, 3, 145—152, М., 1980.
6. Кушнер Г. Л. В кн.: Гумусовые удобрения, теория и практика их применения, 8, 94—97, Днепропетровск, 1983.
7. Соколов М. С. В сб.: Профилактическая токсикология, 2, 1, 163—173, М., 1984.
8. Mericle L. W., Mericle R. P. Genetics, 73, 4, 575—582, 1973.

Поступило 22.VI 1990 г.

Биолог журн Армении, № 9 (43), 1990

УДК 577.1:616—086.8

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ КРЫС В ПРОЦЕССЕ ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗА, ИНДУЦИРОВАННОГО ДИЭТИЛЕНИТРОЗАМИНОМ

А. С. МИКАЕЛЯН, М. А. ДАВТЯН, Г. Р. ВАРДАПЕТЯН*

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии и кафедра биофизики*

Показано, что выявляемые в процессе опухолеобразования, индуцированного диэтилнитрозамином, изменения активности аргиназы отражают происходящие при этом изменения в функциональном статусе печеночной ткани. Обсуждается роль отдельных изоферментов и процессах опухолевого вырождения.

Ուսումնասիրված էն ադրինազայի ինչպես ամբողջական, այնպես էլ նրա առանձին իզոֆորմների ակտիվության՝ զիլմիլիտրոզամինով հարուցված ինդուցիվ գերազգեցածության ընթացքում անդի ունեցող փոփոխությունները ծնյոց է տրված, որ ադրինազայի ակտիվության՝ ուսուցադրյալման ընթացքում բացառապես փոփոխությունները արտադրում են լյարդի ցուցանիշի ֆունկցիոնալ կարգավիճակի՝ այդ ընթացքում անդի ունեցող փոփոխությունները Քննվում է առանձին իզոֆորմների զերր ուսուցադրյալման ընթացքում:

There have been investigated changes of both the total arginase activity and that of its separate isoenzymes in the process of diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis. We have demonstrated that arginase activity changes during tumor generation reflect changes occurring thereat in the functional state of liver tissue. There has been discussed the role of separate isoenzymes in the process of tumor degeneration.

Аргиназа—хроматин—гепатоканцерогенез—диэтилнитрозамин.

Как известно, детоксикация аммиака путем его включения в биосинтез мочевины осуществляется с помощью аргиназы, которая является одним из ключевых ферментов орнитинового цикла [3].

Проведенные ранее эксперименты показали, что активность аргиназы при опухолеобразовании претерпевает существенные изменения. Однако, если в гепатомах с высокой скоростью развития наблюдается

Сокращения: ДЭНА—диэтилнитрозамин.

значительное возрастание активности фермента [6], то в гепатомах с малой скоростью образования она значительно ниже контрольных величин [11]. Кроме того, ферментные системы мочевиного цикла вообще, и аргиназы в частности, гораздо интенсивнее индуцируются гормонами стероидной природы в опухолевых тканях, чем в нормальных [15]. Неоднозначная реакция аргиназы, вероятно, в известной мере обусловлена существованием двух молекулярных форм, которые отличаются генетически [1]. Изучение аргиназы млекопитающих в неопластических тканях [10] показало, что изоферменты ее (нейтральный, характерный для непеченочных тканей, и основной—печеночный) альтернативно реагируют на злокачественные перерождения.

Целью настоящей работы являлось исследование активности аргиназы печени крыс в процессе гепатокарциногенеза, индуцированного ДЭНА.

Материал и методика. Эксперименты проводили на самцах крыс линии Wistar четырехнедельного возраста (вес 100—125 г). Животных гепатэктомировали по методу Хиггинса и Андерсона [7]. Через 24 ч им внутрибрюшинно вводили раствор ДЭНА в 0,9 н NaCl из расчета 5 мг на 100 г веса.

Частично очищенный препарат аргиназы был получен по методу Шинке [14]. Для этого животных декапитуировали, а изолированную печень тщательно перфузировали 0,0025 М Трис-HCl буфером (pH 7,2), гомогенизировали в трех объемах 0,01 М Трис-HCl буфера (pH 7,2), содержащем 0,05 М $MnCl_2$ и 0,01 М KCl, в течение 30 с при 0°, подвергали тепловой обработке при 60° в течение 15 мин, затем охлаждали до 0° и центрифугировали при 18000 об/мин в течение 30 мин для осаждения денатурированного белка и клеточных органелл. При этом 98% аргиназной активности обнаруживается в надосадочной жидкости. К последней, охлажденной до 0°, при постоянном перемешивании постепенно добавляли $(NH_4)_2SO_4$ до 40%-ного насыщения, инкубировали 30—40 мин при 0°, центрифугировали при 18000 об/мин в течение 10 минут. К надосадочной жидкости добавляли $(NH_4)_2SO_4$ до 70%-ного насыщения. Центрифугированием аргиназную активность переводили в осадок. Выход фермента—97%, степень очистки—около 70. Осадок ресуспендировали в 7—10 мл 0,01 М Трис-HCl буфера (pH 7,2), содержащем 1 мМ $MnCl_2$, и диализировали против того же буфера в течение 4 ч, меняя буфер через каждый час.

Для определения активности аргиназы [4] 0,1 мл гомогената инкубировали с 0,3 мл 0,01 М $MnCl_2$ и 0,6 мл 0,025 М L-аргинина гидрохлорида в 0,1 М карбонатом буфера (pH 9,5) и инкубировали в течение 15 мин при 37°. Затем к пробе добавляли 2 мл ледяной уксусной кислоты, содержащей 2,5% раствора нингидрина. Перемешивали и оставляли в течение 1 ч в кипящей водяной бане. При наличии орнитина за это время развивается стабильная красно-коричневая окраска. Затем пробы охлаждали и определяли поглощение на спектрофотометре СФ-4А при длине волны 490 мμ против контрольной пробы, не содержащей L-аргинина. Полученные единицы экстинкции пересчитывали в микромоли орнитина с помощью предварительно построенной калибровочной кривой (0,1—4,0 мкМ орнитина). Результаты выражали в микромолях орнитина, образовавшегося за 1 ч в 1 мл гомогената в условиях опыта. Концентрацию белка в пробе определяли по методу Лоури.

Изоферменты аргиназы получали методом электрофореза в 7%-ном ПААГ по методу Редди и др. [13]. Переульфат аммония удаляли презлектрофорезом в Трис-глициновом буфере (pH 8,3) при силе тока 3 мА на трубку в течение 30 мин.

Электрофорез проводили в течение 3—5 ч при силе тока 2—2,5 мА на трубку, пока краска не достигала конца геля.

Аргиназную активность в гелях определяли методом Ратнер и Паппас [12].

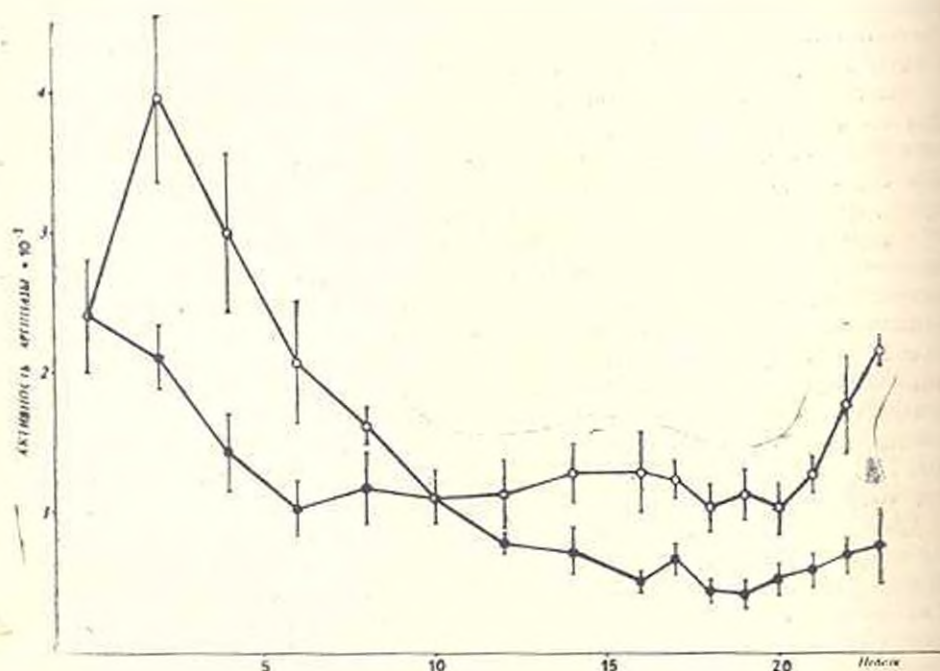
Гели разрезали на 0,5-сантиметровые последовательные сегменты, помещали в 0,3 мл 0,2 М глицинового буфера (pH 9,5) и 0,3 мл дистиллированной воды, гомогени-

зировали, после чего добавляли 0,1 мл 1 М L-аргинина. Смеси инкубировали при 37° 20 мин и фильтровали под вакуумом на стеклянных фильтрах. К фильтру добавляли 0,15 мл 50%-ной ТХУ, центрифугировали при 6000 g в течение 10 мин и определяли содержание мочевины в надосадке по модифицированному методу Мура и Кауфмана [9].

Активность фермента определяли в микромолях мочевины, образовавшейся за 1 мин в условиях нашего эксперимента.

Состав инкубационной смеси: 2,5 мл кислотной смеси (концентрированные H_3PO_4 и H_2SO_4 в соотношении 1:3 в присутствии водных солей $MnSO_4$ и $FeCl_3$), 1 мл кислого ферментного экстракта и 0,25 мл 3%-ного водного раствора ДАМО. Смесь тщательно перемешивали встряхиванием и кипятили в течение 45 мин в темноте в герметически закрытых пробирках. Охлажденные пробы колориметрировали при длине волны 478 nm против контроля на реактивы.

Результаты и обсуждение. На рис. показаны изменения активности аргиназы печени крыс в процессе регенерации и под действием ДЭНА. Как видно, в обоих случаях активность аргиназы претерпевает существенные изменения.



Изменение активности аргиназы печени крыс: (○—○—○) — при регенерации печени; (●—●—●) — при регенерации печени, обработанной ДЭНА.

В первые две недели регенерации она возрастает и превышает исходное значение в 1,6 раз. Затем, в течение последующих 10 недель, наблюдается падение активности аргиназы до определенного минимального значения, составляющего около 46% от исходного. На третьем этапе, между 10 и 20 неделями регенерации, она находится на низком уровне практически без изменений. И наконец, на четвертом этапе, от 20 до 23 недель, начинает возрастать и достигает 95% от контроля.

Подобная динамика изменения активности аргиназы может быть объяснена особенностями регенерирующей печени. В первые две

недели регенерации после частичной гепатэктомии масса печени быстро восстанавливается [2]. Происходит формирование двух- и многоядерных гепатоцитов [2], которые за счет усиления синтеза белка (ферментов) частично компенсируют функцию гепатэктомированной печени. При этом наблюдается резкое возрастание активности практически всех ключевых ферментативных систем.

На втором этапе, после восстановления массы печени, происходит постепенное уменьшение популяции дн- и поликлонных гепатоцитов, что приводит к снижению скорости синтеза нуклеиновых кислот, и это отражается также на скорости синтеза белка. На третьем этапе оба процесса проходят параллельно, что приводит к стабилизации активности аргиназы, однако на более низком уровне. И только на четвертом этапе, когда печень практически полностью восстанавливает свои функции, активность аргиназы возрастает до уровня контроля.

Несколько иная картина наблюдается при регенерации печени крыс, обработанных ДЭНА. Непрерывные инъекции канцерогена приводят к повреждению гепатоцитов, при одновременной частичной регенерации. Это приводит к резкому падению активности аргиназы в первые 6 недель до 42% (вместо 86% для регенерирующей печени) (рис.).

В последующий период, 16—18 недель, наряду с появлением регенерирующих островков в печени начинают прогрессировать признаки, характерные для интоксикации ткани, что сопровождается падением активности аргиназы до 17% от исходного. В дальнейшем процесс злокачественной трансформации начинает прогрессировать, хотя при этом сохраняются островки регенерирующих гепатоцитов [8]. Активность аргиназы несколько возрастает и достигает 42% от исходного.

Изучение аргиназной активности показало, что если снижение ее весьма характерно для опухолеобразовательных процессов в печени, то в большинстве случаев злокачественных новообразований непеченочных тканей она повышается [5]. Эта неоднозначная реакция может быть обусловлена существованием различных изоферментов аргиназы, отличающихся генетически [3] и по-разному реагирующих на процесс новообразования. В связи с этим представляло интерес исследование изменений, происходящих в изоферментном спектре аргиназы печени крыс в процессе гепатоканцерогенеза.

Электрофорез в ПААГ выявил наличие трех зон с аргиназной активностью. В печени интактных крыс максимальной активностью (около 69%) характеризуется первая зона, представляющая собой, очевидно, основной пул уреотелической аргиназы, обладающей щелочными свойствами. Вторая зона, содержащая около 22% суммарной активности, представляет собой, по-видимому, пул «неуреотелической» аргиназы, а третья зона с активностью около 9% скорее всего состоит из отдельных диссоциированных субъединиц аргиназы, которые могут обладать частичной активностью.

Результаты экспериментов, приведенные в таблице, показывают существенные различия в динамике изменений относительной активности различных молекулярных форм аргиназы в процессе регенерации и при опухолеобразовании.

В первые 2 недели регенерации содержание основной, I фракции аргиназы возрастает до 77,3%, доля II фракции уменьшается до 13,8%, а содержание III практически не меняется и составляет 8,9% (табл.). Вероятно, на этом этапе быстро восстанавливается функ-

Относительное содержание (в %) отдельных фракций аргиназы печени крыс в процессе регенерации и гепатоканцерогенеза, индуцированного ДЭНА

Время регенерации, недели	Регенерация			Гепатоканцерогенез		
	I фрак.	II фрак.	III фрак.	I фрак.	II фрак.	III фрак.
K*	68.6±5.4	22.1±1.9	9.3±2.6	68.6±5.4	22.1±1.9	9.3±2.6
2	77.3±2.1	13.8±1.2	8.9±1.8	62.8±4.2	21.8±2.1	15.4±3.1
4	72.5±5.0	14.2±1.2	13.3±3.1	63.8±3.1	22.8±1.6	13.4±2.3
6	69.3±2.5	15.1±4.0	15.6±3.2	60.8±3.0	23.5±1.1	15.7±2.0
6	70.0±5.0	16.2±1.2	13.8±3.6	58.4±7.0	26.1±1.3	15.5±4.1
10	71.9±3.2	16.8±0.8	11.3±2.1	58.5±1.2	29.1±2.1	12.4±1.6
12	72.4±4.1	18.1±1.0	9.5±2.6	55.7±9.0	31.3±1.4	13.0±5.2
14	71.9±1.5	19.0±3.0	9.1±2.3	56.0±2.0	32.6±1.0	11.4±1.5
16	66.3±2.1	22.7±2.5	11.0±2.3	53.4±4.6	34.7±2.2	11.9±3.3
17	63.5±3.1	25.0±3.7	11.1±3.4	52.0±1.7	40.4±3.1	7.6±2.5
18	64.0±2.7	25.3±2.1	10.7±2.4	43.2±3.3	40.6±2.3	16.2±2.8
19	63.3±2.8	24.8±3.2	11.9±3.0	38.7±4.2	43.4±1.8	17.9±3.5
20	64.6±3.7	25.6±2.2	9.8±3.0	33.1±8.7	47.8±5.1	19.1±6.7
21	64.5±4.1	25.2±1.7	10.3±2.9	33.8±8.0	48.4±3.8	17.8±5.7

K* — изоферментный спектр аргиназы печени крыс до гепатэктомии.

циональный статус печени, а восстановление ее «урегулированных» свойств требует ускоренного синтеза аргиназы.

На втором этапе регенерации (4—14 недель), когда печень практически полностью восстанавливает свои функции (а также массу), содержание I фракции практически не меняется и сохраняется на уровне контроля. Несколько иная картина наблюдается в содержании II и III фракций. Содержание II фракции проявляет тенденцию к возрастанию и достигает величины контроля.

На третьем этапе наблюдается стабилизация соотношений всех фракций примерно на уровне контроля, хотя содержание I фракции несколько снижено, а II фракции — повышено. Это свидетельствует о том, что даже при полной регенерации функциональный статус печени полностью не восстанавливается.

Совершенно иная картина наблюдается в процессе гепатоканцерогенеза, индуцированного ДЭНА.

На первом этапе (до 4 недель) содержание II фракции практически не меняется и соответствует контролю. Одновременно наблюдаются некоторое понижение содержания I фракции и повышение III фракции.

На втором этапе (6—17 недель) опухолевого вырождения, который наступает после окончания инъекции ДЭНА, наблюдается неу-

клеточное падение содержания I фракции до 52% при одновременном возрастании содержания II фракции до 40,6%. Содержание III фракции уменьшается и сохраняется на уровне контроля.

И, наконец, на третьем этапе (18—21 неделя), когда происходит плохочественная трансформация ткани, катастрофически падает содержание I фракции до 33—34% при одновременном возрастании содержания II и III фракций до 48 и 18% соответственно.

Таким образом, как процесс регенерации, так и опухолеобразование сопровождается значительным изменением как суммарной активности, так и содержания отдельных фракций аргиназы печени крыс.

В процессе регенерации, когда наблюдается интенсивный синтез печеночной ткани (на втором этапе) и восстановление уреотелических свойств печени, происходит усиление синтеза I формы аргиназы, что одновременно приводит к уменьшению относительного содержания II формы при одновременном уменьшении общей аргиназной активности. На третьем этапе стабилизируется содержание фракции I и II, что указывает на завершение процесса регенерации печени. Несколько повышенное содержание II фракции, видимо, обусловлено частичным вырождением печеночной ткани.

В процессе опухолевой трансформации содержание фракции II на первом этапе соответствует контролю. На втором этапе, когда происходит общая интоксикация печени, общее падение активности аргиназы сопровождается возрастанием содержания II фракции. На третьем этапе, когда происходит полное перерождение нормальной ткани в опухолевую, резко падает содержание I фракции. Вырождение печеночной ткани сопровождается резким возрастанием II фракции. Увеличение популяции III фракции при этом можно объяснить синтезом неполноценных мономеров, что затрудняет процесс их реассоциации в суперкомплекс.

Таким образом, динамика общей аргиназной активности и соотношение ее отдельных изоформ указывает на важную роль аргиназы в процессах опухолевой трансформации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азчдожян Н. Х., Давтян М. А. Биолог. ж. Армения, 32, 12, 1236—1238, 1979.
2. Карасюк Б. М. Регенерация, М., 1986.
3. Трапезникова С. С., Навасардянц Д. Т., Давтян М. А. Биохимия, 47, 12, 2022—2027, 1982.
4. Хромов В. А., Островский О. В., Косицина О. В., Спасов А. А., Кулик В. И. Лаб. дело, 8, 481—482, 1984.
5. Bhide S. V. Indian S. Exp. Biol., 12, 5, 379—381, 1974.
6. Herzfeld A., Raper G. Biochem. S., 153, 2, 469—478, 1976.
7. Higgins G. M., Anderson R. M. Arch. Path., 12, 186—202, 1941.
8. Leliansky K., Vardapetian H. R. Cellular and Molecular Biol., 30 (2), 117—124, 1984.
9. Moore R. B., Kauffman N. S. Anal. Biochem., 33, 3, 263—270, 1970.
10. Nagarajan B., Gopalakrishna R. An Overview Journal of Scientific and Industrial Research, 39, 12, 809—818, 1980.
11. Nowell P. C., Morris H. P. Cancer Res., 29, 939—970, 1969.
12. Ratner S., Pappas A. S. Biol. Chem., 179, 3, 1189—1192, 1949.

13. Reddi P. K., Knox W. E., Herzfeld A. Enzyme, 29, 5, 305—314, 1975.
14. Schimke R. T. Biochem., 239, 4, 3808—3818, 1964.
15. Wu C., Roberts E. H., Bauer J. M. Cancer Res., 27, 956—961, 1967.

Поступило 3.V 1990 г.

Биол. журн. Армения, № 9.(43), 1990

УДК 577.352

ՏՐԻՊՏՈՖԱՆԻ ՄԱՆԱՅՈՐԻՆԻ ՆՇԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ NADPH-ԱԴՐԵՆՈԴՈՔՍԻՆ ԻՆԻՏԻՏԱՑԻՅԱՆ ԱԴՐԵՆՈԴՈՔՍԻՆԻՆ ԷԼԵԿՏՐՈՆՆԵՐԻ ՓՈԽԱՆՑՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍՈՒՄ

Ե. ՍԱԿԻՈՒՈՎԱ, Ս. ԽԱՐԴԱՆՅԱՆ, Լ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

Հայաստանի ԿԱ Կենտրոնականի ինստիտուտ, Երևան

N-բրոմասուկցինիդով NADPH-ադրենոդոքսինի ուղղակի ադրիպտոֆանի մասնակցությամբ ինդուկցիայի մոդիֆիկացումը բերում է նրա մասնակցությամբ վերականգնման ռեակցիաների արագության անկմանը: Մոդիֆիկացումը նվազեցնում է NADPH-ադրենոդոքսինի ուղղակի և ադրենոդոքսինի միջև կոմպլեքսառաջացումը: Նրկու սպիտակուցների փոխադրեցության, ինչպես նաև նրանց մասնակցությամբ ընթացող վերականգնման ռեակցիաների պարամետրերը, թույլ են տալիս եզրակացնել, որ NADPH-ադրենոդոքսինի ուղղակի ադրիպտոֆանի մասնակցությամբ մասնակցում է սպիտակուցի պրոպեռտիկ խումբի՝ ֆրիլին-ադենինդինուկլեոտիդի ադրենոդոքսինին էվկտրոնների փոխանցմանը:

Химическая модификация остатков триптофана НАДФН-аденодоксины редуктазы N-бромосукцинимидом приводит к снижению скорости восстановительных реакций с ее участием. Модификация снижает способность аденодоксины редуктазы к комплексообразованию с аденодоксинном. Параметры взаимодействия двух белков, а также параметры восстановительных реакций с их участием позволяют сделать вывод об участии остатка триптофана аденодоксины редуктазы в переносе электронов от простетической группы белка—ФАД—на аденодоксин.

Chemical modification of tryptophanyl residues of NADPH-adrenodoxin reductase by N-bromosuccinimide resulted in inhibition of electron transferring activity of the protein. The modification suppresses complex formation ability of adrenodoxin reductase with adrenodoxin. The parameters of interaction of two proteins and of NADPH-cytochrome c reduction bring to conclusion, that tryptophanyl residues in adrenodoxin reductase participate in electron transfer from prosthetic group, FAD, to adrenodoxin.

ԷԼԵԿՏՐՈՆԻ ՓՈԽԱՆՑՈՒՄ—NADPH-ԱԴՐԵՆՈԴՈՔՍԻՆ ՈՒՂԱԿԱՊ—ԲԻՈԼԿԱՆԵ ՄՈԴԻԲԻԿԱՑՈՒՄ

Մակերիկամների կեղևի միտոքոնդրիաներում տեղակայված է ստերոլդային հորմոնների հիդրոքսիլացման ֆերմենտային համակարգը, որի մեջ մտնում են ՖԼԴ պարունակող NADPH-ադրենոդոքսին ուղղակի ադրիպտոֆանի (ԱԴՖ), 2 Fe—2 S—4 C s պարունակող ադրենոդոքսինը (ԱԴ) և ցիտոքրոմ P 450-ների դասին պատկանող հեմ պարունակող ծայրային ֆերմենտը [12, 10]:

Ուսումնասիրությունների ցույց են տվել, որ ԱԴ-ի և ԱԴ-ի փոխադրեցության մեջ ներգրավվում են ԱԴ-ի կարբոքսիլ խմբերը [7] և տիրոզինի

[13] Ինչպես նաև NADPH-ի կո-ռեդուկտազի լիզինի ամինաչին խումբը [5] և նախորդ աշխատանքում N-քրոմսուկցինիմիդով (NBS) քիմիական մոդիֆիկացման մեթոդը մեզ թույլ տվեց բացահայտել ԱզՄ-ի ակտիվության համար Tր-ի Հական լինելը [4]: Այս աշխատանքում քննվում են երկու սպիտակուցների փոխադրելիության և նրանց մասնակցությունը վերականգնման ռեակցիաների պարամետրերի ուսումնասիրության արդյունքները: Դրանք թույլ են տալիս եզրակացնել, որ ԱզՄ-ի Tր-ը Հանդես է դալիս որպես սպիտակուցի պրոսթետիկ խումբ: ՖԱԳ-ի զեպի Ազ-ը էլեկտրոնների փոխանցումը իրականացնող օղակ:

Նյութ և մեթոդ: Ազ-ռեդուկտազը, Ազ-ը և ցիտոքրոմ c-ն մակերկամների կեղևի հոմոլոգներ: ստացվել են ըստ նախորդ աշխատանքներում նկարագրված մեթոդների, [1, 2 և 3]: Աշխատելու համար օգտագործել ենք Էտոնյալ մաքրության օպտիկական ինդեքսներ ունեցող սպիտակուցներ. ԱզՄ՝ $A_{280}/A_{260} = 6.0$; Ազ՝ $A_{215}/A_{275} = 0.5$; ցիտոքրոմ c (վերականգնված վիճակում)՝ $A_{350}/A_{280} = 1.0$:

Սպիտակուցների և ռեակցիաների մյուս բաղադրամասերի կոնցենտրացիաները որոշելու համար օգտագործել ենք կլանման միլիմոյար գործակիցների Էտոնյալ արժեքները (ԳԱՄ՝ 10,9, ԱզՄ՝ 10,9, Ազ՝ 8,9, ցիտոքրոմ c՝ 13,50 (վերականգնված օքսիդացված)՝ 13,5, NADPH՝ 8,340՝ 6,23):

Ապեկտրալ և կինետիկ չափումները կատարվել են Specord M-40-ը, (Specord, ԳԴՀ) սարքի վրա, օգտագործելով օպտիկական ճանապարհի 10 կմմ 7 մմ երկարության կյուվետներ, Դիֆրեկցիալ օպեկարներով ստացման համար օգտագործվել են տանդեմային կյուվետներ: Ֆլուորիմետրիկ չափումները կատարվել են MPF-40A-ը (Perkin-Elmer, ԱՄՆ) սարքի վրա, օպտիկական ճանապարհի 10 մմ երկարության կյուվետներում: KSV և K₂:

Սպիտակուցի մշակումը NBS-ով, մոդիֆիկացված մետաղների թվի որոշումը և էլեկտրոնի անդամափոխող ակտիվության ռադիոմետրիկ նկարագրել ենք նախորդ աշխատանքներում (4,5): Ֆլուորիմետրիկ տվյալների մշակման համար օգտագործել ենք Նոտեր-Ֆոլմերի ուղիղ [11]:

$$F_0/F = 1 + K_{SV} \cdot c$$

և բերված (8)՝

$$F_0/\Delta F = 1/(1 - 1/(1 + K_q \cdot c))$$

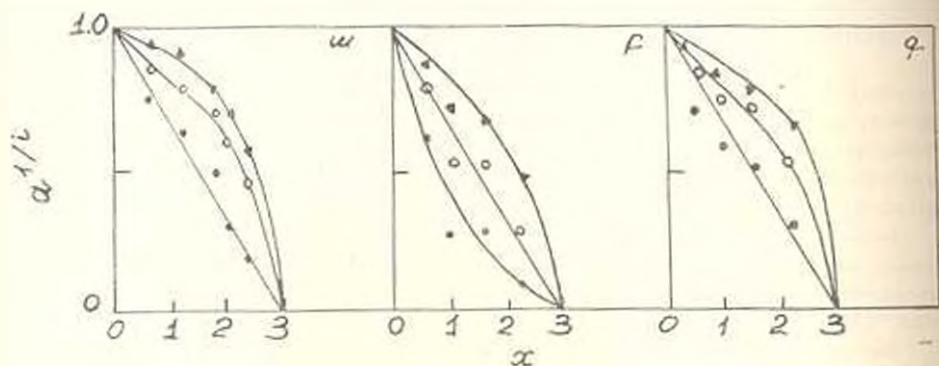
կախումները: Այս հավասարումներում F_0 և ΔF , համապատասխանաբար եերկայացնում են օքսիդարալի ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվությունը մարիչի բացակայության պայմաններում, և կոնցենտրացիայով մարիչի առկայությամբ և նրանց միջև եղած տարբերությունը: K_{SV} և K_q մարիչի և ֆլուորեսցենտային կենտրոնի բիմոլեկուլյար փոխադրելիության զործակցին ուղիղ համեմատական հաստատուններ են. 1-ը մարիչի խումբը հաստենելի ֆլուորոֆորի ֆրակցիան է, հավասար օրգանալների առանցքից հատվող համալսի հակադարձ մեծությունը:

Արդյունքներ և բնագրություն: Նախորդ մեր աշխատանքում ցույց է տրվել, որ NBS-ով ԱզՄ-ի տրիպտոֆանի մետաբոլիզմի մոդիֆիկացիան բերում է սպիտակուցի էլեկտրոն փոխանցող ակտիվության ճնշման: Այդ երևույթը դիտվել էր մոդելային ակցեպտորների՝ կալիումի ֆերրիքսինիդ և դիքրոֆինիլ-ինդոֆենոլ (ԿԲԻԻ) և ֆիզիոլոգիական ակցեպտորի՝ Ազ-ի վերականգնման ռեակցիաներում: Այդ աշխատանքում նշված ռեակցիաներում կատալիտիկորեն Հական Tր-ների թիվը գնահատելու համար օգտվել էինք մոդիֆիկացված Tր-ների թվից մետաբոլիզմի ակտիվության կախումից: Մոդելային ակցեպտորների համար աչդ թիվը համասար է 2-ի, իսկ Ազ-ի համար՝ 1-ի: Սակայն Հական մետաբոլիզմի թիվը գնահատելու այս ձևը գիտականորեն բավարար չի համարվում:

Նկ. 1-ում պատկերված են ֆերմենտների մոդիֆիկացման մասնատվ տարբեր ռեակցիաներում Հական մետաբոլիզմի թիվը գնահատելու համար T₅₀-ի

(14) կողմից առաջարկված տեսական կորերը Բնահատման այս ձևը կայանում է հետևյալում: Կառուցվում են մնացորդային ակաիվության 1%-ից աստիճանի կախումը մոդիֆիկացված մնացորդների թվից: Կորերը կառուցում են ի բովի տալով տարբեր արժեքներ: Այն արժեքը, որի դեպքում փորձի կետերը դասավորվում են ուղիղ գծի վրա, համապատասխանում է տվյալ ռեակցիայի համար ուսումնասիրվող ամֆիտիթի էական բանական:

Ահա տեսնում ենք, որ Աղ-ի մասնակցությունը ռեակցիաներում փորձերի կետերը դասավորվում են ուղիղ գծով $i=1$ արժեքի դեպքում (նկ. 1



Նկ. 1. Աղ-սեղսկապի տրիպտոֆանի մնացորդների (սկզբնական քանակը որոշվում է 100 TSOU (14) մեկուկուս Գատկերված են էլեկտրոնի փոխանցման մնացորդային ակաիվության (3) 1%-ից աստիճանի կախումները Աղ-ի մոդիֆիկացված տրիպտոֆանների քանակից $i=1$ (●) $i=2$ (○) և $i=3$ (△) արժեքների նախընտրված (ա) NADPN → Աղ → Աղ-ցիտոքրոմ c համակարգում, (բ) NADPH → Աղ-ցիտոքրոմ c համակարգում, (գ) NADPN → Աղ-ցիտոքրոմ c համակարգում:

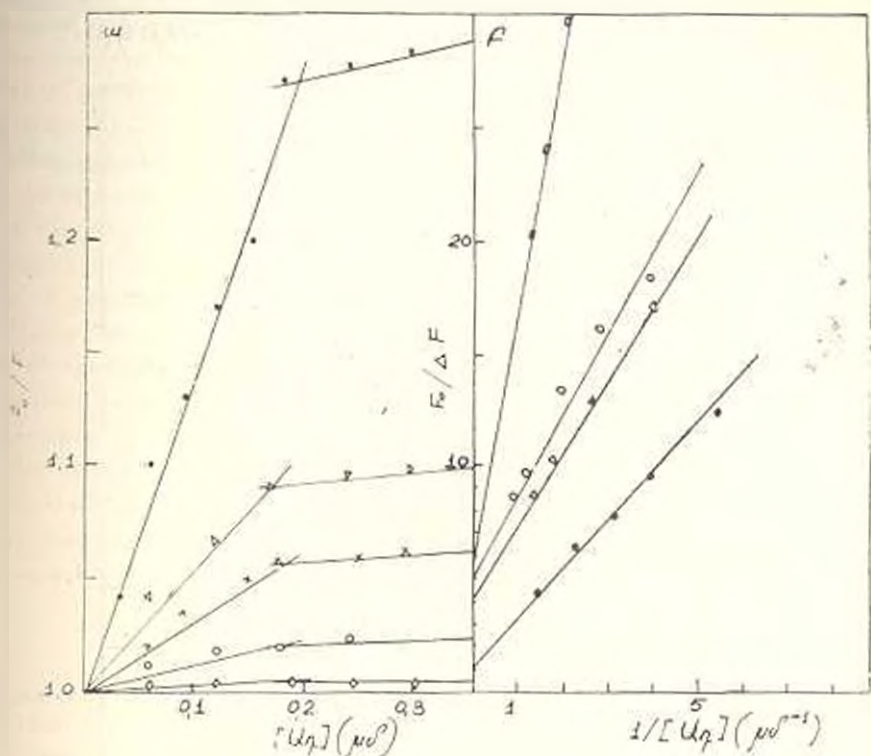
(ա) և (գ)), իսկ առանց Աղ-ի ռեակցիաներում $i=2$ արժեքի դեպքում (նկ. 1 (բ)):

Շաշվարկման այս ձևը հաստատում է Աղ-ի մասնակցությունը ռեակցիաներում Աղ-ի առաջին մոդիֆիկացվող տրիպտոֆանային մնացորդի կարևորությունը: Այս արդյունքը հաստատում է նախորդ աշխատանքում ալոված կորակալումները:

Hiwatashi և մյուսները (6) նշել են, որ Աղ-ի ներկայությամբ Աղ-ի տրիպտոֆանների ֆլուորեսցենցիան մարում է: Այս երևույթը բնորոշվել է որպես ապիտակուց-ապիտակուցային (Աղ և Աղ-ի) կոմպլեքսի առաջացման արդյունք: Սեր փորձերում Աղ-ի մշակումը NBS-ով բերում է տրիպտոֆանի ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվության փոքրացման: Սխառմանակ թուլանում է Աղ-ի ներկայությամբ մնացորդային ֆլուորեսցենցիայի մարումը: Նկ. 2-ում պատկերված են NBS-ի տարբեր բանականությամբ մշակված Աղ-ի Դր-ների ֆլուորեսցենցիային Աղ-ով մարելու համար Շախին-Ֆուլմերի ուղիղ (ա) և բերված (բ) կախումների զրաֆիկները: Ստացված ուղիղների տարբեր թվերությունները արտացոլում են մարելի (Աղ) և Աղ-ի Դր-ների բխողակալար փոխադրությունը զործակցի փոքրացումը: Այդ զրաֆիկներով որդինատների առանցքից կարված հատվածների մեծացումը NBS-ի կոնցենտրացիայի աճի հետ (նկ. 2) (բ)-ցույց է տալիս, որ մոդիֆիկացումը բերում է Աղ-ի հետ փոխադրող Դր-ների ֆրակցիայի կարուկ նվազմանը: Այսինքն NBS-ով մշակումը մոդիֆիկացնում է Աղ-ի այն տրիպտոֆանները, որոնք պատասխանատու են Աղ-ի և Աղ-ի փոխադրությունների համար: Այս ամենը վկայում են,

ար ԱդՌ-ի ԴԵՐ-ների մոդիֆիկացման հետևանքով նվազում է Ադ-ի հետ կոմպլեքսառաջացման ունակությունը:

ԱդՌ-ի և Ադ-ի միջև կոմպլեքսառաջացմանը կարելի է հետևել, ուսումնասիրելով կոմպլեքսի դիֆերենցիալ սպեկտրը: Այդ սպեկտրի դրանցման հա-



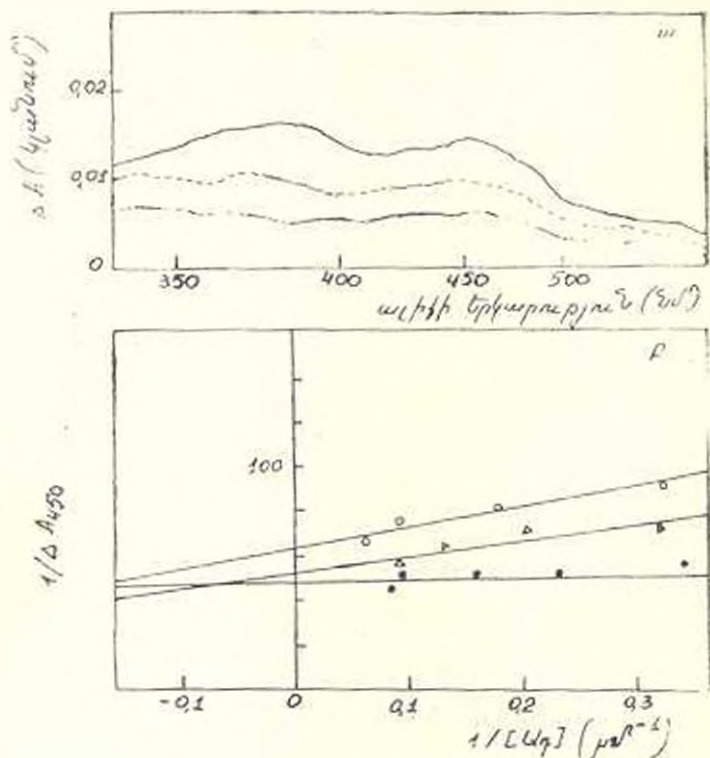
Նկ. 2. ԱդՌ-ի օրիգինալային ֆլուորեսցենցիայի մարումը Ադ-ով սլատկերված ըստ Շտերն-Ֆոլմերի ուղիղ (ա) և բերված (բ) կախումների: NBS-ի մոլային հարաբերությունը ԱդՌ-ին համասար է Յ ● 3,5 (Δ); 8,8 (X), 15,7 (○); 23,5 (□) ԱդՌ-ի էռնգենտրացիան բոլոր փորձերում համասար է 2,5 լ/մոլ, ֆլուորեն-էռնցիայի դրզուման համար օգտագործել ենք $\lambda = 295$ նմ լույս, արձակումը գրանցել ենք $\lambda = 334$ նմ մասքիմոմոմ:

մար փոփոխություններ ենք տեսնում այն կյուվետներում: Ադ-ի և ԱդՌ-ի լուծույթները լցնում էինք ստույգի կյուվետի տարրեր մասերը, իսկ աշխատանքային կյուվետի միևնույն մասի մեջ լցնում էինք այդ լուծույթների խառնուրդը: Հետո գրանցում էինք սպիտակուցների խառնուրդի սպեկտրը նրանց սպեկտրների գումարի դեմ, ալսիլեն՝ կոմպլեքսի առաջացման հետևանքով Երևան էկոդ հավելյալ կլանման սպեկտրը: Նկ. 3 (ա)-ում բերված է նատիվ և մոդիֆիկացված ԱդՌ-ի և նույն քանակով Ադ-ի խառնուրդների վերը նշված ձևով ստացված դիֆերենցիալ սպեկտրների քննանիքը:

ԴԵՐ-ների մոդիֆիկացիայի խորացման հետևանքով ԱդՌ-ի և Ադ-ի փոխադրելիության փոփոխությանը հետևել ենք ըստ դիֆերենցիալ սպեկտրի 450 նմ-ում ինտենսիտետի փոփոխության: Նկ. 3 (բ)-ում բերված են այդ ինտենսիտետային կախվածություններ Ադ-ի կոնցենտրացիայից կրկնակի հակադարձ մեծությունների գրաֆիկների աեսքով (Հանսոյվեր-Բեդգի մեթոդ): Կախվածությունները կառուցված են նատիվ ԱդՌ-ի և այն պրեպարատների համար, որոնք ստացվել են NBS-ԱդՌ-11 և 24 հարսրերությունների համար:

Այդ հարաբերություններին համապատասխանում են մեկ մոլ սպիտակուցում 2 և 3 մոդիֆիկացված մնացորդներ:

Պատկերված ուղիղները նկարի սահմաններից դուրս շարունակելու դեպքում արսցիսների սուսնցքից հատում են հատվածներ, որոնք համապատասխանում են ԱդՌ-ի և Ադ-ի փոխազդեցության համար $K_d = 10^{-8} M$ (նատիվ ուղուկում) և $10^{-6} M$ (մոդիֆիկացված ուղուկում) արժեքներին:



Նկ. 3. NBS-ով ԱդՌ-ի մոդիֆիկացման նյանակությունը Ադ-ի հետ փոխազդեցության համար: NBS-ի հարաբերությունը ԱդՌ-ին հավասար է. 0 (●), 11 (Δ), 24 (○):

(ա) ԱդՌ-ի և հավասար քանակով Ադ-ի կամպլեքսի դիֆերենցիալ սպեկտրները: Սպիտակուցների կոնցենտրացիաները հավասար են $5 \mu M$: (բ) Դիֆերենցիալ սպեկտրի ինտենսիվության կախվածությունը Ադ-ի կոնցենտրացիայից կրկնակի հետադարձ մեծությունների զրաֆիկների տեսքով: ԱդՌ-ի կոնցենտրացիան հաստատուն է և հավասար $5 \mu M$:

Ուղիղները օրդինատների սուսնցքից հատում են հատվածներ, որոնցից հետևում է, որ փոխազդող սպիտակուցների բրոմոֆորների զրգուման մաքսիմալ չափը ΔA_{max} -ը մոդիֆիկացման ընթացքում փոքրանում է: Ինչպես նշել էինք ԱդՌ-ի Tր-ները NBS-ով մոդիֆիկացման ժամանակ, նրա ակտիվությունը NADPH-ից էլիկտրոնների փոխանցման բոլոր ուղիղներում ընկնում է և, մասնավորապես, ընկնում է սպիտակուցի NADPH-ցիտոքրոմ c ուղուկազային ակտիվությունը:

Այդ ուղիղների արագությունը զնահատելու ժամանակ աշխատանքային կյուվետը 2 մլ վերջնական ծավալում պարունակում էր $50 mM$ կալիում-ֆոսֆատային բուֆեր, $pH 7.4$; $10^{-4} M$ EDTA; $35,8 \mu M$ օքսիդացրած ցիտո-

քան $32,2 \mu\text{M}$ NADPH; $0,2 \mu\text{M}$ ԱզՌ-ի կոնցենտրացիաներից բարձր ու ցածր արագություններ:

Ֆիտոքրոմ C-ի վերականգնմանը հետևել ենք ըստ 550նմ-ում նրա կլանման աճի: Հայտնի է, որ վերականգնված Ազ-ից էլեկտրոնների փոխադրումը ֆիտոքրոմ C-ի վրա կատարվում է քաֆականաչափ մեծ արագությամբ (5): Հետևաբար, շնայած ֆերմենտի (ԱզՌ) և սուբստրատի (Ազ) կոնցենտրացիաները համեմատելի են, Միքսուլիս-Մենետի ստացիոնար վիճակների տեսությունը կիրառելի է այս փորձում, քանի որ քաֆարարվում է սուբստրատի կոնցենտրացիաների հաստատուն լինելու պահանջը: Այս փորձերում ստացված կախվածությունները իրենցից ներկայացնում են արսիանների առանցքին և միմյանց զուգահեռ ուղիղների ընտանիք: Այդ ուղիղները օրգինատների առանցքից հատում են համալսման, որոնք վկայում են, որ ԱզՌ-ի մոդիֆիկացման խորացման հետ սեղանային V_{max} -ը փոքրանում է:

Ստացված տվյալների խումբը են ապահովում հաստատել, որ ԱզՌ-ում ԴԻՐ-ների մնացորդների մոդիֆիկացումը թուլացնում է Ազ-ի հետ նրա փոխադրելիությունը, նվազեցնում է դիֆերենցիալ սպեկտրի առաջացման պատճառով նախապես քրոմոֆորների շրջապատի զրոգումությունը:

Այս մոդիֆիկացումը պայմանավորված է մակերիկամների կեղևում միատոնոլիանների ստերոիդ-հիդրոսիլացիոզ ցիտոքրոմ Լ՝ 450-կախյալ համակարգի էլեկտրոնների փոխանցման մարսիմալ արագությունը այդ փոխանցման արագությունը սահմանափակող Ազ-ոնկուկտազ-ի կազմում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Арменян А. Г., Марданян С. С., Налбандян Р. М. Биохимия, 44, 6, 1074—1079, 1979.
2. Марданян С. С., Налбандян Р. М. Биохимия, 40, 1, 48—52, 1975.
3. Марданян С. С., Саркисова Е. Г., Осипова Э. Н., Григорян Н. А., Налбандян Р. М. Биохимия, 41, 2, 223—227, 1976.
4. Саркисова Е. Г., Марданян С. С. Биохимия, 52, 8, 1258—1262, 1987.
5. Hamamoto I., Ichikawa J. Biochem. Biophys. Acta, 786, 32—41, 1984.
6. Hiwatashi A., Ichikawa Y., Maruya N., Yumoto J., Aki K. Biochemistry, 15, 3082—3090, 1976.
7. Lambeth J. D., Geren L. M., Millett F. J. Biol. Chem., 259, 10025—10029, 1984.
8. Lehrer Sh. S., Leavis P. C. Methods in Enzymol., 49, 222—236, 1978.
9. Sarkisova Y. G., Mardanian S. S., and Harontunian A. V. (in press)
10. Shikita M., Hall P. F. J. Biol. Chem., 248, 16, 5599—604, 1973.
11. Stern O. and Volmer M. Phys. Z., 20, 183—188, 1919.
12. Suzuki K., Kimura T. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 19, 3, 340—345, 1965.
13. Taniguchi A., Kimura T. Biochemistry, 15, 2849—2851, 1976.
14. Tsou C.—L. Sci. Sin., 11, 1535—1558, 1962.
15. Usanov S. A., Turk J. V., Chashchin V. L., Akhrem A. A. Biochem. Biophys. Acta, 832, 286—296, 1985.

Ստացված է 22 ԴԻ 1990 թ.

ОЦЕНКА ФАКТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ НАСЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ГОРОДОВ АРМЕНИИ

Н. А. БАКАЛЯН, О. А. АНТОНЯН, Р. А. МАТЕВОСЯН, Л. Г. ОГАНЕСЯН

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра гигиены

Установлено, что в среднем ассортимент потребляемых городскими жителями пищевых продуктов отличается определенной узостью. Делается вывод о необходимости рационализации структуры питания населения городов и разработки соответствующих рекомендаций.

Աստիճանագրում է Հայաստանի 13 քաղաքների բնակչության ֆունկցիոնալ սնունդը և որոշում է ներգիսիկ արժեքը, ընթացիկ կազմը և սննդի անհավասարաչափությունը:

Ցույց են տրվում սննդի ֆունկցիոնալ բաղադրամասերը: Համեմատվում են բնակչության խմբերի և ամենօրյա սնունդի բաղադրամասերը հասանելի սնունդի ֆունկցիոնալ բաղադրամասերի և սննդային պահանջների ֆիզիոլոգիական նորմաների, որով և ֆունկցիոնալ և աստիճանագրում է անհավասարաչափ սննդի կառուցվածքը քաղաքացիների անհավասարաչափությունը:

The nutrition of urban population of thirteen towns in Armenia, as well as determination of energetic value, chemical composition and the balance of separate components of ration has been studied.

The disturbance of quantitative balance of fundamental components of ration and non-correspondence to the physiological limits of the need in nutrients and energy recommended for urban population on which the necessity of rationalization of the structure of nutrition of studied contingents is based has been observed.

Население городов Армении—сбалансированность питания.

Изучение фактического питания различных групп населения является неизменным условием оценки роли алиментарного фактора в уровне заболеваемости и основой для разработки мероприятий по рационализации структуры питания населения [3].

С этой точки зрения определенный научно-практический интерес представляет изучение питания городского населения как в плане выявления несоответствия основным принципам сбалансированного рационального питания, так и в отношении внесения при необходимости соответствующих научно обоснованных корректив в структуру питания этой значительной группы населения.

В настоящей работе представлены результаты изучения фактического питания жителей некоторых городов Армении, определения пищевой и биологической ценности его и возможных отклонений от рекомендуемых физиологических норм потребления пищевых веществ и энергии.

Материал и методика. Для решения поставленной задачи анкетно-опросным методом [1, 3] в тел. плана было изучено 1396 специально разработанных анкет, отражающих питание 7159 жителей 13 городов Армении.

На I этапе обследованы жители 10 городов, на II этапе—7 городов, из коих для городов, обследованных на I этапе, собран дополнительный материал.

Фактическое питание анализировали на основании данных о среднесуточном наборе пищевых продуктов, энергетической ценности, количественном и качественном составе сбалансированности основных компонентов рациона.

При изучении химического состава учитывали белки, жиры, углеводы, минеральные элементы (кальций, фосфор, магний, железо) и витамины (A, B₁ и C). Содержимое отдельных компонентов пищи рассчитывали по соответствующим таблицам [4, 5].

Результаты и обсуждение. Согласно полученным данным, в среднем ассортимент потребляемых городскими жителями пищевых продуктов отличается определенной узостью. Из перечисленных в опросной анкете 11 групп пищевых продуктов и наибольшим количеством и наиболее часто отмечаются 5 групп (хлеб, молочные продукты, мясопродукты, пищевые жиры, овощи и фрукты), в сущности определяющих энергетическую ценность и химический состав рационов.

Энергетическая ценность среднесуточного набора пищевых продуктов в среднем составляет 2600 ккал и соответствует величинам физиологической потребности в энергии (2400—2800 ккал), рекомендуемым для населения I группы интенсивности труда [2].

При сравнении полученных усредненных данных (табл. 1) с рекомендуемыми нормами [2] физиологической потребности в пищевых веществах отмечен недостаточный средний уровень потребления уг-

Таблица 1. Энергетическая ценность и химический состав среднесуточного набора пищевых продуктов жителей 13 городов Армении

Название городов	Энергетическая ценность, ккал	Белки, г		Жиры, г		Углеводы, г
		общее содержание	животные	общее содержание	растительные	
Первый этап						
Эчмиадзин	2777	103.3	65.2	101.8	3.3	305.8
Октемберян	2148	89.3	54.3	90.4	7.4	295.2
Аштарак	2297	85.0	48.7	83.2	3.1	302.0
Капо	2246	83.8	42.8	67.8	4.1	325.3
Раздан	2704	102.3	61.2	107.2	3.8	330.3
Горис	2347	92.0	53.0	71.0	4.0	325.0
Кафан	2240	116.5	65.8	86.0	2.6	232.3
Дилижан	1943	72.0	40.0	74.1	3.1	247.3
Степанаван	2373	89.9	52.5	75.2	3.5	311.7
Капана	2189	74.9	39.3	70.5	4.0	313.7
M±m	2327±81.6	100.8±2.8	52.3±2.5	83.6±3.7	3.99±0.48	300.6±8.3
Второй этап						
Агарак	2528	91.6	38.3	101.7	17.9	311.5
Алаверди	3587	143.5	66.7	100.7	20.8	436.8
Варденис	2532	115.1	60.4	87.0	9.8	326.3
Гори	2173	70.9	28.9	98.8	12.2	251.3
Капана	3602	127.5	58.4	165.6	18.1	400.8
Степанаван	2796	92.7	44.2	142.9	26.4	284.8
Эчмиадзин	3436	132.5	58.1	139.4	49.2	413.0
M±m	2953±29.1	119.5±9.9	50.7±5.1	125.2±10.7	24.9±5.29	316.0±21.4

леводов (323 вместо 370 г), несколько повышенный средний уровень потребления белка (100,6 вместо 80 г) и соответствующий рекомендуемым нормам уровень жира (104 г). Это приводит к нарушению сбалансированности основных компонентов рациона—белков, жиров, углеводов (Б: Ж: У), соотношение которых соответственно составляет 1:0,9:3,2 вместо рекомендуемого 1:1,2:4,6.

Содержание белка животного происхождения (51,5 г) соответствует рекомендуемым нормам, а качественный состав жирового компонента характеризуется избыточным количеством животных жиров и низким удельным весом жиров растительного происхождения, в среднем составляющих 14,4 г вместо рекомендуемых 20—25 г (табл. 1).

По минеральному составу (табл. 2) питание городских жителей

Т а б л и ц а 2. Содержание минеральных веществ и витаминов в среднесуточном наборе пищевых продуктов жителей 13 городов Армении

Название городов	Минеральные вещества, мг					Витамины, мг	
	Ca	P	Mg	Fe	A	B ₁	C
Первый этап							
Эчмиадзин	931	1630	292,6	19,3	0,89	1,11	98,7
Октемберян	835	1505	268,0	19,7	0,86	0,94	70,6
Аштарак	854	1429	213,7	18,1	1,45	1,7	40,5
Камо	545	1275	247,9	17,7	0,7	1,3	28,3
Раздан	1056	1608	269,8	16,4	0,93	2,05	21,9
Горис	720	1598	348,0	11,7	0,9	0,62	39,8
Кафан	1012	1545	244,0	17,3	1,3	1,06	60,0
Дилижан	707	1075	229,0	14,5	1,01	0,93	50,2
Степанаван	673	1400	269,6	22,0	1,17	2,2	38,8
Калинино	905	1023	393,5	18,5	0,8	1,47	6,4
M±m	823,8±35,4	1108±61,3	280,7±17,0	17,5±0,8	0,9±0,076	1,34±0,6	48,8±7,4
Второй этап							
Анаран	594,9	1938	564,5	24,6	0,54	1,06	74,3
Алаверди	1263	2635	791,1	30,4	1,21	3,09	129,4
Варденис	745,3	1899	648,7	25,6	0,58	2,15	110,7
Горис	671,1	1195,7	456,0	18,6	0,48	1,73	55,8
Калиново	1136,8	2399	702,0	19,7	1,38	2,25	169,2
Степанаван	985,3	1811	534,8	20,9	1,02	2,3	89,1
Эчмиадзин	1290,8	2432	668,7	24,2	1,07	3,46	121,6
M±m	811,5±94,8	2087±156,1	673,7±46,0	23,4±1,6	0,89±0,12	2,42±0,23	105,7±13,0

отличается высоким средним содержанием фосфора (1747 вместо 1200 мг), низким содержанием магния (452 вместо 500 мг) и кальция (на нижней границе нормы, 833 мг при норме 800—1000 мг). Это приводит к нарушению сбалансированности минеральных веществ (Ca:P:Mg), соответственно выражающейся в соотношении 1:2,1:0,5 вместо рекомендуемого 1:1,5:0,5, а следовательно, и возможному нарушению их усвояемости.

Среднее потребление витаминов (табл. 2) B₁ (1,8 мг) и C (77 мг)

находится на уровне рекомендуемых норм, а витамина А—почти вдвое ниже (0,9 вместо 1,8 мг). Однако если учесть, что расчет производили на сырые продукты без учета потерь на хранение и кулинарную обработку, можно полагать, что фактическое среднее потребление этих витаминов в действительности ниже полученных нами расчетных величин.

Давая гигиеническую оценку фактическому питанию городского населения, необходимо отметить, что наблюдаемая энергетическая ценность его достаточна только для тех групп населения, работа которых не связана с физическим трудом. Следовательно, увеличение интенсивности труда должно сопровождаться повышением энергетической ценности питания, преимущественно за счет углеводов. Существенным является нарушение принципов сбалансированности пищевых веществ, в частности, при достаточности и сбалансированности белкового компонента определенную озабоченность вызывает дисбаланс в качественном составе жирового компонента, проявляющийся в ограниченном потреблении растительных жиров, играющих важную роль в обмене веществ.

Наблюдаемое одновременно нарушение сбалансированности и недостатков некоторых минеральных веществ, особенно витаминов, не может не отражаться на полноценности питания населения, роль которого особенно возрастает в ситуациях, сопровождающихся усилением потребности организма в биологически активных компонентах, в частности, при повышении интенсивности труда, инфекциях, стрессовых состояниях.

Таким образом, проведенные исследования позволяют прийти к заключению о необходимости рационализации структуры питания городского населения с использованием полученных данных для разработки рекомендаций по улучшению структуры питания населения республики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Методические рекомендации по вопросам изучения фактического питания и состояния здоровья населения в связи с характером питания. М., 1984.
2. Нормы физиологических потребностей в пищевых веществах и энергии для различных групп населения СССР. М., 1964.
3. Руководство по изучению питания и здоровья населения (под ред. А. А. Покровского). М., 1964.
4. Химический состав пищевых продуктов (под ред. А. А. Покровского). М., 1977.
5. Химический состав пищевых продуктов (под ред. Н. М. Скурихина). М., 1979.

Поступило 10 VII 1990 г.

СДВИГИ ГИСТАМИНОВОГО ОБМЕНА ЖЕЛУДОЧНОЙ ТКАНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЯЗВЕ ЖЕЛУДКА ПОД ВЛИЯНИЕМ МИНЕРАЛЬНОЙ ВОДЫ КАРАШАМБ

Н. Г. АСАТРИАН, Р. А. ГРИГОРЯН

НИИ восстановительной терапии МЗ Армении, Ереван

Выявлено противоязвенное действие курса питья минеральной воды Карашамб в условиях экспериментальной хронической язвы желудка. Установлена определенная взаимосвязь между наблюдаемым эффектом и снижением содержания свободного гистамина и повышением ГПС желудочной ткани.

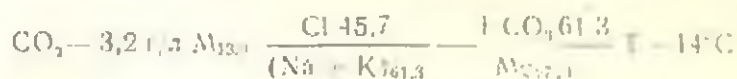
Ի փորձի է ցերպիկ ֆարաշամբ անձրալի շրի բնական կուրորի հակառնդալի ազդեցությունը փորձարարական Կրոնիկ խոցի պայմաններում: Բացահայտվել է փորձագրական որոշակի կապի առկայություն դիտարկվող ազդեցության և առանձրալի չիտամինի միջոցով ազատ չիտամինի պարունակության իջեցման և չիտամինապերիկ տնակության բարձրացման միջև:

It is shown that under the conditions of chronic experimental gastric ulcer the course of having of the mineral water "Carashamb" has antilulcerois influence. Certain correlation between the effect of observation and decrease of the free histamine level and increase of histaminopexic ability of the gastric tissue has been established.

Язва желудка — минеральная вода — гистамин — гистаминопексическая способность желудка.

Одной из важных задач современной гастроэнтерологии является дальнейший поиск средств, позволяющих активно воздействовать на патогенез заболеваний. Большое значение в этом отношении имеют бальнеопитьевые курорты в системе этапного лечения и реабилитации больных гастроэнтерологическими заболеваниями.

Несмотря на богатства и разнообразие гидроминеральных ресурсов в Армении, лишь некоторые минеральные воды тщательно изучены в бальнеологическом отношении и применяются в лечебных целях. В этом плане представляет интерес новая среднеминерализованная вода Карашамб, богатая биологически активными микроэлементами (Fe, Mn, Cu, Li и др.) и имеющая следующую формулу химического состава:



Выявление некоторых сторон механизма действия этой минеральной воды при экспериментальной хронической язве желудка даст возможность глубже раскрыть механизмы патогенетической терапии язвенной болезни и обосновать развитие перспективного бальнеопитьевого курорта гастроэнтерологического профиля на территории Ёжии Арзаканской курортной зоны.

Сокращения: ГПС — гистаминопексическая способность.

В механизмах регуляции желудочной секреции, функционального перенапряжения желудочных желез определенная роль принадлежит сдвигам уровня гистамина и ГПС желудочной ткани и желудочного сока [10, 11, 14]. ГПС рассматривается как один из защитных механизмов организма, инактивирующий гистамин путем связывания его с белками сыворотки крови [4—7, 12, 13].

Установлено [1—3, 6, 8, 9], что при язвенной болезни в сыворотке крови и желудочном соке повышается содержание свободного гистамина с одновременным понижением в них ГПС. В настоящем сообщении приводятся результаты изучения влияния курса питья минеральной воды Карашамб на течение изживления хронической язвы желудка у крыс со сдвигами уровня свободного гистамина и ГПС желудочной ткани.

Материал и методика. Исследования проводили на 60 белых крысах-самцах массой 180—200 г, находившихся на определенном пищевом рационе. Для воспроизведения длительно протекающей хронической язвы желудка использовали модель Окабе [15].

Оперированные крысы были разделены на две группы: контрольную, получавшую водопроводную воду, и опытные, получавшую гидрокарбонатно-хлоридно-магниево-натриево-кальциевую минеральную воду Карашамб минерализацией 13 г/л. Через 14 дней после воспроизведения модели, в период хронизации процесса язвобразования, подопытные крысы получали карашамбскую воду из расчета 8—10 мл на каждую крысу в виде курса в течение 25 дней. В 3 группу входили intactные крысы.

Голодавших в течение 16—18 ч крыс по 10 из каждой группы декапитировали на 10 и 25 дни приема минеральной воды. Макроскопически регистрировали состояние желудка (подутые, растянутость, цианотичность, степень выраженности спаек с окружающими органами и поражаемости стенки желудка, наличие язв, дефектов, размер последних).

Одновременно брали кусочки ткани железистой части двух желудочков для хромотографического определения содержания свободного гистамина и ГПС желудочной ткани по Урбах, Жискафре в модификации Кричевской [5]. Количественные сдвиги гистамина измеряли на спектрофотометре СФ-26 при λ 540 нм. Полученные данные подвергали статистической обработке.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что минеральная вода Карашамб оказывает антгульцерогенное действие на течение хронической экспериментальной язвы желудка, выраженность которой зависит от продолжительности питья минеральной воды.

На 25 день воспроизведения экспериментальной язвы желудка выявлены различия в течении язвенного процесса у животных контрольной и подопытных групп. Обнаружено, что внутренний прием минеральной воды способствует уменьшению повреждений слизистой оболочки желудка и спаек с окружающими органами. На 10 день ежедневного приема минеральной воды у 14,6% животных язва желудка не обнаруживалась, у 55,6% крыс отмечался поверхностный дефект слизистой оболочки желудка. У 60% контрольной группы животных установлена язва желудка с приподнятыми твердыми краями, у 40% — глубокий дефект слизистой оболочки. Соответственно, в указанные сроки площадь дефекта слизистой оболочки желудка в опытной группе составляла $5,2 \pm 2,3$ против $10,8 \pm 2,14$ мм² в контроле. У 60% крыс контрольной группы пло-

щадь язвы желудка составляла $17,0 \pm 4,9$ мм². Выраженный противоязвенный эффект выявлен на 40 день течения экспериментальной язвы желудка к концу курсового приема минеральной воды: у 50% крыс подопытной группы язва не обнаружена, у 50% — установлен поверхностный дефект слизистой оболочки с эпителизацией дна язвы, площадью $1,6 \pm 0,67$ мм² при отсутствии спаек с окружающими органами. У 54% крыс контрольной группы отмечалось наличие неглубоких язв желудка с не приподнятыми мягкими краями, площадью $16,6 \pm 3,6$ мм², а у 46% установлены дефект слизистой оболочки площадью $8,2 \pm 2,6$ мм² и наличие спаек. На основании вышесказанного можно заключить, что курсовое питье минеральной воды Карашамб стимулирует репаративные процессы в слизистой оболочке желудка.

Проведенные исследования показали, что в механизмах действия минеральной воды Карашамб при ее внутреннем приеме на заживление хронической язвы желудка определенную роль играют сдвиги в содержании свободного гистамина и ГПС желудочной ткани.

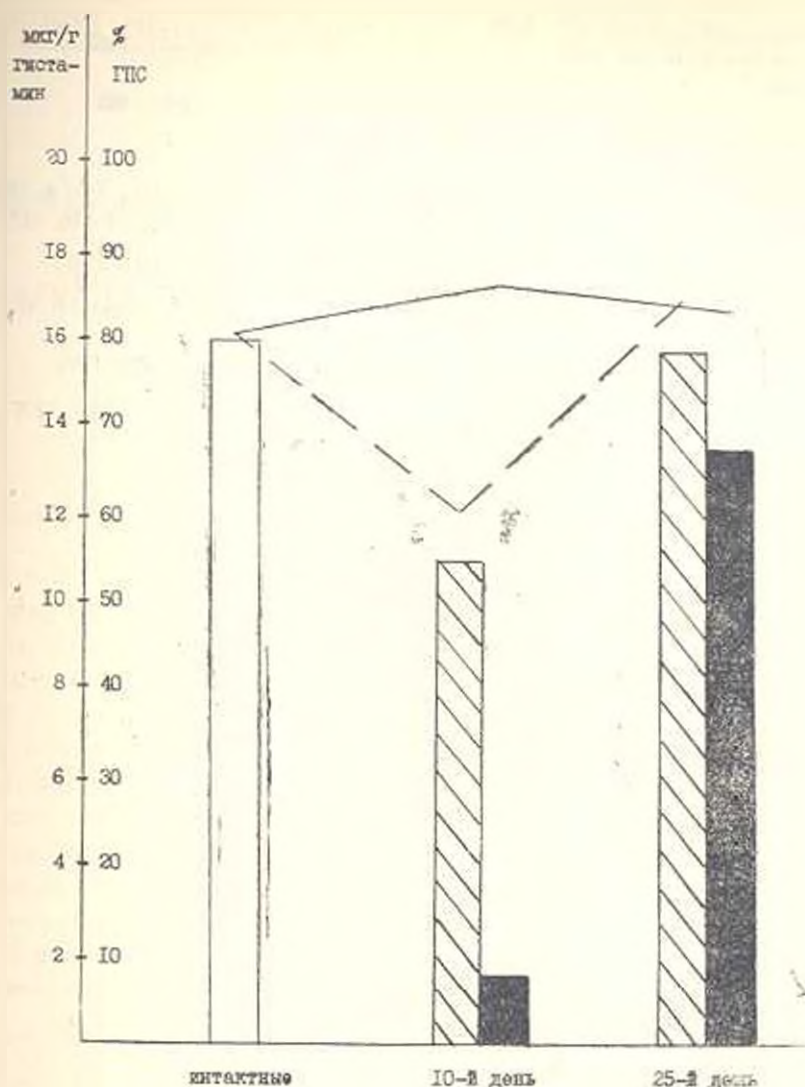
При воспроизведении хронической язвы желудка в разные сроки язвообразования у контрольной группы животных уровень свободного гистамина и ГПС в желудочной ткани неодинаков. Обращает на себя внимание, что на 25 день течения хронической язвы, когда установлено наличие язвы и дефектов слизистой оболочки желудка, выявлено достоверное снижение ГПС ($P < 0,001$) и незначительное снижение уровня свободного гистамина в желудочной ткани (рис.). К 40 дню эксперимента обнаружена тенденция к нормализации уровня свободного гистамина и ГПС по сравнению с аналогичным показателем интактной группы.

У животных опытной группы на 10 день ежедневного приема карашамбской минеральной воды, т. е. на 25 день течения хронической язвы желудка (рис.), наряду с определенным противоязвенным действием установлено резкое снижение уровня свободного гистамина и повышение ГПС желудочной ткани по сравнению с контрольными данными ($P < 0,001$ и $P < 0,002$ соответственно). Обнаружена причинно-следственная взаимосвязь между уровнем свободного гистамина и ГПС желудочной ткани под влиянием карашамбской минеральной воды.

К концу курса питья минеральной воды, на 40 день язвообразования, наряду с антиульцерогенным действием отмечалась тенденция к нормализации уровня свободного гистамина в желудочной ткани по сравнению с 10 днем опыта ($P < 0,001$). ГПС желудочной ткани оставалась на исходном уровне.

На основании приведенных данных можно заключить, что в механизмах противоязвенного лечебного действия минеральной воды Карашамб имеют значение понижение уровня свободного биологически активного гистамина и повышение ГПС желудочной ткани.

Таким образом, раскрыты некоторые патогенетические механизмы противоязвенного действия карашамбской минеральной воды при экспериментальной язве желудка. Полученные экспериментальные



Динамика содержания свободного гистамина и ГПС в желудочной ткани под влиянием курса питья минеральной воды Карашамб при экспериментальной хронической язве желудка по Окабе

Свободный гистамин

ГПС

■ — опыт

— — — — — опыт,

□ — контроль

— — — — — контроль.

данные могут служить основанием для рекомендации лечебного применения минеральной воды Карашамб в клинике при язвенной болезни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биссальк Л. С., Кованови Л. А. Актуальные вопросы гастроэнтерологии. 5, 16 - 25, М., 1972.
2. Геллер А. Л. Новые методы диагностики и лечения в гастроэнтерологии. Труды Пермского мед. института 12—14, Пермь, 1983.
3. Кинаева Э. Ф., Сердюков А. Е. Некоторые аспекты физиологии и патологии органов пищеварения. 77—85, Новосибирск, 1983.

4. Кассиль Г. Н., Вайсфальд Н. Л. Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 3, 16—22, 1959.
5. Кричевская Е. И., Капитонова Г. В. ДАН СССР, 123, 1, 68—71, 1958.
6. Кушнир В. Е. Клиническая медицина, 11, 75—79, 1971.
7. Мирзоян С. А., Григорян Р. А. ДАН АрмССР, 13, 4, 252—255, 1966.
8. Можайская Н. М. Терапевтический архив, 11, 83—85, 1967.
9. Эйдельман Ф. М. Терапевтический архив, 6, 34—37, 1971.
10. Code C. P., Hallenbeck G. A., Gregory R. A. Amer. J. Physiol., 151, 4, 593, 1947.
11. McAlpin D. C., Moore T. C., Lemmi C. A. E. Arch. Surg., 109, 65—76, 1974.
12. Parrot J. L., Laborde C. J. Physiol. (France), 49, 3, 677—679, 1956.
13. Parrot J. L., Saindella A. J. Physiol (France), 56, 627—628, 1964.
14. Rees W. D. W., Rhodes J., Wheeler M. H., Meek E. M., Newcombe R. G. Gastroenterology, 72, 67—71, 1977.
15. Takagi K., Okabe S., Sasaki P. Jap. J. Pharmacol., 19, 418—426, 1969.

Поступило 12 X 1989 г.

Биол. журн. Армения, № 9, (43), 1990

УДК 576.851.2/852.24:575.24

КОНЪЮГАЦИОННЫЙ ПЕРЕНОС ПЛАЗМИДЫ ИЗ *ESCHERICHIA COLI* В КЛЕТКИ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

В. А. ЛИВИНИЦ, Е. В. СЕМЕНОВА, К. В. МАКАРЯН*

Всесоюзный научно-исследовательский институт генетики и
селекции промышленных микроорганизмов,

*Ереванский зооветеринарный институт

Бактерии молочнокислые—плазмиды—конъюгация—устойчивость к антибиотикам

Получение плазмид, которые могут быть мобилизованы из *Escherichia coli* в клетки молочнокислых бактерий, открывает большие возможности для генно-инженерных манипуляций с этими бактериями и, в частности, для конструирования штаммов, устойчивых к антибиотикам. Сущность этой процедуры заключается в том, что в двурепликонную плазмиду, способную поддерживаться в клетках *E. coli* и молочнокислых бактерий, встраивают фрагмент ДНК, содержащий начало переноса, (*oriT* или *mob-сайт*) плазмиды RK2 (или родственных плазмид RP4 и RP1). Это позволяет мобилизовать полученную плазмиду с помощью конъюгативных плазмид IncP-группы несовместимости в клетки грамположительных бактерий [1].

В настоящей работе впервые показана возможность конъюгационной мобилизации такой плазмиды из *E. coli* в клетки лактобацилл.

Материал и методика. В работе использовали штаммы бактерий, полученные из музея культур ВНИИгенетики: *E. coli* C 600, *E. coli* C 600 (RP4), *E. coli* S 17 (pSU 5011), *Bacillus subtilis* 168 (pHV 33), *Lactobacillus plantarum* ВКМ-578, *Lactobacillus buchneri* ВКМ-1311, *Streptococcus faecalis* OG1. Двурепликонная плазма pHV 33 получена в работе [2]. Плазма pSUP 5011 описана Саймоном [3].

Среда. *E. coli* и *B. subtilis* культивировали в бульоне Хоттингера или L-бульоне. Лактобациллы выращивали в среде MRS (Oxoid, Англия), агаризованные среды содержали 1,5% агара. Антибиотики отечественного производства вносили в среды в следующих концентрациях (мкг/мл): ампициллин—100,0; хлорамфеникол—10,0; тетрациклин—10,0; канамицин—20,0; полимиксин—10,0. Трансформацию клеток *E. coli* осуществляли известным методом [4]. Конъюгационные скрещивания между *E. coli* и молочнокислыми бактериями осуществляли на фильтрах. С этой целью 1 мл ночной культуры штамма-донора *E. coli* C 600 (RP4, pSI.201) и 0,2 мл ночной культуры штамма-реципиента смешивали и осаждали на мембранном фильтре с диаметром пор 0,45 мкм. Фильтры с клетками помещали на чашки с соответствующими питательными средами и инкубировали 18 ч при 37° или 30°. Затем клетки смывали с фильтров физиологическим раствором NaCl и высевали на селективные среды для отбора эксконъюгантов. Плазмидную ДНК из клеток *E. coli* и *B. subtilis* выделяли по методу Бирибойна и Доли [5]. Рестрикцию и лигирование ДНК осуществляли в соответствии с общепринятыми методиками [4] в условиях, рекомендованных изготовителями ферментов. Ферменты получали в лаборатории прикладной энзимологии ВНИИген.

Результаты и обсуждение. Конструирование плазмиды pSL201. Двурепликационная плазмида pHV33 имеет размер 6,9 т. п. о и состоит из фрагмента ДНК плазмиды pBR322, несущей детерминанты устойчивости к ампициллину и тетрациклину, и фрагмента плазмиды pC194, несущей детерминант устойчивости к хлорамфениколу [2]. Как известно, плазмида pBR322 поддерживается в клетках *E. coli*, а плазмида pC194 — в клетках грамположительных бактерий. Плазмида pHV33 содержит уникальные сайты для рестриктаз Bam H I, EcoR I и Pst I. Для получения мобилизуемой плазмиды на основе pHV33 в нее был встроен фрагмент ДНК, несущий *oriT* (mob-сайт) плазмиды RP4. Источником mob-фрагмента служила плазмида pSUP5011 [3]. С этой целью плазмиду pSUP5011 подвергали гидролизу рестриктазой Bam H I. Mob-фрагмент выделяли из легкоплавкой агарозы после электрофоретического разделения рестриктон и препаративном 1%-ном геле с использованием гексацидотриаммоний бромид [6]. Далее 1 мкг ДНК плазмиды pHV33, обработанной рестриктазой Bam H I, смешивали с 5 мкг ДНК mob-фрагмента, добавляли 15 ед. ДНК-лигазы фага T4 и инкубировали 4 ч при комнатной температуре [4]. Полученной лигированной смесью трансформировали компетентные клетки *E. coli* С 600. Трансформанты отбирали на среде с ампициллином и среди них находили клоны, чувствительные к тетрациклину, детерминанты устойчивости к которому инактивируются, если произошла вставка mob-фрагмента в Bam H I сайт плазмиды pHV33.

Рестрикционный анализ плазмидных ДНК, выделенных из таких бактерий, показал наличие в некоторых из плазмид фрагментов ДНК, соответствующих pHV33 и mob-участку. Одна из таких плазмид была обозначена pSL201 и имела размер 8,8 т. п. о.

Конъюгационная мобилизация плазмиды pSL201 в клетки молочнокислых бактерий. Для конъюгационной мобилизации плазмиды pSL201 в клетки молочнокислых бактерий был сконструирован донорный штамм *E. coli* С 600, содержащий эту плазмиду и конъюгативную плазмиду — мобилизатор RP4. Конъюгационные скрещивания осуществляли на мембранных фильтрах. Для контрселекции донора использовали природную устойчивость бацилл, лактобацилл и стрептококков к полимиксину.

Контрольный эксперимент показал, что плазмида pSL201 мобилизуется из *E. coli* в *B. subtilis*, где поддерживается в присутствии селективного агента (хлорамфеникола). Затем в качестве реципиентов были взяты молочнокислые бактерии *L. plantarum* ВКМ 578, *L. buchneri* ВКМ 1310 и *Str. faecalis* OG1. Эксконъюганты молочнокислых бактерий, устойчивые к хлорамфениколу, возникали с частотой 10^{-3} — 10^{-4} по отношению к числу клеток донора. Эксконъюганты *Str. lactis* возникали с частотой $< 5 \cdot 10^{-5}$.

Присутствие плазмиды pSL201 в клетках эксконъюгантов подтверждает анализ препаратов плазмидных ДНК с помощью электрофореза в агарозном геле. Кроме того, полученные препараты плазмиды ДНК, выделенные из *L. plantarum*, *L. buchneri* и *Str. faecalis* использовали для трансформации штамма *E. coli* С 600. Трансформанты отбирали

на среде с ампициллином. Последующий рестрикционный анализ плазмидных ДНК из этих трансформантов *E. coli* подтвердил наличие в них неизменной формы pSI.201.

Как уже отмечалось, экзонъюганты молочнокислых бактерий отбирали на среде с хлорамфениколом. Следовательно, детерминант (ы) устойчивости к этому антибиотику экспрессируется в клетках лактобацилл и фекальных стрептококков. В то же время эти бактерии оставались чувствительными к ампициллину, т. е. детерминант устойчивости к этому антибиотику не экспрессируется в клетках молочнокислых бактерий.

После культивирования в неселективных условиях (т. е. без антибиотиков) в течение 15—20 генераций более 99% клеток лактобацилл и стрептококков утрачивали плазмиду pSI.201. Это соответствует наблюдению, что исходная плаزمида pIV33 не стабильна в клетках грамположительных бактерий [2].

Таким образом, проделанная работа показывает перспективность использования мобилизуемых плазмид для введения детерминантов устойчивости в клетки молочнокислых бактерий. Однако для стабильности этих признаков, видимо, целесообразно использовать дуплеконные плазмиды иного происхождения и, в частности, сконструированные на основе собственных плазмид молочнокислых бактерий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Trissu—Cust P., Carlier C., Martin P., and Courvillat P. FEMS Microbiol. Lett., 48, 289—291, 1987.
2. Primrose S. B., Ehrlich S. D. Plasmid, 6, 193—201, 1981.
3. Simon R. Mol. Gen. Genet., 196, 113—120, 1984.
4. Маннатиц Т., Фриш Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование: пер. с англ. М., 1984.
5. Birnboim H. D., Doly F. Nucleic Acids Res., 7, 1513—1523, 1979.
6. Langridge F., Langridge T., Bergquist J. Biochemistry, 103, 264—271, 1980.

Поступило 8.1.1990 г.

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ПРОМЫШЛЕННОСТИ АРМЕНИИ

А. К. ПЕРСЕСЯН, В. А. ЖАКУМАДЖЯН, В. Н. ЗИЛЬФЯН

ОИЦ им. В. А. Фанарджяна МЗ Армении, Ереван

Соединения химически — хромосомные aberrации — мутагенность.

В Армении, где широко развита химическая промышленность, в большом количестве используются хлорсодержащие и другие химические соединения, с которыми приходится контактировать персоналу предприятий. В связи с этим изучение мутагенной активности некоторых из них приобретает важное значение. В настоящей работе приводятся результаты изучения мутагенности 8 соединений, используемых в ИПО «Наирит» и «Полвинилацетат», расположенных на территории г. Еревана.

Материал и методики. Эксперименты проводили на 50 крысах-самцах линии Вистар массой 120 г (Нарикарский питомник Армении). Исследована цитогенетическая активность следующих соединений: ХП, ТХБ, 1,4-ДХБ, 1,3-ДХБ, ТХБД, ДФНА, ВА и АА. Все указанные соединения растворяли в масле, кроме АА, который растворяли в воде, и вводили крысам внутривенно в дозах, эквивалентных 1/5 от LD₅₀. ДФНА вводили в виде суспензии зондом в желудок. Через 24 ч крысам внутривенно вводили колхицин по 1 мг/кг и спустя 2 ч животных забивали передозированным эфирным наркозом. Хромосомные препараты готовили по описанной ранее методике [2]. Исследовали по 100 клеток от каждого животного. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований представлены в таблице. Установлено, что все исследуемые вещества, кроме ДФНА, достоверно повышают количество клеток с цитогенетическими нарушениями. Наибольшей цитогенетической активностью обладает ТХБ (16,5%), остальные химические соединения повышают уровень абберантных клеток максимум до 8,2% (ВА). 1,4-ДХБ, ТХБД, 1,3-ДХБ, ДФНА индуцируют только хроматидные разрывы, АА еще и ахроматидовые пробелы (гепы). ТХБ и ХП индуцируют хроматидные разрывы и aberrации обменного типа, а ВА, кроме указанных двух типов нарушения, еще и гепы.

Цитогенетическая активность хлорорганических соединений связана с метаболической активацией при участии цитохрома Р-450 с образованием свободных радикалов [3]. АА является мутагеном прямого действия, который алкилирует ДНК клеток, а ВА спонтанно распадается в крови млекопитающих с образованием мутагенного АА [4]. Предложен метод полуколичественной оценки мутагенности, согласно которому мутагены, повышающие спонтанный уровень хромосомных aberrаций до 10 раз, считаются слабыми, от 10 до 25 раз — средними, больше

Сокращения: ХП — хлорпирен; 2-хлорбутилен-1,3; ТХБ — 1,2,3,4-тетрахлорбутан; 1,4-ДХБ — 1,4-дихлорбутен-2; 1,3-ДХБ — 1,3-дихлорбутен-2; ТХБД — 1,1,2,3-тетрахлорбутан-1,3; ДФНА — дифенилнитрозамин; ВА — винилацетат; АА — ацетальдегид.

Цитогенетическая активность химических соединений

Химические соединения	Доза, мг/кг	Количество изученных клеток	Частота аберрантных клеток, %	Хромосомные нарушения на 100 клеток		
				фрагменты одиночные	обмены	пробелы
ТХБ	50	500	16.5±2.1	21.5	8.5	—
ХП	300	500	8.0±0.7	8.4	3.6	—
1,4-ДХБ	50	500	7.5±1.1	7.5	—	—
ТХБД	200	500	6.2±0.8	6	—	—
1,3-ДХБ	40	500	4.2±0.8	4.2	—	—
ДФНА	1000	500	2.0±0.6	2	—	—
ВА	160	500	8.2±0.6	7.8	0.8	3.0
АА	130	500	7.8±0.7	7.2	—	2.2
Контроль	—	1000	0.6±0.2	0.6	—	—

25 раз—сильными [1]. В соответствии с этой классификацией, ТХБ относится к сильным мутагенам, ХП, 1,4-ДХБ, АА, ВА и ТХБД—к средним, а 1,3-ДХБ—к слабым мутагенам.

Таким образом, химические соединения, в большом количестве используемые в НПО «Наирит» и «Поливинилацетат», обладают в разной степени мутагенностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бочков Н. И., Чеботарев А. Н. Наследственность человека и мутанты внешней среды. М., 1989.
2. Зильфян В. Н., Нерсисян А. К., Кумкумджян В. А., Фишиджян Б. С. Генетика, 21, 19, 1507—1511, 1985.
3. Bartsch H., Malaveille C., Barbin A., Planche Y. Arch. Toxicol., 41, 2, 249—250, 1979.
4. Mäki-Paakkonen J., Norppa H. Mutat. Res., 190, 1, 41—45, 1987.

Поступило 15.XI 1989 г.

Биол. журн. Армении, № 9.(43).1990

УДК 616.006—02.614.47

СНИЖЕНИЕ МУТАГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ЦИКЛОФОСФАНА У РАЗНЫХ ВИДОВ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ТУЛЯРЕМИЙНОЙ ВАКЦИНОЙ

В. И. ЗИЛЬФЯН, А. К. НЕРСЕСЯН, В. А. КУМКУМАДЖЯН

ОНЦ им. В. А. Фанарджяна МЗ Армении, Ереван

Туляремиальная живая вакцина—циклофосфан—хромосомные аберрации.

Ранее нами было показано, что у белых крыс, иммунизированных живой ТВ, снижается количество аберрантных метафаз в клетках костного мозга, индуцируемых различными мутагенами [1, 4]. Целью настоящего исследования послужило изучение влияния ТВ на цитогенетиче-

Сокращения: ТВ—туляремиальная вакцина, ЦФ—циклофосфан.

ское действие ЦФ у 4 видов лабораторных животных — белых крыс и мышей, морских свинок и серых (армянских) хомячков.

Материал и методика. Эксперименты проводили на беспородных лабораторных животных-самцах: 15 крысах (средняя масса 140 г), 15 мышам (20 г), 15 морских свинок (500 г) и 15 серых хомячках (25 г).

Серые (армянские) хомячки были предложены в качестве экспериментальной модели в нашей лаборатории [2]. Установлено, что эти грызуны являются удобным объектом, на котором можно проводить цитологические, вирусологические, радиобиологические и, вследствие наличия в карнотине 22 хорошо идентифицируемых хромосом, цитогенетические исследования. ЦФ отечественного производства вводили невакцинированным и вакцинированным животным в дозе 25 мг/кг, а серым хомячкам — в дозе 100 мг/кг, так как ранее нами было показано, что эти грызуны очень резистентны к цитогенетическому действию ЦФ и доза 25 мг/кг не индуцирует у них достоверного повышения уровня aberrантных метафаз [3, 5]. За 15 суток до введения мутагена животных вакцинировали ТВ-крыс и морских свинок подкожно одной человеческой дозой (20 млн микробных клеток) по описанной ранее методике [1], а мышей и хомячков интратрично в дозе 7,5 млн микробных клеток (1/2 человеческой дозы) из-за большей чувствительности этих животных к действию ТВ. Через сутки после введения ЦФ животным вводили колхицин в следующих дозах (мг/кг): крысам—1, морским свинок—1,5, мышам—4, серым хомячкам—100 (вследствие их резистентности к действию различных ядохимикатов) [2]. Хромосомные нарушения изучали на метафазных пластинках, приготовленных из костного мозга животных по описанной ранее методике [1, 4]. Всего изучено 6000 клеток. Крыс и морских свинок забивали эфиром, мышей и хомячков—дислокацией шейных позвонков. Полученные результаты подвергали статистической обработке с помощью критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты представлены в таблице, согласно которой ЦФ индуцирует в миелокариоцитах крыс, мышей и свинок цитогенетические нарушения, которые в основном (50%) представлены хроматидными разрывами и aberrациями обменного типа (20%), а также небольшим количеством метафаз с множественными нарушениями хромосом (10%) и генами (ахроматидными пробелами). У хомячков aberrации хромосомного типа отсутствуют, хроматидные разрывы составляют 62% от общего числа нарушений, 17%—обмены, 12%—гены и 1%—клетки с множественными нарушениями хромосом. По чувствительности к цитогенетическому действию ЦФ животных можно расположить в следующий убывающий ряд: морские свинки, крысы, мыши, серые хомячки. Последние очень резистентны к действию ЦФ и некоторых других мутагенов [3, 5]. Введение цитостатика в дозе 100 мг/кг индуцирует в миелокариоцитах только 12,3% aberrантных клеток, хотя в 4 раза меньшая доза ЦФ у крыс индуцирует втрое больше нарушений (34,0%).

В миелокариоцитах всех иммунизированных животных наблюдается достоверное снижение количества aberrантных метафаз, индуцируемых ЦФ, по сравнению с невакцинированными (во всех случаях $P < 0,001$). Количество клеток с нарушениями хромосом меньше по сравнению с соответствующим контролем у крыс на 66%, у мышей—на 29, у морских свинок—на 42 и у хомячков—на 49,6%. У вакцинированных животных, наряду с уменьшением количества aberrантных метафаз, наблюдается снижение всех типов цитогенетических нарушений и числа нарушений на исследованную клетку: у крыс—в 5,2, у мышей и морских

Влияние иммунизации ТВ на митогенетическую активность ЦФ у разных видов лабораторных животных

Вид животного	доза мутагена, мг/кг	вакцинация	число исследований, клеток	число aberrантных клеток, %	число митогенетических нарушений на 100 клеток				
					разрывы		обмены	клетки с М. П.	гены
					хромосомн.	хромосомное			
Крыса	25	—	500	0.6±0.2	0.5	—	—	—	—
		—	500	34.0±1.7	61.8	2.3	23.6	2.2	5.2
		+	500	15.4±1.1	14.6	—	7.2	—	1.2
Мышь	25	—	500	0.9±0.2	0.5	—	—	—	0.4
		—	500	27.6±0.8	23	1.8	15.6	0.2	2.4
		+	500	19.6±0.9	14.6	0.6	9.0	—	1.9
Морская свинка	25	—	500	1.0±0.4	1.0	—	—	—	—
		—	500	16.2±1.4	52.4	8.6	18.4	1.2	9.2
		+	500	27.0±1.1	28.8	6.2	14.8	—	4.8
Хомячок	100	—	500	0.2±0.2	0.2	—	—	—	—
		—	500	12.3±0.9	13.0	—	3.6	0.2	2.5
		+	500	6.2±0.9	7.0	—	1.5	—	1.0

свинок—в 1,8, у хомячков в 2,1 раза. По модифицирующему эффекту ЦФ иммунизированных животных можно расположить в следующий убывающий ряд: крысы, хомячки, морские свинки, мыши.

Таким образом, в миеелокариocyтах иммунизированных животных, независимо от вида, наблюдается достоверное снижение количества аберрантных клеток, индуцируемых ЦФ. Причиной этого эффекта является ингибирование неспецифических монооксигеназ печени у вакцинированных животных, что доказывается увеличением продолжительности гексеналового сна животных [4]. ТВ, как и другие иммуностимуляторы (БЦЖ, коринебактерии), обладает свойством ингибировать монооксигеназы и влиять на активность цитохрома Р-450, под воздействием которых в организме из ЦФ образуются метаболиты с выраженными биологическими свойствами [6].

ЛИТЕРАТУРА

1. Зильфи В. Н., Нерсисян А. К., Кумкумаджян В. А., Фичиджян Б. С. Генетика, 21, 9, 1507, 1985.
2. Зильфи В. Н., Фичиджян Б. С., Кумкумаджян В. А. Журн. эксперим. и клин. медицины, 10, 1, 3, 1970.
3. Нерсисян А. К., Зильфи В. Н. В кн.: Вопросы онкогенетики. 118, Киев, 1983.
4. Нерсисян А. К., Зильфи В. Н., Кумкумаджян В. А., В. А., Фичиджян Б. С. Цитология, 28, 4, 457, 1986.
5. Нерсисян А. К., Кумкумаджян В. А., Зильфи В. Н. В кн.: Мат-лы V съезда Арм. об-ва генетиков и селекционеров им. Н. И. Вавилова, 88, Ереван, 1987.
6. Descotes J. Drug. Metab. Rev., 15, 2, 175, 1985.

Поступило 15.XI 1989 г.

Биол. журн. Армения, № 9 (43) 1990

УДК 615.576.24/25

МУТАГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ В СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Б. Г. ХАЧАТРЯН

Филиал ВНИИ гигиены и токсикологии пестицидов, полимеров и
пластических масс МЗ СССР, Ереван

Клетки соматические млекопитающих—регуляторы роста растений—цитогенетическая активность—хромосомные абберрации.

Одним из актуальных вопросов генетико-гигиенических исследований пестицидов и регуляторов роста растений является изучение и оценка мутагенной активности продуктов их биотических и абиотических превращений в объектах окружающей среды.

По мнению ряда авторов [1, 2] при активации пестицидов в мутагены степень потенциальной генетической опасности исходного соединения должна устанавливаться с учетом сведений о мутагенности тех его метаболитов, для которых существует реальная возможность поступления в организм человека.

Эти соединения могут оказывать общетоксическое, гонадотоксическое, эмбриотоксическое и мутагенное действия, т. е. представляют генетическую опасность для будущих поколений [3]. В настоящей работе представлены результаты изучения мутагенной активности регулятора роста растений картолина-2 и его метаболита оксикарбама в половых и соматических клетках млекопитающих.

Картолин-2, синтезированный во Всесоюзном научно-исследовательском институте химических средств защиты растений, повышает морозостойкость и засухоустойчивость злаковых [4-6].

Материал и методика. Исследования проводили на 60 белых беспородных крысах. Препараты костного мозга крыс готовили по общепринятому методу [6]. Вещества вводили однократно, интритжелудочно, в дозах, соответствующих 1/5 и 1/50 АД₅₀, установленных в токсикологических экспериментах. При обнаружении цитогенетического эффекта дозы снижали на порядок, до недействующей. Аберрации учитывали на стадии метафазы на постоянных препаратах, окрашенных азури-эозином. В каждую группу включали 8-10 животных. Подсчитывали по 100 метафазных пластинок от каждого животного. Контролем служили клетки от интактных животных.

Результаты и обсуждение. Как видно из данных, представленных в таблице, картолин-2 проявляет цитогенетическую активность только в дозе 800 мг/кг, а оксикарбам во всех исследуемых дозах, кроме 11,8 мг/кг, вызывает в костном мозге крыс статистически достоверное увеличение частоты хромосомных аберраций по сравнению с контролем. Хромосомные повреждения во всех случаях были представлены одиночными и парными фрагментами.

Частота аберраций хромосом в клетках костного мозга при действии картолина-2 и оксикарбама

Вещество и доза, мг/кг	Количество животных	Метафазы с аберрациями, %	Всего аберраций	Частота аберраций на метафазу		Аберраций на 100 клеток	
				исследованную	аберрационную	одиночные фрагменты	парные фрагменты
Картолин-2							
800	7	3.14±0.66*	22	0.031	1.0	3.14	—
80	7	1.11±0.41	8	0.011	1.0	1.14	—
Оксикарбам							
1180	6	1.16±0.81**	25	0.041	1.01	4.00	0.1
118	6	3.16±0.71	19	0.031	1.0	3.16	—
11.8	6	1.33±0.46	8	0.013	1.0	1.33	—
Контроль	7	0.46±0.35	6	0.008	1.0	0.86	—

* $P < 0.05$, $P^{**} < 0.01$.

Результаты сравнения цитогенетической активности картолина-2 и образовавшегося в результате его метаболического превращения и растения оксикарбама показали, что они относятся к разным классам потенциально опасных мутагенов (картолин-2—к IV, оксикарбам—к III классу) [7].

Таким образом, картолин-2, и его метаболит оксикарбам обладают цитогенетической активностью в клетках костного мозга крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пилинская М. А. Докл. АН УССР, сер. Б, 10, 68—70, 1982.
2. Пилинская М. А., Степанова Л. С. Цитология и генетика, 18, 1, 17—20, 1984.
3. Бугенко Р. Г., Баскаков Ю. А., Оголевич И. В. и др. Докл. АН СССР, 267, 1, 253—256, 1982.
4. Бочарова М. А., Турнова Т. И., Шаповалов А. А. и др. Физиол. раст., 30, 2, 360—364, 1983.
5. Шевелуха В. С., Шанбанович Г. И., Чайка М. Т. и др. Докл. ВАСХНИЛ, 8, 14—16, 1985.
6. Бочкан Н. И. В кн. Генетика и благосостояние человека. 185—193, М., 1981.
7. Ford O., Nottam D. Exp. Cell. Res., 32, 2, 320—325, 1963.

Поступило 6.III 1990 г.

Биол. журн. Армении. № 9.(43) 1990

УДК 582.28

МИКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ШТАММОВ *A. SPERGILLUS VERSICOLOR* (WUILL) TIRABOSCHI И *A. NIDULANS* EIDAM.

Н. Л. ОСИПЯН, К. М. ГРИГОРЯН, К. И. ЭЛЛЕР*, В. А. ТУТЕЛЬЯН

Ереванский государственный университет, кафедра ботаники,
*Институт питания АМН СССР, Москва

Молочные продукты—микотоксины—стеригматоцистин—аспергиллы.

На кафедре ботаники Ереванского университета установлен видовой состав грибов, вызывающих заплесневение сливочного масла и сыра [1—3]. Подавляющее большинство идентифицированных грибов известно как продуценты ряда микотоксинов, в первую очередь афлатоксिन и стеригматоцистина. Структурная близость стеригматоцистина с афлатоксинами обуславливает сходное токсическое действие их. Как и афлатоксин, стеригматоцистин обладает выраженными мутагенными и гепатокарцерогенными свойствами [5, 7, 8]. Острая токсичность стеригматоцистина значительно менее выражена, чем у афлатоксина В₁, однако он синтезируется грибами в больших количествах [6].

В настоящей работе представлены результаты изучения способности штаммов *A. versicolor* и *A. nidulans* продуцировать стеригматоцистин на высокожирных молочных продуктах (сливочном масле, плавленом сыре), а также возможность перехода токсина из сырья в топленое масло. Исследовали также влияние продолжительности культивирования стеригматоцистинпродуцирующих штаммов и состава жидких питательных сред на синтез этого микотоксина.

Материал и методики. В работе использовали пять штаммов *A. versicolor* и три штамма *A. nidulans*, выделенных из сливочного и топленого масла.

Для искусственного заражения готовили споровую суспензию (10^6 споридий в 50 мл дистиллированной воды (из 7-дневной культуры, растущей на сусло-агаре, которую в количестве 1 мл шприцем наносили на поверхность масла или сыра). Зараженные образцы инкубировали в течение 30 дней при температуре 15—20°. Для химического анализа на наличие токенина использовали 15- и 30-дневные образцы. Повторность опытов трехкратная.

С целью сравнительной оценки питательных сред, способствующих синтезу стеригматоцистина, использовали жидкие среды Чапека, Чапека-Докса и сахарозно-дрожжевую среду. Также определяли на 20 и 30 дни инкубирования.

Хроматографический метод определения стеригматоцистина и продуктах с высоким содержанием жира разработан в Институте питания АМН СССР.

Результаты и обсуждение. Штаммы *A. versicolor* и *A. nidulans* при искусственном заражении ими сливочного масла и плавленого сыра дают умеренный рост. При росте *A. versicolor* на поверхности масла образуется желто-зеленый налет, с пигментом ярко-оранжево-красного цвета, диффузирующим в подповерхностный слой масла. Установлена прямая зависимость между степенью образования пигмента и концентрацией стеригматоцистина в масле. *A. nidulans* образует светло-бурые поверхностные и подповерхностные пятна глубиной до 2 см.

Химический анализ экстрактов молочных продуктов (8 образцов сливочного масла и 2—плавленого сыра) показал, что все исследуемые штаммы *A. versicolor* и *A. nidulans* продуцируют стеригматоцистин в количестве от 1,0 до 28,0 мг на 1 кг массы продукта (табл. 1). В образ-

Таблица 1. Синтез стеригматоцистина штаммами *A. versicolor* и *A. nidulans* при искусственном заражении сливочного масла и плавленого сыра

Субстрат	Вид и штамм гриба	Количество стеригматоцистина, мг/кг	
		сроки культивирования, дни	
		15	3
Сливочное масло	<i>A. versicolor</i> 42	1,3	5,6
Сливочное масло	<i>A. versicolor</i> 615	—	2,8
Сливочное масло	<i>A. versicolor</i> 563	0,2	1,0
Сливочное масло	<i>A. versicolor</i> 135	—	1,0
Сливочное масло	<i>A. versicolor</i> 126	1,5	2,5
Сливочное масло	<i>A. nidulans</i> 795	1,7	3,0
Сливочное масло	<i>A. nidulans</i> 165	7,0	28,0
Сливочное масло	<i>A. nidulans</i> 779	1,7	7,5
Плавленный сыр	<i>A. versicolor</i> 42	—	1,5
Плавленный сыр	<i>A. versicolor</i> 615	0,9	2,0

це масла, инокулированного штаммом *A. nidulans* 165, уровень стеригматоцистина достигал 28,0 мг/кг, в то время как на жидкой питательной среде количество его составляло 64 мкг/100 мл культуральной жидкости. По данным табл. 1, токенин не обнаружен в 15-дневных образцах сливочного масла, зараженного штаммами *A. versicolor* 615 и 135, и в плавленном сыре, зараженном штаммом *A. versicolor* 42. Макет-мальное образование микотоксина наблюдалось на 28—30 день после

чего уровень его в исследуемых продуктах заметно снижался. Сравнительный анализ синтеза токسينа в молочных продуктах и жидких питательных средах показал, что уровень его в молочных продуктах от 2 до 25 раз выше, чем при росте на средах, обычно рекомендуемых для синтеза стеригматоцистина.

Данные о влиянии продолжительности культивирования стеригматоцистинпродуцирующих штаммов и состава жидких питательных сред представлены в табл. 2, 3. Как видно из табл. 2, на жидких пита-

Таблица 2. Влияние срока культивирования на синтез стеригматоцистина штаммами *A. versicolor* на жидкой сахарозно-дрожжевой среде

Вид и штамм гриба	Количество стеригматоцистина, мкг/100 мл жидкой питательной среды с культуральной жидкостью	
	сроки культивирования, дни	
	20	30
<i>A. versicolor</i> 42	100	280
<i>A. versicolor</i> 615	—	32
<i>A. versicolor</i> 126	—	9
<i>A. versicolor</i> 135	100	205
<i>A. versicolor</i> 100	70	13,1
<i>A. versicolor</i> 728	150	29,2

Таблица 3. Влияние состава жидких питательных сред на продуцирование стеригматоцистина штаммами *A. nidulans*

Питательные среды	Номер штамма		
	количество стеригматоцистина, мкг/100 мл жидкой питательной среды		
	779	795	472
Сахарозно-дрожжевая	1400	950	670
Среда Чапека—Докса	2100	1065	2400
Среда Чапека	1000	700	850

тельных средах также наблюдалось максимальное образование токسينа на 30 день инкубирования. Причем наибольший выход стеригматоцистина зарегистрирован на среде Чапека-Докса.

Виды *A. versicolor* и *A. nidulans* неоднократно выделяли из сливочного масла, а затем, после перетопки, и из топленого. Процесс перетопки в соответствии с технологией производства осуществляется при температуре 80°. Экспериментальное исследование термостабильности диаспор указанных грибов показало, что они сохраняют жизнеспособность при температуре, не превышающей 70°, в течение 10 мин, мицелий же погибает при 42°. Использование заспоренного сырья для получения топленого масла неизбежно приводит к заражению воздуха цеха перетопки и оборудования, через которые становится возможной контаминация готовой продукции топленого масла плесеньобразующими грибами. Жизнеспособность грибов в топленом масле часто сох-

раниется также при нарушении температурного режима, предусмотренного технологическим процессом.

Стеригматоцистии являются относительно термостабильным токсином. В процессе перетопки он разрушается частично и в топленое масло переходит 20—30% от исходного количества, содержащегося в сырье.

Полученные данные свидетельствуют о возможности загрязнения топленого масла стеригматоцистином при его производстве из сырья, пораженного грибами *A. versicolor* и *A. nidulans*, и диктуют необходимость проведения систематических исследований для установления частоты и уровня загрязнения стеригматоцистином молочных продуктов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вердян Н. М. Микология и фитопатология. 15, 2, 120—125, 1981.
2. Григорян К. М., Элсер К. И., Осипян Л. Л., Максименко Л. В., Тугельян В. А. Всесоюз. конф. «Мицелиальные грибы». Пушкино, 1983.
3. Осипян Л. Л., Григорян К. М. Уч. зап. ЕГ, 159, 1, 130—132, 1985.
4. Элсер К. И., Григорян К. М., Осипян Л. Л., Тугельян В. А. Микология и фитопатология. 18, 6, 467—470, 1984.
5. Lillenoj E. B., Ciegler A. Mycol. Micopath. Appl, 35, 3, 1968.
6. Moreu C. Moisissures toxiques dans l'alimentation. — Masson et Cit., 471, Paris, 1979.
7. Nade K., Umeda M., Ueno Y. Carcinogenesis., 29, 45, 1981.
8. Purchase I. F. H., van der Watt Toxicol. Appl. Pharmacol., 26, 274, 1973.

Поступило 14.III 1989 г.

Биол. журн. Армении, № 9 (43), 1990

УДК 677.472

ОСОБЕННОСТИ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *EUGLESA NITIDA* В ОЗЕРЕ СЕВАН

Э. Х. ГУКАСЯН

Севанская гидробиологическая станция Армении,
лаборатория экспериментальной экологии, Ереван

Оз. Севан—моллюски *Euglesa nitida*—размерно-возрастная структура.

В настоящее время в условиях возрастающего антропогенного пресса экологические проблемы оз. Севан приобрели особую актуальность.

Двустворчатые моллюски (как фильтрующие организмы) активно участвуют в процессах самоочищения водоема. Несмотря на то, что они являются постоянным компонентом донных сообществ оз. Севан, их биология практически не изучена.

В работе представлены результаты изучения особенностей жизненного цикла одного из массовых видов двустворчатых моллюсков оз. Севан, роль которых значительна в формировании качества воды озера.

Материал и методика. Материалом для настоящей работы служили моллюски, собранные с помощью дночерпателя Петерсена в разных районах оз. Севан с глубин от 1 до 35 м в 1978 и 1984 гг.

Виды рода *Euglesa* определяли компараторным [3] и общепринятыми в малакологич. методам.

Примеры линейных размеров моллюсков и эмбрионов проводили под бинокляром с точностью до 0,05 мм.

Результаты и обсуждение. Представители двустворчатых моллюсков оз. Севан относятся к роду *Euglesa*. Одним из массовых видов этого рода в озере является *Euglesa nitida*. Моллюски вида *E. nitida* живородящи и характеризуются постоянным гермафродитизмом [1]. Они встречаются практически во всех районах водоема, обитают преимущественно на заиленных грунтах.

Анализ размерно-возрастной структуры популяции *E. nitida* дает возможность выявить некоторые особенности жизненного цикла этого вида.

Исследования показали, что в течение года в пределах популяции *E. nitida* появляется два поколения: весеннее и осеннее. Моллюски, родившиеся в марте (минимальный размер молоди 1,3 мм), приступают к размножению в конце лета (минимальная длина половозрелых особей 1,7 мм). Несмотря на возможную растянутость сроков перераста половозрелых моллюсков, молодь составляет единую размерно-весовую группу, отделенную от родителей размерным промежутком, превышающим индивидуальные вариации в размерах внутри каждой группы [2].

Выметывая молодь, горошинки продолжают расти и, достигнув максимального размера (для оз. Севан 3,0 мм), погибают.

Таким образом, весеннее поколение, которое появляется в конце марта, отмирает к началу осени.

В конце августа появляется новое поколение. Рост моллюсков, родившихся в это время, к началу зимы замедляется и постепенно прекращается, наступает период зимнего покоя.

Весной следующего года половозрелые моллюски, несущие в себе зародыши, продолжают расти и в конце марта, выметывая молодь, погибают.

Количество эмбрионов в конце осени в среднем сравнительно меньше (от 2 до 4 эмбрионов), чем в летний период (от 4 до 7), но зародыши имеют более крупные размеры (летом максимальный размер эмбрионов 0,5 мм, а осенью 1,0 мм). Это объясняется «правилом кумуляты», из-за неблагоприятного воздействия фактора среды остальные параметры меняются таким образом, что в целом воспроизводство популяции остается на достаточно высоком уровне [4].

Таким образом, в течение года в пределах популяции *E. nitida* наблюдается два поколения. Весеннее поколение растет быстрее осеннего. Продолжительность жизни моллюсков *E. nitida*—от 5 до 7 месяцев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алехин А. Ф. Функциональная экология пресноводных двустворчатых моллюсков. Л., 1981.
2. Голиков А. Н. ДАН СССР, 193, 3, 730—733, 1970.
3. Логвиненко Б. М., Старобогатов Я. И. Научн. докл. высш. шк. биол. науки, 3, 7—1988.
4. Хмелева Н. И. Закономерности размножения ракообразных. Минск, 1988.

Поступило 8.VIII 1990 г.

НОВЫЕ ДЛЯ АРМЕНИИ ВИДЫ ФИТОТРОФНЫХ МИКРОМИЦЕТОВ ИЗ РАЙОНОВ БАССЕЙНА ОЗЕРА СЕВАН

Р. В. ХАЧАТРЯН

Институт ботаники АН Армении, Ереван

В процессе исследования фитотрофных микромицетов бассейна озера Севан маршрутным методом и при просмотре гербария Института ботаники АН Армении обнаружено 20 видов микромицетов, новых для Армении, относящихся к 14 родам, 6 порядкам. Один вид—*Septoria arundinaceae* Sacc. является новым для Кавказа.

Принодим список обнаруженных новинок:

Подотдел Ascomycotina

Порядок Dothideales

1. *Leptospheria scirpina* Wint.— на *Scirpus tabernaemontani* Gmel.
2. *Ophiobolus dracocephali-altajensis* Mur.— на *Dracocephalum* sp.
3. *Pyrenophora hispidula* Sacc.— на *Carex bordzilowskii* V. Kresz

Порядок Helotiales

4. *Pyrenopeziza radians* (Rob.) Rehm.— на *Campanula rapunculoides* L. совместно с *Ramularia macrospora* Fras. et Karak.

Подотдел Basidiomycotina

Класс Urediniomycetes

Порядок Uredinales

5. *Melampsora orchidi-repentis* (Plowr.)—Kleb. на *Salix alba* L.
6. *Puccinia conii* (Strauss.) Fekl.— на *Conium elodes* Bieb.
7. *Puccinia pachiploea* Syd.— на *Rumex acetosa* L.

Класс Ustilaginomycetes

Порядок Ustilaginales

8. *Sphaelotheca hydropiperis* (Schum.) de By — на *Polygonum hydropiper* L. совместно с *Puccinia polygoni-atphybii* Cruch. e Mayor.

Подотдел Deuteromycotina

Класс Hyphomycetes

Порядок Hyphales

9. *Cercospora chaerophylli* Adern. — на *Chirophyllum* sp. совместно с *Plasmopara nivea* Schr.
10. *Ramularia astragali* Em. et Halev. — *Astragalus* sp.
11. *Ramularia cardui* Karst. — на *Carduus acanthoides* L.
12. *Ramularia malvae* Fuck. — на *Althaea* sp.
13. *Ramularia tanacetii* Lindr. — на *Tanacetum balsamitoides* (Wabel) N. Chanjan.
14. *Ramularia urticae* Yes. — на *Urtica dioica* L.

Класс Coelomycetes

Порядок Sphaeropsidales

15. *Macrophoma caricis* (Kr.) Berl. et Vogl. — на *Carex* sp.
 16. *Placosphaeria trifolii* Trav. — на *Trifolium pratense* L. совместно с *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link ex S. W. Grey.
 17. *Phoma ptioderma* F. — на *Crambe orientalis* L.
 18. *Phyllosticta borszezowii* Thuem. — на *Caragana arborescens* Lam.
 19. *Phyllosticta nepeta* Lohik. — на *Nepeta pannonica* L.
 20. *Septoria arundinaceae* Sacc. — на *Phragmites australis* (Cav) Trin. ex Steud.
- У с., библиогр 17 назв.

Полный текст статьи деп. в ВИНИТИ, № 6314-B90 от 19 XII 1991 г.

Поступило 2.11.1990 г.

Биол. журн. Армении, № 9 (43), 1990

УДК 577.71.577.15

НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА АРГИНАЗЫ СЕМЯН ГОРОХА

Дж. А. ВАРДАНЯН

Ереванский государственный университет, проблемная лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии

Исследованы некоторые кинетические свойства частично очищенной аргиназы семян и проростков гороха. Показано, что из использованных специфических ингибиторов лишь лизин заметно подавляет аргиназу проростков гороха при наличии аргинина в использованных количествах, в то время как орнитин не оказывает никакого влияния, что является редким исключением. Ингибирующее действие лизина носит конкурентный характер, значение $K_i = 21,5 \cdot 10^{-3}$ М.

Таким образом, по механизму ингибирования лизином аргиназа проростков гороха не отличается от большинства аргиназ различного происхождения.

Изучали также влияние на аргиназу проростков семян гороха разветвленных аминокислот — валина, лейцина, изолейцина, а также α -аминоизомасляной кислоты (АМК) и α -аминоизомасляной кислоты (АИМК), ингибирующее влияние которых доказано в отношении аргиназы некоторых организмов. Все испытанные аминокислоты оказывают ингибирующее влияние на аргиназную активность семян гороха. Высокая степень ингибирования аргиназы обнаружена в вариантах с L-изолейцином, что особенно проявляется в семенах. АМК и АИМК также ингибируют аргиназу семян гороха, что, на наш взгляд, представляет определенный интерес, так как известно, что это в метаболическом отношении инертные аминокислоты.

Константа ингибирования всеми испытанными аминокислотами у аргиназы проростков гороха находится в пределах $14,3\text{--}18,0 \cdot 10^{-3} \text{ М}$, характер ингибирования конкурентный. У семян же гороха она находится в пределах $13,3\text{--}33,3 \cdot 10^{-3} \text{ М}$, причем характер ингибирования разветвленными аминокислотами конкурентный, а АМК и АИМК — неконкурентный.

Нами была определена константа Михаэлиса (K_m) аргиназы проростков гороха для L-аргинина, а также молекулярная масса изучаемого фермента. Значение K_m составляет $2,9 \cdot 10^{-3} \text{ М}$, а молекулярной массы — 209000.

Рес., библиогр. 6 назв.,

Полный текст статьи деп. в ВИНИТИ, № 1469—В 90 от 16.III 1990 г.

Поступило 21.IX 1989 г.

Биолог. журн. Армения, № 9 (49), 1990

УДК 635.89.2

ПИТАТЕЛЬНЫЙ РАСТВОР ДЛЯ РАСТЕНИЙ ТОМАТА НА ЗИМНИЙ ПЕРИОД

М. А. БАБАХАНИН, Н. Э. АСТВАЦАТРЯН, Э. М. КАЛАЧАН

Институт агрохимических проблем и гидропочвы АН Армения, Ереван—11

Эксперименты проводились с целью оптимизации состава питательного раствора на зимний период, позволяющей повысить урожай и его качество у растений томата, выращенных в условиях гидропоники. Изменяя состав питательного раствора в сторону увеличения содержания калия и фосфора, мы предположали повысить устойчивость растений к неблагоприятным условиям внешней среды.

Контролем служил питательный раствор, приготовленный на основе комплексного удобрения «растворим» — $1 \text{ кг/м}^3 (\text{N}_{17}\text{P}_{10}\text{K}_{100})$. В опытных вариантах изменяли содержание и соотношение элементов (I — $\text{N}_{17}\text{P}_{10}\text{K}_{100}$, II — $\text{N}_{17}\text{P}_{10}\text{K}_{150}$, III — $\text{N}_{17}\text{P}_{10}\text{K}_{170}$, IV — $\text{N}_{17}\text{P}_{10}\text{K}_{200}$), добавляя сульфат калия и ортофосфорную кислоту, в пятом варианте раствор готовили без растворимого из аммиачной селитры, сульфата калия и орто-

фосфорной кислоты $(N_{170}P_{150}K_{300})$. Концентрация рабочего раствора находилась в пределах 1,7—2,5 г/л (рН 5,8—6,2).

Полученные данные позволяют заключить, что питательный раствор, составленный из комплексного удобрения растворина, сульфата калия и ортофосфорной кислоты $(N_{170}P_{150}K_{300})$, в зимний период обеспечивает повышение урожайности растений до 16,5 кг/м² против 13,3 кг/м² в контроле и приводит к некоторому снижению поражаемости плодов вершинной гнилью.

Наименьшее содержание нитратов отмечалось при использовании растворов, содержащих 300 мг/л калия (4,0—5,2 мг/100 г свежего вещества, против 6,3 мг в контроле).

Изменение состава питательного раствора заметно влияет на поступление питательных элементов в растения.

6 с., табл. 3, библиогр. 17 назв.

Полный текст статьи деп. в ВНИИТИ, № 2122—В 90 от 20.IV 1990 г.

Поступило 16.VIII.1989 г.