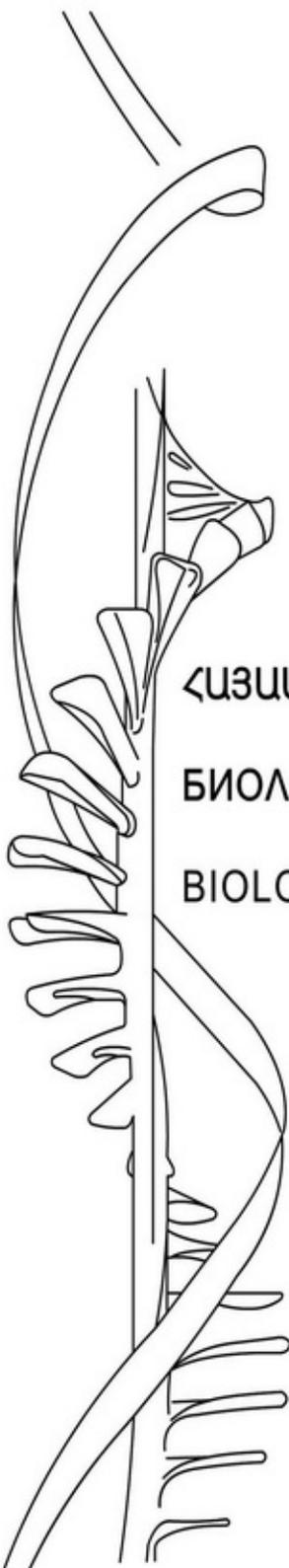




ISSN 0366-5119

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF ARMENIA



ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

Журнал издается с 1984 г., выходит 6 раз в год

на армянском и русском языках

Այստանի քենսաբանական անձես

«Հայաստանի կենսաբանական հանդիսը», սրատուգակիում է Հայաստանի Գիտությունների ակադեմիայի կողմից և արագրում է ռողվածներ րուսարածություն, կենդանարածություն, ֆիզիոլոգիայի, կենսալիմբիայի, կենսաֆիզիկայի, մանրկարանություն, զենետիկայի և ր.դ. հանուց ու կրտսական կենսարանություն այլ րնագավանների վեուրերյուլ:

«Биологический журнал Армении» — научный журнал, издаваемый Академией наук Армении, публикует оригинальные статьи по ботанике, зоологии, анатомии, биохимии, микробиологии, генетике и другим отраслям общей и прикладной биологии.

Խճրագրական կոլեգիա՝ է. Գ. ՅՖրիկյան (զլխավոր խճրագրի), Ս. Մ. Յճույան, Վ. Ն. Ավետրիսյան, Յոս. Ք. Արևրանյան, Հ. Գ. Բաղրավաղյան, Մ. Ա. Գավթյան, Փ. Ի. Հովորդյան, Ն. Ս. Հարությունյան (պատասխանատու քարտուղար), Ք. Մ. Հարությունյան, Վ. Հ. Ղաղարյան, Փ. Ա. Ղանդրիկյան, Կ. Գ. Ղարագոյզյան, Ս. Մ. Մողոսիսյան (զլխավոր խճրագրի տեղակալ):

Խճրագրական խոցեուր՝ է. Գ. ԱՖրիկյան (նախագահ), Վ. Շ. Աղարարյան, Հ. Ս. Ավետյան, է. Ս. Կարրիկյան, Ա. Ա. Գալոյան, Ա. Հ. Բախտաջյան, Պ. Ա. Խուրշուդյան, Մ. Գ. Հովհաննրիսյան, Լ. Հ. Հովսեփյան, Ա. Ա. Մաթևոսյան, Մ. Կ. Գալլոսիսյան, Պ. Ս. Կոչոսյան:

Քեդակոննայա կոլեգիա: Յ. Կ. Աֆրիկյան (գլաւնիյ Քեդակոր), Մ. Մ. Աւեդյան, Վ. Ն. Աւետրիսյան, Յ. Ի. Ակոսյան, Յ. Տ. Ալեքսանյան, Ե. Շ. Արուտյան (ոտւետսւեննիյ սեկրետար), Ք. Մ. Արուտյան, Օ. Ի. Բակուաւաճյան, Ո. Ա. Գանճիլյան, Մ. Ա. Ծաւոնի, Ո. Օ. Կազարյան, Կ. Գ. Կարաղեյան, Շ. Օ. Մոսսեյան (զաւետսւեղա գլաւնոյ Քեդակոր):

Քեդակոննիյ սուետ: Յ. Կ. Աֆրիկյան (քրեդեսատել), Ա. Շ. Աւեդյան, Վ. Ո. Աղաբաբյան, Յ. Մ. Գաբրիելյան, Ա. Ա. Գալոյան, Ա. Ա. Մաթևոսյան, Մ. Ի. Օղանեսյան, Ո. Ա. Օսիպյան, Կ. Շ. Սոսոյան, Ա. Լ. Տախաճյան, Ո. Ա. Մուրշուդյան, Մ. Մ. Կալախյան:

Օտւետսւեննիյ ճա Ո. Մ. Աւեդյան

Շաւոն ւո նաբո 12.12.91 ր. Սոճիսանո ւո ճեատն 406.92 ր.

Ուոլ. լիստ. 5.0. Մոլ. լիստ. 7.0

Մոլ. լիստ. 5.85. Տիրաճ 450. Յաւալ 317. Ուոճալ 796 Ո. Իր 75 ր.

Աճրես Քեդակոննի: 375019, Երւսան, քր. Մարշալա Բաղրամյան, 24 ր, կոմն. 11, տել. 58-01-97

Իզճատելսւո Գադակոննիյ սուետ Գրեմենի, Երւսան,
քր. Մարշալա Բաղրամյան, 24 ր.

Տիպոգրաֆիյա Իզճատելսւո Գրեմենի, Երւսան-19,
քր. Մարշալա Բաղրամյան, 24 ր.

Հայրապետյան Վ. Խ., Խուլյանյան Մ. Ա., Եխունցի ներքինների նախարհության հասանք ներքի կախվածությունը թաղանթային ֆինանսական մոնիթորինգից և ապահովագրող իմպուլսի մեծությունից թաղանթի միջոցի չորի արտահանքի ներկայացման և բա- ցակցությունների պայմաններում	3
Կյուլյանյան Ա. Վ., Էրիտրոցիտների կալիումային և ՇՁ ⁺ -կալիում կալիումային նազոդակախվածությունը ինգուլյում ակտրոպոլիտի ազդեցով	6
Խոսեյան Ա. Ա., Վանյան Պ. Ա. Առաջերը պայմաններում աճեցված ցածրագույն H—K- փոխանակությունը Քրոմեոս սեռի բակտերիաների մոտ	11
Մանրազյան Շ. Կ., Համբարձումյան Ն. Ս., Ղազարյան Ի. Ս., Հովհաննիսյան Ա. Կ., Շահրազդյան Ա. Կ., Հակոբյան Ժ. Ի. Ռատտի օպրիումային վիրուսի վերջնային եր- կար կրկնության սմանդակային ցույց ունի Նորմանի գեն պարունակող տրանս- գենային մկների ստացումը	15
Ղուկասյան Գ. Բ., Դոնչուկ Ս. Ա., Չախաչյան Ա. Խ., Փանոսյան Ի. Շ., Էլտրոպլաստների էլեկտրակինեթիկական պոտենցիալի լուսածին փոփոխությունների հետազոտու- թյան	19
Հաբուրյանյան Թ. Մ., Սարգսյան Ց. Յ., Մեծյանյան Ա. Ս., Փաշինյան Ս. Ս., Հակակիսա- սոցեն աղեղությունը պարբերական հիպոնոթյունային հիպոնոթյունային մոտ. 1. Կրտս- տողների և հակահաստացիների աղեղություն համեմատական ուսումնասիրումը	24
Մեծյանյան Ա. Ս., Ասրուբյան Տ. Յ., Հաբուրյանյան Թ. Մ., Փանոսյան Ա. Կ., Գրիգոր- յան Ս. Վ., Հակակիսասոցեն աղեղությունը պարբերական հիպոնոթյունային հի- պոնոթյունային մոտ. 2. Արտիդոնային թթվի մետաբոլիզմի մեխանիզմների հետա- զոտությունը	28
Լալայան Կ. Վ., Մեզապետյան Ս. Յ., Հաբուրյանյան Ն. Մ., Խոբրիկյան Է. Ս. Կապրո- ֆերի և ընդհանրապես միջրարտադրող ազդեցությունների համեմատական վեր- լուծությունը	32
Տանոյան Ս. Ա., Մաղաբեկյան Թ. Ա., Ավագյան Ց. Մ., Ավաղյան Գ. Մ., Առաքելյան Վ. Ս., Ջանվոլտյան Ն. Լ., Արմենյան Ն. Վ., Սուխոմյան Լ. Գ., էլեկտրական դաշտի ազդեցությունը E. Coli K—12 բջիջների կենսակազմության վրա	35
Համբարձումյան Տ. Գ., Աղաբյան Ս. Յ., Պետրոսյան Լ. Ս., Արմենյան Ա. Լ. Կիստո- մային թաղանթի թափանցելիության որոշումը ներփոխված ֆերմենտների օգնու- թյունով	36
Տանոյան Ս. Ա., Մաղաբեկյան Թ. Ա., Ավագյան Գ. Մ., Ավաղյան Ց. Մ., Առաքելյան Վ. Ս., Ջանվոլտյան Ն. Լ., Արմենյան Ն. Վ., Սուխոմյան Լ. Գ., էլեկտրական դաշտի իմպուլսի ազդեցությունը կաթի մանրէաբանական ցուցանիշի վրա	39
Կազարյան Ս. Ա., Բակունց Ի. Ս., Ղամբարյան Ս. Ս., Խոբրիկյան Ա. Մ., Միկելայիզի աղեղությունը նյարդաբանական մանր կալցիումի իոնների մուտքի վրա	41
Աբեճունի Գ. Գ., Քաչինյան Ս. Ա., Մանուկյան Թ. Ա., Կիսակոսյան Կ. Կ., Արկունյան Թաղանթների իոնային թափանցելիությունը առնձանների լյարդաբանական և մի- տոքոնդրիանների լիպիդների էլեկտրաստատիկ դաշտի ազդեցությունից Տևոտ	43
Ղաբուրյանյան Տ. Ա., Ղաբուրյանյան Կ. Գ., Աղաբյան Թ. Ա., Նախարարի նոկլեինատի ազդեցությունը պարադոքսի Նյուպոլիտների վրա	45
Սարգսյան Ս. Ա., Կապույան Ա. Գ., Մանուկյան Մ. Գ., Աղաբյանյան Չ. Ա., Պոլյով Յու. Գ., Երկրակառուցողական բույսերի կալցիումային կալցիումների և պոլիպրոպիլենային- ների յուրահատուկ շտամների ասոցիացիաների ստրուկտուրային կառուց- վածքը	49
Փայանջյան Վ. Ա., Խաչատրյան Ս. Ս., Մաղաբեկյան Թ. Կ., Մուտերի և իրերի կամրիումի զարմուկության մասին	55
Մաղաբեկյան Վ. Ա., Միսիստի գենետիկական համահարաբերակցությունները	61
Հաբուրյանյան Է. Ս., Փոփոխյան Ն. Ս., Շահնազարյան Մ. Խ., ԽԿ—I ջրալուծելի սու- սինը որպես պոդոստո ազոտ կարմիր ազի (M. luteo-erythrus) ձմեռող մկների ոչնչացման միջոց	66
Ղաբուրյան Մ. Խ., Աղաբյանյան Ա. Մ., Առվույտի բույսերի պոլիմորֆիզմը ըստ ինքնա- համասեղելիության աստիճանի	70

ԽՐԱՆԻՔ

СОДЕРЖАНИЕ

Արաբեյան В. Е., Сулейманян М. А. Зависимость паттернов токов нейронов улитки от уровня фиксации мембранного потенциала и величины стимулирующего импульса в присутствии и в отсутствие выходящего потока воды через мембрану	8
Գուլախանդյան Ա. Վ. Կալևեզա և Са ²⁺ -зависимая кальциевая проводимость эритроцитов, индуцируемая солими тетраэзоли	6
Դաույան Ա. Ա., Վանյան Ս. Ա. Осмотический и ионный Н ⁺ -К ⁺ обмен у морфио выращенных бактерий рода <i>Proteus</i>	11
Մախաբազյան Դ. Կ., Ամբիրժյան Ն. Շ., Կազարյան Ն. Մ., Օզանյան Ա. Կ., Մախաբազյան Ա. Կ., Առուսյան Զ. Ն. Получение трансогенных мышей содержащих ген гормона роста быка, под контролем днального концевой повтора вируса саркомы Рауса	15
Դրասյան Դ. Ե., Գուրյան Ս. Ա., Զաքարյան Վ. Ե., Սանոսյան Դ. Ա. Исследование светонепроницаемых изменений электрокинетического потенциала хлоропластов	19
Արտյունյան Բ. Մ., Տարկիսյան Դ. Փ., Մեղակյան Ա. Շ., Սահակյան Ս. Ա. Антикластогенный эффект у больных периодической болезнью. I. Сравнительное изучение действия кластогенов и антикластогенов	24
Մեղակյան Ա. Շ., Տարկիսյան Դ. Փ., Արտյունյան Բ. Մ., Սանոսյան Դ. Ա., Գրիգորյան Ս. Վ. Антикластогенный эффект у больных периодической болезнью. 2. Исследование модификаторов метаболизма арахидононой кислоты	28
Լալայան Կ. Վ., Մնացական Ս. Դ., Արտյունյան Ն. Մ., Գաբրիելյան Յ. Ս. Сравнительный анализ бактерицидных эффектов канроферра и хлорогексидина	32
Դոնոյան Ս. Ա., Տադատյան Բ. Ա., Առաքյան Ս. Մ., Առաքյան Դ. Մ., Արաբեյան Վ. Վ., Դժանվոպոլադյան Ն. Ա., Տիմոնյան Ն. Վ., Տեղանյան Լ. Գ. Влияние электрического поля на выживаемость клеток <i>E. coli</i> K-12	35
Ամբարժյան Դ. Գ., Ադամյան Ս. Յ., Ստրոսյան Լ. Շ., Տիմոնյան Ն. Վ. Определение проницаемости липосомальной мембраны с помощью инкапсулированных ферментов	36
Դոնոյան Ս. Ա., Տադատյան Բ. Ա., Առաքյան Ս. Մ., Առաքյան Դ. Մ., Արաբեյան Վ. Վ., Դժանվոպոլադյան Ն. Ա., Տիմոնյան Ն. Վ., Տեղանյան Լ. Գ. Действие импульса электрического поля на бактерицический показатель молока	39
Ծառայան Ս. Շ., Բախիշյան Մ. Վ., Գաբրիելյան Ս. Շ., Խաչատրյան Ա. Մ. О влиянии электрического поля на выход ионов кальция в пероцитных клетках	41
Արշրունի Դ. Գ., Բաճինյան Ս. Ա., Մանուկյան Բ. Ա., Կիրակոսյան Կ. Գ. Полная проницаемость биологических мембран из липидов кластов и митохондрий печени крысы после воздействия электростатического поля	43
Կորյացյան Դ. Ա., Կարաջյան Կ. Գ., Զաքարյան Բ. Ա. Влияние нуклеината натрия на ткани парадонта	48
Տարկիսյան Ս. Ա., Գալստյան Ա. Գ., Մուրադյան Մ. Գ., Ասադջանյան Դժ. Ա., Սոբոլյու Յ. Գ. Субмикроскопическая организация ассоциации кальциевых культур бобовых растений со специфическими штаммами клубеньковых бактерий	49

<i>Паланджян В. А., Хачатрян С. Е., Миркарян Г. Г.</i> О деятельности камбия у древесно-кустарниковых растений	55
<i>Маркарян В. А.</i> Генетические корреляции у табака	61
<i>Арутюнян Э. С., Тавакалян Н. Б., Шахназарян М. Х.</i> Водорастворимый клей ВК-1 как средство для уничтожения зимующих яиц красного плодового клеща (<i>Metatetranychus nitii</i>)	66
<i>Казарян М. Х., Агаджанян А. М.</i> О полиморфизме растений люцерны по степени самонесовместимости	70
<i>Багян В. А., Грэмьян Л. А., Балаян А. М.</i> Новые высокоактивные штаммы хлебопекарных дрожжей	72
<i>Бихшимян М. Э.</i> Микрофагальные контакты	74

ХРОНИКА

<i>Трчук А. А.</i> Всесоюзное совещание «Проблемы мембранной биоэнергетики»	78
---	----

CONTENTS

<i>Hairapetian V. E., Suleymyan M. A.</i> Dependence of sodium streams of small neurons from the level of fixation of membrane potential and size of testing impulse in the presence and absence of coming out water stream through membrane	3
<i>Gyukhandarian A. V.</i> Potassium and Ca ⁺⁺ -dependent potassium conductivity of erythrocytes induced by tetrazolium salts	6
<i>Trechunian A. A., Vanian P. A.</i> Osmosensitive H ⁺ -K ⁺ exchange of anaerobe cultivated bacteria of <i>Proteus</i> genus	11
<i>Shahbazian G. K., Hambartsumian N. S., Ghazarian I. J., Hovhannntslan A. K., Shahbazian A. K., Makopian Zh. I.</i> Receiving transgen mice, containing gene of bull growth hormone under the control of long terminal repetition of Raus sarcoma virus	15
<i>Ghukasian G. B., Ghontan S. A., Zakarian A. E., Panostan G. A.</i> Investigation of light-induced changes of electric-kinetic potential of chloroplasts	19
<i>Haroutunian R. M., Sarkisian T. F., Mezhlumian A. S., Pashinian S. A.</i> Antielastogenic effect in patients with periodic illness. 1. Comparative study of elastogen and antielastogen influence	24
<i>Mezhlumian A. S., Sarkisian T. F., Haroutunian R. M., Panostan A. G., Gregorian S. V.</i> Antielastogenic effect in patients with periodic illness. 2. Investigation of modifiers of arachidonic acid metabolism	26
<i>Lalayan K. V., Muatsakunov S. T., Haroutunian N. M., Gabriellian E. S.</i> Comparative analysis of bactericide effects of caproter and chlorhexidin	32
<i>Tonoyan S. A., Saghatelian R. A., Avakian Ts. M., Avakian G. M., Arakelian V. B., Janpoladian N. L., Simonian N. V., Stepanian L. G.</i> The influence of electric field on surviving of cells E. Coli K-12	35
<i>Hambartsumian T. G., Adamian S. Ya., Petrosian L. S., Simontan A. L.</i> Determination of liposome membrane permeability by entrapped enzymes	36
<i>Tonoyan S. A., Saghatelian R. A., Avakian G. M., Avakian Ts. M., Arakelian V. B., Janpoladian N. L., Simonian N. V., Stepanian L. G.</i> Influence of the electric field impulse on bacteriological index of milk	39
<i>Dadullian S. S., Bakunts I. S., Ghambarov S. S., Khachjian A. M.</i> On the myeloid effect on Ca influx into nerve cells	41
<i>Artsruni G. G., Bajinian S. A., Manojkian R. A., Kirakosian K. G.</i> In permeability of bilayer membranes from lipids of cells and mitochondria of rat liver after the influence of electrostatic field	43
<i>Gharagyoztian T. A., Gharagyoztian K. G., Zakharian R. A.</i> The influence of sodium nucleinat on parodont tissue	45

<i>Sarkislan S. A., Galstian A. G., Shamstian M. G., Aghajanian J. A., Popov Yu. G.</i> Submicroscopic organization of the association of leguminous plant callus cultures with the specific strains of module bacteria	49
<i>Palanjian V. A., Khachatryan S. E., Margarian G. G.</i> On the activity of cambium of the tress and [shrubs]	55
<i>Margarian V. A.</i> Genetic correlations of tobacco	61
<i>Haroutunian E. S., Tavakallan N. B., Shahnazarian M. Kh.</i> Water-soluble BK-1 glue as a means for the destruction of the hibernating eggs of the red garden tick (<i>Metatetranychus ulmi</i>)	66
<i>Ghazarian M. Kh., Aghajanian A. M.</i> On polymorphism of lucerne's plants for the degree of self-incompatibility	70
<i>Baghtyan V. A., Yersinkian L. H., Balayan A. M.</i> New highly active strains of bakery yeast]	72
<i>Bakhshintan M. Z.</i> Macrophag contacts	74

CHRONICLE

<i>Tschunian A. A.</i> All-Union conference "Problems of membrane bioenergetics" .	78
--	----

Биолог. журн. Армении, № 1. (45) 1992

УДК 577.352.5:577.354

ЗАВИСИМОСТЬ НАТРИЕВЫХ ТОКОВ НЕЙРОНОВ УЛИТКИ ОТ УРОВНЯ ФИКСАЦИИ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА И ВЕЛИЧИНЫ Тестирующего ИМПУЛЬСА В ПРИСУТСТВИИ И ОТСУТСТВИИ ВЫХОДЯЩЕГО ПОТОКА ВОДЫ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ

В. Е. АИРАПЕТЯН, М. А. СУЛЕЙМАНИ

Отдел биофизики АН Армении, Ереван

Выявлено уменьшение амплитуды натриевых токов, замедление кинетики их активации и инактивации и присутствие выходящего потока воды через мембрану и перемещение максимумов в зависимости от уровня фиксации мембранного потенциала и величины тестирующего импульса.

Հայտնաբերվել է նատրիումական հոսանքների լատենցիալ փոքրացում, նրանց ակտիվացման և անախտիվացման կինետիկայի դանդաղում և մարտիմալի տեղաշարժ:

The decrease of sodium current amplitude, delay of the kinetics of their activation and inactivation and shift of their maximum was revealed.

Поток воды — натриевые токи — мембраны улитки

Ранее при исследовании ионных токов мембраны изменение объема клетки и поток воды через мембрану в расчет не принимались, и объем клетки рассматривали как относительно постоянную величину. Однако работами Тезэки [8] было показано, что в период восходящей фазы потенциала действия происходит набухание аксона кальмара, а в период нисходящей фазы, наоборот, аксон сморщивается, т. е. происходит уменьшение его объема. Это свидетельствует о том, что во время генерации потенциала действия возникает поток воды через мембрану, который попеременно меняет свое направление в такт восходящей и нисходящей фазам потенциала действия. С этой точки зрения представляется интересным исследование влияния потока воды на ионные токи мембраны. Этот вопрос тем более актуален в отношении нейронов моллюсков, так как многие нейроны обладают регулярной электрической активностью. Недавно нами [1, 3] и другими авторами [6] было показано, что поток воды влияет на ионные

токи мембраны. В тех случаях, когда направления потока воды и ионных градиентов совпадают, ионные токи увеличиваются, а когда направлены обратно, они уменьшаются. В настоящей работе представлены результаты исследования зависимости влияния выходящего потока воды на натриевые токи анализированного нейрона от уровня фиксации мембранного потенциала и величины тестирующего импульса.

Материал и методика. Опыты проводили на периферические изолированные нейроны окологлоточного нервного кольца ганглиев наземной улитки *Helix pomatia*. Изоляцию нейронов проводили по методике Костенко и соавт. [4] с различными модификациями, сочетающими ферментативную обработку с механическими приемами дезагрегации. Для исследования ионных токов мембраны исследовали методом внутриклеточного анализа нейрона, разработанным Костяковым и соавт. [5]. Основной принцип метода заключается в следующем. Цилиндрическую клетку помещают в пору, меньшую по диаметру, чем диаметр клетки, проделанную в коллагеновой микрошпательке, образующей контур внутриклеточной поры. Затем часть клеточной мембраны, затянутаю в пору, разрушают. Разрывание стенок мембраны слипаются со стенками поры, что предотвращает утечку ионов отсеками. Через отверстие в мембране можно достаточно быстро заменить среду внутри клетки. Для поддержания мембранного потенциала анализированного нейрона на желаемом уровне использовали стандартную схему фиксации [7].

При регистрации токов симметричной емкостью 1 пФ, а линейные токи утечки вычитали путем сложения ответов на деполяризующие и гиперполяризующие смещения потенциала одинаковой амплитуды и длительности с помощью анализатора сигналов Ф-37. Кривые токов выводили на графопроектор.

Использованные растворы имели следующий состав (мМ): внешний—NaCl—80, CaCl₂—7, MgCl₂—13, Трис-НС—14 (рН—7,6), глюкоза—10; внутренний—Трис-Р—120 (рН—7,4), глюкоза—10.

Результаты и обсуждение. Установлено, что при всех значениях тестирующего импульса при наличии выходящего потока воды через мембрану происходит уменьшение амплитуды натриевого тока и замедление кинетики его активации и инактивации. Что касается максимума проводимости мембраны для ионов натрия, то при наличии выходящего потока воды через мембрану он зависит от уровня фиксации мембранного потенциала, индивидуальных свойств клетки и однозначен. Хотя в большинстве случаев максимум проводимости мембраны для ионов натрия не сдвигался вдоль оси потенциала при наличии выходящего потока воды через мембрану, были случаи, когда он отклонялся влево вдоль оси потенциала. Этот сдвиг имеет место преимущественно при потенциалах фиксации более положительных, чем —80 мВ. А при более отрицательных, чем —80 мВ, уровнях фиксации максимум проводимости мембраны для натрия не изменяется.

Как было показано нами ранее [1], в уменьшении амплитуды натриевых токов и замедлении их кинетики могут участвовать несколько механизмов: изменение локальных концентраций ионов натрия у внутренних и наружных устьев натриевых каналов, непосредственно поток воды и изменение скорости движения ионов через канал. На спинальных ганглиях крысы было установлено, что выходящий поток воды оказывает влияние на воротное устройство натриевого канала [2]. Возможно, это справедливо и для натриевых каналов

нейронов улитки, потому что и здесь происходит замедление кинетики токов.

Была исследована также зависимость натриевых токов от уровня фиксации мембранного потенциала без потока воды. Натриевые токи получены при поддерживаемых потенциалах, равных -60 , -70 , -80 , -110 мВ, тогда как тестирующие импульсы оставались на постоянном уровне, равном 0 мВ.

Амплитуды натриевых токов почти не изменялись, но наблюдалось смещение максимумов вправо при изменении поддерживаемого потенциала от -60 до -110 мВ. При обратном изменении поддерживаемого потенциала от -110 до -60 мВ наблюдалось обратное смещение максимумов влево.

Предполагается, что смещение максимумов натриевых токов при увеличении поддерживаемого потенциала от -60 до -110 мВ вправо, а при возвращении этого показателя на прежние уровни — влево обусловлено увеличением задержки в первом случае и уменьшением ее — во втором. Кинетика активации и инактивации натриевых токов почти не изменилась. Сравнительное постоянство амплитуды натриевых токов при изменении поддерживаемого потенциала в указанном диапазоне показывает, что фиксация мембранного потенциала на уровне -60 мВ уже достаточна для снятия инактивации натриевых каналов и их перевода в активное состояние с помощью деполяризационных стимулов достаточной величины и длительности.

Трудно объяснить неоднозначность поведения максимума проводимости мембраны для ионов натрия при наличии выходящего потока воды и в зависимости от потенциала фиксации. Для выяснения этого вопроса необходимы более детальные исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рычков Г. Е., Сидейкина М. А., Айристан С. И. Биологические мембраны, 7, 6, 733—739, 1989.
2. Чизмаков Н. В., Сорокина Э. А. Нейрофизиология, 18, 518—525, 1986.
3. Ayrapetyan S. N., Ryckov G. Y., Suleymanian M. A. *Comp. Biochem. Physiol.*, 89A, 2, 179—186, 1988.
4. Kostenko M. A., Geletiyuk V. I., Vepriutsev B. N. *Comp. Biochem. Physiol.*, 49A, 89—100, 1974.
5. Kostyuk P. G. *Annu. Rev. Neurosci.*, 5, 107—120, 1982.
6. Kukita F., Yamagishi Sh. *J. Membr. Biol.*, 75, 33—41, 1983.
7. Moore J. W. *Proc. IREE*, 47, 1899, 1959.
8. Tasaki I., Iwasa K. *Jpn. J. Physiol.*, 32, 69—81, 1982.

Получено 3 XII 1990 г.

КАЛИЕВАЯ И Ca^{2+} -ЗАВИСИМАЯ КАЛИЕВАЯ ПРОВОДИМОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ, ИНДУЦИРУЕМАЯ СОЛЯМИ ТЕТРАЗОЛИЯ

А. В. ГЮЛЬХАНДАНЯН

НИИ хирургии МЗ Армении, Ереван

Обнаружено, что соли тетразолия индуцируют калиевую и Ca^{2+} -зависимую калиевую проводимость эритроцитов человека, увеличивающуюся в присутствии протонофора СССР или ингибитора переноса электронов антимицина. Исследовано влияние ингибиторов энергетических процессов на Ca^{2+} -зависимый выход K^+ .

Գտնվել է, որ տետրազոլիումի աղերը անալոգիկում են մարդկանց էրիտրոցիտների կալիումային և Ca^{2+} կախյալ կալիումային հաղորդականության, որը ուժեղանում է պրոտոնոֆոր СССР-ի կամ էլեկտրոնների փոխանցման ինհիբիտորի անտիմիցինի ներկայությամբ: Ուսումնասիրվել է ներդրումիկ պրոցեսների ինհիբիտորների ազդեցությունը Ca^{2+} կախյալ K^+ ելքի վրա:

The induction of potassium and Ca^{2+} -dependent potassium conductivity of human erythrocytes increasing in the presence of protonophore СССР and electron transport inhibitor antimycin was revealed. The action of inhibitor of energetic processes on Ca^{2+} -dependent K^+ efflux were investigated.

Эритроциты—соли тетразолия—кальция и Ca^{2+} -зависимая калиевая проводимость—мембранный потенциал.

Существует обширная литература, посвященная влиянию различных соединений типа валиномицина, моменсина, чинеридина, грамицидина, эникатина А на калиевую проводимость эритроцитов [6]. Интересным является недавно обнаруженный факт резкого возрастания калиевой проницаемости эритроцитов при совместном использовании антибиотика полимиксина В и некоторых диниоцеллолевых жирных кислот [5]. Известно также, что на мембране эритроцитов присутствует Ca^{2+} -зависимый K^+ канал, активируемый при увеличении концентрации Ca^{2+} в цитоплазме [10].

В настоящем сообщении приводятся данные об индуцировании калиевой и Ca^{2+} -зависимой калиевой проводимости эритроцитов человека солями тетразолия—соединениями, для которых характерно наличие ациклического положительно заряженного гетероциклического ядра, содержащего 1 атом углерода и 4 атома азота. У 2, 3 и 5 атомов гетерокольца внедрены заместители, фенильные и нафтильные [1]. Исследовано также влияние некоторых веществ на выход K^+ и изменение рН суспензии эритроцитов.

Сокращения: СТ—синий монотетразолевый, М-НТ-М—нитраттетразолия хлористый, СССР—карбонилцианид-*о*-хлорфенилгидразон, ФМ'—феназинметосульфат, ДЦКД— N,N' -дидицилгексикарбонимид. SJTS-4—шестамидо-4'-изотиоцианотиаб-бен-2,2'—дисульфоновая кислота

Материал и методика. Эритроциты выделяли из гепаринизированной крови доноров, хранившейся в холодильнике не более 24 часов. Чтобы получить эритроциты с требуемым внеклеточным pH — pH_{II} (установившееся значение pH раствора после нескольких минут инкубации эритроцитов), клетки 2 раза промывали в растворе, содержащем 150 мМ NaCl и 20 мМ триса, с разными pH (pH_p). Была получена следующая зависимость pH_{II} от pH_p : $pH_p 8,2 - pH_{II} 7,6 - 7,7$; $pH_p 8,0 - pH_{II} 7,35 - 7,45$; $pH_p 7,8 - pH_{II} 7,2 - 7,3$; $pH_p 7,45 - pH_{II} 7,05 - 7,15$. В некоторых экспериментах с целью замены внутриклеточных анионов Cl^- на другой проникающий анион клетки сперва дважды промывали в 150 мМ $NaNO_3$ и инкубировали при комнатной температуре до 30 мин. Затем их снова промывали, инкубировали еще раз 30 мин и вновь дважды промывали.

Концентрации K^+ и H^+ измеряли с помощью стеклянных K^+ (стекло марки NaAl 27-04)—и H^+ (фирма «Radiometer», Дания)—селективных электродов. В некоторых случаях использовали пленочный калиевый электрод (фирма «Cytura», Чехо-Словакия). Добавки в ячейку производили после 8—10 мин инкубации эритроцитов. Выход K^+ и сильное изменение pH наблюдали в течение 15 мин после последней добавки.

Мембранный потенциал эритроцитов определяли по методу, основанному на измерении в незабуференной среде в присутствии цитохлора СССР (pH_{II} и pH внутри клетки (pH_{II})) и вычислении по формуле Нернста [12]. За потенциал pH_{II} в данном случае принимали максимальное значение внеклеточного pH после внесения соли тетразолия и СССР. pH_{II} определяли, вызывая гемолиз клеток сапонином.

Степень гемолиза эритроцитов (по отношению к полному гемолизу) измеряли спектрофотометрически при 540 нм. В качестве контроля был использован супернатант эритроцитов, инкубируемых в течение 25 мин без каких-либо добавок.

Все исследования проводили при температуре 26—28°.

Использовали: синий монотетразолиевый $C_{27}H_{20}N_5O_4Cl$ («Chemapol»), М-нитротетразолий хлористый $C_{40}H_{30}N_{10}O_6Cl_2$, тетразолий фиолетовый $C_{20}H_{17}N_4Cl$, тетра-нитротетразолий хлористый $C_{10}H_{26}N_{12}O_{10}Cl_2$, п-нитротетразолий хлористый $C_{38}H_{26}N_{10}O_4Cl_2$ («Reanal»), олигомицин, ДНКД, эпитимин А, атетрин, валиномицин, SJTS («Serva»), СССР, три («Sigma»), холинхлорид («Chemapol»). Остальные реактивы советского производства.

Результаты и обсуждение. Из 5 использованных солей тетразолия с разными структурными формулами растворялись без осадка и этаноле только черные три. Из них индуцировали калиевую проводимость в значительной степени при концентрациях меньше 1 мМ только СТ и М-НТ. Ионы Ca^{2+} усиливали выход K^+ . Очевидно, Ca^{2+} входит в клетку и активирует Ca^{2+} -зависимый K^+ канал. Отметим, что при используемых концентрациях солей тетразолия гемолиз составлял 1—2%. С увеличением концентрации солей увеличивался как выход K^+ , так и процент гемолиза.

Положительно заряженный белок протаминсульфат (конечное количество в ячейке 0,012%) практически полностью подавлял выход K^+ , вызванный обеими солями.

В последующих опытах мы использовали в основном только СТ, причем в концентрациях, которые не вызывали гемолиза и сами по себе не индуцировали выход K^+ .

Известно, что инкубация эритроцитов с валиномицином, А23187 или пропранолом в присутствии СССР ведет к усилению выхода K^+ и гиперполяризации мембран [11]. Введение СССР после СТ также резко увеличивает калиевую проводимость. Ca^{2+} приводит к дополнительному увеличению скорости утечки K^+ и подщелачиванию среды.

отражающему гиперполяризацию мембраны. Скорости выхода K^+ в присутствии Ca^{2+} и без него достигают 2,0 и 0,4 ммоль/мин.л. клеток, а мембранный потенциал (ΔE) около -29 мВ, -16 мВ соответственно. Если предварительно инкубировать эритроциты с СССР, а затем добавлять СТ, то скорость выхода K^+ заметно повышается.

Калиевая проводимость и мембранный потенциал в присутствии Ca^{2+} зависят от внеклеточного рН. Например, при рН_н 7,2 скорость выхода K^+ и ΔE составляют 0,83 ммоль/мин.л. и $-26,4$ мВ, а при рН_н 7,78 — 5,3 и -419 соответственно. Общий выход K^+ увеличивается в основном за счет Ca^{2+} -зависимой утечки K^+ , которая определялась как разность между вытоками K^+ в присутствии Ca^{2+} и без него.

Влияние ингибиторов на выход K^+

Исследуемые соединения	Концентрация, мкМ	выход K^+			
		СТ + СССР		Антиминин + СТ	
		общий	Ca^{2+} -зависимый	общий	Ca^{2+} -зависимый
Олигомицин	13,6	57,5 ± 5	100	47 ± 10	72 ± 16
ДЦКД	66	72,5 ± 5	100	8 ± 6,5	19,5 ± 10
Антиминин	18	35,5 ± 7,5	74,5 ± 0,5		
Атебрин	250	66,5 ± 0,5	100	7 ± 2,5	100

При добавлении СТ после СССР малыми порциями (по 20—30 мкМ) выход K^+ незначителен, даже если после нескольких малых порций внести 0,2 мМ СТ. При этом суммарная концентрация его может достигать 0,5 мМ. Гиперполяризация эритроцитов также не наблюдается. Очевидно, для индуцирования калиевой проводимости необходима мгновенная примембранная концентрация соли тетраэолия.

Наблюдается увеличение калиевой проводимости эритроцитов СТ в присутствии антиминина. Ca^{2+} и в этом случае увеличивает скорость выхода K^+ (более чем в два раза) и выхода H^+ . При уменьшении рН_н, как и в опытах с СССР, Ca^{2+} -зависимый выход K^+ понижается. Интересно, что антиминин, добавленный после СТ, или не влияет на утечку K^+ , или ингибирует проводимость, индуцируемую СТ и СССР.

В работе Савчеса и др. [14] были представлены данные, согласно которым ингибиторы переноса электронов антиминин, Н⁺-АТФ-азы олигомицин, НАДН-дегидрогеназы плазматических мембран атебрин уменьшают Ca^{2+} -зависимый выход K^+ , индуцируемый проприололом, электрондонорной системой аскорбат + ФМС или ионофором А23187 (в последнем случае атебрин не ингибировал, а даже слегка увеличивал утечку K^+). Мы обнаружили, что в указанных условиях оказывает аналогичное влияние другой ингибитор Н⁺-АТФазы — ДЦКД [2,3]. Увеличение рН, сопровождавшее выход K^+ в случае с проприололом или А23187, при этом полностью или частично подавляется.

* Показан процент ингибирования общего и Ca^{2+} -зависимого выхода K^+ по сравнению с контролем (без ингибиторов). Ингибиторы добавляли перед внесением СТ и СССР или антиминина и СТ, только в случае с антиминином последовательность была СТ, антиминин, СССР. Даны средние результаты 3—5 измерений.

Нами были проведены эксперименты по изучению влияния ингибиторов на выход K^+ и изменение рН, вызванное СТ в присутствии СССР или антимицина. Поскольку вклад Ca^{2+} -зависимого выхода K^+ в общую утечку K^+ зависит от внеклеточного рН, опыты были определены при рН 7,2—7,3.

Ингибиторы, указанные в таблице, подавляют в той или иной степени как выход K^+ , так и гиперполяризацию мембран. Исключение составляет только ДЦКД, который незначительно влияет на калиевую проводимость, индуцируемую антимицином и СТ.

Известно, что на мембране эритроцитов присутствует отрицательный заряд из-за наличия на ее поверхности ионизированных карбоксильных групп. Соли тетразолия вследствие своей гидрофобности, а также благодаря положительно заряженному гетерокольцу должны хорошо связываться с мембраной эритроцитов. К такому выводу приводит также резкое уменьшение калиевой проводимости клеток в присутствии положительно заряженного белка прогаминсульфата, фиксирующего отрицательные заряды на мембране. Можно предположить, что на мембране происходит образование комплекса солей тетразолия с ионами K^+ или Ca^{2+} , что приводит к увеличению пассивной проницаемости эритроцитов к этим катионам. Такое предположение вполне оправдано, поскольку восстановленные формы солей могут связываться с металлами [1], в том числе с таким щелочным катионом, как литий [4]. Альтернативное объяснение состоит в модификации мембран эритроцитов при внедрении солей, что также может служить причиной возрастания катионной проницаемости. При этом одно предположение не исключает другое.

Добавление СССР приводит к резкому усилению выхода K^+ вследствие K^+/H^+ обмена. Вхождение Ca^{2+} внутрь активирует Ca^{2+} -зависимый K^+ канал и способствует дополнительному выходу K^+ и гиперполяризации мембран.

Весьма парадоксален эффект антимицина на увеличение калиевой проводимости, тем более что сам антимицин ингибирует выход K^+ , индуцируемый СТ и СССР.

Ранее нами было выявлено, что антимицин, подавляя на 50% индуцируемый валиномицином выход K^+ , в то же время существенно увеличивает вход H^+ (выход OH^-) [2]. Основным внутриклеточным анионом в эритроцитах являются ионы Cl^- , концентрация которых равна 78 мМ [7]. Поскольку, как показали наши опыты, в среде, содержащей 150 мМ NaCl, стехиометрия индуцируемого валиномицином ($0,6 \text{ мкМ}$) K^+/H^+ обмена находилась в интервале 2,5—4, то оставшаяся часть K^+ выходила, очевидно, за счет симпорта с Cl^- . Ингибитор транспорта анионов SJTS (50 мкМ) почти на 60% подавлял выход K^+ . Нами были проделаны специальные эксперименты по замене внутриклеточного Cl^- на NO_3^- . В этом случае при добавлении валиномицина к эритроцитам, инкубируемым в 150 мМ $NaNO_3$, K^+/H^+ обмен усиливался и стехиометрия обмена достигала 1—1,5. SJTS практически не влиял на калиевую проводимость. Очевидно, при валиномицин-индуцированном выходе K^+ Cl^- более предпочти-

телен как сопутствующий анион, чем NO_3^- . В случае же отсутствия Cl^- активируется K^+/H^+ антипорт (K^+/OH^- симпорт). Возможно, антимицин ингибирует вызванную валиномицином потерю K^+ путем уменьшения выхода сопутствующих анионов, в частности Cl^- . При этом выход остальной части K^+ компенсируется за счет усиления протонной.

В случае с тетразолием также можно предположить, что антимицин усиливает калиевую проводимость вследствие индуцирования протонной. Возможны, однако, и другие побочные эффекты антимицина. Добавленный же после СТ антимицин, очевидно, теряет способность влиять на ионный транспорт.

Используемые нами ингибиторы действуют на оксиредуктазные процессы. В мембранах же эритроцитов обнаружены НАДН-дегидрогеназная, НАДН:цитохром с-редуктазная активности и цитохром b_L [8, 15]. В литературе существуют противоречивые мнения относительно связи Ca^{2+} -зависимого K^+ канала с активностью редокс-компонент. В одной из работ отмечалось отсутствие корреляции между каналом и НАДН-дегидрогеназной активностью в эритроцитах разных видов млекопитающих [13]. По мнению других исследователей, хотя и K^+ канал, и мембраносвязанная оксиредуктаза являются разными белками, активность редокс-компонент может влиять на канал [9].

При индуцировании Ca^{2+} -зависимого K^+ канала солью тетразолия совместно с СССР или антимицином можно только утверждать, что ингибиторы энергетических процессов действуют на канал, однако вопрос о том, опосредовано это оксиредуктазной системой или нет, нуждается в дальнейшем изучении.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Берстон М. Гистохимия ферментов. Пер. с англ. М., 1965.
2. Гюльханджян А. В. Биолог. журн. Армении, 42, 25—31, 1989.
3. Гюльханджян А. В. Биолог. журн. Армении, 43, 478—483, 1990.
4. Давидова С. П. Удивительные макроциклы. Л., 1989.
5. Корепанов Е. А., Сидоров Е. П., Шевченко Е. В., Кожомкулов Э. Т., Мельнико А. А., Владимиров Ю. В. Биол. мембраны, 2, 738—746, 1985.
6. Овчинников Ю. А., Иванова В. Т., Шкряп А. М. Мембрано-активные комплексы. М., 1974.
7. Benedetti A., Corpein M. Bioelectrochem. and Bioenerg., 18, 1—3, 187—203, 1987.
8. Bereznev R. D., Frank L. D. Biochim. et biophys. acta, 203, 5, 513—543, 1970.
9. Biobel G., Franke V. Science, 154, 6—79, 1965.
10. Gliese G., Franke W. Anat. Biochem., 100, 2, 282—288, 1972.
11. Lowry O., Rosentrough N., Farr A. G. Biochem. and biophys. Res. Comm., 112, 3, 919—924, 1987. Biol. Chem., 193, 1, 265—271, 1951.
12. Nakano M., Sugitoka K., Natto I. Biochem. and biophys. Res. Comm., 112, 3, 919—924, 1987.
13. Sugitoka K., Shimosegawa Y., Nakano M. FEBS Letters, 210, 1, 37—39, 1987.
14. Vaca C., Wilhelm J. Biochimica et biophysica Acta, 954, 3, 375—387, 1988.
15. Vaca C., Harms-Ringdahl M. Biochimica et biophysica Acta, Lipid and Lipid Metab., 100, 1, 35—43, 1989.

Получено 23.III 1991 г.

ОСМОТУВСТВИТЕЛЬНЫЙ H⁺-K⁺-ОБМЕН АНАЭРОБНО
ВЫРАЩЕННЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *PROTEUS*

А. А. ТРЧНЯН, И. А. ВАНЯН

Ереванский университет, кафедра биофизики и лаборатория
биофизики субклеточных структур

Показано, что анаэробно выращенные *P. mirabilis* и *P. vulgaris* в щелочной среде глицеролом обменивают H⁺ клетки на K⁺ среды в две, разделенные во времени фазы. Кинетические параметры для поглощения K⁺ в первую фазу близки к таковым для Trk системы *E. coli*. Сделан вывод, что *P. mirabilis* и *P. vulgaris* обладают H⁺-АТФазным комплексом (F₀F₁) и Trk-подобной системой поглощения K⁺, при работе которых происходит осмотуовствительный обмен 2H⁺ клеток на K⁺ среды. Предполагается, что осморегуляция поглощения K⁺ через Trk-подобную систему у этих бактерий осуществляется при участии периплазматических белков и зависит от активности H⁺ в среде.

Ուսուցված է արվում, որ անաէրոբ աճածներում աճեցած *P. mirabilis* և *P. vulgaris* բակտերիաները ցիտոպլազմային միջավայրում, գլիցերոլով ապահովված, բջի H⁺-ը փոխանակում են միջավայրի K⁺-ով երկու մասնակիցում սկսված փուլերով:

Նշումներում է, որ *P. mirabilis* և *P. vulgaris* բակտերիաները սենյակ H⁺-նեՖ-պային կոմպլեքս (F₀F₁) և K⁺-ի կլանման Trk-եման նմանությամբ, որոնք ապահովում են բնորոշում ազդի է սենյակում բջի 2H⁺-ի միջավայրի K⁺-ով ամազգայուն փոխանակումը: Աճումում է, որ այդ բակտերիաների մասին Trk-համակարգի միջոցով K⁺-ի կլանման ամսի-ըզգայունը ազդի է սենյակում պերիպլազմատիկ սպրոպեոպիների մասնակցությամբ և կախված է միջավայրի H⁺-ի ակտիվությունից:

It has been shown that anaerobically grown *P. mirabilis* and *P. vulgaris* in alkaline medium with glucose exchange H⁺ from the cells for K⁺ of the medium in two different steps.

It has been concluded that *P. mirabilis* and *P. vulgaris* have the H⁺-ATPase complex and Trk-like system of K⁺ uptake and the osmosensitive exchange of 2H⁺ from the cells for K⁺ of the medium takes place under operation of these systems. It has been assumed that osmoregulation of K⁺ uptake via the Trk-like system in these bacteria is carried out by periplasmic proteins and dependent on H⁺ activity in the medium.

Ключевые р. *Proteus*—осмотуовствительный H⁺-K⁺ обмен

Предпринятое нами исследование H⁺-K⁺ обмена у различных видов грамотрицательных факультативно-анаэробных бактерий рода *Proteus* представляет интерес, по крайней мере, по трем причинам. Во-первых, почти не исследован транспорт K⁺ в других бактериях,

Сокращения: ДНК—дезоксирибонуклеиновая кислота, ЭДТА—этилендиаминтетрауксусная кислота, ТФФ—тетрафенил фосфоний, КХФГ—карбонилсорфенилгидратин.

как подчеркивает Эпстайн с соавт. [15], вполне вероятно, что системы транспорта K^+ в других *Enterobacteriaceae* подобны таковым у *E. coli*. Далее, поглощение K^+ через конститутивную Tgk-систему у анаэробно выращенных *E. coli* осуществляется в обмен на $2H^+$, выводимых из клеток посредством F_1F_0 [7—9], и обе транспортные системы, как мы обосновываем [4, 12], объединяются друг с другом в единый суперкомплекс, функционирующий как H^+ — K^+ -насос. Такое предположение подтверждается на *S. typhimurium* [14], молочнокислых бактериях [13] и, возможно, отражает общую закономерность, заключающуюся в объединении транспортных белков в суперкомплексы у анаэробно выращенных и анаэробных бактерий. Наконец, поглощение K^+ через Tgk-систему у *E. coli* регулируется тургорным давлением [6], понижение которого приводит либо к перестройке самой системы и увеличению ее активности [6, 10, 15], либо к освобождению системы от периплазматических белков, зажимающих ее при повышении тургорного давления [3]. Возможно, что второй путь регуляции поглощения K^+ с помощью периплазматических белков характерен для грамотрицательных бактерий.

Материал и методики В работе использовали *P. mirabilis* и *P. vulgaris*, представленные проф. [М. Е. Коцнином] (НИИ эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии им. А. Александрова, г. Ереван).

P. mirabilis и *P. vulgaris* хранили на космках рыбоястного агара под слоем вазелинового масла и ежемесячно высевали на твердые питательные среды в чашки Петри. Бактерии выращивали в питательной среде с глюкозой [5] при соотношении объемов среды к объему колбы 1:1,25 в течение 18—22 ч при 37° без встряхивания. Отмывали центрифугированием и переносили в экспериментальный раствор, представляющий собой фосфатно-трисовый буфер, содержащий 0,4 мМ сульфата магния, 1 мМ хлорида натрия и хлорид калия. В качестве отмывочных растворов использовали дистиллированную воду или растворы мальтозы и маннозы различной концентрации, которые не утилизировались бактериями [2]. Осмотичность растворов определяли расчетами. Титр бактерий определяли подсчетом колоний после высева на твердые среды. Сухой вес бактерий определяли взвешиванием отмытого осадка суспензии после высушивания при 105° до постоянного веса. Площадь поверхности и внутриклеточный объем бактерий рассчитывали по средним размерам [2].

Транспорт катионов изучали по измерению их активности в среде, определяемому потенциометрическим методом с помощью стеклянных селективных электродов [5]. Кинетические параметры транспорта—константу Михаэлиса (K_m) и максимальную скорость переноса (V_{max})—определяли по методу Лайнуивера-Бэрка. Стехиометрию ДНК-чувствительных потоков катионов оценивали в параллельном эксперименте при наличии ДНК и без него или же по разнице потоков до и после перегибов на кривых транспорта [3, 7].

Величину $\Delta\psi$ рассчитывали по распределению ГФФ между клеткой и средой, определяемому потенциометрическим методом с помощью селективного электрода [1]. При определении $\Delta\psi$ бактерии предварительно обрабатывали с помощью ЭДТА в концентрации 10 мМ, учитывали также адсорбцию ГФФ- на бактериях после их кипячения в течение 5 мин.

Каждая кинетическая кривая представляет собой, по крайней мере, одну из трех подобных кривых данной серии экспериментов (не приводится). Результаты обрабатывали статистически с определением стандартной ошибки.

Результаты и обсуждение. Бактерии *P. mirabilis* при перенесении в среду с глюкозой, умеренной активностью K^+ и значениях pH выше 7,5 секретируют H^+ и поглощают K^+ в две, разделенные во времени фазы. Секретция H^+ из бактерий в первые минуты значительно выше, чем в последующий период, и на кривой наблюдается перегиб. Поглощение же K^+ в течение 5—8 мин сменяется существенным выходом этих катионов из клеток, и затем после 30 мин начинается второе поглощение K^+ со значительно меньшей скоростью, чем в первую фазу, и гораздо более длительное. При значениях pH среды ниже 7,5 выход K^+ между фазами поглощения не наблюдается, и быстрое поглощение этих катионов в первой фазе сменяется медленным во второй фазе. Поглощение K^+ в первую фазу имеет K_m и V_{max} в 3,5 мМ и 0,91, мМг.мин соответственно (табл. 1), характерные для Tpk-системы поглощения K^+ у *E. coli* [7, 9, 10] и *S. typhimurium* [14] и свидетельствующие о том, что поглощение K^+ в первую фазу у *P. mirabilis* осуществляется, возможно, через Tpk-подобную систему.

H^+ — K^+ -обмен чувствителен к осмотическому давлению среды. Перенос бактерий из среды с высокой осмотичностью (раствор мальтозы, 1200 мосМ) в среду с низкой (экспериментальный раствор, 570 мосМ) приводит к уменьшению скорости секретии H^+ и резкому подавлению поглощения K^+ . Меньшие перепады осмотичности, приводящие к подобным эффектам у *E. coli* [3, 7] и даже выходу K^+ из клеток, не приводят к таким результатам. Вторичное увеличение осмотичности (звездание мальтозы, 300 мосМ) резко усиливает секретцию H^+ из клеток и включает поглощение K^+ , при этом такие эффекты наблюдаются как в период выхода K^+ из клеток, так и при поглощении этих катионов во вторую фазу, и имеют место при щелочных значениях pH среды. Эти результаты указывают на то, что изменение осмотического давления среды, влияющее на тургорное давление, регулирует H^+ — K^+ -обмен, характерный для первой фазы, и включает т.б. обмен возможно при низкой активности H^+ в среде.

H^+ — K^+ -обмен подавляется с помощью ДЦКД, арсената и КХФГ. Ранее с использованием мутантов *E. coli* с дефектами в отдельных субъединицах F_1F_0 мы показали, что влияние ДЦКД на H^+ — K^+ -обмен у анаэробно выращенных *E. coli* связано с F_0 [8]. Полученные же результаты указывают на то, что H^+ — K^+ -обмен у *P. mirabilis*

Таблица 1. Кинетические параметры поглощения K^+ и анаэробно выращенных бактерий рода *Proteus*

Бактерия	Фаза поглощения K^+	K_m , мМ	V_{max} , мМоль/г. мин
<i>P. mirabilis</i>	первая	3.5	0.91
	вторая	13.0	0.12
<i>P. vulgaris</i>	первая	3.3	0.73

Таблица 2. Стехиометрия ДЦКД-чувствительных потоков H^+ и K^+ и первую фазу поглощения K^+ у анаэробно выращенных бактерий рода *Proteus*

Активность K^+ в среде, м.э	Время, мин	Поток и катионот, мМоль \cdot л ⁻¹ \cdot мин ⁻¹		Среднее значение	Среднее значение
		H^+	K^+		
у анаэробно выращенных ДЦКД-чувствительных					
<i>P. mirabilis</i>					
1.92	8.1	3.35 ± 0.31	0.97 ± 0.11	0.4 ± 0.06	2.0 ± 0.1
1.92	7.0	1.49 ± 0.16	0.44 ± 0.09	0.35 ± 0.05	1.9 ± 0.1
1.92	6.0	1.74 ± 0.20	0.59 ± 0.07	0.30 ± 0.01	2.0 ± 0.1
0.96	8.1	2.56 ± 0.27	0.51 ± 0.05	0.25 ± 0.04	2.1 ± 0.2
4.50	8.1	2.91 ± 0.32	1.26 ± 0.16	0.63 ± 0.10	2.0 ± 0.1
<i>P. vulgaris</i>					
0.96	8.0	2.38 ± 0.25	0.41 ± 0.04	0.22 ± 0.03	2.0 ± 0.1
1.92	8.0	2.65 ± 0.27	0.81 ± 0.09	0.40 ± 0.03	2.0 ± 0.2
4.50	8.0	2.98 ± 0.31	1.00 ± 0.12	0.56 ± 0.05	1.9 ± 0.2

осуществляется через ДЦКД-чувствительный механизм мембраны возможно, F_0F_1 и нуждается как в АТФ, так и в $\Delta\mu$]

$H^+ - K^+$ -обмен в первую фазу осуществляется с устойчивой стехиометрией ДЦКД-чувствительных потоков катионот, равной $2H^+/K^+$ (табл. 2), что обнаружено ранее у анаэробно выращенных *E. coli* [3, 7—9], *S. typhimurium* [14], анаэробных молочнокислых бактерий [13].

Бактерии *P. vulgaris* осуществляют такой же $H^+ - K^+$ -обмен, что и *P. mirabilis* (табл. 1, 2). Эти же бактерии генерируют $\Delta\mu$ величиной -116 ± 5 и -120 ± 5 мВ соответственно, падающий на 15—20 мВ при отрицательном осмотическом шоке или в присутствии ДЦКД (не показано).

Совокупность наших результатов указывает на то, что *P. mirabilis* и *P. vulgaris* осуществляют $H^+ - K^+$ -обмен в две разделенные во времени фазы, в первую фазу он чувствителен к осмотическому давлению среды, ДЦКД, характеризуется устойчивой стехиометрией и осуществляется, скорее всего, через Trk -подобную систему, возможно, F_0F_1 .

С учетом того, что у анаэробно выращенных *E. coli* F_0F_1 вступает в прямое взаимодействие с Trk -системой, образуя сульфидокомплекс, функционирующий как $H^+ - K^+$ -насос [4, 7, 12], наши результаты позволяют допустить, что у *P. mirabilis* и *P. vulgaris* также может иметь место непосредственное взаимодействие F_0F_1 с Trk -подобной системой с образованием сульфидокомплекса, функционирующего как $H^+ - K^+$ -насос, обменивающий $2H^+/K^+$.

Следует выделить то обстоятельство, что у этих бактерий $H^+ - K^+$ -обмен и $\Delta\mu$ оказались чувствительными к изменению осмотического давления среды. Мы предполагаем, что $2H^+/K^+$ -обмен регулируется посредством периплазматических белков, работающих как белки-клапаны [3], и такой путь регуляции характерен, видимо,

му, для грамотрицательных бактерий. По всей видимости, полные насосы мембраны этих бактерий должны включаться в необходимый период адаптации бактерий на короткое время, что может предотвратить потери энергии в клетках, особенно при низкоэффективных энергетических процессах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гринюс Л. Л., Дагестанчиус Р. Ю., Аликмавичюс Г. А. Биохимия. 45, 1609—1618, 1980.
2. Краткий определитель бактерий Берги. 188—189. М., 1980.
3. Трчунян А. А., Карасулян Э. Л., Ванян Н. А. Биол. журн Армении. 37, 836—843, 1984.
4. Трчунян А. А., Оганджян Е. С., Миронова Г. Д. и др. Биофизика. 36, 102—104, 1994.
5. Dargaryan S. S., Martirosou S. M. Bioelectrochem. Bioenerg., 5, 554—560, 1978.
6. Epstein W. FEMS Microbiol. Lett., 29, 73—78, 1986.
7. Martirosou S. M., Trchounian A. A. Bioelectrochem. Bioenerg., 8, 597—603, 1981.
8. Martirosou S. M., Trchounian A. A. Bioelectrochem. Bioenerg., 11, 29—36, 1983.
9. Martirosou S. M., Trchounian A. A. Bioelectrochem. Bioenerg., 15, 417—426, 1986.
10. Rhoads D. B., Winters F. B., Epstein W. J. Gen. Physiol., 67, 325—341, 1976.
11. Sueller C. H. Science, 138, 789—793, 1970.
12. Trchounian A. A., Oganjanian E. S. Stud. Biophys., 132, 231—234, 1989.
13. Trchounian A. A., Oganjanian E. S., Martirosou S. M. Bioelectrochem. Bioenerg., 17, 503—508, 1987.
14. Trchounian A. A., Ter-Nikogossian V. A., Martirosou S. M. Bioelectrochem. Bioenerg., 17, 183—192, 1987.
15. Walderhaug M. O., Doseit D. C., Epstein W. Ion Transport in Procarvates. 85—138, N.—Y.: Acad. Press, 1987.

Поступило 22.IV 1991 г.

Биол. журн. Армении. № 1.(45) 1992

УДК 577.24

ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ МЫШЦ, СОДЕРЖАЩИХ ГЕН ГОРМОНА РОСТА БЫКА, ПОД КОНТРОЛЕМ ДЛИННОГО КОНЦЕВОГО ПОВТОРА ВИРУСА САРКОМЫ РАУСА

Г. К. ШАХБАЗЯН, Н. С. АМБАРЦУМЯН, И. Д. КАЗАРЯН,
А. К. ОГАНЕСЯН, А. К. ШАХБАЗЯН, Ж. И. АКОПЯН

Институт экспериментальной биологии АН Армении, Ереван
Бурастанская экспериментальная совхоз-лаборатория, Армения

Проведен анализ F₁ трансгенных мышц на наличие в их геноме интегрированных последовательностей гена гормона роста быка под контролем длинного концевго повтора вируса саркомы Рауса. В двух случаях показано интеграция искомым последовательностей и экспрессия их на уровне транскрипции в мышечных тканях животных.

Կատարված է F₁ տրանսգենային մկների անալիզ ըստ նրանց գենոմում ինտեգրացված ցույց ածի հորմոնի գենի հաչորդականությունների առկայության: Ոստի սարկոմայի վիրուսի վերջային երկար կրկնությունն օժանդակությամբ:

Երկու դեպքում ցույց է տրված որոնելի հաչորդականությունների ինտեգրացիան և տրանսկրիպցիայի մակարդակով նրանց էքսպրեսիան կենդանիների մկնային հյուսվածքներում:

The Fo of transgenic mice containing integrated sequences of bovine growth hormone gene under the control of Rous sarcoma virus long terminal repeat sequences has been analyzed. Integration in the genomic structure and its transcription in target tissues was shown in two cases.

Трансгенные мыши—ген гормона роста быка

В последние годы интенсивное развитие получили техники микроинъекций генетического материала в зиготы и ранние эмбрионы различных животных [1, 2]. Для микроинъекций используются рекомбинантные конструкции, содержащие индивидуальные гены, которые часто помещены под контроль различных гетерологических промоторов, обеспечивающих тканеспецифичность экспрессии генов в трансгенных животных [3]. Так, первые трансгенные животные были получены в результате инъекции в зиготы мышцей гена гормона роста быка под контролем регулируемого промотора гена металлотионина [4].

Продолжается интенсивный поиск промоторов, имеющих различную силу и тканеспецифичность. Широкое применение нашли сильные промоторы, локализованные в длинных концевых повторах ретровирусов (LTR) [3, 5]. LTR вируса саркомы Рауса (RSV) содержит в своем составе сильный промотор—энхансер, обеспечивающий определенную тканеспецифичность экспрессии генов, находящихся под его контролем. Кроме того, гены, находящиеся под контролем LTR, RSV, активно экспрессируются только у взрослых животных. Это особенно существенно при экспрессии у трансгенных животных генов, кодирующих токсичные для организма белки, способные приостановить развитие организма [3].

LTR, RSV содержат в своем составе также последовательности прокариотического промотора, обеспечивающего транскрипцию прилежащих к нему последовательностей в клетках *E. coli* [6]. Предполагается, что способность LTR RSV направлять транскрипцию в эукариотических и прокариотических клетках можно использовать для предварительной тестировки активности полученных рекомбинантных молекул, подготовленных для микроинъекций, в клетках *E. coli*. С целью проверки этого предположения нами ранее была получена рекомбинантная плазмида, содержащая ген гормона роста быка под контролем LTR RSV (pI2A-GH). Было показано, что последовательности гена гормона роста быка активно транскрибируются в клетках *E. coli* [7].

В настоящей работе представлены результаты экспериментов по получению трансгенных животных, несущих последовательности плазмиды pI2A-GH, и проверки возможности транскрипции последовательностей гена гормона роста быка в различных органах и тканях трансгенных животных.

Материал и методика. Клетки *E. coli*, несущие рекомбинантные плазмиды, выращивали на LB-агаре или жидкой L-среде. Использовали плазмиду pI2A-GH [7], рестриктазы—НПО «Фермент».

Плазмидную ДНК выделили по описанному методу [8] с дальнейшей очисткой гель-фильтрацией на колонке с Сефарозой 4В в стерильных условиях. Фрагменты

плазмидной ДНК, содержащие специфические последовательности, выделены электролизом из геля [9].

Микроинъекции плазмидной ДНК проводили без ее предварительной линейризации. Микроинъекции проводили в зиготы мышей, полученные из суперовулированных самок линии ББ по описанному методу [10]. Микроинъекцированные эмбрионы после культивирования пересаживались в эмбрионы псевдобеременных реципиентных самок линии СС57/В1. Выживаемость после этого составляла около 20%.

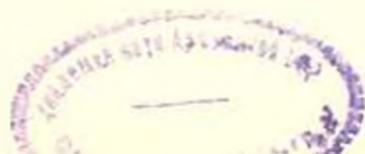
Анализ ДНК родившихся мышей проводили по методу Сазерна [11]. В качестве радиоактивно меченого зонда использовали либо ДНК плазмиды р1ZA-GH, либо ее фрагменты, содержащие различные участки гена гормона роста быка LTR RSV. Выделение тотальной ДНК и РНК из различных органов мышечной ткани проводили по ранее описанным методам [10]. Гибридизацию ДНК и РНК проводили в жестких условиях, как описано ранее [7].

Результаты и обсуждение. Ранее нами была получена конструкция, содержащая ген гормона роста быка под контролем LTR RSV. После анализа возможности транскрипции последовательностей этого гена в клетках *E. coli* указанная конструкция была микроинъекцирована в зиготы мышей. Выживаемость эмбрионов после этого составляла около 20%. Всего было получено 20 животных F₁. В одном случае был обнаружен эмбрион, погибший в утробе самки реципиента. ДНК, выделенную из печени всех животных, анализировали методом блоттинг-гибридизации на наличие в ней интегрированных последовательностей плазмиды р1ZA-GH.

В двух случаях удалось достоверно выявить наличие интегрированных последовательностей р1ZA-GH в геноме исследуемых животных. Анализ полученных блотов показывает, что интеграция последовательностей р1ZA-GH произошла в различные участки генома мыши. Анализ рестрикционных фрагментов ДНК, гибридизующихся с ДНК плазмиды р1ZA-GH у животного под номером 1, показывает, что точка соединения последовательностей LTR RSV со структурной частью гена гормона роста быка остается интактной при интеграции в геном. Так, нам удается выявить 1,5 т.п.н. PstI фрагмент, гибридизующийся с LTR-специфической пробой ДНК, и 3,9 т.п.н. EcoRI фрагмент, гибридизующийся с тотальной ДНК-пробой. Анализ структуры плазмиды р1ZA-GH позволяет предположить, что подобного размера фрагменты могут образовываться только в случае интеграции плазмиды в геном мыши за счет векторных последовательностей.

Интеграция последовательностей р1ZA-GH в геном наблюдается также при анализе ДНК, выделенной из тотальных тканей внутриутробно погибшего эмбриона. Были получены также указания на интеграцию последовательностей р1ZA-GH в геномы других животных F₁, однако они не были подвергнуты подробному анализу, так как для решения поставленной задачи было достаточно выявления одного животного, содержащего интегрированные последовательности р1ZA-GH в такой ориентации, которая допускает транскрипцию последовательностей гена гормона роста быка в трансгенном животном.

Такая ориентация, допускающая транскрипцию последовательностей гена гормона роста быка в трансгенном животном, была выявлена в случае с животным № 1.



С целью проверки возможности транскрипции последовательностей гена гормона роста быка в этом случае, а также в случае внутриутробно погибшего эмбриона мы провели дот-гибридизационный анализ РНК, выделенной из различных органов животного № 1 на наличие в ней последовательностей, гибридирующихся с геном гормона роста быка. Ген гормона роста быка активно транскрибируется в сердечной мышце, а в тканях почек уровень транскрипции сопоставим с контролем. Анализ РНК, выделенной из печени контрольных и опытного животного, показал наличие фонового уровня за счет гибридации с эндогенными последовательностями гена гормона роста у контрольных животных и полное отсутствие гибридации у животного № 1. Не исключено, что наличие последовательностей р1ZA-GH в геноме трансгенных животных изменяет спектр экспрессии эндогенного гена гормона роста в различных тканях.

Транскрипция гена гормона роста быка наблюдается также в препарате РНК, выделенном из внутриутробно погибшего эмбриона. Это позволяет предположить, что гибель эмбриона могла произойти за счет интеграции последовательностей р1ZA-GH в жизненно важный участок генома мыши. Подобного рода ситуация не редка и описана в ряде случаев [12].

Полученные данные о преимущественной транскрипции конструкции, несущей LTR RSV, в мышечной ткани (сердце) полностью совпадают с результатами подробного анализа транскрипции, направленной LTR RSV в трансгенных мышах [3]. Из них следует, что LTR RSV обеспечивает активную транскрипцию прилегающих к ним генов в тканях мезэнхимального происхождения.

Таким образом, один и те же рекомбинантные конструкции, несущие структурные гены, под контролем LTR RSV способны транскрибироваться как в клетках *E. coli* [7], так и в клетках млекопитающих. Следовательно, по крайней мере с конструкциями, несущими LTR RSV, может быть предложен вариант предварительной тестировки биологической (транскрипционной) активности рекомбинантных молекул в клетках *E. coli* до введения их в зиготы млекопитающих.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гловер (под ред.) Новое в клонировании ДНК: методы. М., 1989.
2. Маннингс Т., Фрик Э., Сэмбрук Дж. В кн.: Молекулярное клонирование. М., 1984.
3. Шахбазян Г. К., Бабини К. Ш., Амбарцумян Н. С., Аюлян, Ж. И. Биол. ж. Армении, 11, 388—393, 1988.
4. Birnboim U. C., Doly J. Nucl. acids. Res., 7, 1513—1517, 1979.
5. Guntaka R. V., Mitslakis S. A. Gene, 12, 113—121, 1980.
6. Hammer R. E., Palmiter R., Brinster R. L. Nature, 315, 680—683.
7. Jahner D., Haase K., Mulligan R., Jaenisch R. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 6927—6931, 1985.
8. Overbeek P. A., Lai S. P., Van Quill R., Westphal H. Science, 2316, 1574—1576, 1986.

9. Palmer R. D., Brinster R. L., *Cell*, 41, 343-435, 1985.
 10. Palmer R. D., Brinster R. L. *Annu. Rev. Genet.* 21, 465-499, 1985.
 11. Ross S. R., Sotter D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 5880-5884, 1985.
 12. Southern E. L. *Mol. Biol.* 9, 593, 1974.

Получено 1.11.1991

Ботаник журн. Архивна. № 1 (45), 1992

Т. 8, 227-286, 612, 1977

ИССЛЕДОВАНИЕ СВЕТОИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ХЛОРОПЛАСТОВ

Г. Б. ГУКАСЯН, С. А. ГОНИН, А. Е. ЗАКЛЯН, Г. А. ПАНОСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии

Показаны светоиндуцированные изменения электрокинетического потенциала хлоропластов высших растений. Величина электрокинетического потенциала -40 ± -60 мВ, а при значениях pH 4,3 и выше его значение переходит на положительный. Освещение вызывает значительное увеличение электрокинетического потенциала на 60-90% в отсутствие электронного акцептора электронов и на 80-140%, в присутствии $K_2Fe(CN)_6$. Ингибитор электронного транспорта антрацин подавляет светоиндуцированный рост потенциала.

Ուսումնասիրված բարձրակարգ բույսերի քլորոպլաստների էլեկտրակինետիկական պոտենցիալի լուսաինդուցիվ փոփոխությունները էլեկտրակինետիկական պոտենցիալի մեծությունը -40 ± -60 մՎ է. իսկ pH 4,3-ում և ավելի բարձր pH-ում նրա նշանը փոխվում է դրականի (ուսագործը առաջացնում է էլեկտրակինետիկական պոտենցիալի դրական մեծացում, 60-90 % էլեկտրոնների կիրառման ազդեցության ներկայությամբ և 80-140 % $K_2Fe(CN)_6$ ներկայությամբ դեպքում:

Light-induced alterations of electrokinetic potentials of high-plants' chloroplasts are shown. Illumination causes considerable increase of electrokinetic potential: 60-90% in the absence of electron acceptor of electrons and 80-140% in the presence of $K_2Fe(CN)_6$.

Хлоропласты—электронный транспорт—электрокинетический потенциал

Исследование поверхностных свойств тилакоидных мембран расширяет возможности изучения и контролирования ряда фотосинтетических процессов, которые в определенной мере обуславливают эти свойства. Ряд исследователей показали, что поверхностный заряд тилакоидов обуславлен в основном интегральными белками мембран [4, 7]. Эти данные подтверждались нами на искусственных системах. При изучении процесса слияния фосфолипидных липосом со встроенным пигмент-белковым комплексом фотосистемы I с плоской фосфолипидной мембраной было обнаружено, что этот процесс во многом обусловлен зарядом встроенного и мембрану липосом белка [1].

Целью настоящей работы явилось изучение изменений поверхностного потенциала хлоропластных мембран при смене темновых и све-

товых условий, поскольку имеющиеся в литературе данные касаются этого вопроса, весьма противоречивы [7, 9, 10].

Материал и методика. Хлоропласты выделяли из 20—30-дневных проростков гороха, выращенного в оранжевом, либо из рыночного шпината по методу [11] с некоторыми модификациями. При использовании 0,02 М трис-HCl буфера (рН 7,8) центрифугирование проводили при 1000 об/мин в течение 5 мин, а при использовании 0,05 М K_2HPO_4 -KOH (рН 6,9) образцы центрифугировали 5 мин при 800 об/мин и 15 мин при 2500 об/мин.

Для определения зависимости величины ζ -потенциала от рН среды и качества среды суспендирования хлоропластов использовали буферные растворы $\text{Na}_2\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ -HCl и KH_2PO_4 - Na_2HPO_4 . Концентрацию хлорофилла определяли по Арнону [3].

Суспензию хлоропластов освещали через водный фильтр направленным светом лампы накаливания КГМ (24 В, 50 Вт) в течение 10 мин. Источником света служил на расстоянии 20 см от объекта. Для облучения монохроматическим светом использовали He-Ne лазер 208 ($\lambda = 630$ нм, мощность 20 мВт). Во время облучения температура образцов поддерживалась на уровне 17—20°.

Микрорентрофорез проводили в плоскопараллельной камере по методу [2]. При измерении скорости движения хлоропластов делали 11 замеров на хлоропластах одного образца. Затем среднее значение скорости подставляли в формулу Эйнштейна-Смолуховского, по которой рассчитывали величину ζ -потенциала.

Результаты и обсуждение. В экспериментах использовали только хлоропласты типа «с», поскольку ранее было показано, что на таких хлоропластах светондущиванный рост величины электрокинетического потенциала обычно больше, чем на интактных [10]. Величина регистрируемого нами электрокинетического потенциала варьировала в широких пределах и зависела от условий выделения и физиологического состояния хлоропластов. Когда хлоропласты не подвергались действию света, величина ζ -потенциала составляла 16—40 мВ, что согласуется с литературными данными [7, 9, 10].

При физиологических значениях рН измеряемый нами электрокинетический потенциал был отрицательным. Исследование зависимости величины ζ -потенциала от рН среды суспендирования показало, что знак его меняется на положительный при значении рН 4,3. Согласно данным ряда авторов, это значение рН соответствует изоэлектрической точке [6, 7], которая, как известно, не зависит от природы катионов, содержащихся в среде [8]. Согласно нашим данным, изоэлектрическая точка действительно близка к рН 4,3, однако нам не удалось ее зарегистрировать, мы зафиксировали только реверсию потенциала. По-видимому, это можно объяснить возможными конформационными изменениями мембранных белков, требующими дополнительных исследований.

Исследование электрофоретических свойств хлоропластов после десятиминутного освещения выявило резкий рост величины ζ -потенциала (табл. 1, говоря о росте, знак потенциала, естественно, не учитываем). Эти данные противоречат результатам Накатани и соавт. [7], которым не удалось зарегистрировать светондущиванный изменений электрофоретической подвижности хлоропластов, и свидетельствуют о несостоятельности их теории о том, что освещение дол-

Таблица 1. Светоиндуцированные изменения ζ -потенциала хлоропластов (концентрация хлорофилла 0.1—0.2 мг/мл).

Среда	Хлоропласты — контроль (свет, контроль), мВ	Хлор. пласты — свет, 5 мВ	Хлоропласты — облучение He-Ne лазером, мВ	Свет-инд. рост, %	Хлор-контроль, %
-------	---	---------------------------	---	-------------------	------------------

0,05M KH_2PO_4 —KOH pH 6,9	—20,4	—32,5	—	59,3	—
0,02M трис-HCl pH 7,8	—18,6	—36	—50,7	93,5	172,5
0,02M трис-HCl,					
0,5M NaCl pH 7,5	—11,8	—16,5	—	3,8	—

жно вызывать изменение электрофоретической подвижности всего на 1%.

Как видно из табл. 1, наибольший рост потенциала (на 93,5%) наблюдался в случае, когда хлоропласты находились в среде, содержащей 0,02M трис-HCl (pH 7,8). Такого порядка увеличение ζ -потенциала при действии света (на 90—120%) наблюдали и Шапендонк с соавт. [10], но при условии наличия в среде 5 мМ $MgCl_2$. В среде без $MgCl_2$ этим авторам удавалось зарегистрировать светоиндуцированное изменение ζ -потенциала всего на 40—50%. В наших экспериментах, как видно из табл. 1, такой рост потенциала наблюдался в условиях наличия в среде выделения 0,5M NaCl.

Наличие в среде одно- и двухвалентных катионов (Li^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) приводит к снижению величины ζ -потенциала, что согласуется с литературными данными [4]. Очевидно, катионы экранируют отрицательные заряды на краевых, маргинальных и стромальных мембранах. Необходимо отметить, что при концентрации катионов от 1 до 5 мМ величина электрокинетического потенциала резко уменьшается. В свете этих данных трудно объяснить результаты исследований Шапендонка и соавт. [10], свидетельствующие о стимуляции светоиндуцированного роста ζ -потенциала в условиях наличия 5 мМ $MgCl_2$.

В табл. 1 приведены также данные об изменении величины ζ -потенциала при облучении хлоропластов монохроматическим светом (He-Ne лазер $\lambda = 630$ нм). Резкое увеличение ζ -потенциала (на 172,5%) свидетельствует о связи процессов, происходящих в реакционных центрах, с возникновением поверхностного потенциала и о вкладе пигмент-белковых комплексов фотосистем в формирование поверхностного потенциала фотосинтетических мембран.

Светоиндуцированные изменения электрокинетического потенциала мы исследовали также в присутствии экзогенного акцептора электронов феррицианида калия (табл. 2).

Как видно из табл. 2, феррицианид калия стимулирует светоиндуцированный рост величины ζ -потенциала. И в данном случае наибольший рост потенциала (на 143%) наблюдался в бессолевой среде. По всей вероятности, в таких хлоропластах процессы электронного транспорта и фотофосфорилирования разобщены, поэтому скорость

нирования поверхностного заряда тилакоидных мембран вносят пигмент-белковые комплексы фотосистемы I и фотосистемы II. Причина же того, что некоторым авторам не удалось зарегистрировать светоминдуцированных изменений ζ -потенциала, кроется, по-видимому, в методе выделения хлоропластов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лукаш Г. Б., Чажоровский С. К., Шукленко А. Я., Куларский Г. И., Кренделев Т. Е., Пащенко В. Э., Рубин А. Б. ДАН СССР 280, 6, 1452-1455, 1985.
2. Карамольнико С. С., Рикилянская Л. А. Электрофорез клеток и норм и патологии Минск, 1974.
3. Arnon O. I. Plant Physiol., 24, 1-15, 1949.
4. Barber J. Biochim. Biophys. Acta, 594, 293-308, 1980.
5. Barber J. Ann. Rev. Plant Physiol., 33, 241-295, 1982.
6. Mercer F. V., Hodge A. J., Hope A. B., McLean J. D., Aust I. Biol. Sci. 4, 1-18, 1965.
7. Nakatani N. Y., Barber J., Forrester J. A. Biochim. Biophys. Acta, 504, 215-225, 1978.
8. Nakatani N. Y., Barber J. Biochim. Biophys. Acta, 711, 82-91, 1980.
9. Nobel P. S., Mel H. C. Arch. Biochem. Biophys., 113, 697-702, 1966.
10. Schapendonk Ad. H. C. M., Hemrika-Wagner A. M., Theuvsent A. P. R., Wong Fong Sang H. W., Vredenberg W. J., Kraughenbog K. Biochemistry, 19, 1922-1927, 1980.
11. Winget J. D., Izawa S., Good N. E. Biochemistry, 8, 2067-2077, 1969.

Получила 6 VIII 1990 г.

АНТИКЛАСТОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ У БОЛЬНЫХ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЮ

1. Сравнительное изучение действия кластогенов и антикластогенов

Р. М. АРУТЮНЯН, Т. Ф. САРКИСЯН, А. С. МЕЖЛУМЯН, С. А. ПАШИНЯН
Ереванский государственный университет.

Антикластогены—кластогены—хромосомные aberrации—периодическая болезнь.

Для понимания механизмов антикластогенеза—защиты хромосом от кластогенного (повреждающего) действия мутагенов—в качестве информативного метода возможно использование различных функциональных состояний клеток от больных с хромосомной нестабильностью. Нам изучены эффекты действия антикластогенов в клетках больных ПБ, или семейной средиземноморской лихорадкой, чаще всего аутосомно-рецессивного заболевания, которое может иметь и доминантные формы наследования.

Материал и методика. Лимфоциты периферической крови человека культивировали по методике Хангерфорда [6]. Для каждой культуры использовали по 6 мл среды Игла, 1,5 мл сыворотки крупного рогатого скота и 100 ед/мл геницилина. Клетки стимулировали к бластотрансформации добавлением 0,02 мл фитогемагглютинаина Р (Difco Lab, USA) на 10 мл культуры. Культуры инкубировали при температуре 37°С в течение 72 ч; за 2 ч до фиксации для задержки митоза на стадии метафазы добавляли колcemид (в конечной концентрации 0,3 мкг/мл). Для определения количества СХО на 24 часу культивирования добавляли БДУ в конечной концентрации 10 мкг/мл.

В качестве кластогенов использовали:

1. ФТ (2, 2, 1, 6-пента-тетраенин)—5-карфоланоцикло-трифосфатазтриен—пентафункциональный алкилирующий агент, цитостатик (в концентрации $0,5 \times 10^{-4}$ М); 2. ДК (1,4-диоксин-2,3-бис (оксиметил) оксалин)—антибактериальное средство (в концентрации $1,5 \times 10^{-4}$ М);

В качестве антикластогенов использовали:

1. ИФ—человеческий лейкоцитарный рекомбинантный α 2 ИФ—противовирусный белок (в концентрации 37МЕ/МЛ); 2. БМ—(2-этилтиобензимидазол гидробромид)—психостимулятор и иммуностимулятор (в концентрации $0,7 \times 10^{-4}$ М); 3. ГФ или АПЭТФ-23 (5-2-(3-аминопропиламин) этилтиофосфат) эффективный тиоловый радиопротектор (в концентрации $0,7 \times 10^{-4}$ М).

Результаты и обсуждение. Культуры лимфоцитов периферической крови трех больных ПБ и трех здоровых доноров обрабатывали кла-

Сокращения: ПБ—периодическая болезнь, СХО—сестринские хроматидные обмены, БДУ—5-бромделоксиуридин, БМ—бемитил, ИФ—интерферон, ГФ—гаммафос, ДК—диоксин, ФТ—фотрин.

стогенами и антикластогенами на 48 часу от начала культивирования, за 28—30 ч до фиксации. Этот период клеточного цикла рекомендован в качестве наиболее чувствительного для изучения эффектов антикластогенов [1].

Три использованных антикластогена, как и оба мутагена, отличались друг от друга различными механизмами действия. Полученные результаты представлены в таблице. Показаны четкие различия в чувствительности хромосом больных ПБ и здоровых доноров при добавлении в культуры исследуемых соединений.

В клетках больных ПБ, обработанных БМ, уровень aberrантных метафаз равен 6.58%, что более чем в два раза превышает таковой в клетках доноров (3.10%) ($p > 0.05$). В присутствии ИФ уровень aberrантных клеток у больных повышается до 10.32%, а у доноров — до 7.00% ($p < 0.05$). ГФ способствует повышению уровня aberrантных клеток у больных до 16.56%, а у доноров — до 8.33% ($p < 0.01$).

Обработка клеток мутагеном ДК вызвала кластогенный эффект в обеих группах. Уровень aberrантных метафаз достигал 17.50% у доноров и 14.75% у больных.

Чистота хромосомных aberrаций и СХО в культурах лимфоцитов здоровых доноров и больных ПБ после обработки кластогенами и антикластогенами

Обработка	Примерно по клет. к		Aberrации на 100 клеток					Число СХО на клет.
	клето	с. д. р. ±	случайных р. рингов	зр. н. х. гет. х. х. н.	с. мет. н.	с. ринг. и с. рр.		
Культуры лимфоцитов здоровых доноров								
К	70	4.29	0.0	5.7	0.00	7.70	4.00	
БМ	260	3.10	2.21	8.7	0.00	3.95	3.75	
ИФ	160	7.00	1.00	8.01	0.01	7.00	—	
ГФ	300	8.33	2.00	6.25	0.01	8.67	2.47	
ДК	140	17.50	4.13	13.75	0.63	17.51	—	
ДК+БМ	153	3.82	1.09	2.77	0.00	3.62	6.59	
ДК+ИФ	128	4.69	3.12	1.58	0.00	—	0.5	
ДК+ГФ	237	5.07	0.44	4.65	0.00	5.49	6.78	
ФГ	250	24.05	6.00	14.50	0.50	21.00	4.61	
ФТ+БМ	201	8.78	2.91	6.85	0.01	9.28	1.66	
ФТ+ИФ	212	8.96	4.22	5.68	0.00	9.90	—	
ФТ+ГФ	120	11.67	5.00	9.17	0.00	14.17	12.23	
Культуры лимфоцитов больных ПБ								
К	270	2.66	0.74	2.59	0.00	3.33	6.25	
БМ	213	6.58	2.82	3.76	0.00	6.55	6.68	
ИФ	339	10.32	3.24	8.55	0.00	11.79	6.58	
ГФ	320	16.56	3.75	14.06	0.31	18.13	6.64	
ДК	490	14.75	4.50	13.25	0.0	18.25	11.83	
ДК+БМ	343	11.63	3.21	10.76	0.00	13.97	11.10	
ДК+ИФ	300	15.00	3.67	13.33	0.67	17.67	11.25	
ДК+ГФ	230	11.29	3.93	12.29	0.00	16.22	9.75	
ФГ	110	33.00	13.00	0.00	1.00	46.00	16.80	
ФТ+БМ	103	33.00	11.65	39.80	1.95	53.40	8.27	
ФТ+ИФ	395	17.22	11.14	14.43	0.76	26.33	17.79	
ФТ+ГФ	280	37.85	26.43	52.13	5.72	64.28	18.43	

Обозначения: К—контроль, БМ— 0.7×10^{-4} М, ИФ—37 МБ/мл, ГФ— 0.7×10^{-4} М, ДК— 13.5×10^{-4} М, ФТ— 0.5×10^{-5} М.

Защитный эффект антикластогенов был выявлен в клетках доноров, обработанных ДК, в культурах от больных ПБ он не имел места (табл.).

В клетках доноров БМ снижал уровень aberrантных метафаз, индуцированных ДК, до 3.82% ($p < 0.001$), ИФ—до 4.69% ($p < 0.001$), ГФ—до 5.07% ($p < 0.001$).

В культурах от больных уровень aberrантных метафаз в вариантах, обработанных ДК, в присутствии БМ составлял 11.63%, в присутствии ИФ—15.00% и в присутствии ГФ—14.29% ($p > 0.05$).

ФТ обладал сильным кластогенным эффектом в культурах клеток доноров и больных ПБ, вызывая в среднем 20.50% aberrантных клеток у доноров и 33.00% у больных.

В культурах клеток здоровых доноров, обработанных ФТ, защитный эффект исследованных антикластогенов был достоверен. БМ снижал уровень aberrантных метафаз до 8.78% ($p < 0.001$), ИФ—до 8.96% ($p < 0.001$), ГФ—до 11.67% ($p < 0.05$).

Однако подобная закономерность не выявлялась в культурах клеток больных ПБ. ИФ оказался единственным антикластогеном, который проявил достоверный защитный эффект при обработке клеток ФТ, он снижал уровень aberrантных метафаз с 33.00 до 17.22% ($p < 0.001$). Два других антикластогена, БМ и ГФ, не оказывали подобного влияния на клетки больных.

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о четких различиях в чувствительности хромосом к кластогенам в культурах больных ПБ и здоровых доноров. В основном исследуемые антикластогены не проявляли защитного эффекта в клеточных культурах больных ПБ.

Данные цитогенетического анализа свидетельствуют о несомненных различиях между клеточными культурами больных ПБ и здоровых доноров, что особенно четко прослеживается в условиях влияния разных факторов химического мутагенеза на хромосомы. Возможно, это связано с особенностями протекания ряда биохимических и иммунологических процессов в клетках больных ПБ. В частности, изучение метаболизма арахидоновой кислоты у больных ПБ [3, 4] позволяло предположить активную роль ее метаболитов в патогенезе этого заболевания. Уменьшение агрегационной способности тромбоцитов может вызвать дефицит тромбоксансинтетазы, фермента, ответственного за агрегацию тромбоцитов. Это позволяет объяснить положительный терапевтический эффект колхицина, который, стимулируя биосинтез тромбоксансинтетазы, одновременно ингибирует биосинтез лейкотриенов.

Таким образом, очевидно, что в этиологии ПБ задействован ряд генетических, биохимических и иммунологических [2] механизмов. Поэтому нецелесообразно выделять основной механизм, ответственный за обнаруженные различия в уровнях антикластогенеза [5]. Результаты нашего исследования лимфоцитов больных ПБ подтвердили, что для этих целей необходимо использовать более специфические кластогены и антикластогены.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Р. М. Модификации химического мутагена в клетках человека. Ереван, 1985.
2. Гамбароз С. С., Шахсваров А. В., Маркосян К. М., Нишян Г. А. Биолог. журн. Армении, 42, 2, 99—101, 1989.
3. Паносян А. Г., Григорян С. В., Давтян Д. Г., Геворкян Г. А., Габриелян Э. С. Булл. эксп. биол. и мед., 102, 561—563, 1986.
4. Паносян А. Г., Григорян С. В., Давтян Д. Г., Мхитарян Г. С., Габриелян Э. С. Сб. трудов НИИМР, Ереван, 1992.
5. Gadhari E., Arutyunyan R. M. Anticlastogens in mammalian and human cells. Basel, Heidelberg, New York, 1991.
6. Hungerford D. A. Stain Technol., 40, 333—335, 1965.

Поступило 12 XII 1991 г.

АНТИКЛАСТОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ У БОЛЬНЫХ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

2. Исследование модификаторов метаболизма арахидоновой кислоты

А. С. МЕЖЛУМЯН, Г. Ф. САРКИСЯН, Р. М. АРУТЮНЯН,
А. Г. ПАНОСЯН, С. В. ГРИГОРЯН

Ереванский государственный университет, кафедра цитологии и генетики

Антикластогены—кластогены—хромосомные аберрации—плазма крови—периодическая болезнь

В настоящее время имеется достаточное количество данных относительно участия метаболитов АК в этиологии ПБ. Метаболиты АК играют важную роль в этиологии не только ПБ, но и многих аутоиммунных заболеваний. В то же время в клеточных культурах у лиц с подобными заболеваниями ингибиторы циклооксигеназ и липоксигеназ метаболизма АК обладают антикластогенным эффектом, то есть снижают уровень цитогенетических повреждений [5]. Интересной моделью для исследования этого феномена может быть культура лимфоцитов и плазма крови больных ПБ. Ранее нами показаны четкие различия чувствительности хромосом в клетках больных ПБ и здоровых доноров [2].

В данном сообщении показано влияние метаболитов АК и ингибиторов их биосинтеза АС и БД на процессы кластогенеза и антикластогенеза при действии плазмы ПБ на культуры клеток здоровых доноров. При этом были поставлены две задачи: применение биохимической модели к антикластогенному феномену и использование разработанной ранее тест-системы количественной оценки защитного эффекта [1, 7].

Материал и методика. Материалом исследования служила цельная периферическая кровь больных ПБ и здоровых доноров. Забор крови производился из локтевой вены. Лимфоциты периферической крови культивировали по методу Хангерфорда [8].

Плазму крови трех больных ПБ добавляли в культуры лимфоцитов трех здоровых доноров. Для получения супернатанта культуры лимфоцитов больных ПБ центрифугировали при 3 000 об/мин в течение 15 мин. Полученную плазму добавляли по 0,5 мл в культуры здоровых доноров до начала культивирования.

Для анализа количества СХО на 24 часу культивирования к клеткам добавляли 5-Бромдезоксинуридин в конечной концентрации 10 мкг/мл. Препараты окрашивали по методу Перри и Вольфа [10].

Результаты и обсуждение. Согласно данным цитогенетического анализа, плазма больных ПБ обладала мутагенным эффектом в куль-

Сокращения: ПБ—периодическая болезнь, СХО—сестринские хроматидные обмены, БДУ—5-бромдезоксинуридин, АК—арахидоновая кислота, АС—аспирин, БД—бедитин, ХА—хромосомные аберрации.

турах лимфоцитов здоровых доноров, то есть в вариантах (Пб/Д) (табл.) Количество клеток с aberrациями хромосом достоверно повышалось до 11,43%. Для сравнения в качестве контроля использовалась плазма донора, добавленная в культуры лимфоцитов донора, то есть варианты (Пл/Д). Плазма здоровых доноров не обладала мутагенным эффектом, и количество клеток с aberrациями составляло в среднем 2,92%. Эти данные свидетельствуют об эффективном действии плазмы больных ПБ на хромосомы, приводящем к достоверному повышению количества ХА более чем в три раза ($p < 0,001$).

Мутагенный эффект плазмы больных ПБ на хромосомы способен снижаться при действии селективных ингибиторов метаболизма АК. Поэтому нами исследован цитогенетический эффект ингибиторов, которые добавлялись к клеточным культурам в следующих концентрациях: АС (ингибитор циклооксигеназного пути) — 10^{-5} М, БД (ингибитор β -липоксигеназного пути) — 10^{-6} М.

В культурах здоровых доноров в присутствии плазмы больных ПБ АС способствует снижению уровня aberrантных клеток до 6,67%, в вариантах без АС эти уровни равны 11,43% ($p < 0,01$). При оценке количества aberrантных метафаз в присутствии плазмы больных ПБ с АК и АС, как и в вариантах без АС, не выявлено различий: 7,67% и 8,93% соответственно. Недостоверны различия и между уровнями ХА.

БД не вызывает протекторного эффекта при анализе уровня aberrантных клеток и ХА в присутствии плазмы больных ПБ. Достоверное снижение этих цитогенетических параметров под влиянием БД наблюдалось в вариантах с добавлением АК, когда частота клеток с aberrациями составляла 3,65%, в отличие от клеток без БД (8,49%, $p < 0,05$).

Согласно данным анализа среднего числа СХО на одну клетку, ни одно из изученных соединений, как и плазма крови обследованных лиц, не приводили к изменению этого параметра (табл.) Кластогенная активность плазмы больных с хроническими воспалительными заболеваниями с аутоиммунными реакциями была подробно представлена в цикле работ Эмери с соавторами [5, 6]. Определенная общность кластогенного эффекта плазмы больных ПБ с данными этих исследований.

Могут ли изменения метаболизма АК в крови больных ПБ стать причиной обнаруженных цитогенетических различий между ними и здоровыми донорами? При обсуждении биохимических механизмов выявленной кластогенной активности целесообразно использовать данные изучения других аутоиммунных заболеваний.

Исследование ингибиторов АК основано на модели «мембранно-опосредованных» хромосомных изменений. Эта модель предполагает действие мембранно-активных агентов, что «стимулирует окисление мембранных липидов, ведущих к образованию кластогенно-активных окисленных образований, липид-гидропероксидазных и альдегидных компонентов» [5, 9].

Обработка	Просмотрено клеток		Аберрации на 100 клеток					Число СХО на клетку
	всего	с асп. (%)	Дупликация	Утрата	Транслокация	Синус	Структурные	
Д	100	3.00	1.00	2.00	0.00	3.00	—	
Пд/Д	274	2.92	2.19	1.82	0.00	4.01	3.13	
Пб/Д	245	11.43	4.90	7.35	0.41	12.66	4.06	
Пб/Д+АК	240	8.93	2.86	8.93	0.36	12.15	3.82	
Пб/Д+АС	300	6.67	1.67	6.00	0.00	7.67	3.31	
Пб/Д+АК+АС	300	7.67	1.67	6.67	0.33	8.67	3.68	
Пб/Д+БД	212	8.99	2.35	6.60	0.00	8.96	1.53	
Пб/Д-АК+БД	137	3.65	0.73	3.65	0.00	4.38	3.00	

Обозначения: Д—культура крови доноров; Пд/Д—плазма донора, добавленная в культуру крови донора; Пб/Д—плазма больного ПБ, добавленная в культуру крови донора.

Из трех типов ферментативного окисления АК (липоксигеназного, циклооксигеназного и монооксигеназного) первый—липоксигеназное окисление—происходит главным образом по 5, 12 и 15 углеродным атомам. Основными метаболитами этих направлений превращения АК являются: 5-НЕТЕ (в нейтрофилах) и 12-НЕТЕ (в тромбоцитах) [3]. Соотношение этих двух метаболитов в плазме крови в среднем равно 2.00 у здоровых доноров и 0.25 у больных ПБ, во время приступа у больных это соотношение становится равным 1.00, в основном из-за снижения уровня 5-НЕТЕ (Павлова, в печати). Селективный ингибитор биосинтеза 5-НЕТЕ—БД, который был использован в наших опытах, в настоящее время рассматривается в качестве нового терапевтического средства при ПБ.

Второму пути метаболизма АК—циклооксигеназному—придается неспецифическое и менее важное значение в патогенезе ПБ. В качестве ингибитора этого пути нами использованы АС. Известно, что активность циклооксигеназы проявляется при концентрациях АК, значительно более низких, чем активность липоксигеназы. Сравнительно низкие концентрации АК в плазме крови больных ПБ, по-видимому, достаточны для проявления активности циклооксигеназы и эффектов АС, который снижает уровни ХА даже без добавления экзогенной АК.

Добавление экзогенной АК существенно влияет на липоксигеназное окисление и уровень 5-НЕТЕ. Максимальный антиагрегационный эффект, по сравнению с вариантами с добавлением АК к плазме больных ПБ, мы наблюдали при действии ингибитора 5-липоксигеназы АК—БД, что свидетельствует об участии метаболитов 5-липоксигеназного окисления АК в агрегации при ПБ.

Обнаруженное преобладание aberrаций хроматидного типа в клетках больных ПБ можно объяснить, как было предложено [4], на основе «непрямого» механизма индукции разрыва, но не «прямого» действия генотоксичных веществ на ДНК.

Можно заключить, что специфический подход к изучению механизма антикластогенеза при проведении исследований на клетках больных ПБ не менее эффективен, чем применение неспецифических кластогенов и антикластогенов.

Основываясь на полученных результатах, можно заключить, что для объяснения природы цитогенетических эффектов соединений, участвующих в процессах метаболизма АК, необходимо провести цитогенетический анализ по предложенной схеме на большей группе больных ПБ, обладающих различной чувствительностью к действию ингибиторов АК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Р. М., Кудачин Н. П. Генетика, в. 4, 146—153, 1972.
2. Арутюнян Р. М., Саркисян Т. Ф., Междумян А. С., Пашинян С. А. Биолог. ж. Армении, 15, 1, 1991.
3. Габриелян Э. С., Григорян С. В., Давтян Э. Г., Мхитарян Г. С., Панагоси А. Г. Вюда, жжн биол. я мед, 1990.
4. Auclair C., Chevatte J., Levy A., Emerit I. Archives of Biochemistry and Biophysics, 272, 18—214, 1990.
5. Emerit I., Levy A., Chevatte P. Mutation Research, 110, 317—331, 1983.
6. Emerit I., Michelson A. M. Acta Physiol. Scand., 492, 59—65, 1982.
7. Gebhart P., Acharyunyan R. M. Anticlastogens in inflammation and human cells. Berlin Heidelberg New York, 1991.
8. Hangerford D. A. Stain Technol., 40, 333—335, 1965.
9. Khan S. H., Emerit I. Journal of Free Radicals in Biology and Medicine 413—449, 1983.
10. Perry P., Wolff S. Nature, 261, 156—158, 1974.

Получено 12.XI 1991 г.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БАКТЕРИЦИДНЫХ ЭФФЕКТОВ КАПРОФЕРА И ХЛОРГЕКСИДИНА

К. В. ДАЛЯН, С. Т. МНАЦАКАНОВ, Н. М. ЗРТУНЯН, Э. С. ГАБРИЕЛЯН

Ереванский институт усовершенствования врачей, МЗ Армении

Показано, что капрофер обладает выраженной бактерицидной и бактериостатической активностью у больных с воспалительными заболеваниями ротовой полости. Он эффективнее широко применяемого в настоящее время препарата хлоргексидина.

Կապրոֆերն օժտված է ճիկրորտապանիչ և նրանց աչքը կանխող արտահայտված գործունեությամբ՝ բերանի խոռոչի բորբոքային հիվանդություններով տառապող հիվանդների մաս:

Իրականացված կապրոֆերն ազնիք արդյունավետ է, քան ներկայում չայնորին կիրառվող ջրահեղուկային պրեպարատը: Այն շատ արդյունավետ է տառանարտական պրակտիկայում բերանի խոռոչի ճիկրորտային ախտահարումների բուժման և կանխարգելման նպատակով:

Caprofer has marked bactericide and bacteriostatic activity in patients with inflammation of diseases in oral cavity.

Caprofer is more effective than widely used in present preparation chlorhexidine.

Латинскими именами: капрофер—хлоргексидин

Созданный нами уникальный принципиально новый препарат капрофер предполагается использовать в комплексном лечении неспецифических воспалительных заболеваний ротовой полости, поскольку он обладает редким сочетанием гомеостатического антимикробного и противовоспалительного действия и не имеет в этом отношении аналогов. Из современных антисептиков близким к нему по своему действию является ХГД [1]. Последний, однако, не влияет на кислотоустойчивые формы бактерий, микробные споры, грибы и вирусы, некоторые виды *P. Pseudomonas*.

В данной работе приведены результаты сравнительного анализа бактерицидных эффектов капрофера и ХГД.

Материал и методы. Обследован 91 больной с воспалительными заболеваниями ротовой полости, 24 больных с острым гнойным пародонитом, 36—с обостренным хроническим пародонитом, 14—с альвеолитом, 1—с затрудненным прорезыванием зуба мудрости, 1—с явственным стоматитом, 3—с ограниченным остеомиелитом. Для определения бактерицидной активности капрофера и ХГД тампонами, смоченными в сахарном бульоне и помещенными в стерильные пробирки, брались смывы с ротовой поверхности больного. Затем больной производил полоскание раствором капрофера или ХГД (разведение 1:1000), после чего вновь брались смывы на 5 и 30 минут после полоскания. Далее производился посев каждого тампона на 3 чашки сахарного и простого агара, которые помещались в термостат на 24 ч при 37°.

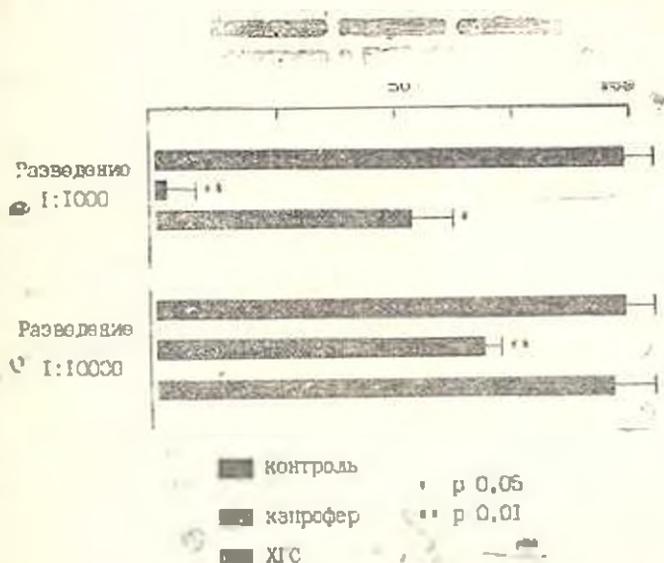
Бактерицидный эффект препаратов в условиях *in vitro* изучали методом двукратных серийных разведений в мисопептонном бульоне. Предварительно готовили разведение по 4,5 мл бульона, в каждую пробирку добавляли капрофер или ХГД в конечном разведении от 10⁻⁴ до 10⁻⁶ и вводили по 0,1 мл взвеси испытуемого тест-микрооба. Штативы помещали в термостат при 37° на 24 ч, после чего из пробирок

Сокращения: ХГД—хлоргексидин

проводили высеив на мисопептонный агар, сахарный агар или другую соответствующую среду. В качестве тест-микробов использовали 10 штаммов микроорганизмов, включая: *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Citrobacter sp.*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*.

Данные обработаны статистически с применением пакета прикладных программ ВМДР.

Результаты и обсуждение. На первом этапе исследований был проведен сравнительный анализ бактерицидной активности капрофера и ХГД в условиях *in vitro*, показателем которой являлось прекращение роста исследуемых штаммов. Из данных, приведенных в таблице, видно, что оба препарата в стандартных разведениях обладают выраженной бактерицидной активностью, однако у капрофера она выше на 1—2 порядка. Следовательно, в клинической практике при применении стандартных разведений препаратов можно ожидать большей терапевтической эффективности капрофера. Для проверки данного предположения было предпринято клиническое исследование бактерицидной активности препаратов. И капрофер и ХГД подавляют бакте-



Влияние капрофера и ХГД на рост колоний в срезах с ранами поверхности у больных с различными формами воспалительных заболеваний ротовой полости: больные с острым гнойным периодонтитом; больные с обострением хронического периодонтита; больные с альвеолитом.

риальный рост через 5 и 30 мин после применения у всех обследованных больных, этот эффект статистически высокодостоверен для обоих препаратов ($p < 0,001$). Однако воздействие капрофера отличается статистически большей выраженностью и длительностью. Аналогичная картина отмечалась и по отдельным группам больных. Наиболее выраженный бактериальный рост имел место у больных с обострением хронического периодонтита, однако и здесь применение капрофера привело к резкому снижению числа колоний микроорганизмов, иногда они почти полностью исчезали ($p < 0,01$). Этот эффект сохра-

нялся без статистически значимых изменений и на 30 минуте после воздействия препарата. Аналогичная картина наблюдалась у больных с острым гнойным периоститом и альвеолитом. Во всех случаях имело место резкое (в 20—40 раз) снижение роста колоний на 5 и 30 минуте после применения препарата и во всех случаях этот эффект был статистически достоверным ($p < 0,05$). ХГД также обладает бактерицидной активностью, носящей статистически достоверный характер при всех изученных позологических формах воспалительных заболеваний ротовой полости ($p < 0,05$), однако на 5 минуте степень понижения числа выросших колоний при применении ХГД была ниже, а на 30 минуте отмечалось более отчетливое увеличение роста колоний по сравнению с 5 минутой, т. е. эффект ХГД носит менее длительный характер.

*Бактерицидная активность капрофера и ХГД в условиях *in vitro**

Тестируемый штамм	Эффект на единицы р. э-единиц	
	Капрофер	ХГД
<i>E. coli</i>	10^{-3}	10^{-3}
<i>K. pneumoniae</i>	10^{-4}	10^{-1}
<i>Citobacter sp.</i>	10^{-1}	10^{-1}
<i>Proteus vulgaris</i>	10^{-1}	без разведения
<i>Proteus mirabilis</i>	10^{-2}	без разведения
<i>Staphylococcus aureus</i>	10^{-1}	10^{-1}
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10^{-3}	10^{-1}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10^{-2}	без разведения
<i>Candida albicans</i>	10^{-2}	10^{-1}

Таким образом, результаты исследования показали, что капрофер обладает выраженной бактерицидной и бактериостатической активностью, отчетливо проявляющейся как *in vitro*, так и *in vivo* у больных с воспалительными заболеваниями ротовой полости. Особо следует отметить, что капрофер более эффективен, чем широко применяемый в настоящее время препарат ХГД.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афиногенов Г. Е., Еленов Н. П. Антибиотики в хирургии. М., 1987.
2. Мальчикова Л. П. Клиника, диагностика, лечение и профилактика воспалительных процессов челюстно-лицевой области. Свердловск, 1987.
3. Груздев Н. А. Острая одонтогенная инфекция. М., 1978.
4. Лалаев К. В. Автореф. канд. дисс., 20, 1980.
5. Walker L. B. J. Clin. Periodontol, 15, 8, 493—505, 1988.
6. Kallinke J., Bauman B., Liesenitz E., Prieder H. Stomatologie DDR, 38, 8, 515—550, 1988.
7. Jenkins S., Addy M., Wads W. J. Clin. Periodontol, 15, 4, 415—424, 1988.

Поступила 26.111 1990 г.

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ
КЛЕТОК *E. COLI* K-12С. А. ТОНОЯН, Р. А. САГАТЕЛЯН, Ц. М. АВАКЯН, Г. М. АВАКЯН,
В. Б. АРАКЕЛЯН, И. Л. ДЖАНПОЛАДИН, И. В. СИМОНЯН, Л. Г. СТЕПАНЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ

Стерилизация жидких сред—электрический пробой—выживаемость бактерий.

Стерилизация жидких сред является важной проблемой для целого ряда областей науки и народного хозяйства. Особый интерес представляет стерилизация воды—естественной среды обитания многих микроорганизмов,—для которой используются самые разнообразные физические и химические методы. В литературе, в частности, есть сведения о стерилизующем эффекте приложенного к бактериальным суспензиям сильного электрического поля [3—5].

Ранее нами было показано, что кратковременное приложение сильного электрического поля к водной суспензии бактерий *E. coli* K-12 приводит к гибели значительной части клеток [1]. Была подробно исследована зависимость выживаемости бактерий от различных параметров действующего на суспензию импульса электрического поля. Показано также, что гибель клеток бактерий *E. coli* K-12 в электрическом поле связана с электрическим пробоем их мембран. Эти эксперименты проводились в стационарной ячейке объемом 0,1 мл. Однако, очевидно, что для промышленной реализации электрической обработки воды необходимо получить аналогичный эффект в проточной системе. С этой целью была специально сконструирована установка, состоящая из каскада семи проточных ячеек и питающего их мощного генератора высоковольтных импульсов. Генератор давал прямоугольные периодически повторяющиеся импульсы напряжения с амплитудой 0–3 кВ, длительностью 40 мкс и частотой следования 50 или 100 Гц. Форма и амплитуда импульса контролировалась с помощью осциллографа. Ячейки изготовлялись из компаунд-протекриты холодным литьем. Электроды—пластинки из нержавеющей стали сечением 1×5 мм². Межэлектродное расстояние—1 мм. При частоте поступающих импульсов 100 Гц полная одноимпульсная обработка бактериальной суспензии обеспечивалась при расходе 30 мл/мин.

Суспензия клеток *E. coli* K-12 «дикого» типа подвергалась обработке при исходной концентрации 10^7 – 10^8 кл/мл. Число клеток, сохранивших жизнеспособность после проведения (самостоятельно) суспензии через рабочую ячейку, определяли подсчетом макроколоний, вырастающих на твердой питательной среде (МПА). Подсчет колоний проводили через сутки инкубации клеток при температуре 37°.

В условиях опыта, когда на каждой из семи ячеек напряженность поля была равна 25 кВ/см, частота следования импульсов 100 Гц, длительность импульса 40 мкс, расход воды 30 мл/мин, выживаемость клеток бактерий *E. coli* K-12 «дикого» типа снижалась примерно на

98—99%. Представляло интерес сравнение эффективности стерилизации в каскаде проточных ячеек со стерилизацией в стационарной ячейке. Как было показано [2], снижение выживаемости клеток на 99% в стационарной ячейке с фиксированным объемом воды реализуется при действии одиночного импульса длительностью 220 мкс и напряженностью поля 28 кВ/см. При аддитивном по времени обработки эффекте результат обработки клеток в проточной системе должен быть эквивалентен результату одномоментной обработки с длительностью импульса 280 мкс при той же величине напряженности поля. Однако поскольку в наших опытах при одномоментной обработке в стационарной ячейке амплитуда была несколько больше, чем в проточной системе, можно считать, что эффективность обработки клеток в двух системах примерно одинакова.

К аналогичному выводу привело и сопоставление результатов серии экспериментов, проведенных на каскаде ячеек при амплитуде напряженности поля, равной 22 кВ/см, и выживаемости—4—5%.

Таким образом, показано, что электрическая обработка воды в целях стерилизации ее реализуема не только в стационарной, но и в проточной системе; при этом эффективность обработки в обоих случаях примерно одна и та же.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тоноян С. А., Сагателян Р. А., Авакян Г. М., Авакян Ц. М., Аракелян В. Б., Джанполадян Н. Л., Симонян Н. В., Степанян А. Г. Биолог. журн. Армении, 42, 9—10, 919—922, 1989.
2. Тоноян С. А., Сагателян Р. А., Авакян Г. М., Авакян Ц. М., Аракелян В. Б., Джанполадян Н. Л., Симонян Н. В., Степанян А. Г. Биолог. журн. Армении, 43, 2, 143—144, 1990.
3. Hamilton W. A., Salt A. J. H. Biochem. et biophys. Acta, 148, 789—90, 1967.
4. Hülshöger H., Potal J., Niemann K.-H. Radiat. Environ. Biophys., 9, 53—63, 1981.
5. Sakurauchi Y., Kondo E. J. J. Agricult. Chem. Soc. Japan, 54, 837—84, 1980.

Поступило 15.III 1990 г.

Биолог. журн. Армении, № 1(45) 1992

УДК 577.352.2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОНИЦАЕМОСТИ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ МЕМБРАНЫ С ПОМОЩЬЮ ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ ФЕРМЕНТОВ

Г. Г. АМБАРЦУМЯН, С. Я. АДАМЯН, А. С. НЕГРОСЯН, А. Л. СИМОНЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ

Проницаемость липосом—инкапсулированный фермент—глюкоза—мочевая кислота.

Для определения проницаемости липосомальной мембраны часто пользуются диализным методом. Применение этого метода связано с трудностями, обусловленными необходимостью учитывать два диф-

фузионных препятствия (липосомальную мембрану и диализный мешок) и необходимостью учета обратного потока [2].

Изучение транспортно-каталитических свойств липосом с инкапсулированным ферментом позволяет избежать эти трудности и определить проницаемость мембраны для соответствующего субстрата. Ранее такого рода работы были проведены для определения проницаемости липосом, сформированных из лецитина с холестерином, для мочевины [5] и аскорбата [6].

Задачей настоящей работы является разработка метода определения проницаемости мембраны бислойных лецитиновых липосом для глюкозы и мочевой кислоты.

Материал и методика. В опытах использовалась глюкозооксидаза (*glucose-oxidase penicillium vitale* 1.3.4) Каменского ПО спиртовой промышленности Мипиншпрома Укр. ССР и бактериальная уратоксидаза из *Bacillus fastidiosus* (1733.), получаемая в нашей лаборатории.

Липосомы формировали способом, описанным ранее [1], с той разницей, что дезоксихолат натрия добавляли в смесь хлороформа с метанолом, а при эмульгировании липидной пленки в буфер добавляли фермент. Для инкапсулирования глюкозооксидазы использовали триацетатный буфер (pH 6.5) с 150 мМ KCl, для уратоксидазы — борно-боратный буфер (pH 8.5) с 150 мМ KCl. Концентрация липида 50 мМ, молярное соотношение липид:фермент 1500:1, исходное отношение дезоксихолат натрия: липид R=0.4. Другие значения R указаны в тексте.

Липосомы озвучивали в трубчатом озвучивателе с частотой 22 кГц на ультразвуковом дезинтеграторе УЗДН-1. Предварительно было установлено, что озвучивание и используемые концентрации дезоксихолата натрия не влияют на активность фермента.

Размер липосом определяли методом светорассеяния. Подробно метод описан в работах [1, 4]. Полученные липосомы имели радиус $r=1000-1300$ Å.

Для разделения наружного фермента и фермента, инкапсулированного в липосомы проводили гель-фильтрацию на колонке с сефарозой 4В (1:10). О разделении фракций судили по измерению их оптических плотностей, определяемой на спектрофотометре Speord M-40 при длине волны 280 нм.

Активность фермента определяли амперметрически по убыли кислорода в реакционной среде с помощью мембранного электрода. Концентрация субстрата в ячейке варьировала от 10 до 200 мМ глюкозы и от 1 до 4 мМ мочевой кислоты. За единицу активности фермента принимали такое количество его, которое катализирует расход 1 мкмоль кислорода в минуту. Удельную активность выражали числом единиц активности на единицу оптической плотности при 280 нм.

Концентрацию фермента в липосомальной суспензии после проведения через колонку определяли по отношению активности фермента после сольubilизации липосом дезоксихолатом натрия к исходной активности его.

Результаты и обсуждение. В работах [5, 6] показано, что при инкапсулировании водорастворимых ферментов максимальная скорость ферментативной реакции не меняется. Этот факт использовался нами для разработки способа определения проницаемости липосомальной мембраны для соответствующих субстратов. При измерении активности ферментов, инкапсулированных в липосомы, наблюдается падение удельной активности, связанное с ограниченным доступом субстрата к ферменту. Это ограничение обусловлено барьерными свойствами липосомальной мембраны. Пользуясь графиком Лайнуивера-Бэрка, можно определить K_{m1} как для свободного, так и

для инкапсулированного ферментов. Результаты показали, что K_m для свободного фермента существенно ниже, чем для инкапсулированного (табл.). Следовательно, для достижения одинаковых скоростей реакции инкапсулированный и свободный фермент требуют разных концентраций. Отношение этих концентраций, исходя из уравнения Михаэлиса-Ментен, будет равно отношению K_m для свободного и инкапсулированного ферментов. С другой стороны, отношение концентрации субстрата в липосомах (C_i) к концентрации субстрата в наружном растворе (C_n) является функцией проницаемости липосомальной мембраны. Следовательно, проницаемость мембраны можно выразить через отношение K_m :

$$P = k \frac{V_n}{S} = \frac{C_i \cdot r_1}{3C_n \cdot t} = \frac{K_m \cdot r_1}{3K'_m - 1} \quad (1)$$

где P — проницаемость липосомальной мембраны для субстрата, k — константа входа субстрата, V_n — объем наружного раствора, S — площадь липосом, K_m — константа Михаэлиса для свободного фермента, K'_m — константа Михаэлиса для инкапсулированного фермента, C_i — концентрация субстрата в липосомах, C_n — концентрация субстрата в наружном растворе, t — время регистрации, r_1 — радиус липосом.

Значения K'_m для каталазы и уратоксидазы, а также величины проницаемости липосомальной мембраны P для глюкозы (Г) и мочевины (МК) при разных соотношениях дезоксихолата натрия липид (R)

R	0.4	0.5	0.65	0.75	0.8	0.9
K'_m (мМ) уратоксидазы	14.7	12.3	11	8.2	7.4	5.9
K'_m (мМ) глюкозооксидазы	35.4	—	21.2	—	14.5	11.2
$P \cdot 10^{-10}$ Г (Г)	3.7	4.4	4.8	6.6	7.4	9.2
$P \cdot 10^{-10}$ МК (МК)	3	—	4.5	—	7.5	9.75

Модификация барьерных свойств мембраны должна отражаться на значениях K'_m . Если увеличить проницаемость мембраны, модифицируя ее детергентом, например, дезоксихолатом натрия [3], то значения K_m будут уменьшаться до тех пор, пока липосомы не будут сольubilизированы, и они перейдут в смешанные мицеллы. Соответствующие значения K'_m и рассчитанные по формуле (1) P при разных R приведены в таблице.

Таким образом, липосомы с инкапсулированным водорастворимым ферментом представляют собой удобные системы для определения проницаемости липосомальной мембраны по отношению к веществам, которые являются субстратами этих ферментов.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Амбарцумян Т. Г., Аюбян С. Я., Мариакян Г. Г., Петросян А. С. Биолог. журн. Армении, 40, 3, 200—204, 1987

2. Амбарцумян Т. Г., Адамян С. Я., Марикиан Г. Г., Петросян Л. С. Биофизика, 34, 1, 54—56, 1989.
3. Амбарцумян Т. Г., Марикиан Г. Г., Адамян С. Я., Петросян Л. С., Симонян Л. Х. Биологические мембраны, 6, 4, 386—390, 1989.
4. Кагнин В. Н., Щеголева С. Ю., Лиарушин В. П. Характеристические функции светорассеяния дисперсионных систем. Саратов, 1977.
5. Madeira V. M. Blochim. et Biophys. Acta, 499, 1, 202—211, 1977.
6. Mossa G., Annesini M., Di Giulio A., Dini L., Finazzi-Agro A. Biological and Synthetic Membranes, 227—236, 1989.

Поступило 15.11.1990 г.

Биолог. журн. Армении, № 1 (45), 1992

УДК 577.2

ДЕЙСТВИЕ ИМПУЛЬСА ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ НА БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОКАЗАТЕЛЬ МОЛОКА

С. А. ТОНОЯН, Р. А. САГАТЕЛЯН, Г. М. АВАКЯН, Ц. М. АВАКЯН,
Н. Б. АРАКЕЛЯН, И. Л. ДЖАНПОЛАДЯН, Н. В. СИМОНЯН, Э. Г. СТЕПАНИ

Ереванский физический институт ГКАЭ

Молоко—электрический пробой—выживаемость бактерий.

Обычно для снижения степени обсемененности молока микроорганизмами его пастеризуют или стерилизуют. Наиболее распространенный метод пастеризации или стерилизации молока основан на кратковременном воздействии высокой температуры, которое приводит к гибели значительной части клеток дрожжей, плесени, бактерий группы кишечной палочки и других групп, составляющих микрофлору молока. Однако тепловое воздействие неизбежно приводит также к разрушению многих полезных компонентов молока. В этой связи представляется целесообразным поиск иных методов пастеризации и стерилизации молока. Одним из наиболее эффективных способов может быть кратковременное действие сильного электрического поля. Известно, что кратковременное наложение сильного электрического поля на суспензию клеток бактерий *E. coli*, а также клеток дрожжей [1—3] приводит к гибели значительной части их. Поскольку значительную часть микроорганизмов в молоке составляют клетки бактерий *E. coli* и дрожжей, то следует ожидать, что кратковременное наложение сильного электрического поля на молоко может привести к эффекту его стерилизации.

Материал и методика. Электрообработку неразбавленного сырого молока проводили как в ячейке с заданным объемом, так и в проточной ячейке. Для этого были сконструированы генераторы прямоугольных импульсов, работающие в режиме одиночных и периодически повторяющихся импульсов. Первый генератор позволяет получать импульсы напряжения с регулируемой амплитудой (0,4 ÷ 1,6 кВ) и длительностью (10 ÷ 220 мкс), второй — генерирует импульсы напряжением 0 ÷ 3 кВ, длительностью 40 мкс и частотой следования 50 или 100 гц. Форма и амплитуда импульсов контролировались с помощью осциллографа. В первом случае молоко

обрабатывали в плексигласовой ячейке с электродами из нержавеющей стали, расположенными на расстоянии 1 см. Объем ячейки составлял 0,1 мл. Проточная ячейка изготовлена из зуботехнической пластмассы (протакрил) методом холодного литья. Electroды из нержавеющей стали расположены на расстоянии 1 см. Объем ячейки 5 мл. При частоте следования импульсов 100 гц полная однопольсная обработка молока в ячейке обеспечивается при расходе 30 мл/мин. Число клеток, сохранивших жизнеспособность после обработки молока, определяли подсчетом макроколоний, вырастающих из твердой питательной среде. Подсчет макроколоний проводили через сутки инкубации клеток при температуре 37°. В течение этого времени успевали сформироваться колонии на всех неповрежденных клетках.

Результаты и обсуждение. Были проведены две серии экспериментов. В первой серии исследовалось действие импульса сильного электрического поля на сырое молоко в непроточной ячейке. Прямоугольный импульс электрического поля имел амплитуду 16 кВ/см и длительность 220 мкс. Число импульсов, подаваемых на экспериментальную ячейку, можно было варьировать. При действии одного импульса выживаемость общего числа бактерий в молоке составляет 44,1%, т. е. погибает больше половины бактерий, обработка же десятью импульсами приводит к гибели значительной части клеток бактерий, выживает лишь 8,7% их. Отметим, что увеличением числа импульсов можно и дальше снижать число выживших клеток бактерий.

Во второй серии экспериментов исследовалось действие импульса сильного электрического поля на молоко в проточной ячейке. Выяснилось, что при амплитуде импульса 16 кВ/см и частоте следования импульсов 100 гц выживаемость снижается до 6,8%. Расход молока в этом эксперименте составлял ≈ 1 мл/мин, т. е. происходила многоимпульсная обработка молока.

Таким образом, проведенные эксперименты показали, что в результате кратковременной обработки молока импульсом высокого напряжения погибает значительная часть бактерий. Действие же импульса электрического поля на биохимический показатель молока предстоит исследовать.

ЛИТЕРАТУРА

1. Топожян С. А., Сагателян Р. А., Авакян Г. М. в сб. Биол. журн. Армения, 42, 9-10, 919-922, 1989.
2. Sakurazachi Y., Kondo E. J. Agricult. Chem. Soc. Jpn., 51, 837-844, 1960.
3. Hütshager H., Patel J., Neebann E. G. Radiat. Environ. Biophys., 20, 53-65, 1981.

Поступило 15.III 1990 г.

О ВЛИЯНИИ МИЕЛОПИДА НА ВХОД ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В НЕРВНЫЕ КЛЕТКИ

С. С. ДАДАЛЯН, И. С. БАКУНЦ, С. С. ГАМБАРОВ, А. М. ХАРАДЖЯН

НИИ хирургии МЗ Армении, Ереван

Нервные клетки—миелолипид—Na/K-насос—Na/Ca-циклин

Известно, что между нейроэндокринной и иммунной системами существует взаимосвязь, которая, как было показано ранее, реализуется с помощью конкретных медиаторов. Установлено, в частности, что нейропептиды обладают иммуномодулирующими свойствами [6], а медиаторы иммунитета—способностью регулировать функции ЦНС [9]. Так, например, выяснилось, что миелолипид—стимулятор антителопродукции—снижает корковые соматосенсорные потенциалы, возникающие при ноцицептивной стимуляции [2, 3]. При этом механизмы влияния медиаторов иммунитета на нервную клетку пока еще изучены недостаточно.

С другой стороны, установлено, что возбудимость, хемочувствительность и метаболизм нервной клетки во многом определяются активностью ион-транспортных систем (в частности, состоянием кальций-транспортной системы). При этом вход ионов кальция в клетки может осуществляться как по электровозбудимым ионным каналам, так и по механизму Na/Ca-обменной диффузии [5, 7].

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния миелолипида на вход ионов кальция в нервную клетку.

Материал и методика. Экспериментальной моделью служили нейроны вегетативного ганглия виноградной улитки (*Helix pomatia*).

Для измерения количества вошедшего в клетки кальция были использованы меченые ионы кальция (^{45}Ca). Ганглии помещали в экспериментальные среды, содержащие 2,5 мкл ^{45}Ca активностью 12,5 мКи, и инкубировали там в течение 30 мин, после чего подвергали их трехкратной промывке в течение 24 мин в «холодной» инкубационной среде. Затем ганглии растворяли в 500 мкл 2-нормального раствора КОН в течение 24 ч при температуре 45°. Для подсчета вошедших в клетки меченых ионов кальция использовали сцинтиллятор Брея и счетчик РГТ (ГДР), настроенный на ^{45}Ca .

Состав раствора Рингера (ммоль/л): NaCl—80, KCl—4, CaCl₂—7, MgCl₂—13, трис-HCl—10 (pH 7,8), глюкоза—10.

Результаты и обсуждение. Установлено, что миелолипид в растворе Рингера оказывает двухфазное действие. Ранее было показано, что подавление Na/K насоса приводит к увеличению количества входящих ионов кальция в клетки [1]. Известно, что удаление ионов кальция из окружающей клетку среды и добавление в последнюю уабанина (10^{-4}M) подавляет работу Na/K насоса [8]. Как видно, в этих условиях также наблюдается двухфазное действие миелолипида, однако в этом случае инактивирующее влияние на выход ионов кальция оказывает концентрация $5 \cdot 10^{-8}$ г/л, т. е. в условиях ин-

активации Na/K насоса потенцируется инактивирующее действие миелопида на вход ионов кальция.

Исследовалось также влияние миелопида на вход ионов кальция в условиях бескальцевого раствора, содержащего убаин и верапамил—блокатор кальциевых каналов [4]. Верапамил не вызывает статистически достоверного изменения уровня поглощения ганглиями ионов кальция. Однако в его присутствии значительно меняется характер действия миелопида на вход кальция: в концентрации $5 \cdot 10^{-6}$ г/л, которая не оказывает существенного влияния на вход кальция в среде без верапамила, проявляется активирующее действие миелопида; в концентрации $5 \cdot 10^{-5}$ г/л при наличии верапамила миелопид не проявляет какого-либо эффекта, тогда как в отсутствие его эта доза оказывает инактивирующее действие на вход кальция.

Таким образом, при наличии верапамила в среде наблюдается активирующее действие малых доз миелопида на вход кальция. Этот эффект верапамила, по-видимому, свидетельствует о том, что, оказывая инактивирующее действие на потенциал-зависимые кальциевые каналы, он действует еще и на другие механизмы, участвующие в процессе транспорта ионов кальция.

Показано, что Na/Ca обмен активируется при уменьшении натриевого градиента на мембране путем либо уменьшения содержания натрия в наружной среде, либо увеличения внутриклеточного содержания последнего при предварительной инкубации клеток в бескальцевом холодном растворе (3°) [5]. В присутствии верапамила, хотя и сохраняется активирующее действие миелопида на вход кальция в концентрации $5 \cdot 10^{-6}$ г/л, однако так же, как и в присутствии убаина, расширяется диапазон дозы инактивирующего действия ($5 \cdot 10^{-4}$, $5 \cdot 10^{-5}$) миелопида на вход кальция. Следует отметить также, что во всех исследованных нами условиях миелопид в концентрации $5 \cdot 10^{-5}$ г/л не проявляет какого-либо эффекта на уровень внутриклеточного содержания кальция.

Тот факт, что в растворе Рингера миелопид оказывает двухфазное влияние на уровень внутриклеточного кальция, свидетельствует о том, что в основе его действия лежат как минимум два механизма, по-разному (или противоположным образом) меняющиеся при действии миелопида и отличающиеся по чувствительности к его дозе; при этом порог чувствительности этих механизмов зависит от действия факторов, подавляющих Na/K насос, от внутриклеточного содержания натрия и наличия в инкубационной среде верапамила.

Такое действие миелопида, вероятно, можно объяснить либо изменением активности Na/Ca обмена, обеспечивающего вход ионов кальция в клетки, либо изменением активности процесса выброса ионов кальция из клеток.

Полученные данные позволяют заключить, что миелопид оказывает модулирующее влияние на транспорт ионов кальция через нейрональную мембрану клеток ганглиев винограднои улитки.

Авторы статьи выражают благодарность зав. лаб. биомембран Института экспериментальной биологии АН Армении д.б.н. С. Н. Ай-

рапетяну за предоставление возможности выполнения данной работы и участие в обсуждении полученных результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Додаян С. С., Муртиросян Д. М., Сасиян А. А. В кн.: Тез. междунар. симп. Транспорт ионов и механизмы его регуляции 22—23, Тбилиси, 1989.
2. Петров Р. А., Дуринян Р. А., Василенко А. М. ДАН СССР, 256, 2, 46—48, 1982.
3. Петров Р. В., Дуринян Р. А., Василенко А. М. Патол. физиол. и эксперим. тер. 1, 13—16, 1986.
4. Laker P. F., Meves H., Ridgway E. B. J. Physiol. (Gr. Brit.), 231, 511—526, 1973.
5. Blitar E. E. Comp. Biochem. Physiol., 76A, 4, 763—771, 1983.
6. Blalock J. E. Physiol. Rev., 69, 1, 1—32, 1989.
7. Hagiwara S., Byerly L. Annu. Rev. Neurosci., 4, 69—125, 1981.
8. Hagiwara S., Post P. L. J. Biol. Chem., 246, 5234—5240, 1971.
9. Nakamura H., Nakanishi K., Kita A., Kadohawa J. Eur. J. Pharmacol., 149, 49—54, 1988.

Поступило 19.11.1991 г

Биолог. журн. Армении, № 1.(45).1992 УДК 616.36+576.8.094.7+576.311.347:537.2

ИОННАЯ ПРОНИЦАЕМОСТЬ БИСЛОЙНЫХ МЕМБРАН ИЗ ЛИПИДОВ КЛЕТОК И МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ

Г. Г. АРЦРУНИ, С. А. БАДЖИНЯН, Р. А. МАНУКЯН, К. Г. КИРАКОСЯН
Ереванский медицинский институт

Мембраны липидные—электростатическое поле—ионная проницаемость—митохондрии.

В настоящей работе представлены результаты исследования проводимости БЛМ, приготовленных из липидов клеток и митохондрий печени для катионов Na^+ , K^+ , Ca^{++} .

Материал и методика. Опыты проводили из белых беспородных крыс-самцов массой 120—150 г, подвергшихся воздействию ЭСП напряженностью 2000 В/см, длительностью час, сутки, 6 сут, по 6 ч ежедневно. ЭСП создавали с помощью установки, описанной ранее [1]. В I серии эксперимента изучали катионную проницаемость БЛМ из липидов гомогената печени (клеточный липидный экстракт), во II серии—проницаемость БЛМ из липидов митохондрий печени (митохондриальный экстракт). Митохондрии и липиды получали с использованием общепринятых методов [9, 10]. Из высушенного липидного экстракта формировали бислойные мембраны по методу Мюллера [11]. Электрические измерения проводили при помощи высокоомного электрометра, используя пару хлорсеребряных электродов, погруженных в 0,1 М растворы NaCl , KCl , CaCl_2 [6], при температуре 22—24°. Проводимость определяли по формуле $g = \frac{1}{R}$, где R —удельное сопротивление мембраны (ом, см²).

Результаты измерений представлены в виде графиков зависимости $\lg G$ от экспозиций поля.

Результаты и обсуждение. Часовое воздействие ЭСП приводит к увеличению проницаемости БЛМ из липидов гомогената для всех

Сокращения: ЭСП—электростатическое поле; БЛМ—бислойные липидные мембраны.

катионов и уменьшению Ca^{2+} -своей проводимости БЛМ из митохондриальных липидов. После суточного воздействия на порядок возрастает проницаемость БЛМ из клеточного экстракта для K^+ . После длительного воздействия поля происходит увеличение на порядок проницаемости мембраны из липидов клеток и уменьшение также на порядок проницаемости БЛМ из митохондриальных липидов для Ca^{2+} . Судя по этим данным, изменения поперечной проницаемости БЛМ из липидов гомогената и БЛМ из митохондриальных липидов не симпатны. Подобные изменения, по всей видимости, направлены на поддержание постоянной концентрации ионов в цитоплазме, особенно четко это проявляется в отношении ионов Ca^{2+} . Уменьшение проницаемости липидной компоненты митохондриальной мембраны для Ca^{2+} после действия ЭСП, а также обнаруженные ранее дезэнергизация митохондрий и уменьшение внутримитохондриального Ca^{2+} [3—5] могут привести к увеличению содержания кальция в цитоплазме. Последнее, в свою очередь, должно вызывать интенсификацию окислительных процессов в гепатоцитах, о чем свидетельствуют данные, приведенные в работах [5, 12]. Увеличение кальциевой проницаемости мембран из липидов гепатоцитов может способствовать выходу избытка Ca^{2+} из цитоплазмы и работать как добавочный механизм, обеспечивающий постоянный уровень Ca^{2+} в цитоплазме.

Таким образом, воздействие ЭСП, по всей видимости, приводит к перераспределению Ca^{2+} между митохондриями, цитоплазмой и внеклеточной средой, обусловленному изменениями поперечной проницаемости липидной компоненты мембран и функционального состояния митохондрий. Действие ЭСП на поперечную проницаемость может быть непосредственным, как результат модификации полярных головок липидов из-за статического перераспределения зарядов на них при наложении внешних полей. С другой стороны, оно может быть опосредованным через механизмы, регулирующие обмен липидов [2, 7].

Исходя из вышесказанного, мы можем констатировать, что ЭСП является физическим фактором, воздействие которого приводит к модификации липидной компоненты биологических мембран, выражающейся в изменении осевых потоков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арцивин Г. Г. *Известия науки и конф. мол. ун-та*, посвящ. 25-му съезду КНСС, 32, Ереван, 1975.
2. Арцивин Г. Г., Аветисян Т. А., Мкртчян С. Я. *Биолог. журн. Армении*, 33, 11, 1195, 1990.
3. Арцивин Г. Г., Мелкумян Т. М., Саякян Р. А. *Биолог. журн. Армении*, 33, 11, 1185, 1990.
4. Арцивин Г. Г., Тер-Маркосян А. С. *Биолог. журн. Армении*, 31, 7, 1978.
5. Арцивин Г. Г., Тер-Маркосян А. С. *Биолог. журн. Армении*, 38, 1, 1985.
6. Баджигян С. А. *Биолог. журн. Армении*, 29, 2, 6, 1976.
7. Гольдштейн Н. М. *Проблемы клин. биофизики*, 10, Рига, 1977.
8. Мкртчян С. Я., Арцивин Г. Г. *Биолог. журн. Армении*, 31, 7, 752, 1978.

9. Мосолова И. М. сопр. Методы совр. биохимии, 1975.
10. Fokh P. J., Lees M., Sloane-Stanley G. H. J. Biol. Chem. 226, 1. 497—509. 1957.
11. Muller R., Rudin R., Tien G. Nature, 3. 1963.
12. Klingenberg H. G., Mjse J. R., Fisher G. e. a. „Zentrabl. Parasitenkd. Infektion skr. Hyg. Erste Abt. orig. Reihe B. Hyg. Praw. Med. 161, 2. 137. 1975.

Поступило 15.I 1989 г

Биолог. журн. Армении. № 1 (45) 1992 г.

УДК 616.314.17—008:547.963.3:

ВЛИЯНИЕ НУКЛЕИНАТА НАТРИЯ НА ТКАНИ ПАРОДОНТА

Т. А. КАРАГЕЗЯН*, К. Г. КАРАГЕЗЯН**, Р. А. ЗАХАРИН**

*Ереванский институт усовершенствования врачей МЗ Армении.

**Институт молекулярной биологии АН Армении, Ереван

Нуклеиат натрия—заболевания пародонта.

С возрастом по мере снижения интенсивности кариеса зубов на первое место в стоматологических заболеваниях выдвигаются болезни пародонта.

Важность медико-социальной проблемы профилактики и лечения воспалительно-дистрофических заболеваний пародонта обусловлена как полиэтиологичностью их, так и многообразием патогенного воздействия на организм.

Известно, что в основе развития поражений тканей пародонта важная роль принадлежит нарушению иммунологической реактивности организма [1—7, 8—10]. Поэтому в комплексе лечебных мероприятий иммунокорректирующая терапия занимает особое место. С целью повышения реактивности организма больных при этом применяются неспецифические стимуляторы животного происхождения, биогенные стимуляторы, бактериальные полисахариды, стероидные противовоспалительные препараты и другие средства. В этой связи интерес представляет нуклеиат натрия, как препарат, обладающий способностью стимулировать естественные факторы иммунитета—миграцию и кооперацию Т- и В-лимфоцитов, повышающий фагоцитарную активность макрофагов и активность факторов неспецифической резистентности [2, 3]. Однако Земсков с соавт. [1] при местной аппликации препарата на пародонт не достигали выраженного действия, тогда как прием внутрь (по 0.1—0.15 г препарата 3 раза в день в течение 14 суток) обеспечивал терапевтический эффект.

Нам удалось повысить эффективность нуклеиата натрия, несколько модифицировав его применение.

Материал и методика. Под наблюдением находились 27 больных в возрасте 18—65 лет с различными поражениями тканей пародонта. Диагностически и путем

Сокращения: ЦАМФ—циклический аденозин монофосфат ЦГМФ—циклический гуанозин монофосфат

изучения истории болезни судили о причинах утраты зубов. Объемно исследовались: состояние десневого края, его цвет, кровоточивость, степень подвижности зубов, выраженность воспалительных явлений, наличие зубных отложений, гравитическая окклюзия и др. Состояние и степень резорбции альвеолярных отростков определялись также и рентгенографией. Для количественной оценки клинических проявлений патологии пародонта использовались математические индексы: ПИ, ПМА, метод измерения глубины десневых карманов калиброванными зондом. Гигиеническое состояние полости рта оценивалось с помощью индексов Федорова-Володкиной и Грина-Вермилиона. Эффективность лечения определялась изменением показателей состояния пародонта через 3—4 недели, 3, 6 и 12 месяцев.

До лечения исходные значения показателей состояния пародонта были следующие: средние значения индексов ПИ $= 4,81 \pm 0,27$; ПМА $= 2,57 \pm 0,1$; глубина десневых карманов $- 3,68 \pm 0,24$; гигиенические индексы Федорова-Володкиной $- 3,7 \pm 0,15$; Грина-Вермилиона (зубной налет) $- 2,26 \pm 0,1$; Грина-Вермилиона (зубной камень) $= 2,11 \pm 0,1$. Лечение больных включало тщательное удаление над- и поддесневых зубных отложений и кюретаж патологических десневых карманов. Кроме того, больные получали нуклеинат натрия.

Нуклеинат натрия—натриевая соль нуклеиновой кислоты—представляет собой белый или слегка серовато-желтый порошок, хорошо растворяющийся в воде.

Препарат вводился в виде 10%-ного кальциевого раствора внутрь по 0,5 г два раза в день за час до еды и одновременно в ткани пародонта с помощью электрофореза в течение 15 дней ежедневно. Усиление терапевтического действия достигается выработкой Ca^{2+} —формы РНК, обладающей более высокой фармакологической активностью. Фармакологическая активность препарата проявлялась в активации мембранных функций клетки, высвобождении эндогенных лизофосфолипидов и ненасыщенных жирных кислот, обладающих, как известно, иммуномодулирующими свойствами.

Результаты и обсуждение. Как известно, в сыворотке крови человека и млекопитающих имеются ферменты, разрушающие РНК. Определенная часть РНК, введенной в организм, довольно быстро гидролизуется, не успевая оказать биологического воздействия на клетки и ткани. С целью повышения ее устойчивости к специфическим сывороточным и тканевым нуклеазам и стабилизации структуры РНК (нуклеината натрия) мы получили Ca^{2+} —форму РНК, обладающую относительно более высокой фармакологической активностью. На различных модельных системах показано, что РНК, особенно ее Ca^{2+} —форма, является активатором мембранных функций клетки. В основе ее действия лежат процессы, связанные с увеличением в клетке ЦАМФ, ЦГМФ и с активацией трансмембранных токов Ca^{2+} извне. Последний в свою очередь приводит к активации фосфолипазы A_2 и высвобождению эндогенных лизофосфолипидов и ненасыщенных жирных кислот, обладающих, как известно, иммуномодулирующими свойствами. Ca^{2+} —формы РНК активно преодолевают мембранный барьер и внедряются в цитоплазму и ядро, непосредственно воздействуя на ферментные системы и генетический аппарат клетки.

При изучении индукции интерферона в культуре диплоидных фибробластов эмбриона человека нами было установлено, что Ca^{2+} —форма РНК по сравнению с Na-РНК заметно увеличивает титры регистрируемого интерферона, сдвигая максимальные пики его продукции на 4—6 часов в сторону более пролонгированного действия.

Это является следствием стабильности молекул указанной формы РНК.

Защитный эффект Ca^{2+} -РНК оказался значительно выше у мышей, инфицированных ВЭМК. Усиление интерференцирующей активности и противовирусного эффекта комплекса Ca^{2+} -РНК не сопровождалось повышением токсичности препарата.

Более выраженная, по сравнению с Na -РНК, биологическая активность Ca^{2+} -РНК проявлялась и в индукции активности фермента 2'-5'-олигоаденолат синтетазы, участвующей в процессах терминальной дифференцировки клеток и активации ферментных систем противовирусной защиты.

Особенно важным являлось обнаружение высокой эффективности Ca^{2+} -форм РНК в стимуляции размножения и роста клеток эпителия и фибробластов. Ca^{2+} -формы полинуклеотидов оказывали достаточно выраженное митогенное влияние на фибробласты человека, повышая синтез ДНК на ранних стадиях размножения в культуре. На более поздних стадиях культивирования клеток Ca^{2+} -форма РНК стимулировала процесс терминальной дифференцировки.

Таким образом, комбинированное применение Ca^{2+} -комплексов различных типов полинуклеотидов может быть использовано в клинической медицине в целях стимуляции процессов пролиферации и терминальной дифференцировки фибробластов и клеток эпителия, при нарушениях трофики. В целом нуклеат натрия оказывает существенное стимулирующее воздействие также на формирование вторичного иммунного ответа как в эксперименте, так и в клинике, сопровождаясь сокращением индуктивной фазы антителобразования, увеличением антителобразующих клеток, кооперацией Т- и В-лимфоцитов, активацией пролиферации Т- и В-клеток. Клинически это выражалось в существенном снижении всех математических индексов ($P < 0,001$) спустя 3-4 недели после проведенного курса: ПИ = $1,91 \pm 0,29$; ПМА = $0,62 \pm 0,1$; глубина десневых карманов = $2,45 \pm 0,2$; гингивальные индексы Федорова-Володкиной = $3,42 \pm 0,4$; Грина-Вермиллиона (для зубного налета) = $0,58 \pm 0,1$; Грина-Вермиллиона (для зубного камня) = $0,07 \pm 0,04$. По окончании лечения исчезла отечность,

Динамика показателей состояния пародонта до и после лечения

Сроки обследования	Число обследованных	ПИ	ПМА	ГДК мм	Гигиеническое состояние полости рта		
					Ф-В	Г-В (зуб нал.)	Г-В (зуб кам.)
До лечения	27	$4,81 \pm 0,27$	$2,57 \pm 0,1$	$3,68 \pm 0,24$	$3,7 \pm 0,15$	$2,26 \pm 0,1$	$2,11 \pm 0,1$
3-4 недели после лечен.	27	$1,91 \pm 0,29$	$0,62 \pm 0,1$	$2,46 \pm 0,2$	$1,53 \pm 0,1$	$0,58 \pm 0,1$	$0,07 \pm 0,01$
3 мес. после лечения	27	$1,97 \pm 0,29$	$0,69 \pm 0,1$	$2,51 \pm 0,2$	$1,69 \pm 0,1$	$0,66 \pm 0,1$	$0,12 \pm 0,04$
6 мес. после лечения	27	$2,15 \pm 0,34$	$0,85 \pm 0,1$	$2,65 \pm 0,2$	$1,81 \pm 0,1$	$0,87 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,04$
12 мес. после лечения	27	$2,3 \pm 0,29$	$1,1 \pm 0,1$	$2,75 \pm 0,2$	$1,97 \pm 0,19$	$1,02 \pm 0,1$	$0,34 \pm 0,04$

снующность, кровоточивость, зуд, боль и парестезия десен. При этом выраженное клиническое улучшение имело место у 25 больных из 27. У двух больных лечение оказалось неэффективным. Спустя 3, 6 и 12 месяцев после лечения значения этих показателей оставались достоверно меньшими, чем до лечения ($P < 0,001$, см. табл.) При этом не отмечалось существенных различий в показателях в сроки 3—4 недели после лечения ($P > 0,05$).

Результаты проведенного исследования позволили прийти к заключению, что примененные нуклеиата натрия по видоизмененной методике обеспечивает стабильный терапевтический эффект; при генерализованных поражениях тканей пародонта в комплексе мер общего характера, направленных на нормализацию тканей пародонта и иммунологического состояния организма, целесообразно включение нуклеиата натрия по описанной методике.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Земсков М. В., Земсков В. М., Гурина З. А., Неробеев А. И. *Стоматология*, 2, 23—25, 1982.
2. Земсков А. М., Земсков В. М., Петров А. В., Никитин А. В. *Иммунология*, 1, 52—55, 1981.
3. Земсков А. М., Передирый В. Г., Земсков В. М. и др. *Гер арх.* 4, 55—58, 1982.
4. Мадинаевская Л. А., Журавлева Н. В. *Стоматология*, 6, 48—50, 1985.
5. Максимовский Ю. М., Нортнов Ф. Г., Змудже В. А. *Стоматология*, 3, 20—21, 1989.
6. Мищенко И. С. *Стоматология*, 2, 18—21, 1975.
7. Мищенко И. С. *Стоматология*, 1, 23—25, 1981.
8. Хазанова В. В., Земская Е. А. В кн.: *Современные проблемы заболеваний пародонта*, 87—90, М., 1976.
9. Wilton M. A., Lehner Th. В кн.: *Последние достижения в клинической иммунологии*. Под редакцией Р. А. Томпсона 496, М., 1983.
10. Page R. C., Schroeder H. E. *J. of Periodont.*, 52, 477—487, 1981.

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ АССОЦИИИ КАЛЛЮСНЫХ КУЛЬТУР БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ СО СПЕЦИФИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ

С. А. САРКИСЯН, А. Г. ГАЛСТЯН, М. Г. ШАМЦЯН,
Дж. А. АГАДЖАНИЯН, Ю. Г. ПОПОВ

Ереванский государственный университет,
кафедра физиологии и анатомии растений

Установлено, что проникновение клубеньковых бактерий в клетки каллюсных культур осуществляется с помощью образований, напоминающих межклеточные инфекционные нити.

Ուսումնասիրվել է բուսական և միկրոբային կոմպոնենտների սուբմիկրոսկոպիկ կառուցվածքը սոյայի և ապուլայի արմատային ծագում ունեցող կալլուսային նյութաբանների և պեկտինիկ սյուղարարակտերիաների ասոցիացիաներում:

Պայտարարակտերիաների ներթափանցումը կալլուսային նյութաբան իրանառոգված և միկրոբային վարակման թվեր հիշեցող կառուցվածքների օրնոթյամբ:

Submicroscopic organization of plant and bacterial components of soy and alfalfa callus cultures originated from roots and associated with the specific strains of nodule bacteria was studied.

Penetrations of the nodule bacteria in the callus culture cells is realised by means of some formations similar to intercellular infections threads.

Бактерии клубеньковые—каллюсная культура—инфекционная нить.

При изучении симбиотической азотфиксирующей активности клубеньковых бактерий в условиях *in vitro* с успехом используются каллюсные культуры бобовых растений различного происхождения. Установлено, что в ассоциации каллюсных культур со специфичными штаммами клубеньковых бактерий азотфиксирующая активность значительно выше [4, 5, 8]. Она заметно снижается при использовании неспецифичных штаммов клубеньковых бактерий [6]. С этой точки зрения изучение ультраструктуры ассоциации каллюсных культур со специфичными штаммами клубеньковых бактерий представляет определенный научный интерес.

Целью данного исследования являлось изучение субмикроскопической организации как растительного, так и микробного компонентов ассоциации каллюсных культур сои и люцерны со специфичными штаммами клубеньковых бактерий.

Сделана попытка выявления проникновения клубеньковых бактерий в клетки каллюсных культур сои и люцерны.

Материал и методика. Исследования проводили на каллюсных культурах люцерны сорта Апаранская-40 и сои сорта Переловой корневого происхождения. Каллюсные ткани культивировали на средах Бутенко с соевт. [2] и МБ-5 [3]. Бобово-ризобияльные ассоциации создавали на этих же средах с использованием *Rhizobium japonicum* шт. 13264, 21/67 и *Rhizobium meliloti* шт. 646, 50/72, полученных из Института микробиологии АНА. Каллюсная ткань люцерны сорта Апаранская-40, ассоциированная со специфичными штаммами клубеньковых бакте-

рий, имеет светло-желтый цвет, полурыхлую, значительно ослабленную консистенцию, легко распадается на отдельные кусочки. Каллюсная ткань сои сорта Переловой в ассоциации с *Rh. japonicum* беловато-желтого цвета, также имеет полурыхлую консистенцию. Для электронномикроскопических исследований объект фиксировали глутаральдегидом и дофиксировали 2%-ным раствором OsO_4 . После обезвоживания в растворах спиртов подходящей концентрации материал зашивали в смесь эпона и араалдита. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме марки «УМТН-4», контрастировали цитратом свинца по Рейнвальду [11] и изучали в электронном микроскопе марки «УЭМ-17» при инструментальном увеличении в 20000–40000 \times .

Результаты и обсуждение. На ультратонких срезах субмикроскопическая организация клеток ассоциированной ткани как сои, так и люцерны, значительно отличается от ультраструктуры клеток неассоциированного каллюса сои и люцерны (контроль). Так, клетки каллюсов контрольного варианта имеют продолговатую, реже округлую форму. Их цитоплазма занимает пристенное положение. Вакуоли довольно крупные. Матрице цитоплазмы уплотненный, содержит в большом количестве осmioфильные гранулы высокой электрооптической плотности, представляющие собой рибосомы. Эндоплазматическая сеть представлена как гранулярной, так и агранулярной формами. Следует отметить, что элементы эндоплазматической сети в основном локализованы по периферии клетки, у цитоплазматической мембраны. В клетках каллюсов как сои, так и люцерны обнаружены многочисленные митохондрии, которые в основном имеют овальную или округлую форму с отчетливо выраженными кристами (рис. 1). На некоторых ультратонких срезах был вы-



Рис. 1. Фрагмент клетки каллюсной ткани сои. М—митохондрии, Р—рибосомы, Эс—эндоплазматическая сеть. Ув. 120000

явлен процесс деления митохондрий. Пластиды в довольно большом количестве представлены в виде амиллопластов, которые содержат крупные гранулы крахмала (рис. 2). Зафиксированы отдельные моменты процесса деления пластид. Цитоплазма содержит также гра-

кулы липидов, которые расположены неравномерно. В клетках изученных каллюсов обнаружены диктиосомы (рис. 3).

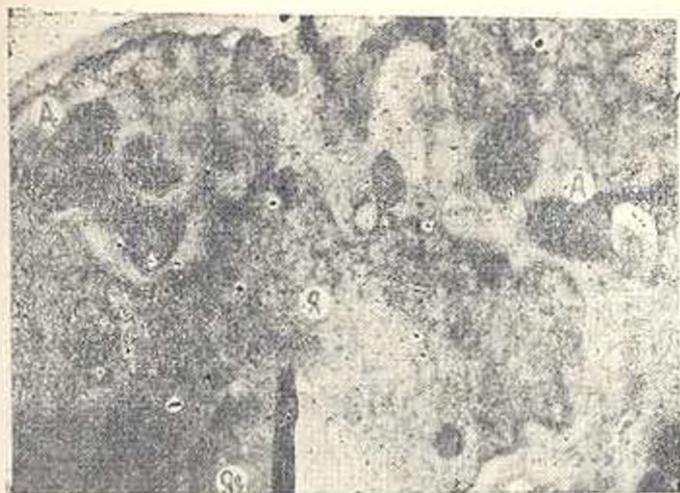


Рис. 2. Фрагмент клетки каллюсной ткани люцерны. А—амилопласты, Я—ядро, Яд—ядрышко. Ув 85000.

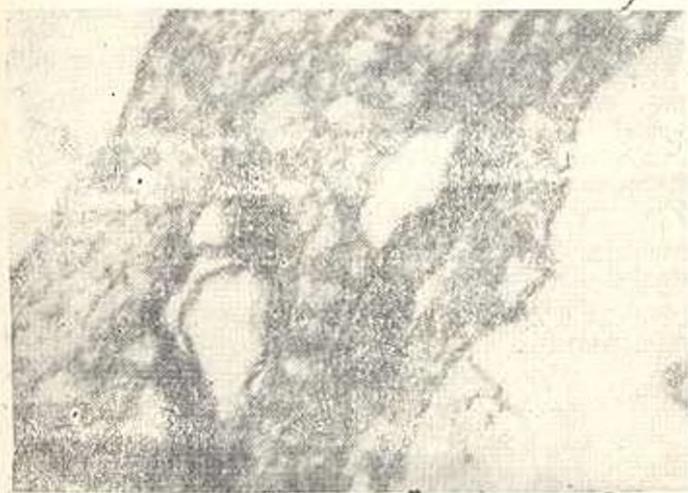


Рис. 3. Диктиосомы в клетке каллюсной ткани сои. Ув 110000.

Каллюсы как сои, так и люцерны содержали одно- и двухъядерные клетки, что подтвердилось также методами цитохимического анализа. Ядра чаще всего имеют продолговатую или неопределенную форму с отчетливо выраженной оболочкой. Последняя, трехслойная, состоит из двух осмиофильных и одного осмиофобного слоев. Выделяются поры оболочки ядра. Хроматин расположен неравномерно в виде скоплений (рис. 4).

Субмикроскопическая организация клеток ассоциации каллюсов сои и люцерны с *Rhizobium* имеет некоторые особенности. Так, в изученных ассоциациях клетки каллюсов достигают огромных раз-

меров. Вакуоли увеличены, в результате чего цитоплазма более узким слоем занимает пристенное положение. Резко изменена ультраструктура матрикса цитоплазмы клеток. Органеллы клетки с трудом выявляются, их количество значительно уменьшается. Рибосомальный аппарат слабо развит. Уменьшается количество рибосом.



Рис. 4. Фрагмент ядра каллюзной ткани сои: Дя — оболочка ядра. Пя — поры оболочки ядра. Ум — 145000

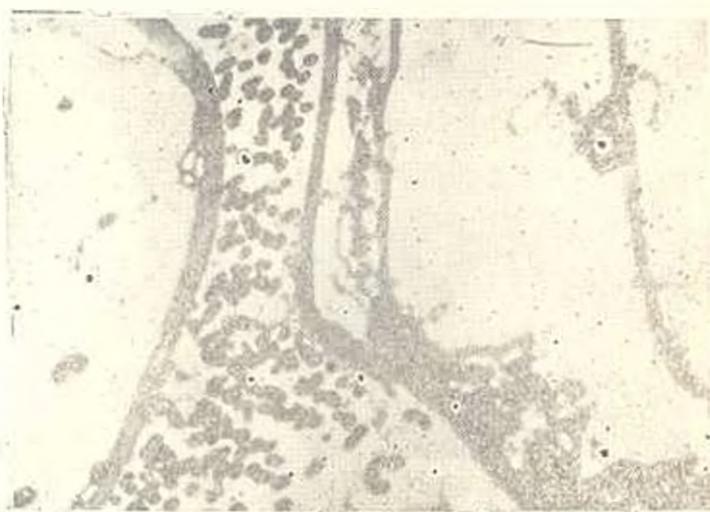


Рис. 5. Инфекционная нить в ассоциате каллюзной ткани сои с клубеньковыми бактериями. Ум — 100000

На ультратонких срезах были выявлены образования, напоминающие межклеточные инфекционные нити. Подобные инфекционные нити были обнаружены также при заражении зернового экссантата сои клубеньковыми бактериями [9]. Видимые сами образования не имеют собственной оболочки. Их оболочка образуется при объединении отдельных фрагментов оболочек соседних клеток (рис. 5). Она значительно утолщена по сравнению с оболочками клеток мак

росимбионта. Матрикс инфекционных нитей состоит из гомогенного компонента средней электроннооптической плотности. Однако были обнаружены также инфекционные нити, матрикс которых состоит из тонкофибриллярного компонента. Подобное строение инфекционной нити описано также Яковлевой [7] в опытах *in vivo* с инфицированным корневой системы бобовых растений клубеньковыми бактериями. В ассоциациях калякусов сои и люцерны с *Rhizobium* были выявлены клубеньковые бактерии, а также их бактеронды. Бактерии различной формы окружены трехслойной клеточной стенкой и трехслойной цитоплазматической мембраной, т. е. имеют строение типичных грамтрицательных бактерий. В них обнаружены вакуоли, содержание которых имеет низкую электроннооптическую плотность. Они, возможно, содержат запасные вещества липидной или полисахаридной природы. Подобная ультраструктура описана также у клубеньковых бактерий, находящихся в инфекционных нитях бобово-зобинальной ассоциации [3]. В инфекционных нитях и клетках изученных ассоциаций клубеньковые бактерии размножаются перетяжкой и почкованием (рис. 6).



Рис. 6. Преплет почкования клубеньковой бактерии в инфекционной нити. Ул. 126900.

Бактеронды, которые были обнаружены как в инфекционных нитях, так и в клетках ассоциации, отличаются по своей ультраструктуре от типичных бактерий. Они довольно крупные, имеют различную форму: продолговатую, овальную, округлую, неопределенную. Матрикс цитоплазмы у них значительно уплотненный, содержит большое количество осевых гранул, представляющих собой рибсомы. Обнаружены также гранулы липидов и включения типа волютина. Кроме того, в отличие от бактериальных форм в бактерондах обнаружены образования, которые имеют гомогенный матрикс средней электроннооптической плотности, аналогичный матриксу бактериальных спр. Описание образований по ультраструк-

туре сходны с артриспорами, которые образуются в бактероидах [8].

Установлено, что клубеньковые бактерии, а также бактериоды, находящиеся в инфекционных нитях, постепенно переходят в клетки каллюсных тканей сои и люцерны. Выход клубеньковых бактерий из инфекционных нитей и вход в цитоплазму клеток изученных каллюсов происходит путем, подобным пиноцитозу. Были зафиксированы отдельные моменты формирования пиноцитозных вакуолей.

Таким образом, выявлено сходство в ультраструктурах ассоциации в естественных условиях и ассоциативных культур бобовых растений со специфичными штаммами клубеньковых бактерий *in vitro*. Последние можно использовать как модель для изучения различных вопросов азотфиксации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутенко Р. Г., Гусев М. В., Киркин А. Ф., Корженевский Г. Г., Маркарова Е. И. Клеточная инженерия, кн. 33, сер. Биотехнология, под ред. Егорова И. С., Самуилова В. Л. М., 52, 58, 1987.
2. Бутенко Р. Г., Холодова В. П., Урманцева В. В. Физиология растений, III, 5, 926—936, 1972.
3. Маршавина Э. В., Севрук О. Г., Щербакова Е. И., Томикин Э. С., Зирцман О. И. Биолог. ж. Армении, 26, 6, 13—18, 1973.
4. Машуртик Е. И., Шильникова В. К. Клубеньковые бактерии и шокуляционный процесс. М., 1973.
5. Ничик М. М. Физиол. и биохим. культ. растений, 14, 2, 143—147, 1982.
6. Ничик М. М. Тез. докл. IV Всес. конф. 179, Кишинев, 1983.
7. Шмаханова Н. М., Бонарцева Г. А. Изв. АН СССР, сер. биол., 1, 151—154, 1971.
8. Эквалба Э. М. Бактероиды клубеньковых бактерий. М., 1975.
9. Dādarwal K. R., Prabha Shashi, Tazro P. Curr. Sci. (India), 48, 14, 647—649, 1979.
10. Holsten R. D., Burns R. C., Hardy R. W. F., Hebert R. R. Nature, 232, 5307—5308, 1971.
11. Reynolds R. S. cell bio., 17, 208—212, 1976.

Получено 21 III 1991 г.

О ДЕЯТЕЛЬНОСТИ КАМБИЯ У ДРЕВЕСНО-КУСТАРНИКОВЫХ РАСТЕНИЙ

В. А. ПАЛАНДЖЯН, С. Е. ХАЧАТРЯН, Г. Г. МАРГАРИН

Институт ботаники АН Армении, Ереван

Установлено, что деятельность камбия и структурно-функциональная организация древесины и луба связаны в основном с генетическими и физиологическими факторами, которые составляют регуляторную систему, определяющую характер деятельности камбия—сроки, ритм, продолжительность его работы, исключительность образования элементов луба, древесины и др.

Ուսումնասիրվել է գեղեցկացիայի բննացրում կամրիպ շրտվածքի գործունեությունը օրինակի և հիմնայի մեղքորման պրոցեսում, տարբեր կառուցվածքի ջրատար համակարգ սեղեղոյ ծառերի և թիփերի մոտ:

Ճուշտ է արված, որ կամրիտների գործունեությունը բնափայտի և լուրի մեղքորման պրոցեսում պայմանավորված է հիմնականում գենետիկական և ֆիզիոլոգիական գործոններով, որոնք համասեղ սեղծելով կարգավորիչ համակարգ, բնորոշում են կամրիտների գործունեության րեսուլթը՝ երա աշխատանքի ժամկետները, ռիթմը, տեղությունը, լուրի և բնափայտի էրմենտների առաջացման ճարդականությունը և այլն:

The activity of cambium of the trees and shrubs with different types of organization of water-supply system was studied.

It is shown, that the activity of cambium is basically connected with the genetic and physiologic factors, which form the regulatory system determining the nature of cambium—the dates, rhythm, duration, the succession of formation of the wood and bast elements.

Растения древесно-кустарниковые—кажый—кислело—флора.

Деятельность камбиальной ткани—сложный, многогранный процесс, который контролируется генетическим аппаратом, благодаря чему обеспечиваются видосые или родовые особенности строения древесины и коррелируются с внутренними—физиолого-биохимическими и внешними условиями среды [1, 3, 7, 8].

Работа камбия в течение вегетации связана с почкообразованием, облиственностью, плодоношением, листопадом и др. [6, 13—15].

Ряд авторов, изучая связь камбиальной деятельности с работой фотосинтетического аппарата, установили, что для формирования нормального строения древесины камбий нуждается в хлорофиллодержущих органах, хотя и факторы, стимулирующие деятельность камбия, не специфичны [5, 9, 10]. Выявлено, что в процессе онтогенеза у растений с кольцесосудистой древесиной камбий откладывает элементы до распускания почек, причем сверху вниз по стволу в довольно короткий срок. У рассеяннососудистых он пробуждается после распускания почек, и с верхушки до корневой шейки деятельность его распространяется сравнительно медленно [3, 7].

На темп и продолжительность деятельности камбия влияют климатические условия произрастания, высота кустистости над уровнем

моря, с увеличением которой деятельность его задерживается [7, 10].

Об очередности деятельности камбия в сторону ксилемы или флоэмы существуют многочисленные данные, свидетельствующие о влиянии физиологически активных веществ на деление, растяжение и на направление дифференцировки камбияльных клеток.

Для функционирования камбия необходим набор питательных веществ, вещества гормональной природы и витаминов, т. е. факторов, необходимых для построения тела растительной клетки и поддержания синтеза ферментов [4, 5, 8, 11]. Дёрфлинг [2] показал, что на дифференцировку клеток определенное влияние оказывает количественное соотношение гормонов и отношение их к органическим веществам, при этом под воздействием ауксинов стимулируется образование ксилемных элементов, а при добавлении в эту же среду сахарозы образуются и флоэмные [12—15]. Можно привести и другие примеры деятельности камбия, так как за последние 20—30 лет проведены детальные исследования и накоплен большой фактический материал, но справедливо рази отметим, что многие вопросы освещены не полностью, а имеющиеся сведения требуют существенного уточнения.

Целью настоящей работы явилось выявление характера деятельности камбия в процессе формирования ксилемы и флоэмы у деревьев и кустарников с различным типом организации водопроводящей системы и связи с фазами их развития.

Материал и методики. Работа проводилась в Ереванском ботаническом саду на древесных растениях в возрасте 40—50 лет, кустарниках 15—20 лет. Изучались породы с кольцесосудистой структурой древесины — ильм эллиптический (*Alnus elliptica* C. Koch), ясень обыкновенный (*Fraxinus excelsior* L.), форзиция промежуточная (*Forsythia intermedia* Zabel.), карага крупноцветковая (*Caragana grandiflora* DC.). Арабис обыкновенный (*Berberis vulgaris* L.) с радиальнососудистым строением, где водопроводящие элементы рассеяны в толще годичного слоя, но образуют рисунок в клетках и отводах. Ясень трахаловый (паренхимный) — липа казкая (*Lilja caucasica* Kupr.) и клен полевой (*Acer campestre* L.), кизил (*Cornus mas* L.).

Результаты и обсуждение. Данные анатомического анализа показали, что исследованные нами растения имеют много общего в механизме функционирования камбия, обнаруживая в то же время некоторые различия в сроках пробуждения его, темпе и продолжительности работы, в интенсивности дифференциации элементов ксилемы, флоэмы и др.

Установлено, что существует прямая зависимость между реактивацией камбия весной и набуханием или распусканьем вегетативных почек. При этом, когда растение вначале зацветает, затем у него распускаются листья (форзиция, кизил), камбий задерживает свою работу и начинает функционировать лишь с набуханием почек, с появлением листочков. Цветочные почки или цветки своим присутствием в основном не стимулируют деятельность камбия. Вместе с тем у одних пород (ильм, караган) он начинает работать до распусканья почек, когда они визуально почти неизменны, у других (кизил, форзиция) — после распусканья, а у третьих (липа) — одновременно с набуханием по-

чек. Выявлено также, что независимо от последовательности раскрытия цветочных и листовых почек у пород с кольцесосудистым строением древесины (ильм, ясень, карагана, форзиция) в направлении ксилемы от однолетних побегов до корневой шейки деятельность камбия распространяется всего за несколько дней, а у пород с рассеяннососудистым строением (клен, кизил, липа) этот процесс протекает медленно, в течение 30 и более дней.

Особого внимания заслуживает то обстоятельство, что в прогнуположность ксилемным флоэмные элементы во всех ярусах стволов и ветвей исследуемых растений формируются одновременно. Это обусловлено механизмом функционирования ланнол ткани, так как для работы ситовидных сосудов необходима непрерывность цитоплазмы в рядах последовательно расположенных проводящих элементов, и в то же время прошлогодние сосуды флоэмы (за исключением липы кавказской) в конце осени данного года облитерируются и далее не проводят органические вещества по стеблю.

Примечательной особенностью камбия является и то, что независимо от типа организации проводящей системы он показывает неодинаковую последовательность образования и развития структурных элементов. Так, у представителей с кольцесосудистым строением древесины в зоне инициальных клеток в первую очередь формируются водопроядающие элементы, затем окружающие их клетки паренхимной и механической тканей, т. е. морфологическая программа камбиальных инициалей в постоянные элементы детерминируется с различной интенсивностью. Между тем у рассеяннососудистых пород зона инициальных клеток дифференцируется одновременно, элементы различного назначения формируются синхронно. Нет сомнений, что подобная организация строения древесины связана с историческим происхождением и функциональным значением отдельных элементов.

Некоторые особенности камбиальной деятельности в связи с физиологическим состоянием растений можно проиллюстрировать на примере липы кавказской и дерезы крупноветковой.

Липа кавказская—рассеяннососудистая порода с элатрахеальной паренхимой. Весной, когда набухают листовые почки, камбий реактивируется, интенсивно откладывая ранние элементы ксилемы и флоэмы. В дальнейшем, в период формирования листьев, его деятельность значительно замедляется, процесс новообразования элементов снижается, но происходит усиление дифференциации в координатных клетках и превращение паренхимных клеток прошлого года в склеренхимные. С завершением роста листьев и наступлением относительного покоя деятельности камбия последний вновь активизирует свою работу, образуя элементы поздней древесины и зону ситовидных сосудов со спутниками и паренхимными клетками во флоэме. Деятельность камбия продолжается и при распускании цветков, она проявляется в формировании новых элементов ксилемы и флоэмы. Далее, в период созревания семян, когда потребность в ассимилятах у них усиливается, стебель аккумулярованные в нем органические вещества отдает созревающим семенам, вследствие чего деятельность камбия замедляется. Как ни па-

радоксально, однако, у пород, для которых характерно вначале цветение, плодоношение, а затем лишь облиственное, камбий интенсивно начинает функционировать с появлением на ветвях листьев, что свидетельствует о влиянии ферментативного аппарата на его деятельность. В связи с этим следует отметить, что у ясеня пенсильванского в течение вегетации при неоднократной дефолиации нарушается нормальная деятельность камбия, но каждый раз с появлением новых листьев он возобновляет ее, образуя новые кольца просветов из гораздо малых размеров сосудов.

Установлено, что у всех исследованных нами деревьев формирование ксилемы в ветвях заканчивается гораздо раньше, чем в стволе. При этом в нижних ярусах ствола образование более широких годовичных колец обусловлено продолжительной и интенсивной работой камбия, что имеет функциональное значение для растения в целом. В пределах годовичного кольца ранняя древесина формируется в более короткий срок, за счет органических веществ прошлого года, поздняя—продолжительнее, за счет ассимилятов данного года.

Аналогичные данные получены при исследовании деятельности камбия у караганы древовидной. Это кольцесосудистая порода с паратрахеалидой паренхимой. Ранней весной, когда почки на ветвях визуально еще не изменились, камбий уже многослойный, клетки его имеют густую цитоплазму и очень выраженные ядра. С разбуханием листовых почек камбий начинает интенсивно функционировать, откладывая в сторону древесины водопроводящие элементы, во флоэму—группы ситовидных сосудов с паренхимными клетками. Вскоре межсосудистые пространства древесины заполняются элементами механической и паренхимной ткани (рис. 1).

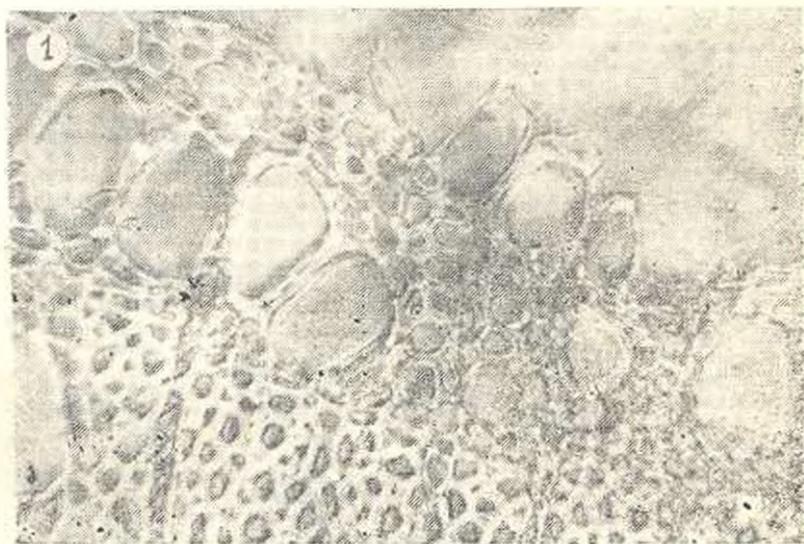


Рис. 1. Камбий интенсивно откладывает элементы древесины—сосуды и окружающие их паренхимные клетки. Ув. 1200х.

В дальнейшем, с появлением листьев и их ростом деятельность камбия постепенно замедляется, но происходит дифференциация новообразованных ксилемных и флоэмных элементов. В период же набухания цветочных почек она восстанавливается и одновременно идет



Рис. 2. В древесине образовано кольцо просветов прошлой древесины и группы сосудов этой древесины. Ув. 300х.

интенсивная дифференциация всех типов клеток. На данном этапе развития наблюдается кольцо просветов прошлой древесины (рис. 2) с паренхимными клетками и волокнами либриформы, а также группы сосудов прошлой древесины. В лубе формируются слои ситовидных эле-



Рис. 3. Годичное кольцо полностью сформировано, в лубе образовались два слоя ситовидных элементов с толстостенной склеренхимой. Ув. 300х.

ментов, между которыми располагаются ряды толстостенных клеток склеренхимы (рис. 3).

В период образования плодов и семян камбий почти прекращает функционировать, причем в верхних ярусах ветвей он уже однослойный, в нижних—частично многослойный. Рядом же с камбием, в направлении флоэмы появляются клетки с косорасположенными стенками.

Особый интерес представляет тот факт, что у всех исследованных деревьев и кустарников осенью или в конце лета, когда камбий заканчивает свою работу и потребность этой ткани в ассимилятах прекращается, четко прослеживается ослабление напряженности цитоплазматических плазмодесм в ситовидных элементах. Это приводит к постепенному прекращению функционирования и, следовательно, ситовидные элементы теряют жизнеспособность, подвергаясь облитерации. А между тем в этот период большую активность проявляет система лучевой и тяжевой паренхимы, осуществляющая весь процесс транспортировки пластических веществ из листьев в живые клетки древесины осевых органов растений.

Все сказанное с очевидностью подтверждает, что в течение вегетации деятельность камбия коррелирует с физиологическим состоянием растения в целом. Она гармонирует с протекающими процессами: с набуханием листовых почек, с ростом и развитием листьев, с плодоношением и т. д.

В процессе эволюции последовательность фенофаз у различных растений складывалась по-разному. У одних растений вначале происходит цветение, затем появляются листья, у других, напротив, в первую очередь развиваются листья, у третьих листья и цветки раскрываются одновременно. Однако во всех случаях начало деятельности камбия совпадает с развитием именно вегетативных почек, цветочные же и цветки в этом процессе почти не принимают участия.

Характерной особенностью камбия является неодинаковый темп его деятельности в двух направлениях осевых органов—в радиальном и вертикальном. В сторону ксилемы камбий обычно работает более активно, чем в направлении флоэмы, в результате чего диаметр годичных колец всегда шире флоэмных. Вместе с тем неодинакова активность камбия в сторону ксилемы и флоэмы базипетально. Установлено, что в сторону флоэмы во всех ярусах ветвей он функционирует одновременно, откладывая проводящие трубки в одно и то же время и обеспечивая тем самым транспорт пластических веществ сверху вниз. В сторону же ксилемы деятельность камбия осуществляется постепенно, притом у разных пород с различной интенсивностью. Здесь важную роль играет эволюционно-структурный характер организации водопроводящей системы, т. е. кольцесосудистость и рассеяннососудистость. В этом аспекте следует также отметить, что у кольцесосудистых пород морфологическая программа инициальных клеток различной функциональной значимости детерминирована с разной скоростью, в то время как у растений с рассеяннососудистым строением древесины инициальная зона дифференцируется синхронно.

Таким образом, деятельность камбия в структурно-функциональной организации древесины и луба у древесно-кустарниковых растений связана в основном с генетическими и физиологическими факторами, которые составляют регуляторную систему, определяющую характер деятельности камбия—ритм, сроки, продолжительность его работы, последовательность образования элементов луба, древесины и т. д. Одновременно камбий реагирует на любые длительные или кратковременные изменения окружающей среды, разрывая соответственно сложную систему и обеспечивая тем самым гомеостаз растений в целом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонова Г. Ф., Шабко В. В., Маджуга Е. С. Химия древесины. Рига, 1, 16—22, 1983.
2. Дерфлинг К. Гормоны растений. 267, М., 1985.
3. Кандевики А. А. Тр. Тбилиск. ин-та лес., 18, 160—168, 1971.
4. Кулаева О. И. Цитокинины: их структура и функция, 263, М., 1973.
5. Курсанов А. П. Транспорт ассимилятов в растениях, 646, М., 1976.
6. Лебедевко Л. А., Яценко-Хмельский А. А. Тез. докл. VI делегатского съезда Всес. бот. общ., Кашинев, 1978.
7. Лобжанидзе Э. Д., Кандевики А. А. Лесной журнал, 1, 126—128, 1971.
8. Меньшило Л. Н. В кн.: Физиолого-биохимические особенности древесных растений Сибири, 6—13, М., 1971.
9. Паладжили В. А., Хачатрян С. Е., Мадатян О. А. Тез. докл. междунац. научн. конф., Кишинев, 1981.
10. Паладжили В. А. Тез. докл. Всесоюз. конф. по Физ. и эколог. аспекты эволюции жизни, форм., Ереван, 1988.
11. Судачкова Н. Е. Метаболизм хвойных и формирование древесины. 229, Новосибирск, 1977.
12. Alfieri F. J., Mattola P. M. Bot. Gaz., 114, 2, 247—248, 1983.
13. Jacquin C. G. Acad. agr. Fr., 69, 568—571, 1983.
14. Mironč Anton Drev. v vysk., 23, 2—3, 23—46, 1981.
15. Van K. S., Dave J. S. Nord. J. Bot., 1, 4, 53—512, 1981.

Получено 28 VI 1990 г.

Биолог. журн. Армении, № 1 (45) 1992

УДК 633.71:575.222.78

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ У ТАБАКА

В. А. МАРКАРЯН

Армянский сельскохозяйственный институт, Ереван

Растение табака—селекция—генетические корреляции.

В селекции табака исключительное значение придается сопряженности количественных признаков, определяющих продуктивность и качество табачного сырья. Вопрос актуален, поскольку при выведении интенсивных сортов и гибридов увеличение продуктивности необходимо сочетать с требуемым качеством сырья. Преследуя эту цель, селекционеру приходится часто нарушать реально существующие корреляции признаков, а при сильных отрицательных корреляциях отбор по одному признаку, без учета других, приводит к нежелательным последствиям. Поэтому информация о генетической сопряжен-

ности селективируемых признаков при разработке эффективных методов селекции крайне необходима.

Проведенные в этом направлении исследования показали, что большинство количественных признаков, определяющих продуктивность и качество табачного сырья, взаимосвязаны, и в зависимости от генотипа скрещиваемых пар и условий выращивания коэффициенты корреляций между одноименными признаками существенно отличаются и даже имеют разную направленность [5—12]. На материале отечественной селекции табака определены только коэффициенты фенотипических корреляций и отсутствуют работы по изучению генетических корреляций, хотя при разработке селекционных программ последние представляют наибольший интерес [1—3].

Материал и методика. Исходным материалом для исследования служили семь сортов табака (Самсун 36, Самсун 959-11, Трапезонд 10, Трапезонд 42, Остролест 14, Юбилейный и Имунный 580), их 42 прямых и реципрокных гибрида первого поколения, которые в 1981—1982 гг. изучались в четырехкратной повторности на экспериментальной базе Армянской опытной станции по табаку ИПО «Табак». В каждую повторность включали 49 вариантов. Все варианты размещали по принципу полной рандомизации и каждый из них занимал площадь 7 м².

Коэффициенты генетических (r_g), фенотипических (r_p) и паратипических (r_p) корреляций вычисляли методом ковариационного анализа [4].

$$r_g = \frac{Cov_{g(xy)}}{\sqrt{Var_{g(x)} \cdot Var_{g(y)}}, \quad r_p = \frac{Cov_{p(xy)}}{mS_{I(x)} \cdot mS_{I(y)}}, \quad r_c = \frac{Cov_{c(xy)}}{mS_{c(x)} \cdot mS_{c(y)}}$$

Результаты и обсуждение. Анализ полученных данных показал, что вычисленные коэффициенты корреляции между одноименными признаками заметно различаются (табл. 1 и 2). Из 110 случаев в 92 r_p превалирует над r_g , в 17 случаях $r_p > r_g$ и только в одном — $r_g = r_p$ (количество листьев × содержание сухого вещества).

Таблица 1. Генетические, фенотипические и паратипические корреляции продуктивных признаков

Признак	Корреляция	Количество листьев		Длина листа		Ширина
		1981 г.	1982 г.	1981 г.	1982 г.	1981 г.
Высота растений	r_g	0,442***	0,330***	0,107	0,150*	0,095
	r_p	0,131**	0,311***	0,033	0,202**	0,155*
	r_c	0,114***	0,314***	0,730***	0,609***	0,613***
Количество листьев	r_g			0,722***	-0,553***	-0,699***
	r_p			0,670***	0,326***	-0,664***
	r_c			0,251**	0,322***	0,230**
Длина листа	r_g					0,659***
	r_p					0,672***
	r_c					0,477***
Ширина листа	r_g					
	r_p					
	r_c					
Период посадки	r_g					
	r_p					
	r_c					
Темп листообразования	r_g					
	r_p					
	r_c					

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

Обнаруживаются также факты, когда у одних и тех же признаков генетические корреляции высокодостоверны, а фенотипические — недостоверны (6 случаев). Обратное явление отмечено в одном случае (высота растений × ширина листа).

Из табл. 1 видно, что высота растений положительно коррелирует с количеством листьев, периодом посадки — цветения и продуктивностью. Это означает, что чем выше растения, тем больше листьев, тем они продуктивнее, но чем больше листьев на растении, тем меньше их размеры (они короче и уже), тем растение более позднеспелое.

Выявляется сильная отрицательная корреляция количества листьев с темпом листообразования и продуктивностью. Чем больше листьев на растении, тем ниже абсолютный показатель темпа, т. е. выше темп листообразования и растение малопродуктивно, поскольку площадь ассимиляционной поверхности листа уменьшается.

Длина листа обнаруживает сильную положительную корреляцию с его шириной, темпом листообразования и продуктивностью, т. е. данный признак — важный компонент продуктивности.

Темп листообразования обнаруживает сильную положительную корреляцию с продуктивностью, средней силы корреляцию — с периодом посадки — цветения.

Из табл. 2 видно, что между содержанием никотина и высотой растений, шириной листа, периодом посадки — цветения, темпом листообразования, продуктивностью, содержанием сухого вещества существуют сильные отрицательные корреляции, а в зависимости от условий выращивания — слабые корреляции с количеством и длиной листа, которые по годам имеют как положительные, так и отрицательные значения. Особенно высокие отрицательные корреляции наблюдаются с периодом посадки — цветения.

таблица 1

Листа	Период посадки-цветения		Темп листообразования		Продуктивность растений	
	1981 г.	1982 г.	1981 г.	1982 г.	1981 г.	1982 г.
0,306***	0,543***	0,563***	-0,023	-0,009	0,432***	0,216**
0,343***	0,502***	0,470***	-0,036	-0,039	0,409***	0,242***
0,607***	0,142*	-0,078	-0,141*	-0,299***	0,357***	0,323***
-0,629***	0,497***	0,277***	-0,622***	-0,802***	-0,264***	-0,484***
-0,581***	0,482***	0,267***	-0,624***	-0,769***	-0,195**	-0,394***
0,339***	0,206**	0,087	0,669***	-0,565***	0,158*	0,112
0,518***	0,070	0,198**	0,822***	0,641***	0,693***	0,812***
0,548***	0,072	0,163*	0,753***	0,576***	0,633***	0,722***
0,906***	0,122	0,282***	-0,143*	-0,431**	0,558***	0,459***
	-0,210**	0,170*	0,600***	0,698***	0,664***	0,559***
	-0,188**	0,140	0,532***	0,610***	0,620***	0,533***
	0,113	-0,185*	-0,157*	-0,56***	0,540***	0,525***
			0,361***	0,333***	0,425***	0,354***
			0,366***	0,360***	0,360***	0,249***
			0,456***	0,775***	0,087	-0,235***
					0,621***	0,689***
					0,486***	0,499***
					-0,050	-0,510***

Таблица 2 Генетические, фенотипические и паратипические корреляции продуктивности в ее структурных факторах с компонентами качества сырья табака

Признак	Корреляция	Содержание никотина		Содержание белка		Содержание углеводов		Содержание сухого вещества	
		1981 г.	1982 г.	1981 г.	1982 г.	1981 г.	1982 г.	1981 г.	1982 г.
Высота растений	r _g	0,142*	-0,16*	0,529**	0,125	0,084	-0,116	0,027	-0,095
	r _p	0,07	-0,13*	0,39***	0,059	-0,069	-0,096	0,027	-0,133
	r _e	0,182*	0,157	0,023	-0,067	0,112	0,118	0,001	-0,288***
Количество листьев	r _g	-0,147*	0,21**	0,057**	0,571**	0,066	-0,239***	-0,068	-0,555***
	r _p	0,126	0,269**	0,452***	0,39***	0,061	-0,235***	-0,068	-0,502***
	r _e	-0,073	0,154	0,014	-0,14*	0,029	0,019	-0,090	-0,120
Длина листа	r _g	0,093	-0,095	-0,063***	-0,697**	-0,188	0,066	-0,016	0,414***
	r _p	0,061	-0,060	-0,52***	-0,414***	-0,102	0,061	-0,013	0,323***
	r _e	-0,171*	-0,002	-0,052	-0,060	0,049	-0,075	0,102	-0,233**
Ширина листа	r _g	-0,250***	-0,516***	-0,30***	-0,275***	0,014	-0,061	0,166**	0,347**
	r _p	-0,211***	-0,81***	-0,275***	-0,202**	-0,013	-0,063	0,136	0,22**
	r _e	0,080	-0,01	-0,262**	-0,055	-0,405***	-0,079	-0,026	-0,402***
Период посадки-цветения	r _g	-0,470***	0,46***	0,272***	0,01	0,214***	0,159	0,012	0,295***
	r _p	-0,430***	0,230***	0,223**	0,009	0,29**	0,056	0,035	0,258**
	r _e	-0,045	0,369***	0,063	-0,145*	-0,009	0,010	-0,015	0,062
Темп листообразования	r _g	-0,304***	-0,418***	-0,522***	-0,447**	0,120	0,303***	0,127	0,706***
	r _p	-0,266***	-0,372***	-0,379***	-0,301**	0,109	0,293***	0,115	0,64**
	r _e	0,032	0,533***	0,110	-0,021	-0,002	-0,001	0,053	0,10
Продуктивность растений	r _g	0,179*	-0,216***	-0,155*	-0,300***	0,134	0,425***	0,221**	0,616**
	r _p	0,193**	-0,378***	-0,103	-0,236**	0,099	0,340***	0,156*	0,476**
	r _e	0,433***	-0,041	-0,016	-0,126	-0,095	-0,194**	-0,031	-0,166
Содержание никотина	r _g			0,222**	-0,322***	-0,393***	-0,226**	-0,365***	-0,211**
	r _p			-0,190**	-0,209**	-0,346***	-0,223**	-0,304***	-0,191**
	r _e			-0,104	0,163*	0,125	-0,047	-0,039	0,098
Содержание белка	r _g				0,175*	-0,042	0,165*	-0,047	-0,003
	r _p				0,153*	-0,045	0,168*	0,183*	0,083
	r _e				0,131	-0,157*	0,653***	0,470***	0,649***
Содержание углеводов	r _g							0,353***	
	r _e							-0,058	-0,241***

* P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001.

Содержание белков отрицательно сопряжено с продуктивностью и ее основными компонентами—размерами листа, темпом листообразования и содержанием сухого вещества. Выявлены положительные корреляции между содержанием белков и высотой растения, количеством листьев и периодом посадки—цветения. Интересно, что содержание белков отрицательно коррелирует с уровнем никотина, и в зависимости от внешних условий эта связь изменяется.

Сопряженность содержания углеводов с высотой растения, длиной и шириной листа очень слабая и имеет отрицательное значение. Установлены высокие положительные корреляции с содержанием сухого вещества и продуктивностью растений, а с остальными признаками обнаружены слабые корреляции, которые в зависимости от условий выращивания могут быть как положительными, так и отрицательными.

Между содержанием сухого вещества и продуктивностью, темпом листообразования, периодом посадки—цветения и шириной листа выявляются сильные положительные корреляции, а с количеством листьев в течение двух лет установлены отрицательные корреляции. В корреляциях с остальными признаками существенное значение играют условия года, в зависимости от которых сопряженность имеет как положительное, так и отрицательное значение. Следует также отметить, что в 1982 г. наблюдалось усиление корреляций, что в значительной степени является результатом действия окружающей среды.

Таким образом, можно заключить, что продуктивность табака положительно коррелирует с содержанием сухого вещества и углеводов, слабо и отрицательно—с содержанием никотина и белков, что способствует созданию продуктивных сортов и гибридов с высоким качеством сырья.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давидович С. Б. Тр. Детскосельской акклиматизационной станции, 7. 7—35, 1928.
2. Нерсисян П. М. Биол. журн. Армения, 37, 3, 216—220, 1984.
3. Цай С. Н. Селекция и семеноводство, 1, 22—23, 1985.
4. Hazel L. N., Lush J. L. Jour. of Heredity, 33, 393—399, 1942.
5. Jones G. L., Kenyon J. M. Tobacco, 17, 1961.
6. Matzinger D. F., Mann T. J. Proc. Third World Tobacco Sci. Congr., Salisbury, 357—365, 1963.
7. Matzinger D. F., Wernsman E. A. 5-th Congr. Int. Tob. Sci., 68—76, 1970.
8. Oka M., Eguchi K. Jap. J. Breeding, 15, 1, 47—52, 1965.
9. Povilaitis B. Can. J. Genet. Cytol., 7, 523—529, 1965.
10. Robinson H. F., Mann T. J., Comstock R. E. Heredity 8, 365—376, 1954.
11. Smatcelj B., Kozumplik V. Agron. Glas., 42, 3, 309—315, 1990.
12. White F. H., Pandeya P. S., Dirks V. A. Canad. J. Plant Sci., 59, 1, 111—120, 1979.

Поступило 19 VI 1990 г.

ВОДОРАСТВОРИМЫЙ КЛЕЙ ВК-1 КАК СРЕДСТВО ДЛЯ УНИЧТОЖЕНИЯ ЗИМУЮЩИХ ЯИЦ КРАСНОГО ПЛОДОВОГО КЛЕЩА (*METATETRANYCHUS ULMI*)

Э. С. АРУТЮНЯН, И. Б. ТАВАКАЛИАН*, М. Х. ШАХНАЗАРЯН

*Институт зоологии АН Армении, Ереван,
Ереванское отделение ОНПО «Пластполимер»

В качестве средства для уничтожения зимующих вредителей сада предлагается водорастворимый клей на основе сополимера винилацетата с акриловой кислотой (ВК-1)

Քույսերի պաշտպանության արդյունավետության բարձրացման, չբրտպատի միջավայրի պահպանության կանխման և օգտակար ֆունկցիոնալ պաշտպանության նպատակով որպես այդու կարմիր ազի մեկուս ձվերի ոչնչացման միջոց առաջարկվում է ВК-1 սուսիններ:

Ոռոգված արդյունքներից զուրկ ենք այն եզրակացություն, որ առաջարկվող նոր պրեպարատը պաշտպան այդու կարմիր ազի մեկուս ձվերի ոչնչացման գործում ունի բարձր արդյունավետություն: Հետևաբար, նրա օգտագործումը հանրապետության այգիներում ազի մեկուս ձվերի դեմ նպատակահարմար է և անհրաժեշտ:

For the improvement of plant protection against ticks, the prevention of pollution of the medium and the conservation of the helpful fauna a means for the destruction of the hibernating garden pests a water soluble glue ВК-1 is proposed.

From the experiments it is concluded that the proposed preparation ВК-1-01-10 for the destruction of the hibernating eggs of *Metatetranychus* is very effective. For this reason its utilization in orchards of the republic is useful and indispensable.

Защита растений—клевц красный плодовой—клей водорастворимый (ВК-1).

Средства для защиты растений от зимующих фаз и стадий вредителей, например, растительноядных клещей и насекомых, в виде ядовитых химических препаратов—технических масел, минеральных масел и нефтяных препаратов [3, 4]—токсичны, загрязняют окружающую среду, способствуют уничтожению полезной почвенной фауны в период дождей, а также трудоемки в приготовлении и требуют безотлагательного применения, так как в противном случае это вызывает ожоги растений. Основным же недостатком этих эмульсий является их невысокая эффективность в отношении уничтожения зимующих фаз и стадий клещей и насекомых.

Технические, минеральные масла и нефтяные препараты, применяемые для защиты растений, как правило, ядовиты для теплокровных животных.

В настоящем исследовании представлены результаты изучения возможности использования водорастворимого клея ВК-1 на основе сополимера винилацетата и кротоновой кислоты в качестве средства для уничтожения зимующих яиц красного плодового клеща.

Материал и методика. Исследования проводили в условиях лаборатории и плодового сада.

Водорастворимый клей (ВК-1) производится в соответствии с ТУ 6-05-05-326-88 путем растворения твердых отходов суспензионной сополимеризации винилацетата и кротоновой кислоты при нагревании до 40—50° в воде с добавкой 0,5—1%-ного аммиака до слабощелочной среды (рН 7,5—8,0). Указанные твердые отходы идентичны биерному сополимеру винилацетата с кротоновой кислотой, содержащему 11—12% звеньев кротоновой кислоты (ТУ 6-05-05-316-85), по всем показателям, за исключением размера частиц, которые у сополимера составляют 1—2 мм, а у отходов—более 2 мм в виде комков, слипшихся частиц.

Сополимер винилацетата с кротоновой кислотой практически нетоксичен, применяется в качестве косметических лаков, лосьонов и покрытий для фармацевтических препаратов [2]. Применяется для склеивания бумаги, картона, а также в качестве связывающих для водорастворяемых красок [1].

ВК-1 легко разбавляется водой, представляет собой слегка желтоватую вязкую жидкость с сухим остатком 18—25%, температурой замерзания ниже 0°С, при размораживании стабилен, срок хранения не менее 12 месяцев, препарат не взрывоопасен, не горюч, не представляет коррозионную опасность, после опрыскивания быстро высыхает. Рекомендуемая тара—алюминиевые бочки. Тару промывают водой.

Средство применяется путем растворения 5—8 мас. ч. ВК-1 в 100 мас. ч. воды. Для улучшения смачиваемости опрыскиваемой поверхности рекомендуется к препарату добавлять 12,5—20 мас. % (по отношению к ВК-1) эмульгатора ОП-10 (полиглицерольный эфир алкилфенолов). Это способствует также увеличению процента гибели зимующих яиц растительноядных клещей. ОП-10 является поверхностно-активным веществом, способствует плотному покрытию поверхности яиц и различных стадий животных, имеющих сильно выраженные липидоподобные покрытия.

Лабораторные опыты с применением ВК-1 проводились по методу Лившица и др. [3] с некоторыми изменениями. Веточки яблони с отложенными на них яйцами красного плодового клеща срезались незадолго до отрождения личинок и опрыскивались разными концентрациями ВК-1. Для обеспечения нормального развития клеща подопытный материал содержался в гидротермических камерах и в природных условиях. Опрысканные ветки помещались на картонную бумагу в чашках Петри и периодически проводится учет погибших зимующих яиц клеща.

Результаты опытов приведены в табл. 1, 2.

Результаты и обсуждение. ВК-1 (50—70 г на 1 л воды) оказывает на зимующие яйца красного плодового клеща контактное действие с высоким процентом летального исхода. Маленькая капля на поверхности яйца после высыхания закрывает дыхательное отверстие яйца, что и приводит к гибели эмбриона. Гибель эмбриона наступает не сразу, а постепенно, высыхая он суживается и как бесформенное тельце закрепляется на одном из приплюснутых полюсов. Применение ВК-1+ОП-10 в качестве вещества для уничтожения зимующих фаз клещей предлагается впервые.

Эффективность различных количества ингредиентов препарата (ВК-1+вода, ВК-1+ОП-10+вода) показана в табл. 1. Как видно, ВК-1 в комбинации с ОП-10 более эффективен для уничтожения зимующих яиц клеща, чем без него. Например, при использовании 70 г ВК-1 на 1000 мл воды гибель зимующих яиц составляет 78,3%, а в сочетании с ОП-10—100%.

Препарат ВК-1+ОП-10 использован также в условиях плодового сада фирмы «Напри» в 1988 г. на 5 опытных яблонях сорта Стар-Кинг. Достигнут положительный эффект для уничтожения зимующих яиц красного плодового клеща.

Таблица 2. Эффективность различных количеств ингредиентов препарата ВК-1 против зимующих яиц красного плодового клеща в лабораторных условиях.

Название ингредиентов и №: опытных парантов	Кон-по ин: редментов на 1000 мл воды		Процент гибели зимующих яиц красного плодового клеща на предметном. в условиях Т = 24°C и W = 65%
	в граммах	копн. ингредиентов в %	
№ 1 ВК-1+вода	15+1000	1.18+98.52	15.2
№ 2 ВК-1+вода	25+1000	2.44+97.50	26.3
№ 3 ВК-1+вода	35+1000	3.38+96.62	42.6
№ 4 ВК-1+вода	45+1000	4.31+95.69	58.5
№ 5 ВК-1+вода	50+1000	4.76+95.24	65.0
№ 6 ВК-1+вода	60+1000	5.66+94.31	74.2
№ 7 ВК-1+вода	70+1000	6.57+93.46	78.3
№ 8 ВК-1+вода	80+1000	7.41+92.59	80.2
№ 9 ВК-1+ОП-10+вода	15+3+1000	1.48+0.29+98.25	20.4
№ 10 ВК-1+ОП-10+вода	15+5+1000	1.47+0.49+98.04	23.0
№ 11 ВК-1+ОП-10+вода	15+10+1000	1.16+0.88+97.56	25.2
№ 12 ВК-1+ОП-10+вода	15+20+1000	1.4+1.93+96.62	25.6
№ 13 ВК-1+ОП-10+вода	15+30+1000	1.44+2.87+95.60	25.4
№ 14 ВК-1+ОП-10+вода	50+10+1000	4.72+0.94+94.31	96.3
№ 15 ВК-1+ОП-10+вода	60+10+1000	5.61+0.93+93.46	100
№ 16 ВК-1+ОП-10+вода	70+10+1000	6.48+0.92+92.6	100

Препарат ВК-1 (5,61%) + ОП-10 (0,93%) в условиях плодового сада по сравнению с известным препаратом № 30 (нефтемасляные эмульсии 76%), который используют против зимующих фаз и стадий вредителей плодового сада, оказался более эффективным (табл. 2). 99% зимующих яиц клеща против 17%.

Таким образом, препарат ВК-1+ОП-10 для уничтожения эмбриональных зимующих фаз клещей прост в приготовлении, экономичен, дает положительный эффект и имеет следующие преимущества перед известными ядовитыми химическими препаратами, неизвлекаемыми в ранне-весенний период: исключает загрязнение окружающей среды; исключает летально-остаточное действие на зимующую фауну; не вреден для человека и теплокровных; не требует особой осторожности при работе; экономичен, позволяет одновременно решить вопрос утилизации твердых отходов производства биосерного сополимера винилацетата с кротоновой кислотой.

Из полученных данных можно заключить, что препарат ВК-1+ОП-10 в отношении уничтожения зимующих яиц красного плодового клеща является высокоэффективным средством. Следовательно, применение его в плодовых садах республики против зимующих яиц клеща целесообразно.

Таблица 2. Эффективность препаратов ВК-1 (5,61%) + ОП-10 (0,93%) и препарата № 30, 2% против зимующих яиц красного плодового яблони сорта Стар-Кинг в условиях плодового сада предгорной зоны Наиройского района 1988 г.

Сыкт-5 деревьен			Эталон-5 деревьен		
Время учета и количество яиц на 1-2-годичн. ветках длиной 500см до обработки	Время обработки препарата и норма расхода (на 1га) на 1000л воды, концентрация в %	Время учета яиц и др. фаз на 1-2-годичных ветках длиной 500см после обработки	Время учета и количество яиц на 1-2-годичных ветках длиной 500см до обработки	Время обработки препарата и норма расхода (на 1га) на 1000л воды, концентрация в %	Время учета и количество яиц и др. фаз после обработки 1-2-годичных ветках длиной 500см
4 марта 18760 зимних яиц	30 марта препарат ВК-1 (5,61%) + ОП-10 (0,93%)	22 апреля зимних яиц 230 (гусель, 99%) 25 мая 218 подвижных фаз	4 марта 17201 зимних яиц	30 марта препарат № 30 (2%)	22 апреля зимних яиц 14276 (гусель 17%) 25 мая 11035 подвижных фаз

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Информационный листок 6117 Арм НИИТИ. 1986 г.
- 2 Карбоксилсодержащие сополимеры винилацетата. Обзорная информация НИИГЭХИМ. Химическая промышленность. Сер. Полимеризационные пластмассы, 30, М., 1986.
- 3 Лившиц И. Э., Петрушова Н. П. Тр. Никитск. бот. сада, 39, 132—133, 1967.
- 4 Список химических и биологических средств борьбы с вредителями роста растений, разрешенных для применения в сельском хозяйстве на 1982—1985 гг., 1, 59, 65, М., 1982.

Поступила 7.XII 1990 г.

Биолог. журн. Армении, № 1.(45).1992

УДК 633.31:591

О ПОЛИМОРФИЗМЕ РАСТЕНИЙ ЛЮЦЕРНЫ ПО СТЕПЕНИ САМОНЕСОВМЕСТИМОСТИ

М. Х. КАЗАРЯН, А. М. АГАДЖАНЯН

Институт земледелия МСХ Армении, г. Эчмиадзин

Растения люцерны: — полиморфизм — самонесовместимость.

Полиморфизм растений по выраженности признака самонесовместимости у различных сельскохозяйственных культур отмечен в исследованиях ряда авторов [3—6 и др.].

Ранее [1] нами была исследована реакция растений люцерны посевной на различные способы опыления. Показано, что при обычном самоопылении происходит резкое снижение процента завязываемости бобов и их осеменности. Искусственное самоопыление (принудительный триппинг) значительно повышает эти показатели. Тем не менее по этим признакам вариант с искусственным триппингом существенно уступает варианту со свободным опылением. В настоящей работе приведены результаты изучения изменчивости тех же растений люцерны посевной по уровню самонесовместимости.

Материал и методика. Исследовалось 272 растения сорта люцерны Апаранская местная. Для выявления неоднородности растений по самонесовместимости бобов и продуктивности семян использовали три варианта опыления: обычное самоопыление (заклучение нераскрывшихся соцветий в изоляторы из кальки); искусственное самоопыление, при котором предварительно изолированные соцветия на 5—6 день подвергали принудительному раскрытию (искусственный триппинг) путем легкого нажатия пальцем на основание лодочки распустившегося цветка, после чего их снова брали под изоляторы; свободное опыление—равноценные соцветия помещали этикетками и оставляли до уборки. Для каждого варианта на растениях использовали по 100 цветков. Об уровне самонесовместимости—самосовместимости судили по завязываемости бобов, числу семян на боб и цветок. Последний показатель является комплексным и выводится из величин первых двух. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по общепринятым методам [2].

Результаты и обсуждение. Анализ растений показал, что в пределах каждого варианта имеет место сильное варьирование особей по степени самонесовместимости. Так, в условиях обычного само-

опыления завязываемость бобов колебалась в пределах 0,0—70,0%. Причем из 272 растений 95 (34,9%) вовсе не завязали бобов. Преобладающая часть проанализированных растений (54,8%) при обычном самоопылении характеризовалась низкой завязываемостью (0,1—20,0%) и лишь 2,2% имели высокие показатели данного признака (50,1—80,0%). Сильно варьировало при обычном самоопылении и число семян на боб (0,10—9,00) и цветок (0,00—2,39), в среднем составляя 2,60 и 0,23 соответственно.

При искусственном триппинге завязываемость бобов колебалась в более широких пределах—0,0—100,0%. При этом 43,4% проанализированных растений имело низкую завязываемость бобов (0,1—20,0%). При искусственном самоопылении по сравнению с обычным значительно повысился процент растений с завязываемостью бобов 20,1—50,0% (37,1% против 8,1%). Более чем в два раза повысился также процент особей со сравнительно высокой завязываемостью бобов (50,1—80,0). Незначительное количество растений (1,8%) проявили очень высокую завязываемость бобов (80,1—100,0%). Как видим, при искусственном триппинге уменьшается количество растений, относимых к нулевой группе, т. е. увеличивается доля растений, положительно реагирующих на самоопыление. Одновременно отмечается увеличение числа растений в группах с высокой завязываемостью бобов. В варианте искусственного самоопыления число семян на боб и цветок варьировало в пределах 0,50—7,00 и 0,00—4,50 соответственно, в среднем значения этих признаков составляли 2,28 и 0,56.

В условиях свободного опыления завязываемость бобов колебалась в пределах 0,0—100,0%. Распределение растений по проценту завязываемости бобов показало, что основная их масса сосредоточена в группе, где значение признака составляет 50,1—80,0%. Растения с завязываемостью бобов от 80,1 до 100,0% составляли 23,2%. Число семян на боб и цветок при свободном опылении варьировало в пределах 0,50—6,38 и 0,24—4,74 соответственно, а средние значения этих признаков составляли 3,19 и 1,87. Отсутствие в варианте свободного опыления особей нулевой группы, а также сосредоточение проанализированных растений в основном в группе со сравнительно высокой завязываемостью бобов, вероятно, обусловлены активной деятельностью энтомофауны.

Более ясное представление о степени варьирования изученных нами признаков при различных способах опыления дает сопоставление коэффициентов вариации, приведенных в таблице. Нетрудно заметить, что по всем изученным признакам в пределах каждого способа опыления получены очень высокие коэффициенты вариации. Их сопоставление показывает, что из двух простых признаков максимально варьирующим является завязываемость бобов. Относительно стабилен признак числа семян на боб.

Высокие коэффициенты вариации по завязываемости бобов и их семенной продуктивности при экспериментальных самоопылениях свидетельствуют о сильной неоднородности сорта люцерны Аларан-

Коэффициенты вариации (V) по некоторым признакам при различных способах опыления люцерны

Способ опыления	Изученные признаки		
	зависимость бобов	число семян на 1 боб	число семян на 1 цветок
Обычное самоопыление	342.9±72.0	187.7±28.4	313.0±60.0
Искусственный триппяг	523.9±168.1	189.5±24.7	464.0±131.0
Свободное опыление	172.7±19.6	145.5±14.8	277.7±48.2

ская местная по аллелям, определяющим уровень самонесовместимости. Широкое варьирование растений по выраженности указанных признаков при свободном опылении говорит о значительной зависимости семенной продуктивности люцерны от наличия и плотности энтомофауны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А. М., Каларян М. Х. Биолог. журн. Армении, 43, 7, 574—577, 1990.
2. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта М., 1973.
3. Палилов А. Н., Хотылева Л. В., Савченко А. П., Корпусенко Л. И., Анохина Т. А., Полжинова Т. П., Данилов А. С. Полиморфизм растений по степени перекрестноопыляемости 1—247, Минск, 1981.
4. Хотылева Л. В., Палилов А. Н., Анохина Т. А. Докл. академии наук БССР, 21, 1, 83—85, 1977.
5. Шумный В. К., Косаленко В. И., Кислова Э. В., Колосова Л. Д., Гепезица, Н. I, 25—35, 1978.
6. Шумный В. К., Косаленко В. И., Пшеницын Л. А. и др. Проблемы теоретической и прикладной генетики 144—155, Новосибирск, 1973.

Биолог. журн. Армении, № 1, (45) 1992

УДК 664.642-579.222

НОВЫЕ ВЫСОКОАКТИВНЫЕ ШТАММЫ
ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ

В. А. БАГМЯН, **Л. А. ЕРЗИНЬЯН**, А. М. БАДАЯН

Институт микробиологии АН Армении, г. Абовян

Дрожжи хлебопекарные—ферментативная активность—хлебобулочное производство.

Цель наших исследований состояла в изучении биохимических свойств новых штаммов хлебопекарных дрожжей.

Материал и методика. Объектом исследования были 7 штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (У-9788, У-9792, 2-9794, У-9791, У-9789, У-9793, У-9790), выделенных из спонтанных хлебных заквасок высокогорных и предгорных районов Армении. Контрольная раса—Берлинская-14, используемая в хлебопекарной промышленности Армении.

Подъемную силу дрожжей выявляли по ГОСТу 171-63, по скорости всплывания шарика. Время подъема шарика в минутах умножали на коэффициент 3,5 для пересчета на подъемную силу, определяемую стандартным методом [1].

Ферментативную активность дрожжей (скорость сбраживания мальтозы и сахарозы) определяли по времени выделенния 10 мл CO_2 при сбраживании 20 мл 5%-ного раствора мальтозы или сахарозы дрожжами, взятыми в количестве 2,5% к объему среды, в микрогазомере системы Еленского [2].

Осмочувствительность изучали методом Уайта, согласно которому этот показатель определяется по разнице во времени между подъемной силой дрожжей в тесте без соли и в тесте с повышенной концентрацией соли (до 3,35%) [1].

Аминокислотный состав белков дрожжей определяли на автоматическом аминокислотном анализаторе фирмы «Микротехна» (ЧССР) марки ААА-339. Гидролиз проводили с помощью 6N HCl при 110° в течение 24 часа.

Качественные характеристики хлеба из пшеничной муки высшего сорта исследовали через 16 ч после выпечки. Органолептическую оценку качества хлеба проводили путем закрытой и открытой дегустации исследуемых образцов, влажность—согласно ОСТу ВКС 5540, в процентах; кислотность—согласно ГОСТу 5670-51, в градусах Неймана; пористость—по ГОСТу 5667-61, в процентах. Удельный объем хлеба устанавливали согласно ГОСТу 9404-60, в мл на 100 г массы хлеба [3].

Результаты и обсуждение. Испытанные штаммы по всем показателям превосходят контроль. Лучшие показатели имеют штаммы У-9788, У-9792 и У-9794. Мальтазная активность их превышает контроль на 45—55 мин.

Штамм У-9788, обладающий высокой мальтазной активностью, прошел производственные испытания на Ереванском хлебозаводе № 2.

Аминокислотный состав белков дрожжей в 1 г биомассы, мкМ

Аминокислоты	Штаммы		
	У-9792	У-9788	контроль (6-11)
Аспарагин-овая к-та	13,56	12,68	10,4
Треонин	8,4	8,21	6,16
Серин	8,6	8,6	6,6
Глутаминовая к-та	13,28	13,04	10,0
Пролин	11,0	10,4	4,64
Глицин	9,84	9,92	7,6
Аланин	11,4	11,2	8,72
Валин	10,0	9,92	6,68
Метионин	1,84	1,6	0,88
Изолейцин	6,92	6,28	5,03
Лейцин	10,8	10,12	8,0
Тирозин	2,2	1,86	2,0
Фенилаланин	4,6	4,52	3,24
Гистидин	3,2	2,48	2,24
Лизин	9,6	9,68	7,12
Аргинин	2,32	3,04	2,2

Объемный выход опытного образца хлеба, при одинаковом весе с контрольным, был на 26%, а пористость на 7% выше. Использование дрожжей штамма У-9788 в хлебопекарном производстве позволяет сократить расход жидких дрожжей по отношению к весу му-

ки на 20%, при этом продолжительность брожения опары сокращается на 1 час, время созревания теста—на 20 мин, расстойка—на 10 мин.

Белки испытанных штаммов дрожжей содержат в основном все незаменимые аминокислоты, определяющие биологическую ценность штаммов.

Результаты проведенных исследований были учтены при разработке технологической рекомендации использования штамма дрожжей У-9788 для приготовления жидких дрожжей в условиях производства. Дегустационной комиссией Минхлебопродуктов Армении указанный штамм рекомендован для внедрения в производство на всех хлебопекарных предприятиях МХП Армении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакушинская О. А., Белова Л. Д., Буканова В. П., Давидов М. Ф., Семихатова Н. М. Контроль производства хлебопекарных дрожжей. М., 1978.
2. Новикова С. С., Шишацкий Ю. И. Справочник по производству хлебопекарных дрожжей. М., 1980.
3. Чижова К. Н., Шкваркина Т. Н., Запорожца Н. В. Технологический контроль хлебопекарного производства. М., 1975.

Поступило 25.VII 1990 г.

Биол. журн. Армения, № 1 (45) 1992

ISSN 8756-6648/92/0017-11/12

МАКРОФАГАЛЬНЫЕ КОНТАКТЫ

М. Э. БАХШИЯНИ

Ереванский государственный медицинский институт, кафедра гистологии

Макрофаги—эозинофилы—гепатоциты.

Из клеток, с которыми вступают в контакты макрофаги, наиболее часто упоминаются лимфоидные клетки. Описаны макрофагально-лимфоцитарные островки в лимфоидных органах [32], совместное участие названных клеток в иммунных реакциях [3]. В связи с участием макрофагов в процессах клеточной пролиферации, воспаления и регенерации отмечены взаимодействия и с другими клетками [1, 4—6], однако при этом не конкретизируются их органоспецифические особенности. Между тем исследование данного вопроса представляется важным, поскольку позволит прояснить некоторые малоизученные аспекты морфологии и функции многочисленной и гетерогенной системы мононуклеарных фагоцитов. В этой связи мы поставили цель исследовать контакты макрофагов с различными тканевыми элементами *in vitro* и в условиях антигенной стимуляции.

Материал и методика. Беспородные белые мыши (2б) массой 18—20 г и крысы (3б) массой 100—120 г обоего пола были иммунизированы внутрибрюшинным введением соответственно 6%-ной или 8%-ной взвеси эритроцитов барана. За 2 ч до забоя для маркировки макрофагов животным внутрибрюшинно вводили 50%-ный раствор коллоидного угля (мышам по 0,3—0,5, крысам—3—5 мл).

Для электронной микроскопии кусочки печени, селезенки, мезентериальных лимфатических узлов и дермы толщиной не менее 1 мк фиксировали в 2%-ном растворе глутаральдегида на какодилатном буфере с последующей фиксацией в 1%-ном растворе того же буфера, дегидратацию производили в этанолах возрастающей концентрации.

В процессе обезживания материал констатировали 0,5%-ным раствором уранилацетата в 70%-ном этаноле. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKV, контрастировали нитратом свинца по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе УЕМ при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Результаты и обсуждение. Инактивные макрофаги селезенки чаще всего встречаются в контакте с лимфоидными клетками и эритроцитами. Фагоцитирование последних макрофагами имеет важное значение. Установлена способность макрофагов распознавать и поглощать именно стареющие клетки и, в частности, эритроциты [7]. Отдельные авторы рассматривают этот факт как следствие снижения количества сialовой кислоты на мембранах стареющих эритроцитов [13]. Установлено также, что макрофаги селезенки обладают способностью расщеплять гемоглобин и выводить железо, обеспечивая тем самым потребности эритропоэза и участвуя в гемопоззе.

Описанные контакты макрофагов с лимфоидными клетками обычно связывают с их совместным участием в иммунных реакциях. Инактивные селезеночные макрофаги, согласно нашим данным, также часто встречаются в контактах с клетками лимфоидного ряда, особенно выраженных в условиях антигенной стимуляции. Можно допустить, что наблюдаемые контакты связаны с определенным воздействием макрофагов на пролиферацию последних, что коррелирует с данными о продукции макрофагами монокинов [11], стимулирующих пролиферацию, созревание и ряд функций лимфоцитов.

Кроме того, в условиях иммунизации мы часто наблюдали тесные контакты макрофагов селезенки и лимфатических узлов с эозинофилами. Полученные данные, возможно, иллюстрируют совместное участие макрофагов и эозинофилов в защитных реакциях организма, тем более что имеются отдельные данные о способности последних фагоцитировать комплексы антиген—антитело [15]. Часто встречающиеся контакты такого типа именно в селезенке и лимфатических узлах свидетельствуют о сходной функциональной направленности макрофагов лимфоидных органов—очень часты здесь контакты макрофагов, эозинофилов и лимфоидных клеток. Возможно, именно в этих органах пролиферация и дифференцировка последних регулируется совместной деятельностью макрофагов и эозинофилов. По крайней мере наличие такого признака у последних отмечено [15]. Показано также, что макрофаги выделяют медиатор, который регулирует проток эозинофилов в очаг воспаления [9], что полностью согласуется с условиями нашего эксперимента с внутрибрюшинным

введением чужеродного антигена. При этом основной воспалительный процесс развивается в брюшной полости и близко расположенных к месту введения антигена органах — селезенке и мезентериальном лимфатическом узле. Основную же роль в любом очаге воспаления, как известно, играет макрофаг.

Интактные макрофаги печени постоянно вступают в тесные контакты с гепатоцитами, часто с их жирсодержащими участками, с липоцитами. Это свидетельствует об участии макрофагов в липидном обмене печени, тем более что на их мембране обнаружены рецепторы для липопротеидов [10] и описана способность макрофагов поглощать и метаболизировать липиды [14].

Частые контакты макрофагов, особенно активированных, с незрелыми гепатоцитами, что, возможно, свидетельствует об участии их в пролиферации паренхиматозных клеток печени, тем более что имеются единичные наблюдения такого рода в культуре [6]. Печеночные макрофаги очень часто вступают в тесные контакты с эндотелием синусоидных капилляров. Возможно, здесь определенную роль играет продуцируемый макрофагами ростовой фактор, регулирующий процессы ангиогенеза [9].

Интактные макрофаги дермы очень часто находятся в контакте с фибробластами, коллагеновыми волокнами, что, вероятно, объясняется продуцированием макрофагами фактора, регулирующего пролиферацию фибробластов, фибронектина [15]. Кроме того, известна способность макрофагов к продукции коллагеназы, регулирующей синтез коллагена и способствующей фрагментации и разрушению коллагена [12]. Следовательно, наблюдаемые контакты макрофагов дермы и существующие литературные данные свидетельствуют об участии макрофагов в процессах расщепления соединительнотканного матрикса, в состав которого входят гликопротеиды, эластин, коллаген, продуцируемые фибробластами. Следует отметить, что описанные контакты носят характер тесного прилегания их клеточных мембран на значительном протяжении.

Таким образом, широкий спектр тканевых элементов, с которыми вступают в контакты макрофаги, свидетельствует о многообразии их функций и носит органоспецифический характер.

В описанных макрофагальных контактах с окружающими тканевыми элементами мы склонны именно макрофагам приписывать активную роль (не исключая при этом и обратного на них воздействия) по следующим причинам.

Выделенный и описанный секретируемый макрофагами интерлейкин-1 имеет широкий спектр действия на самые разные тканевые элементы [9]. Исходя из описанных взаимодействий макрофагов с многочисленными и разнообразными тканевыми элементами, мы считаем возможным охарактеризовать их как клетки с коротко-дистантной регуляцией, позволяющей им координировать функции клеток, сосудов и межклеточного матрикса своего микрорайона или региона, или даже органа в целом [8].

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаева А. Г. Регенерация и система иммуногенеза. М., 1985.
2. Жарикова Н. А. Периферические органы системы иммунитета. Минск, 1979.
3. Петров Р. В. Иммунология. М., 1983.
4. Мясников Д. Н. Тез. докл. Всесоюзн. конф., 194—196. Томск, 1981.
5. Мясников Д. Н. Успехи совр. биол., 93, 1, 73—88, 1982.
6. Мясников Д. Н., Шербаков В. И. Тез. конф. морф. Сибири «Эпителий и соединительная ткань в патол. условиях», 22—33, 1983.
7. Кульберг А. Я. Регуляция иммунного ответа. М., 1986, 223.
8. Серов В. В., Шехтер А. Б. Соединительная ткань. М., 1981.
9. Фрейдлин И. С. Система мононуклеарных фагоцитов. М., 1984.
10. Lbovich S. J., Kayszynsky J. J. *Reticuloendothel. Sol.*, 27, 4, 411—419, 1980.
11. James D., Hund W. Z. *Cell Immunol.*, 53, 2, 236—245, 1980.
12. Kulonen E., Pöllmä M. *Acta path. microbiol.*, 88, c, 1, 7—13, 1980.
13. Goldstein J. L., Ho J. K., Basal S. K., Eronoz S. Proc. nat. Acad. USA., 63, 333—337, 1979.
14. Rhodes J., Oliver S. J. *Immunology.* 127, 673—679, 1981.
15. Romesch K., Pincus S. H., Rocklin B. R. *Cell Immunol.*, 93, 2, 366—375, 1985.
16. Tsukimoto J., Hetsell W. S., Wake S. M. *J. Immunology.* 127, 2, 673—679, 1981.

ВСЕСОЮЗНОЕ СОВЕЩАНИЕ
«ПРОБЛЕМЫ МЕМБРАННОЙ БИОЭНЕРГЕТИКИ»

С 4 по 7 мая 1991 г в Пушкино в Институте теоретической и экспериментальной биофизики АН СССР прошло Всесоюзное совещание «Проблемы мембранной биоэнергетики». На совещании обсуждались следующие важные проблемы: 1) механизмы функционирования и регуляции мембранных преобразователей энергии (митохондрии, хлоропласты, бактерии); 2) регуляция мембранной биоэнергетики на уровне клетки; 3) мембрана как среда функционирования и регуляции энергетического сопряжения: структура биослоев, белково-липидные комплексы, транспорт ионов.

В пленарном докладе академик В. И. Скулачев (Москва) представил роль и место биоэнергетики в комплексе биологических наук и охарактеризовал следующие перспективы молекулярной биоэнергетики: 1) изучение натриевой энергетики в бактериальной клетке и ее взаимодействия с протонной энергетикой, выявление механизмов сопряжения переноса зарядов (H^+ , Na^+) через гидрофобный протеолипид в мембране и синтеза АТФ из АТФсинтазы, такое сопряжение происходит скорее всего конформационным путем, но движущей силой остается трансмембранный электрохимический градиент; 2) окончательная разгадка бактериородонсинна и изучение его роли, а также роли хлорофилла и переносе электронов в фотосистемах; 3) использование принципов бактериальной биоэнергетики в изучении энергетических процессов в животной клетке, распространение идеи о существовании протоннометриона, точнее, потенциалометриона в мембране; 4) изучение механизмов функционирования мембранных преобразователей энергии роли природных рибозимов окислительного фосфорилирования; 5) выявление роли генерируемых митохондриями электрических полей и образованных ими электрических кабелей и жизнедеятельности клетки и др. В докладе А. Д. Вино-

градова (Москва) сообщалось о новых данных по физиологии дыхательных комплексов в мембране митохондрий, о суццинат-убиноин-редуктазе, катализирующей переход суццината в фумарат в цикле трикарбоновых кислот под влиянием оксалоацетата (существенную роль в функционировании этого фермента играют суццилат-переходы). А. И. Малин (Пушкино) сосредоточил внимание на сопряжении переноса протонов с синтезом АТФ и Н⁺ АТФсинтазом комплексы, остановившись на конформационной связи между этими двумя пространственно разграниченными процессами. Л. А. Окороков (Пушкино) рассказал о молекулярном составе и свойствах пакулярных АТФаз, встречающихся в археобактериях, литоформах, аппарате Гольджи дрожжей и растительных клетках, отметил, что наряду с тремя основными субъединицами с молекулярными массами 70, 57—60 и 16 кДа обнаружены еще пять субъединиц, такие АТФазы ингибируются с помощью олигомицина, но не с помощью омигомицина или изидла. В. В. Петруняк (Пушкино) привел данные о роли кальциевых АТФаз плазматических мембран в обеспечении ионного гомеостаза в клетке и предложил схему регуляции этих АТФаз Ca^{2+} -мобилизирующими гормонами либо непосредственно, либо через гормон-активируемые белки. М. Х. Гайнутдинов (Москва) представил сведения о регуляции в клетке и схеме тиреоидные гормоны — транскрипция и трансляция в ядре и митохондрии — синтез белков и генерация митохондрий — увеличение чувствительности митохондрий к модуляторам — разобщение окислительного фосфорилирования в митохондриях. Д. В. Зорин (Пушкино) сообщил о канальной активности в мембране митохондрий, индуцируемой аминопарином, циклоспарином, порином, физиологическая роль которой заключается в обеспечении транспорта белков, внутримитохондриальной коммуникации, ее

морегуляции и др. О. В. Коломыткин (Пушкино) рассказал о методах формирования плоских липидных мембран и привел результаты исследований по встраиванию H^+ -АТФазы из бактерий, когда при введении АТФ в среду возникает ток через мембрану, блокируемый с помощью дитиоэтилкарбонимидом. В. К. Опаленко (Пушкино) представила данные о транспорте ионов аммония через мембраны тилакоидов. А. А. Трчунян (Ереван) доложил о результатах исследований по ионному обмену у бактерий, на основании которых сформулировал новый принцип внутримембранного взаимодействия H^+ -АТФазного комплекса и калиевого транспорта с формированием суперкомплекса с прямой передачей энергии; представил модели такого взаимодействия через дитиоэтилсульфидные группы транспортных белков и осморегуляции белковых суперкомплексов посредством периплазматических белков. В стендовом сообщении О. Н. Октябрьского и Г. В. Смирновой (Пермь) приводились данные

о взаимосвязи между транспортом H^+ , K^+ , уровнем низкомолекулярных тиолов и их редокс-состоянием внутри и снаружи бактериальной клетки. С. М. Казимирчук (Москва) рассказал об индукции незлектрогенных потоков ионов калия в митохондриях при окислительном фосфорилировании. В сообщении И. Р. Сазяки (Ереван) были представлены данные о сопряжении торможения сукцинат-зависимого транспорта Ca^{2+} и усилении активации окислительного фосфорилирования в митохондриях, обеспечивающем пластичность метаболических процессов при адаптации.

Всесоюзное совещание завершилось круглым столом по прикладным проблемам биоэнергетики и собранием биоэнергетического научного общества, на котором была сформирована Национальная группа биоэнергетиков. Она организует участие наших биоэнергетиков в Европейской биоэнергетической конференции в 1992 г.

А. А. ТРЧУНЯН