

ISSN 0366-5119



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



ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆՐԵՍ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

Выходит с 1948 года на армянском, русском и английском языках

«Հայաստանի կենսաբանական հանդեսը» հրատարակվում է Հայաստանի Գիտությունների Ազգային Ակադեմիայի կողմից և տպագրում է հոդվածներ բուսաբանության, կենդանաբանության, ֆիզիոլոգիայի, կենսաքիմիայի, կենսաֆիզիկայի, կենսատեխնոլոգիայի, միկրոբիոլոգիայի, գենետիկայի և ընդհանուր ու կիրառական կենսաբանության այլ բնագավառների վերաբերյալ:

“Биологический журнал Армении” издается Национальной Академией Наук Армении и публикует оригинальные статьи по ботанике, зоологии, физиологии, биохимии, биофизике, микробиологии, биотехнологии, генетике и другим отраслям общей и прикладной биологии.

“Biological Journal of Armenia” is functioning under the auspice of the National Academy of Sciences of Armenia and publishes original papers in botany, zoology, physiology, biochemistry, biophysics, microbiology, biotechnology, genetics and other fields of general and applied biology.

Editor - in chief - E.G. Afrikian Executive Secretary - R.H. Papanyan

Խմբագրական կոլեգիա՝ Է.Կ.Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Ծ.Մ.Ավագյան, Վ.Գ.Բակլավաջյան, Մ.Ա.Պավլոյան, Ժ.Բ.Հակոբյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ), Ռ.Մ.Նարոթյունյան, Վ.Ն.Ղազարյան, Պ.Ա.Ղանդիսյան, Կ.Գ.Ղարազոյան, Ս.Խ.Մայրապետյան, Ս.Ն.Մովսիսյան, Ռ.Ն.Պապանյան (պարասպանապրո քարտուղար)

Խմբագրական խորհուրդ՝ Է.Կ.Աֆրիկյան (նախագահ), Յու.Թ.Ալեքսանյան, Է.Յ.Գաբրիելյան, Ս.Ա.Գալոյան, Ա.Լ.Թախտախյան, Պ.Ա.Խորշոդյան, Բ.Տ.Ղարիբջանյան, Կ.Ս.Պողոսյան, Ա.Գ.Փանոսյան, Լ.Լ.Օսիպյան

Редакционная коллегия: Э.К.Африкян (главный редактор), Ц.М.Авакян, Ж.И.Акопян (заместитель главного редактора), Р.М.Арутюнян, О.Г.Баклаваджян, П.А.Гандитян, М.А.Давтян, В.О.Казарян, К.Г.Каратезян, С.Х.Майрапетян, С.О.Мовсесян, Р.О.Папаян (ответственный секретарь)

Редакционный совет: Э.К.Африкян (председатель), Ю.Т.Александрян, Э.Ц.Габриелян, А.А.Галоян, Б.Т.Гарибджанян, И.И.Осипян, А.Г.Паносян, К.С.Погосян, А.Л.Тахтаджян, П.А.Хуршудян

Տնօրոգում 11.VII.96 թ. Ստորագրված է տպագրության 04.X.96 թ. ԲՖ 02824
Բուրակ օֆսետ 1. Բուրակ օֆսետայն. Բուրակ օֆսետայն 7,0. Սուրակ օֆսետայն 9,8
Սուրակ օֆսետայն 8,4. Բուրակ 250. Բուրակ 10.

Բուրակ օֆսետայն: 375019, Բուրակ, քուր. Մարշալա Բադրայնա 24 քուր. 11,
Տուրակ 58-01-97
Բուրակ օֆսետայն Գիտություն, 375019, քուր. Մարշալա Բադրայնա, 24 քուր.
Բուրակ օֆսետայն ՕՕՕ “Այ Էդիտ”
Բուրակ: Բուրակ, սուրակ. Ալայնա 41

AM 907

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996.

УДК 582.951.4:575.12

ՐԵԱԿՑԻԱ ԲԱԶՆԱԿ ԲՈՐՄ Ի ԴԻՎՐԻԾՈՎ ԿՈՄԱԿ ՈՒ ԿԱՏՐԱՑԻՈՒ ԸՎԵՏԿՈՎ

Ա.Մ. ԱԴԱԺՅԱՆԻ

Ինստիտուտ բոտանիկա ԻԱՆ Արմենիա, 375063, Երևան

Получена своеобразная реакция разных форм и отдаленных гибридов томата на кастрацию тычинок и столбиков. Самонесовместимые виды, у которых четко выражена мужская сексуализация, весьма чувствительны к кастрации тычинок. Кастрированные таким образом цветки развиваются плохо и подвержены высокой преждевременной осыпаемости. На удаление столбика эти виды долго не реагируют или реагируют слабо. Автофертильная разновидность *Lycopersicon hirsutum* var. *glabratum* Mull. достаточно чувствительна и к кастрации тычинок, и к кастрации столбиков, что подчеркивает эволюционную незавершенность системы ее размножения. Типичные самосовместимые виды и, в частности, культурный томат, отличающиеся хорошей мужской и женской сексуализацией, успешно переносят оба способа кастрации. У гибридов наблюдается строгий параллелизм в наследовании признаков самонесовместимости и степени преждевременной осыпаемости кастрированных цветков. Кастрация цветков может найти применение как метод косвенной оценки растений по степени развития признака самосовместимости-самонесовместимости.

Ստացված է տոմատի տարբեր չնների և հեռավոր հիբրիդների ստանդարտուկ ռեակցիա ստեղծների և առէքսների ամորչատման նկատմամբ: Ինքնահամատեղելի տեսակները, որոնք մոտ հատակ արտահայտված է արական սեքսուալիզացիան, բավականին զգայուն են առէքսների ամորչատման նկատմամբ: Այդպիսով ամորչատված ծաղիկները վատ են վարգանում և ժամանակից շուտ թափվում են: Այս տեսակները սղակի հեռացմանը երկար ժամանակ չեն արչագանում կամ թույլ են հակազդում: *Lycopersicon hirsutum* var. *glabratum* Mull. -ի ավտոֆերտիլ: տարատեսակը բավականին զգայուն է ն' առէքսների, և' տեղակների ամորչատման նկատմամբ, որը ընդգծում է նրա բավազման համակարգի էվոլյուցիոն անավարտությունը: Տիպիկ ինքնահամատեղելի տեսակները և հատկապես մշակովի տոմատը, որոնք տարբերվում են արական և իգական սեքսուալիզացիայով, հաջողությամբ են տանում ամորչատման երկու տեսակները: Հիբրիդների մոտ նկատվում է խիստ սուբստրուկտուր ինքնահամատեղելիության հատկանիշների ժառանգման և ամորչատված ծաղիկների վաղաժամ թափման աստիճանի մեջ: Ծաղիկների ամորչատումը կարող է կիրառվել որպես բույսերի անոդոգիի գնահատման մեթոդ ըստ ինքնահամատեղելիության-ինքնահամատեղելիության հատկանիշի վարգազման աստիճանի:

The peculiar reaction of different forms and remote hybrids of tomato on castration of stamens and styles was obtained. The self-incompatible species with clear-cut male sexuality are highly sensitive on castration of stamens. the flowers developed badly having the high premature fall. On castration of male sex these species reaction was fully. The typical self-compatible species, especially the cultured tomato, that characterized by good male and female sexualization, successfully endured the both types of castration. The strict parallelism in inheritance of features of self-incompatibility and degree of premature fall of castrated flowers in hybrids was observed.

Սամոսոմեստիմե և սամոնեսոմեստիմե տեսակ - օձմառնե տիբրիդն - կաստրաճիոն տիչնոկ - կաստրաճիոն ստեղբիկա - տոմատ:

Как известно [15,18,22], подавляющее большинство видов (около 90%) цветковых растений - это гермафродиты. Гермафродитные виды в основном имеют гомоморфные цветки, и только небольшая часть их представлена цветками гетероморфного типа (си- и тристилия) [14,16,17,21]. У гетероморфных видов гетеростилия, вероятно, всегда сочетается с системой самопесовместимости. Значительная часть гомоморфных видов также самопесовместима. Самопесовместимость, под которой обычно подразумевается неспособность растения к самооплодотворению в результате ингибирования пестиками роста собственной пыльцы, контролируется множественными аллелями *S*-гена. В широком смысле, однако, под этим термином понимается и подавление функциональной активности пыльцы от любого растения данной популяции, когда *S*-аллельный генотип пыльцевых зерен идентичен одному или обоим *S*-аллелям диплоидного пестика.

Самопесовместимость широко распространена в природе, особенно среди многолетников; она присуща также большой группе культурных растений. Кроме этих типично самопесовместимых (*SI*, *self-incompatibility*) видов с высоким уровнем перекрестноопыляемости, имеется, как мы знаем, и большой класс типично самосовместимых (*SC*, *self-compatibility*) видов. К этой группе относится ряд диких видов с коротким жизненным циклом и большая часть культурных.

Между двумя этими типами видов, по своим системам размножения занимающими крайние положения, находятся автофертильные (*SF*, *self-fertility*) формы и виды с невысокой выраженностью самосовместимости. Господствующим в системе воспроизведения таких мезосамосовместимых видов является перекрестное опыление. Виды эти представляют собой начальный этап в эволюционном движении от типичной самопесовместимости к типичной самосовместимости [1,10,17,19]. Число таких видов сравнительно невелико как в природе, так и в культуре. В работе [11] сделана попытка объяснить, почему этот тип по природе своей слабоустойчив и малочислен.

Все эти категории видов характеризуются полиморфизмом растений по признаку самосовместимости-самопесовместимости [6,9,12-14,16]. В наших ранних публикациях [6,9] показано существование у томатов положительной корреляционной зависимости между фенотипическими проявлениями признаков самопесовместимости и лонгистелии (превышение длины столбика над длиной тычинок у гомоморфных автофертильных и особенно автостерильных видов, обеспечивающее возвышение рыльца пестика над тычиночной колонкой). С другой стороны, полиморфизм растений по уровню перекрестноопыляемости рассматривается и как проявление многообразия по степени выраженности пола у гермафродитных видов и считается, что каждое растение по отношению к другому или более мужское, или более женское [3,6,12,13]. Нами [3,6] высказано предположение, что более самосовместимые растения полиморфных популяций являются преимущественно женскими, а более самопесовместимые - преимущественно мужскими.

Таким образом, все три указанных признака - самопесовместимость, лонгистелия (выступающее рыльце) и половость - выступают в едином ключе. Полиморфизм растений по одному признаку является адекватным отражением неоднородности по двум другим признакам. Эта закономерность, бесспорно, может быть использована при характеристике растений по степени выраженности признака

самонесовместимости.

В качестве индикатора реального уровня самонесовместимости у разных форм томата выступает и показатель относительной величины чашечки к венчику [2]. Чем слабее развита чашечка по отношению к венчику цветка, тем выше степень перекрестноопыляемости данного таксона.

Отметим и такой описанный в литературе [12] побочный прием измерения самонесовместимости - показатель половости цветков, определяемый путем деления массы пыльников на массу пестиков в день раскрывания цветка. Чем выше этот показатель, тем сильнее выражена мужская сексуализация, а следовательно, перекрестноопыляемость таксона и наоборот.

Ниже мы на примере томатов предлагаем еще один метод косвенной оценки степени развития данного признака. Это - строго индивидуальная реакция растений каждой формы на кастрацию цветков.

Материал и методика. Экспериментальная часть работы выполнена в НИИ земледелия МСХ РА.

Объектами исследования выступали контрастные по степени выраженности признака самосовместимости - самонесовместимости виды и отдаленные гибриды томата. Материалом служили *SI Lycopersicon peruvianum (L.) Mill.*, линия под номером 2020 по каталогу ВИР (ныне ВРИР), к-2020 (число растений n=10), *SI L. hirsutum Humb. et Bonpl.*, к-2021 (n=10), *SI L. hirsutum var. glabratum Mull.*, линия под временным номером 7924 по каталогу ВИР (n=10), *SC L. pimpinellifolium (Juss.) Mill.* с красными плодами, к-7903 (n=8), *SC L. esculentum var. cerasiforme* с красными плодами (n=8), *SC L. esculentum* сорт *Midseason 427* (n=10), а также следующие гибриды, полученные от скрещивания указанных *SC* и *SI* форм с *SI L. hirsutum*, выступающим в роли общего отцовского родителя: $F_1 L. hirsutum var. glabratum \times L. hirsutum$ (n=6), $F_1 L. pimpinellifolium \times L. hirsutum$ (n=9), $F_1 L. esculentum var. cerasiforme \times L. hirsutum$ (n=7), $F_1 L. esculentum$ (сорт *Midseason 427*) $\times L. hirsutum$ (n=2). Малое число взятых растений по последнему гибриду объясняется тем обстоятельством, что эта комбинация в целом характеризуется сублетальным некротическим эффектом и дает лишь редкие фенотипически нормальные растения [8].

Эксперименты по кастрации проводили в начале июля в период массового цветения растений. В работе использованы 2 варианта кастрации. На каждое подопытное растение взято по 3 соцветия - два варианта кастрации и одно для контроля. Бралось хорошо развитые, одинаковых размером бутоны, способные раскрыться примерно через 2 дня. Мелкие бутоны и уже распутившиеся цветки на соцветиях удалялись.

Первый вариант кастрации - это тот, который обычно применяется в гибридизационных работах с растениями. Процедура кастрации стандартная. С помощью пинцета тщательно удаляли все тычинки, оставляя остальные органы цветка нетронутыми. Собственно, под термином "кастрация цветков" в литературе и подразумевается операция по удалению мужских половых органов из гермафродитных цветков. Здесь, однако, во избежание путаницы лишние цветков мужских органов будем именовать конкретно: кастрация тычинок. Вторым вариантом - это кастрация столбика. Пинцетом слегка раскрывали бутоны, расщепляли тычиночную колонку между пыльниками и осторожно извлекали столбик, сохраняя тычинки и другие элементы цветка. Из литературы нам не известно ни одного случая использования этого приема. Контролем служили соцветия с некастрированными цветками.

Велись наблюдения за дальнейшим развитием кастрированных и некастрированных цветков. Через определенные промежутки времени проводились подсчеты сохранившихся (неопавших) цветков на соцветии.

Результаты и обсуждение. В наших многолетних исследованиях по системам размножения растений для гибридизационных работ нам пришлось прокастрировать обычным способом (кастрация тычинок) огромное количество (сотни тысяч) цветков почти у всех известных форм томата. Эти формы относятся к разным, упомянутым

выше, уровням самонесовместимости - самосовместимости (*SI*, *SF* и *SC*). Заметим вскользь, что род *Lycopersicon* Mill. (томаты) - один из редких родов, в составе которых встречаются все три уровня самонесовместимости.

В процессе работы мы убедились, что формы томата с различными системами размножения совершенно по-разному реагируют на кастрацию тычинок. Было обнаружено, например, что *SC*-виды и в особенности культивируемый вид *L. esculentum* легко переносят удаление тычинок: кастрированные цветки нормально развиваются и долго "держатся" на растении. Между тем как формы, склонные к перекрестному опылению, и тем более строго аллогамные *SI*-виды оказываются весьма чувствительными к лишению тычинок. Кастрированные подобным способом цветки развивались плохо и опали преждевременно, буквально через пару дней осыпались все такие цветки. В связи с этим по перекрестноопыляющимся популяциям приходилось увеличивать количество подготавливаемых к последующему опылению цветков, а также брать для кастрации более крупные и развитые бутоны (бутоны, готовые к раскрытию) и передвигать время самой кастрации (за 1-2 дня до опыления или даже непосредственно перед опылением вместо обычных 3-4 дней, что применяется для *SC* культурного томата). Тем не менее проведение гибридационной работы с самонесовместимыми видами все еще остается трудноосуществимым делом (мы здесь не обсуждаем возможность использования для аналогичных целей некастрированных цветков *SI*-видов). Только небольшая часть опыляемых в совместных сочетаниях цветков образует плоды и семена.

Придя таким чисто эмпирическим путем к выводу о своеобразной реакции разных форм томата на кастрацию тычинок, выводу, который, в сущности, не требует дальнейшего доказательства, мы задались вопросом: а как "отнесутся" эти же формы к кастрации столбика? Так в едином опыле мы стали изучать ответную реакцию некоторых видов и отдаленных гибридов томата на лишение их цветков этих органов.

Данные, приведенные в таблице, показывают полную достоверность вывода, сделанного выше относительно кастрации тычинок. У *SI*-видов *L. peruvianum* и *L. hirsutum* уже через 2 дня после удаления тычинок (у первого вида - через 3 дня) опадо значительное количество цветков, а спустя 4 дня (у *L. peruvianum* - через 6 дней) на соцветиях оставались лишь единичные цветки. Бутоны почти не раскрывались и не развивались, лепестки были очень бледные. Чуть лучше вел себя *SF var. glabratum*.

У *var. cerasiforme* цветки после кастрации тычинок хорошо раскрываются, но они несколько меньше, а лепестки бледнее, чем в контрольном варианте. У *L. esculentum* отставания в росте и развитии цветков вследствие удаления тычинок не наблюдалось. У обеих этих (*SC*) форм через 4 дня после кастрации значительное количество цветков оставалось на соцветиях, а у *L. esculentum* даже по прошествии 7 дней доля неопавших цветков была очень высокой - 79,2%. Осыпаемость цветков у *L. pimpinellifolium* оказалась заметно выше не только по сравнению с *L. esculentum*, но и *var. cerasiforme*. И дело здесь не только в том, что подчеты цветков по этому виду, как у *L. peruvianum*, проводились спустя более длительный промежуток времени с момента кастрации - через 3, 6 и 8 дней. Этот вид, хотя по качественной характеристике самосовместимости также относится к типу *SC*, отличается более высоким уровнем перекрестноопыляемости. Отражением этого обстоятельства как раз и является сильная опадаемость кастрированных цветков. Примечательно, что в

целом, отличаясь значительной преждевременной опадаемостью кастрированных цветков, *L. pimpinellifolium* одновременно выделяется хорошо выраженным полиморфизмом по этому признаку [5].

Реакция самонесовместимых видов на кастрацию столбика прямо противоположная. В то время как эти виды очень трудно переносят кастрацию тычинок, они словно и не реагируют на удаление столбиков, цветки развиваются почти такими же темпами, как и контроле. Например, у *SI*-вида *L. hirsutum* спустя 4 дня после кастрации столбиков доля неопавших цветков составила 90%, т.е. не менее, чем в контроле, между тем как через такой же отрезок времени после кастрации тычинок у этого вида сохранилось только 4,5% цветков. По сравнению с тычиной *SI*-формой вида *SF var. glabratum* удаление столбиков переносит хуже (34,5% неопавших цветков через 4 дня после кастрации). Однако кастрацию тычинок она переносит еще хуже (12% сохранившихся цветков).

По осыпавости цветков после кастрации столбиков *SC*-формы (*L. esculentum*, *L. pimpinellifolium* и *var. cerasiforme*) находились примерно на уровне контрольного варианта. Однако, по данным последнего срока подсчета, *var. cerasiforme* и *L. pimpinellifolium* по количеству сохранившихся цветков сильно уступали контролю. Еще один пример. Если у *L. esculentum* (сорт *Midseason 427*) цветки после удаления столбика росли и развивались нормально, то у *var. cerasiforme* они были несколько меньше обычных, а у *L. pimpinellifolium* - еще и раскрывались чуть хуже.

А теперь посмотрим, как на кастрацию цветков отзываются гибриды. Начнем с внутривидовых гибридов *glabratum* \times *hirsutum*. Как видно из таблицы, по своему поведению после удаления из цветков как тычинок, так и столбика эти гибриды очень напоминают родительскую форму *glabratum* и отличаются повышенной чувствительностью к обоим способам кастрации. Напомним в этой связи, что гибриды в данной комбинации, как правило, получаются при использовании *SF glabratum* в качестве женской формы, а *SI hirsutum* - мужской, и они в F_1 оказываются самофертильными или даже гетерозисными по этому признаку [5:20]. Это значит, что налицо полное совпадение в характеристиках гибридов между *SF*- и *SI*-формами видового комплекса *L. hirsutum* по наследованию признаков самофертильности и степени преждевременной осыпавости кастрированных цветков.

Гибриды F_1 *SC*-форм с *SI L. hirsutum* в течение первых четырех дней никак не реагировали на кастрацию столбика, они очень устойчивы к этой операции и, подобно родителям, обошлись без последствий. В то же время по своей реакции на кастрацию тычинок гибриды, по-видимому, занимают промежуточное положение между родительскими формами. (По поводу полной осыпавости цветков в контрольном варианте в комбинации *var. cerasiforme* \times *L. hirsutum* следует в скобках заметить, что у этих гибридов вообще наблюдается значительное сокращение плодообразования, но совершенное отсутствие завязываемости плодов в данном опыте нужно считать чистой случайностью). Тут также заслуживает упоминания, что эти гибриды, которые могут быть получены исключительно в направлении скрещивания *SC* \times *SI* по фенотипическому эффекту неизменно оказываются самонесовместимыми. Но косвенными методами удалось показать [6], что такие гибриды в ранних генерациях, особенно в F_2 , по уровню самонесовместимости в известной мере уступают *SI* родительским формам [4]. Следовательно, и по этим гибридам прослеживается

Опадаемость кастрированных цветков некоторых видов и гибридов томата.

Виды и гибриды F ₁	Кастрация тычинок			Кастрация столбика			Контроль					
	число прокастрированных цветков	процент опавших цветков через промежуток времени, дни			число прокастрированных цветков	процент опавших цветков через промежуток времени, дни			число прокастрированных цветков	процент опавших цветков через промежуток времени, дни		
		2	4	7		2	4	7		2	4	7
<i>L. peruvianum</i> ^a	100	62,0	1,0	1,0	100	91,0	81,0	20,0	100	99,0	82,0	50,0
<i>L. hirsutum</i>	88	77,3	4,5	2,3	70	100,0	90,0	60,0	80	90,0	87,5	56,2
<i>L. hirsutum</i> var. <i>glabratum</i>	50	88,0	12,0	0,0	55	100,0	34,5	0,0	52	98,1	80,8	9,6
<i>L. pimpinellifolium</i> ^a	50	22,0	14,0	0,0	51	92,2	88,2	3,9	40	100,0	85,0	30,0
<i>L. esc.</i> var. <i>cerasiforme</i>	45	100,0	82,2	4,4	40	92,5	82,5	5,0	37	100,0	100,0	62,2
<i>L. esc.</i> (сорт <i>Midseason 427</i>)	48	100,0	93,8	79,2	50	100,0	94,0	54,0	54	100,0	87,0	64,8
<i>L. hirs.</i> var. <i>glabr.</i> x <i>L. hirs.</i>	71	94,4	14,1	0,0	74	94,6	20,3	0,0	76	100,0	92,7	22,4
<i>L. pimpinell.</i> x <i>L. hirs.</i>	58	86,2	15,5	0,0	55	98,2	89,1	0,0	64	100,0	100,0	37,5
<i>L. esc.</i> var. <i>cerasif.</i> x <i>L. hirs.</i>	60	93,3	61,7	13,3	60	100,0	96,7	0,0	62	100,0	96,8	0,0
<i>L. esc.</i> (<i>Mids. 427</i>) x <i>L. hirs.</i>	27	74,1	33,3	11,1	36	100,0	100,0	36,1	26	100,0	100,0	19,2

Примечание: подсчет опавших (сохранившихся) цветков проводился через 3, 6, 8 дней соответственно.

соответствие в проявлении самонесовместимости и действии кастрации тычинок на степень преждевременной осыпаемости цветков.

Обобщая фактический материал, мы можем констатировать, что выявлены четкие закономерности, свидетельствующие о том, что разные формы томата весьма определенно реагируют на кастрацию тычинок и столбика, что выражается главным образом в разной интенсивности развития неуделенных элементов цветка. Нетрудно видеть, что реакция той или иной формы на варианты кастрации находится в полной зависимости от степени перекрестноопыляемости у самих этих форм. Иначе говоря, вопрос о специфической реакции самонесовместимых и самосовместимых видов на кастрацию цветков очень просто перекликается с вопросом о выраженности у них половых органов.

У самонесовместимых видов с высокой степенью аллогамии хорошо выражены мужские органы (тычинки), а женские (пестики) развиты плохо. У самосовместимых видов довольно хорошо развиты и мужские, и женские органы. Понятно отсюда, что у первых видов кастрация тычинок, т.е. удаление органа, лучше выраженного, а потому имеющего большее значение для них, резко отрицательно сказывается и на развитии остальных органов цветка, что и приводит к преждевременной опадаяемости самих цветков. Напротив, лишние этих видов слабо развитых столбиков не приводит к достаточно сильному ограничению притока ассимилятов, благодаря чему другие элементы цветка продолжают развиваться и долго остаются на растении. По этой же причине типичные самосовместимые виды и, в частности, наиболее самоопыляющийся культурный вид *L. esculentum*, отличающийся довольно хорошей и мужской, и женской сексуализацией, успешно переносят оба способа кастрации. Кастрированные цветки нормально развиваются и долго "держатся" на растении. Естественно поэтому, что различия в поведении самосовместимых и самонесовместимых видов при кастрации тычинок проявляются куда сильнее, чем при удалении столбика.

У автофертильной разновидности *L. hirsutum* var. *glabratum* по сравнению с типичной *SI*-формой вида в известной мере ослаблена мужская сексуализация, по

женский пол выражен несколько лучше. Она достаточно чувствительна и к кастрации тычинок, и к кастрации столбика, что подчеркивает неустойчивое положение и эволюционную незавершенность системы ее размножения. И все же на кастрацию тычинок она отзывается сильнее, чем на кастрацию столбика. Это еще раз свидетельствует, что у *var. glabratum*, несмотря на ее аутофертильность, основным способом размножения является перекрестное опыление.

Что касается гибридов, то у них обнаруживается строгий параллелизм в наследовании признаков самонесовместимости и степени преждевременной опадаемости кастрированных цветков.

Итак, кастрация цветков выступает как косвенный прием определения уровня самосовместимости-самонесовместимости у растений. Заметим, что это, однако, относится к кастрации тычинок. Как мы видим, по реакции растений на удаление столбика нелегко отличить перекрестноопыляющиеся виды от самоопыляющихся. А вот по реакции на кастрацию тычинок, напомним, самонесовместимые и самосовместимые виды ведут себя диаметрально противоположно. У перекрестноопыляющихся видов кастрированные таким образом цветки в большинстве случаев, не достигнув нормальных размеров, опадают. И по состоянию цветков через 1-3 дня после кастрации можно судить об уровне перекрестного опыления у растений. Чем хуже развиваются кастрированные цветки, чем больше их осыпается преждевременно, тем выше склонность данной формы к перекрестному опылению.

Думается, что эта закономерность, как вообще и другие косвенные факты, могут найти применение в генетических исследованиях и при решении определенных практических задач.

Дополнительные критерии аутофертильности, которые порою выполняют не просто вспомогательные функции, а приобретают самостоятельное значение, иногда даже точнее отражают картину самосовместимости-самонесовместимости, чем прямые показатели. Поэтому косвенный прием нередко может стать не только важнейшим, но, возможно, и основным методом определения степени выраженности самосовместимости-самонесовместимости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.М. Генетика, 16, 3, 493-500, 1980.
2. Агаджанян А.М. Биолог. журн. Армении, 38, 3, 195-202, 1985.
3. Агаджанян А.М. Успехи соврем. биологии, 103, 2, 298-313, 1987.
4. Агаджанян А.М. Биолог. журн. Армении, 40, 11, 902-910, 1987.
5. Агаджанян А.М. Автореф. докт. дисс., 37, Ереван, 1988.
6. Агаджанян А.М. Генетика, 24, 1, 126-135, 1988.
7. Агаджанян А.М. Генетика, 25, 2, 310-320, 1989.
8. Агаджанян А.М. Генетика, 26, 8, 1448-1456, 1990.
9. Агаджанян А.М. Успехи соврем. биологии, 110, 3, 323-337, 1990.
10. Агаджанян А.М. Бот. журн., 77, 1, 19-32, 1992.
11. Агаджанян А.М. Успехи соврем. биологии, 114, 1, 69-84, 1994.
12. Молчан И.М. Изв. ТСХА, 3, 67-82, 1974.
13. Паяилов А.И. Хотылева Л.В., Савченко А.П. и др. Полиморфизм растений по степени перекрестноопыляемости. 247, Минск, 1981.
14. Суриков И.М. Несовместимость и эмбриональная стерильность растений. 221, М., 1991.

15. Шереметьев С.Н. Бот. журн., 68, 5, 561-571, 1983.
16. Шумный В.К., Коваленко В.И., Квасова Э.В. и др. Генетика, 14, 1, 25-35, 1978.
17. Crowe L.K. Heredity, 19, 3, 435-457, 1964.
18. Lewis D. Biol. Rev., 17, 1, 46-67, 1942.
19. Lewis D., Crowe L.K. Heredity, 12, 2, 233-258, 1958.
20. Martin F.W. Genetics, 50, 3, 459-469, 1964.
21. Vulliamier B.S. Evolution, 21, 2, 210-226, 1967.
22. Yempolsky C., Yempolsky H. Bibliogr. genetica, 3, 1-62, 1922.

Получено 5.X.1993.

Биолог. журн. Армения, 1-2 (49), 1996

УДК 575.174:599.9

АНТРОПОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЫХОДЦЕВ С ТЕРРИТОРИИ ИСТОРИЧЕСКОЙ АРМЕНИИ. АЛАНКЕРТ (ЖИТЕЛИ с. Н. ГЕТАШЕН)

Р.М. АРУТЮНЯН, К.Ю. МАРТИРОСЯН, Г.С. ШИРИНЯН,
А.А. КАЗАРЯН, И.Р. КОЧАР

*Ереванский государственный университет, кафедра генетики, 375049
Институт археологии и этнографии НАН Армении, 375025, Ереван*

Показано, что временная протяженность поколения в исследованной популяции равна 24 годам, социально обусловленные границы репродуктивного периода составляют в среднем 23,8-38,5 лет. Среднее число детей в семьях пробандов-3,2.

Процент индивидов с крайними значениями чувствительности к фенилпиромочевине небольшой. Отклонения от размаха вариаций дерматоглифических признаков в тотальной армянской популяции незначительны.

Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ տվյալ պոպուլյայիայի համար սերնդի ժամանակային տևողությունը հավասար է 24 տարվա: Վերարտադրման շրջանի սոցիալապես պայմանավորված սահմանները միջինում հավասար են 23,8-38,5 տարեկանի: Անտանիքներում երեխաների միջին քանակը կազմում է 3,2: Տեղական հայկական պոպուլյացիայի սահմաններում դերմատոգլիֆիկական հատկանիշների շեղումները, կախված փոփոխությունների ուժից, աննշան են:

The generation period for researched population is equal to 24 years. The social conditioned borders of reproductive period are equal to 23,8-38,5 years. Average quantity of children in proband families is 3,2. Deflections of dermatoglyphic characters from the range of variations in total Armenian population are insignificant.

Генетика армянского народа - репродуктивный период - дерматоглифика.

Данная работа является продолжением начатых нами с 1987г. исследований по изучению генофондов групп выходцев из регионов Исторической Армении и их потомков. Представленный в настоящем сообщении материал собран в результате проведенных исследований в июне 1988г. в районе Мартуни (с.Геташен). Повторность исследования (аланкертская группа) обусловлена тем, что представленный ранее [4] материал оказался недостаточно репрезентативным. Кроме того, интерес к повторному исследованию этой региональной группы обусловлен выявлением факторов.

определяющих межгрупповые различия в местах вторичного поселения (с.Личк. с.Н.Геташен).

Материал и методика исследования описаны нами ранее [1,3]. Исследовано 90 человек в возрасте старше 60 лет.

Результаты и обсуждение. Средний возраст для вступления в брак для мужчин и женщины составил 22,4 и 19,4 лет соответственно. Социально обусловленные границы репродуктивного периода для мужчин - 26,4-42, для женщин - 21,2-35 лет. Протяженность поколения - 24года. Интервалы между последовательными деторождениями у потомков пробандов, доживших до полового возраста, колеблются в пределах 2,7 (1-2; 7-8)- 3,3 (2-3) лет.

Согласно проведенному опросу, размеры семей в четырех поколениях алашкертской группы следующие: I поколение- 4,3; II поколение- 4,7; III поколение- 3,2; IV поколение- 4.1. Это указывает на вероятный процент гиперчувствительности в данной группе. Максимумы характерны для трех пороговых значений- 6,8,10.

Антропоморфические параметры имели следующие частоты: скрещивание рук на груди - I (50,7%); II (49,3%); переплетение пальцев рук - I (38,5%); II (61,5%) : ведущая рука - I (10,3%); II (89,7%).

Доля курящих среди мужчин составляла 14%, регулярно употребляющих спиртное- 41% .

Вариации дерматоглифических признаков представлены в табл.1-7. Распределение главных ладонных линий [ГЛЛ] носит следующий характер: линия I чаще всего оканчивается в полях II и 9, линия А- в полях 5,4,3, для линии С характерно наиболее частое окончание в полях 9 и 7, а для линии В- в полях 7 и 5 (табл. 1,2).

Таблица 1. Частота окончаний ГЛЛ у мужчин-выходцев из Алашкерта, %.

По- ле	А			В			С			D		
	II	III	Ср									
1.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.	5,26	-	2,63	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.	26,31	4,76	15,53	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.	47,36	66,66	57,01	5,26	-	2,63	-	-	-	-	-	-
5.	15,78	23,8	19,79	10,52	4,76	7,64	-	-	-	-	-	-
6.	5,26	-	2,63	10,52	19,04	14,78	-	-	-	-	-	-
7.	-	-	-	15,78	4,76	10,27	-	4,76	2,38	5,26	-	2,63
8.	-	4,76	2,38	42,1	66,66	54,38	36,81	23,81	30,32	-	9,52	4,76
9.	-	-	-	-	4,76	2,38	-	-	-	-	4,76	2,38
10.	-	-	-	10,52	-	5,26	31,57	42,85	37,21	31,57	19,04	42,85
11.	-	-	-	-	-	-	-	9,52	4,76	15,79	-	7,89
12.	-	-	-	5,26	-	2,63	-	-	-	37,36	61,9	54,63
13.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
X	-	-	-	-	-	-	10,52	9,52	10,02	-	4,76	2,38
O	-	-	-	-	-	-	21,05	9,52	15,28	-	-	-

Индекс ГЛЛ в среднем имеет значение 9,04. Подобное распределение главных линий ладони является наиболее типичным для армянских микропопуляций [3,5] .

Встречаемость истинных ладонных узоров в среднем имеет следующий характер: частота узора на гипотенаре (Hy)-19,24%, на тенаре и I межпальцевой подушечке (Th/1)-2,27%, что значительно ниже по сравнению с таковыми в других выборках. Встречаемость узоров на II, III и IV ингердигитальных подушечках соответственно

Таблица 2. Частота окончаний ГЛЛ у женщин-выходцев из Алашкерта, %.

По- ле	А			В			С			D		
	Л	П	Ср									
1.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.	6,25	-	3,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.	18,75	10,52	14,63	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.	50	47,36	48,68	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.	18,75	26,31	22,53	6,25	-	3,12	-	-	-	-	-	-
5.	6,25	15,78	11,01	25	15,78	20,39	12,5	-	6,25	-	-	-
6.	-	-	-	6,25	15,78	11,01	-	5,26	2,63	6,25	5,26	5,75
7.	-	-	-	56,25	57,89	57,07	-	10,52	5,26	12,5	10,52	11,51
8.	-	-	-	6,25	5,26	5,76	6,25	-	3,12	-	5,26	2,63
9.	-	-	-	-	-	-	50	57,89	53,94	12,5	10,52	11,51
10.	-	-	-	-	5,26	2,63	-	5,26	2,63	6,25	15,78	11,01
11.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	56,25	52,63	54,44
12.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
X	-	-	-	-	-	-	12,5	10,52	11,51	-	-	-
O	-	-	-	-	-	-	18,75	10,52	14,63	6,25	-	3,12

равны 6,63, 39,05, 25,66% (табл.3). Частота осевых трирадиусов в большинстве случаев составляет 53,18%, встречается один осевой трирадиус, расположенный у запястья (1) (табл.4).

Распределение основных типов пальцевых узоров и их индексов представлены в

Таблица 3. Узоры на межпальцевых подушечках, %.

Поду- шечки	Мужчины			Женщины			Ср
	Л	П	Ср	Л	П	Ср	
II	20	11,5	15,75	18,18	27,27	22,72	19,24
III	-	-	-	9,09	-	4,54	2,27
IV	-	3,8	1,9	9,09	13,63	11,36	6,63
V	36	38,4	37,2	27,27	54,54	40,09	39,05
VI	16	23	19,5	36,36	27,27	31,82	25,66

Таблица 4. Осевые трирадиусы у выходцев из Алашкерта, %.

Трира- диусы	Мужчины			Женщины			Ср
	Л	П	Ср	Л	П	Ср	
1	42,09	52,37	47,29	70,82	47,35	59,08	53,18
1'	31,57	38,08	34,82	16,66	26,29	21,47	28,14
1''	5,26	-	2,63	4,16	5,25	4,70	3,66
1'''	5,26	4,76	5,01	4,16	15,77	9,96	7,33
1''''	5,26	4,76	5,01	-	-	-	2,50
1'''''	5,26	-	2,63	-	-	-	1,31
1''''''	-	-	-	-	-	-	-
0	5,26	-	2,63	4,16	5,25	4,70	3,66

табл. 5, 6, 7.

У мужчин по сравнению с женщинами чаще встречаются завитки, в то время как у женщин выше частота петель. Средняя величина дельтового индекса ($D|_{10}$) для обоих полов равна 15. Пальцевая формула завитков (W) у мужчин- IV>II>I>V>III, у женщин- IV>I>II>V>III. Пальцевая формула ульнарных петель (U) у мужчин V>III>I>II>IV, у женщин III>V>I>IV>II (табл. 5,6).

Средние значения частот пальцевых узоров в основном не выходят за пределы размаха вариаций тотальной армянской популяции [5]. Однако представляет интерес несколько повышенная частота завитков, что может быть обусловлено фактором

Таблица 5. Распределение пальцевых узоров на правых и левых руках у мужчин, %.

Узор	I		II		III		IV		V	
	Л	П	Л	П	Л	П	Л	П	Л	П
A	3,14	3,22	6,66	3,33	3,44	6,89	9,67	-	-	-
R	-	-	3,33	3,33	-	-	-	-	-	-
U	37,9	29,03	16,6	33,3	44,6	46,2	16,1	19,35	48,27	45,16
W	58,62	67,7	73,3	60	51,7	44,8	74,1	80,64	51,72	54,83

Таблица 6. Распределение пальцевых узоров на правых и левых руках у женщин, %.

Узор	I		II		III		IV		V	
	Л	П	Л	П	Л	П	Л	П	Л	П
A	3,12	-	17,14	3,22	8,57	3,01	-	-	3,12	-
R	-	-	5,71	-	2,85	-	-	-	-	-
U	34,37	50	37,14	32,25	77,14	75,75	39,39	34,17	59,37	58,62
W	64,51	50	40	64,51	11,42	21,21	60,6	65,62	37,5	41,37

Таблица 7. Частота пальцевых узоров (%) и их индексы.

Узор	♂	♀	Ср.
A	3,66	3,82	3,74
R	0,66	0,85	0,75
U	33,86	49,83	41,84
W	61,73	44,58	53,65
R+U	34,52	50,68	42,60
D ₁₀	15,79	14,18	15,00
(A/W) x 100	5,92	8,32	6,97
[W/(R+U)] x 100	178,82	80,93	125,93
[A/(R+U)] x 100	10,60	7,53	8,77

“генетического дрейфа” и “эффектом” родоначальника в местах вторичного поселения. Подобным же образом можно объяснить и те различия, которые обнаруживаются в двух исследованных нами алашкертских популяциях [4], проживающих в различных регионах вторичного поселения.

При сравнении алашкертского (Н.Геташен) полигона с другими армянскими группами явного сходства с какими-либо из них не обнаружено, в то время как усредненный полигон по двум алашкертским группам во многом сходен с обобщенным армянским полигоном.

Таким образом, охарактеризованная по комплексу дерматоглифических признаков популяция выходит из Алашкерта, проживающая в настоящее время в Мартушеском районе Армении, имеет выраженную генетическую общность с тотальной армянской популяцией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Р.М., Кочар Н.Р., Чавушян С.А., Казарян А.А., Абрамян Л.Г., Киракосян А.Г. Биолог. ж. Армении, 41, 9, 1988.
2. Арутюнян Р.М., Ширинян Г.С., Мартirosян К.Ю., Кочар Н.Р., Казарян А.А. Биолог. ж. Армении, 42, 9-10, 1989.
3. Кочар Н.Р. Автореф. канд. дисс., М., 1981.
4. Кочар Н.Р., Арутюнян Р.М., Чавушян С.А., Абрамян Л.Г., Казарян А.А., Мартirosян К.Ю. Биолог. ж. Армении, 41, 9, 1988.
5. Кочар Н.Р. Антропология армян. Ереван, 1989.

Получила 4.X.1994

РАЗЛИЧИЯ В УРОВНЯХ МЕТИЛИРОВАНИЯ И ПАРАМЕТРАХ ПЛАВЛЕНИЯ ДНК В СУХИХ И ПРОРАСТАЮЩИХ СЕМЕНАХ ЗЛАКОВЫХ

Л.А. МИНАСБЕКЯН, И.С. ДАНИЕЛЯН, Дж.В. ГАРИБЯН,
П.О. ВАРДЕВАНЯН, Г.А. ПАПОСЯН

Ерванский государственный университет, кафедра биофизики, 375049

Структурные изменения ДНК при прорастании семян злаков свидетельствуют, что изменение степени метилирования ДНК может быть показателем функциональной активности растительных клеток и определенным образом коррелирует с формулой генома злаковых.

Մեթիլացիայի և ԴՆԹ-ի կառուցվածքային ինֆորմացիոնները հաջադիմերի սերմերի ճգման ժամանակ վերաբերում էին, որ ԴՆԹ-ի մեթիլացման աստիճանը կարող է լինել որպես բուսական բջիջների ֆունկցիոնալ ակտիվության ցուցանիշ, և այն որոշակի ձևով կապված է հաջադիմերի գենոմի բաղադրիչ հետ:

DNA structural changes during germination of cereals seeds testify that change of DNA methylation degree may be factor of functional activity of plant cells and definitely correlates with cereals genome formula

ДНК - дифференциальная кривая плавления (ДКП) - температура плавления (T_m) - 5- метилиптоин (m^5C) - уровень метилирования ДНК - ГЦ - содержание.

Метилирование ДНК существенно влияет как на структуру самой ДНК, так и на ее взаимодействие с различными белками. Несмотря на отсутствие четкого представления о функциональной роли этой эпигенетической модификации генома у эукариотических организмов, тем не менее предполагается, что одним из механизмов обеспечения регуляции и транскрипции ДНК у животных и растений является метилирование цитозина в ДНК [6], хотя данные о закономерности и регуляции этого процесса в делящихся и дифференцирующихся клетках довольно противоречивы [1,15].

Примечательно, что у видов в пределах отдельных классов, семейств и родов однодольных растений имеются заметные различия в содержании m^5C в ДНК [3]. Обнаружено, что уровень метилирования изменяется при прорастании семян хлопчатника и пшеницы [1,3,8]. В связи с этим интересно было изучить структуру ДНК и характер ее метилирования в процессе онтогенеза растительных клеток, в частности, при прорастании семян, в зависимости от формулы генома злаковых.

Материал и методика. Объектами исследования служили зародыши сухих семян пшеницы сорта Воскеаск (гексаплоидной мягкой пшеницы, геном AABBDD), полбы сорта Арни (культурная шведская, тетраплоидная, AABB) и тритикале сорта Сис-1 (гексаплоидный гибрид ржи с пшеницей, AABBRR), а также трехдневные проростки семян этих видов. Эмбрионы из семян злаков изолировали по методу Джонстона - Штерна [16], предварительно отобрав крупные и здоровые семена. Для проращивания и получения проростков отобранные семена промывали спиртом, а затем отмывали от спирта проточной водой и проращивали в темном термостатируемом шкафу при 26° 72 часа. Семена любезно предоставлены проф. П.А. Гандилянгом, Арм.СХИ.

Выделение ДНК. ДНК из сухих, предварительно охлажденных эмбрионов получали, измельчая их в ступке. Для получения ДНК из проростков последние замораживали при температуре жидкого азота и затем измельчали в ступке до получения тонкого порошка, который суспендировали в растворе, содержащем 0,15М NaCl, 0,015М нитрат Na, 0,01М ЭДТА и 0,1М трис ("Резал", Венгрия), а также 0,1 %-ный Тритон X-100 (Serva, Германия) и предварительно прогревом до 60°, затем добавляли SDS ("Serva", Германия) до конечной концентрации 2,5%, прогревали смесь при 80° - 2-3 мин и инкубировали далее при 55°. Дальнейшие процедуры проводили по Мармуру [17] с небольшими модификациями [9]. В дальнейшем ДНК инкубировали ферментами РНК-азой, диастазой и пропазой при 39° 2-3ч, просветляли ацетатом Na и пересаждали в равном объеме ледяного этанола. Растворяли в 0,1-SSC, очищали растворами 5% SDS и 4М NaCl, после центрифугирования и пересаживания в равном объеме ледяного этилового спирта получали препараты ДНК, которые по спектральным характеристикам соответствуют таковым по Мармуру:

$$\Lambda_{230} / \Lambda_{260} = 0,45 ; \Lambda_{280} / \Lambda_{260} = 0,515 ; \Lambda_{170} / \Lambda_{260} = 0,1$$

Плавление ДНК. Плавление ДНК проводили на SP 8-100 спектрофотометре Pye Unicam (England) при концентрациях 20-30 мкг/мл в 0,1-SSC в кварцевых кюветках, снабженных тефлоновыми пробками. Нагревание регулировали температурным программным устройством с линейной скоростью 0,25 град/мин. Поглощение Λ_{260} одновременно регистрировали на программируемом калькуляторе HP-97P. Первую производную поглощения, а также ГЦ-содержание вычисляли по ранее описанному методу [9]. Вычисления и построение кривых производили на компьютере "Электроника П-5".

Определение пуклотицидного состава ДНК. Высушенные препараты ДНК гидролизовали 87%-ной муравьиной кислотой в запаянных ампулах. Основания разделяли с помощью двукратной одномерной восходящей хроматографии на бумаге Filtrak в системе n-бутанол-вода-25% NH₄OH в соотношении 60:10:0,1 и определяли спектрофотометрически [4]. Оптическую плотность элюатов m⁵C измеряли при 290 и 320 нм и рассчитывали количество в соответствии с формулой (мкмоль): 0,1136 ($\Lambda_{290} - \Lambda_{320}$) [4].

Результаты и обсуждение. Данные, приведенные в таблице, показывают, что все изученные ДНК в основном относятся к ГЦ-типу. Гиперхромность ДНК всех исследованных нами препаратов составляла 33-35 %. В таблице также представлены средние значения ГЦ-пар и m⁵C в сухих эмбрионах семян и трехдневных проростках изучаемых видов. Наблюдается достоверное увеличение содержания ГЦ-пар в ДНК 3-дневных проростков, за исключением пшлбы, по сравнению с ДНК сухих эмбрионов. Заметно возрастало содержание m⁵C при прорастании семян, причем у сортов Воскесак и Сис-1 оно почти одинаково (5,3 и 4,7 мол % соответственно), а в ДНК пшлбы - выше (6,8 мол %).

Воскесак и тритикале, представляющие собой гексаплоидную пшеницу и гибрид твердой пшеницы с рожью соответственно (о близком родстве которых известно [14]), отличаются по содержанию m⁵C в ДНК от пшлбы, особенно трехдневные проростки пшеницы, хотя из полученных нами данных следует, что все они различаются по уровню метилирования ДНК и в сухих эмбрионах семян. В то же время надо отметить, что все три вида имеют общую часть генома, подобную таковой твердой пшеницы (AABB).

Приведенные в таблице данные о количественном содержании m⁵C в ДНК зародышей свидетельствуют и о таксономическом значении этой эпизиматической модификации. Кроме того, видно, что суммарная ДНК проростков как по уровню метилирования, так и по ГЦ-содержанию резко отличается от ДНК сухих семян.

Таким образом, уровень метилирования ДНК в сухих эмбрионах пшеницы ниже, чем в прорастающих семенах, хотя данные противоречивы [3,8,20]. И эти изменения в степени метилирования ДНК в процессе онтогенеза могут быть обусловлены

различными причинами. Можно предположить, что повышение уровня метилирования в ДНК 3-дневных проростков вызвано, во-первых, интенсификацией синтеза в прорастающих семенах, поскольку наибольшее количество делящихся клеток и самое высокое содержание ДНК (в пересчете на 100 г зародышей) наблюдается именно через 72ч после прорастания семян [10]. Во-вторых, по мере прорастания в семенах происходит, по всей вероятности, активирование и синтез ДНК-метилаз, тем более, что это связано с возможной множественностью ядерных ДНК-метилаз у высших растений [7,11], а также резко различным уровнем метилирования вновь синтезируемой и сформированной ДНК [2]. Наконец, гиперметилирование ДНК при прорастании семян может рассматриваться в качестве механизма дифференциальной транскрипции, поскольку метилирование ДНК у животных и растений может быть вовлечено в регуляцию репликации и транскрипции ДНК [5,12] в дифференцирующихся растительных клетках, являясь одним из условий включения и выключения отдельных генов.

Известно также, что при прорастании во фракции уникальных последовательностей ДНК пшеницы максимальным содержанием m^1C обладают блоки, содержащие четыре и более пиримидиновых нуклеотидов подряд, что не отмечается ни в одной из фракций ДНК сухих семян. Из этого следует, что при прорастании в геноме пшеницы, по-видимому, начинают метилироваться иные нуклеотидные последовательности, не метилирующиеся в семенах [3].

Анализ кривых плавления и определение температуры плавления T_m (таблица) показывает, что изменение содержания m^1C в ДНК трехдневных проростков отражается на параметрах плавления. Обнаружено заметное увеличение T_m с ростом m^1C в ДНК при прорастании семян Воскодак и Сис-1 и понижение температуры плавления у семян полбы в аналогичных условиях. Эти результаты показали, что не всегда имеется прямая корреляция между изменениями во вторичной структуре ДНК и увеличением степени ее метилирования при прорастании (у трехдневных проростков

Содержание 5-метилцитозина и температура плавления ДНК сухих и прорастающих семян злаковых.

Наименование злаковых	Формула генома	Условие опыта	m^1C , мол %	ПН-ш 1C	T_m , °C
Пшеница	AABBDD	сухие	4,6±0,7	47,1	73,0
		проростки	5,3±0,32	50,0	76,5
Гречиха	AANNRR	сухие	3,7±0,6	47,0	72,8
		проростки	4,7±0,5	50,3	74,0
Полба	AABB	сухие	2,3±0,39	50,1	74,1
		проростки	6,8±0,6	44,1	71,1

семян), и, вопреки ожиданию, у прорастающих семян полбы снижается T_m .

Остается предположить, что гиперметилирование в трехдневных проростках полбы может привести к дезаминированию m^1C с его трансформацией в тимин и исчезновением динуклеотида ГЦ, в результате чего, вероятно, произойдет образование дестабилизированных областей в АТ-богатых участках ДНК. В эти дестабилизированные области входят некомплемментарные ГТ-пары [13]. Плавление этих областей, возможно, приводит к понижению температуры плавления ДНК у трехдневных прорастающих семян полбы.

Полученные нами данные о структурных изменениях ДНК при прорастании семян

знаков свидетельствуют о том, что степень метилирования ДНК может быть показателем функциональной активности растительных клеток и определенным образом связана с клеточной дифференцировкой. Не исключено, что такое специфическое изменение метилируемых последовательностей на разных стадиях онтогенеза может носить регуляторный характер.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ванюшин Б.Ф., Кадырова Д.Х., Каримов Х.Х. Научные доклады высшей школы, биол. науки, 1, 85-88, 1972.
2. Ванюшин Б.Ф., Башките Е.А., Фридрих А., Хвойка Л.А. Биохимия, 46, 1, 47-55, 1981.
3. Ванюшин Б.Ф., Кирнос М.Д. В кн: Геном растений, Киев, 1988.
4. Васильев В.К., Гарибян Д.В., Захарян Р.А., Галоян А.А., Ванюшин Б.Ф. ДАН СССР, 205,3, 721-724, 1972.
5. Демидкина Н.П., Кирьянов Г.И., Ванюшин Б.Ф. Биохимия, 44, 8, 1416-1425, 1979.
6. Зиньковская Г.Г., Бердышев Г. Д., Ванюшин Б.Ф. Биохимия, 43, 10, 1883-1892, 1978.
7. Дохиев М., Сулимова Г.Е., Ванюшин Б.Ф. Биохимия, 43, 7, 1312-1318, 1978.
8. Дрожденюк А.П., Сулимова Г.Е., Ванюшин Б.Ф. Мол. биология, 10, 6, 1378-1385, 1976.
9. Минасбекян Л.А., Вардеванян П.О., Симонян А.Г., Паносян Г.А. Биолог. журн. Армении, 42, 6, 551-555, 1979.
10. Никитина Е.И., Кокшарова Т.Н., Агамалова С.Р. и др. Изв. АН СССР, 2, 232-242, 1969.
11. Сулимова Г.Е., Дрожденюк А.П., Ванюшин Б.Ф. Мол. биология, 12, 4, 846-852, 1978.
12. Adams R.L., Burdon R.H., Fulton J. Biochem. Biophys. Res. Commun., 113, 695-702, 1983.
13. Adams R.L., Eason R. Nucleic Acids Res., 12, 5869-5877, 1984.
14. Bendich A.J. Genetics, 65, 545-565, 1970.
15. Cedar H. Cell, 53, 3-4, 1988.
16. Johnston F.B., Stern H. Nature, 179, 160-161, 1957.
17. Marmur J. Mol. Biol., 3, 208-218, 1961.

Поступила 2.V.1991.



КАЛЛУСООБРАЗОВАНИЕ И ОРГАНОГЕНЕЗ В ИЗОЛИРОВАННОЙ КУЛЬТУРЕ ТОПИНАМБУРА

М.Г. ПЕТРОСЯН, Дж.А. АГАДЖАНИЯН, М.Г. ШАМЦЯН, Ю.Г. ПОПОВ

*Ереванский государственный университет,
кафедра микробиологии и физиологии растений, 375049*

Получены каллусные культуры из различных органов шести сортов топинамбура. Подобраны оптимальные питательные среды для поддержания их роста *in vitro*. Определены показатели, характеризующие рост каллусных тканей четырех сортов топинамбура. Изучены условия индуцированного органогенеза из каллусных тканей местного сорта топинамбура.

Տոպինամբուրի 6 սորտերի տարբեր օրգաններից ստացված են կալլուսային կուլտուրաներ: Անտրված են կրանց *in vitro* աճի պահպանման համար օպտիմալ սենդամիջավայրերը: Տոպինամբուրի 4 սորտերի համար որոշված են կալլուսային հյուսվածքների աճը բնութագրող ցուցանիշները: Ռստմնասիրված են ինդուկցված օրգանոգենեզի պայմանները տոպինամբուրի տեղական սորտի կալլուսային հյուսվածքներից:

Callus cultures from various organs of six sorts of topinambur were established. Optimal nutrient media for maintaining their *in vitro* growth were selected, and features of callus tissue growth of four sorts of topinambur were determined. The necessary conditions for induced organogenesis in callus tissues of local sort of topinambur were also studied.

Каллус - органогенез - топинамбур.

Топинамбур (*Helianthus tuberosus L.*) справедливо называют культурой XXI века. Высокая урожайность, экологическая пластичность, устойчивость к различным заболеваниям, наряду с расширяющимися возможностями его применения, обеспечивают экономическую эффективность возделывания этой нетрадиционной культуры.

Настоящее исследование посвящено разработке методов культивирования *in vitro* изолированных тканей различных сортов топинамбура и изучению условий каллусообразования и органогенеза.

Материал и методика. Для разработки условий получения и хранения *in vitro* каллусных культур использовались следующие сорта топинамбура: Пермский-раннеспелый, Сеянец, Интерес, Violet de Rennes, Fuseau, а также местные сорта этой культуры. Растения выращивались как в условиях асептических, так и закрытого и открытого группов. Эксплантаты брались из листьев, стеблей и клубней топинамбура в разные периоды вегетации. Для индукции каллусообразования были испытаны следующие питательные среды: Нияч и Нича [3,4], предложенная авторами специально для культивирования топинамбура, Мурасиге-Скуга (МС), Гамборга и Эвелета В-5, Шенка-Хильдебрандта с различными комбинациями и концентрациями фитогормонов. Составы всех использованных питательных сред воспроизведены по монографии Калининна с соавт. [1].

Объектами для индукции органогенеза служили каллусные ткани, полученные нами из листьев, стеблей и клубней местного сорта топинамбура. Применялась питательная среда МС, а в качестве индукторов органогенеза - различные сочетания регуляторов роста растений: из ауксинов - β -индолилуксусная кислота (ИУК), α -нафтилуксусная кислота (НУК), из цитокининов - кинетин и 6-бензиламинопурин (БАП).

Учет показателей роста каллусных тканей четырех сортов топинамбура проводили в динамике, на 10, 20 и 30-е сутки культивирования. По общепринятой методике определяли вес сырой и сухой биомассы, содержание сухих веществ в полученных каллусах. Индекс роста каллусов определяли согласно формуле $(W_1 - W_0) / W_0$, где W_0 - начальный вес эксплантата, а W_1 - конечный вес каллуса. Определения проводили в шестикратной повторности.

Результаты и обсуждение. В наших экспериментах способность к каллусообразованию установлена у всех шести испытанных сортов топинамбура. Для получения каллусных культур из эксплантатов топинамбура наилучшими оказались питательные среды Мурасиге-Скуга, Нич и Нича, причем первая из них была оптимальной и для дальнейшего поддержания роста изолированных тканей. В единичных случаях и на средах Гамборга-Эвелета, Шенка-Хильдебранга наблюдалось каллусообразование, однако оно было выражено значительно слабее.

Полученные из эксплантатов различных органов топинамбура каллусы светло-желтого цвета, иногда с бурекрасными участками, на свету зеленеют и, в зависимости от происхождения, имеют рыхлую (из листьев, стеблей) или плотную (из клубней) консистенцию. Жизнеспособность каллусных культур топинамбура поддерживалась периодическим пассированием через каждые 3-4 недели, на среде МС, при температуре 26° в темноте. В настоящее время их культивирование доведено до X - XXII пассажей.

Для четырех сортов топинамбура - местный, Пермский-раннеспелый, Сеянец и Fuseau - в период пятого пассажа на 10, 20 и 30-е сутки культивирования на среде МС проведено определение показателей, характеризующих рост каллусных тканей различного происхождения. Полученные результаты обобщены в таблице.

Приведенные данные показывают, что наиболее интенсивным ростом отличаются каллусные культуры сорта Пермский-раннеспелый. Незначительно отстают по росту каллусы сортов Сеянец и Fuseau. Интенсивный рост характерен особенно для каллусов листового и стеблевого происхождения. Значительно ниже прирост биомассы каллусов, полученных из эксплантатов клубней. Такая закономерность характерна для всех изученных сортов топинамбура. Особенно наглядно эту закономерность отражают данные по учету индекса роста тканей. К концу культивирования индекс роста каллусных тканей различных сортов топинамбура листового происхождения достигает 23-31, в то время как этот же показатель для тканей, полученных из клубней, колеблется в пределах 14-18.

Из приведенных в таблице данных видно также, что наиболее высоким содержанием сухих веществ отличаются каллусы, полученные из клубней всех сортов топинамбура. Во все сроки культивирования в клетках интенсивно растущих каллусных культур листового и стеблевого происхождения всех сортов топинамбура содержание сухих веществ меньше (выше оводненность тканей), чем в тканях, полученных из клубней.

Результаты экспериментов свидетельствуют, что полученные нами каллусные культуры жизнеспособны, при культивировании на среде МС обладают интенсивными темпами роста и могут служить объектом для осуществления следующего этапа исследований по экспериментальному органогенезу.

Индукцированный органогенез из каллусных тканей растений сравнительно мало изучен. Условия индукции органогенеза из недифференцированных каллусных тканей для каждой культуры подбираются скорее эмпирически, путем комбинирования

Прирост биомассы (сырой вес, г), содержание сухих веществ (%) и индекс роста (ИР) каллусных тканей различных сортов топинамбура в разные сроки культивирования на среде Мурасиге-Скуга

Сорт			Местный			Пермский-раннеспелый			Fuscau			Селяси			
			лист	стеб.	клуб.	лист	стеб.	клуб.	лист	стеб.	клуб.	лист	стеб.	клуб.	
Сроки культивирования, сут-ки	10	Вес	1,57	2,17	1,22	2,83	2,70	1,45	2,03	2,40	1,70	2,10	2,25	1,53	
		Сух.													
		ИР	8,10	7,94	10,62	8,31	8,07	10,70	7,90	8,19	10,35	8,02	7,55	11,00	
	20	Вес	3,62	2,90	1,17	4,15	3,95	1,97	4,01	3,80	1,85	3,89	3,57	1,70	
		Сух.													
		ИР	7,26	8,83	11,39	7,01	8,17	11,30	7,33	8,93	10,85	7,80	8,20	11,20	
	30	Вес	4,79	4,38	3,08	6,35	5,85	3,80	5,80	5,05	3,03	5,95	5,10	3,28	
		Сух.													
		ИР	7,54	7,66	11,13	7,11	7,95	11,10	7,15	8,10	10,45	7,15	8,00	11,03	

гормонально-трофических факторов. В этой области определенные успехи достигнуты для некоторых представителей пасленовых, бобовых и злаковых. В литературе мы не встречали сообщений по органогенезу у топинамбура.

В наших экспериментах способность к органогенезу проявляли каллусные культуры II пассажа, изолированные из листьев и стеблей топинамбура. Каллусные культуры, полученные из клубней, этой способностью не обладали. Высокая частота формирования корней и листьев наблюдалась после двухнедельного роста в темноте при 26° на среде МС, содержащей в качестве индукторов органогенеза НУК - 3 мг/л, ИУК - 2 мг/л и кинетин - 0,05 мг/л. Объекты с формирующимися органами оставались при 16-часовом освещении, и в этих условиях процесс органогенеза завершался. В условиях освещенности органогенез наблюдался при использовании в среде МС следующей комбинации фитогормонов: кинетин - 3 мг/л, БАП - 1 мг/л, НУК - 0,2 мг/л. При культивировании каллусов на среде МС иногда наблюдался и спонтанный органогенез.

Выполнение работы частично финансировалось грантом Ассоциации ИНГАС ЕС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев, 1980.
2. Топинамбур и топинеолечник - проблемы возделывания и использования. Тез. докл. III Всесоюзной научно-производственной конференции. Одесса, 7-11 окт., 1991.
3. Nitsch J.P., Nitsch C. Amer. J. Bot., 43, 10, 839-851, 1956.
4. Nitsch J.P., Nitsch C. Amer. J. Bot., 44, 6, 555-564, 1957.

Поступила 07. XI 1994.

ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СРЕДЫ В ПРОЦЕССЕ АНАЭРОБНОГО РОСТА БАКТЕРИЙ

А.П. ЗАХАРЯН, Э.А. КАРАГУЛЯН, А.А. ТРЧУНЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики, 375049

Показано, что в процессе анаэробного роста *Escherichia coli* K 12 (λ) рН и окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) среды резко падают, достигая минимальных значений в середине логарифмической фазы, и затем медленно возрастают, далеко не доходя до исходных значений. В процессе роста мутанта *E.coli* AN 718 с неработающим H^+ - АТФазным комплексом F_1F_0 минимальные значения рН и ОВП среды наблюдаются значительно позднее, после перехода культуры в стационарную фазу. Предполагается, что резкое падение этих параметров среды в процессе анаэробного роста бактерий обуславливается не одними и теми же, а различными транспортными механизмами мембран бактерий, зависит от работы F_1F_0 и не определяет переход в стационарную фазу.

Ցույ է տրված, որ *E.coli* K 12 (λ) -ի անտրոք աճի ընթացքում միջավայրի рН-ն և օքսիդա-վերականգնման պոտենցիալը կտրուկ ընկնում են, հասնելով մինիմալ արժեքների լոգարիթմական փուլի միջին ժամանակահատվածում, և այնուհետև դանդաղ աճում, չհասնելով սկզբնական արժեքներին: Օգործող H^+ - ԱՏՖազային F_1F_0 կոմպլեքսով *E.coli* AN 718 մուտանտի աճման ժամանակ միջավայրի рН-ի և օքսիդա-վերականգնման պոտենցիալի մինիմալ արժեքները դիտվում են ավելի ուշ՝ ստացիոնար փուլ անցնելուց հետո: Ենթադրվում է, որ բակտերիաների անտրոք աճի ընթացքում միջավայրի այդ պարամետրերի կտրուկ անկումը պայմանավորված է բակտերիաների մեմբրանների ոչ թե միևնույն, այլ տարբեր տրանսպորտային մեխանիզմներով, կախված F_1F_0 -ի աշխատանքից և չի որոշում անցումը ստացիոնար փուլ:

The medium pH and redox potential decrease at the anaerobic growth of *E.coli* K 12 (λ), achieving minimal values at the middle of log-phase, and then increase but not achieving initial values. The minimal values of pH and redox potential at the growth of mutant *E.coli* AN 718 with the unfunctioning H^+ - ATPase complex F_1F_0 are observed considerably later after transition into state-phase. The abrupt decrease of these parameters of medium at the anaerobic growth of bacteria conditioned by different mechanisms of bacterial membranes, depends on operation of F_1F_0 and does not determine the transition into state-phase which is supposed.

Бактериальные мембраны - анаэробный рост - окислительно-восстановительный потенциал - рН - оптическая плотность

В последние годы достигнуты успехи в изучении действия физико-химических факторов, важных для регуляции микробного метаболизма, на функционирование бактериальных мембран. Большое внимание уделяется, например, ОВП среды [8-9], по крайней мере по двум причинам: во-первых, в процессе роста бактерий наблюдается его резкое падение [3,5,8], что является результатом выброса окислительно-восстановительных эквивалентов в среду, связано с деэнергизацией мембраны и снятием ионных градиентов между клеткой и средой [4] и определяет переход культуры в стационарную фазу роста; во-вторых, этот параметр среды играет, по-видимому, важную роль в регуляции транспортных механизмов мембраны [11,14,16,23].

Обнаружив способность анаэробно выращенных *E.coli* и других бактерий

обменивать 2Н⁺ клетки на один К⁺ среды с участием F₁F₀ и Trk системы поглощения К⁺ и создавать высокое распределение К⁺ между клеткой и средой [10,20], мы предложили принцип прямого внутримембранного взаимодействия транспортных систем (F₁F₀ и Trk системы) с образованием белок-белковых суперкомплексов для совместного использования конвертируемой энергии [18-21]. В последующем было показано, что при обмене 2Н⁺ клетки на один К⁺ среды с участием F₁F₀ и Trk системы у анаэробно выращенных бактерий в условиях отсутствия нитратов происходит выделение Н₂, которое задерживалось окислителем (феррицианидом) и ускорялось сульфидрильным реагентом (дигидротейтолом): постулирована роль формат-водородлиазы, участвующей в производстве Н₂, во взаимодействии F₁F₀ с Trk системой с осуществлением реакции 2 SH → S-S + H₂, при этом часть энергии гидролиза АТФ тратится на перенос восстановительных эквивалентов от муравьиной кислоты к дисульфидным группам между транспортными белками [11]. Сложность модели заключается и в том, что окисление формата с выделением Н₂ нуждается в стимуляторе - в электрохимическом протонном градиенте (ΔрН) или, может быть, в ОВП.

Вместе с тем, при изучении транспортных процессов необходимо большее внимание уделять физиологии бактерий с выявлением роли физико-химических факторов в совокупности [9], ибо здесь могут быть найдены новые возможности в раскрытии механизмов регуляции микробного метаболизма и поиске путей повышения эффективности использования бактерий в биотехнологии.

Мы задались целью изучить особенности изменения рН и ОВП среды в процессе анаэробного роста *E.coli* и попытаться выявить определяющие эти изменения мембранные механизмы бактерий.

Материал и методика. Бактерии и их выращивание. В работе использовали граммотрицательные факультативно анаэробные бактерии: дикий тип *E.coli* К 12(λ) и мутанты *E.coli* AN 718 и ТК 509.

Бактерии выращивали в анаэробных условиях в питательной среде с глюкозой [13] в колбах

Краткое описание мутантов *Escherichia coli*, использованных в работе.

Мутант	Получен	Генотип	Дефектный белок	Литература
AN 718	от В.Бахманн (Генетический центр, Нью-Хейвен, США)	F ⁺ arg11 catA403 pyrE41 uncA401 rpsL109 supE44	α-субъединица F ₁	[15]
TK 509	от Э.Ваккера (Оснабрюкский университет, ФРГ)	F ⁺ lac mal tha nadA trkA405 trkD1	TrkA	[22]

(отношение объемов среды и колбы 1:1,25) без встряхивания при 37°, при этом бактерии инокулировали в ростовые среды с чашек с твердой средой или из почной культуры, выращенной в той же среде. Характер секреции лактата и генерации мембранного потенциала у этих бактерий, показанный нами ранее [17,20], соотношение количества секретируемых бактериями Н⁺ с количеством утилизированной глюкозы, определяемое для малого промежутка времени, равное 2,0, и другие факты также говорят об анаэробных условиях выращивания бактерий.

Титр бактерий определяли подсчетом колоний после высева разведенной суспензии на твердые среды и фотометрически с помощью фотометра КФК-3 при длине волны 560 нм.

Определение физико-химических параметров среды. рН среды определяли потенциометрическим методом с помощью иономера ЭВ-74 со стеклянным электродом типа ЭСЛ-

63-07 [13], ОВП - с платиновым электродом типа ЭПВ-1 после установления значения в течение 15 мин [1]. Определение ОВП в нашей лаборатории с помощью титаново-силикатного электрода, чувствительного к H_2 [11], воспроизводило кинетику ОВП, определяемого с помощью платинового электрода, в среде с бактериями при $H^+ - K^+$ - обмене [1]. О количественном изменении активности H^+ в среде судили по результатам титрования соляной кислотой в малых концентрациях для диапазона изменений рН. Концентрацию глюкозы в среде определяли фотоэлектроколориметрически с помощью О-толуидина [12].

Приведенные кривые построены по средним арифметическим значениям определяемых параметров, стандартная ошибка которых не превышает 5%.

В работе использовали пептон (Фармахим, Болгария), глюкозу (Московский химфармзавод), трис (Реапал, Венгрия), стандартные буферные растворы (Радиометер, Дания) и другие реактивы отечественного производства.

Результаты и обсуждение. 1) *Изменение рН и ОВП среды в процессе анаэробного роста E.coli.* Ряд авторов [3-7] наблюдали изменения рН и ОВП среды в процессе роста *E.coli* и других бактерий в солевых средах в аэробных условиях в режиме периодического культивирования. Мы же изучали изменения этих параметров в процессе анаэробного роста *E.coli* в пептонной среде с глюкозой [13], когда была обнаружена их способность обменивать $2H^+$ клетки на один K^+ среды с участием F_1F_0 и Trk системы и создавать высокое распределение K^+ между клеткой и средой [10,20]. При этом, бактерии, выращенные в таких условиях, обладают $\Delta\mu H$ независимо от наличия экзогенного источника энергии [17] и отрицательным поверхностным зарядом, отражающим характер обмена H^+ клетки на K^+ среды [2].

В процессе анаэробного роста *E.coli* К 12 (λ) в пептонной среде с глюкозой при увеличении оптической плотности суспензии и убыли концентрации глюкозы в среде наблюдаются изменения рН и ОВП среды. При этом в течение 3ч после инокуляции среды бактериями как с чашек с твердой средой (рис. 1), так и из ночной культуры (не показано) оптическая плотность возрастает незначительно, титр бактерий не

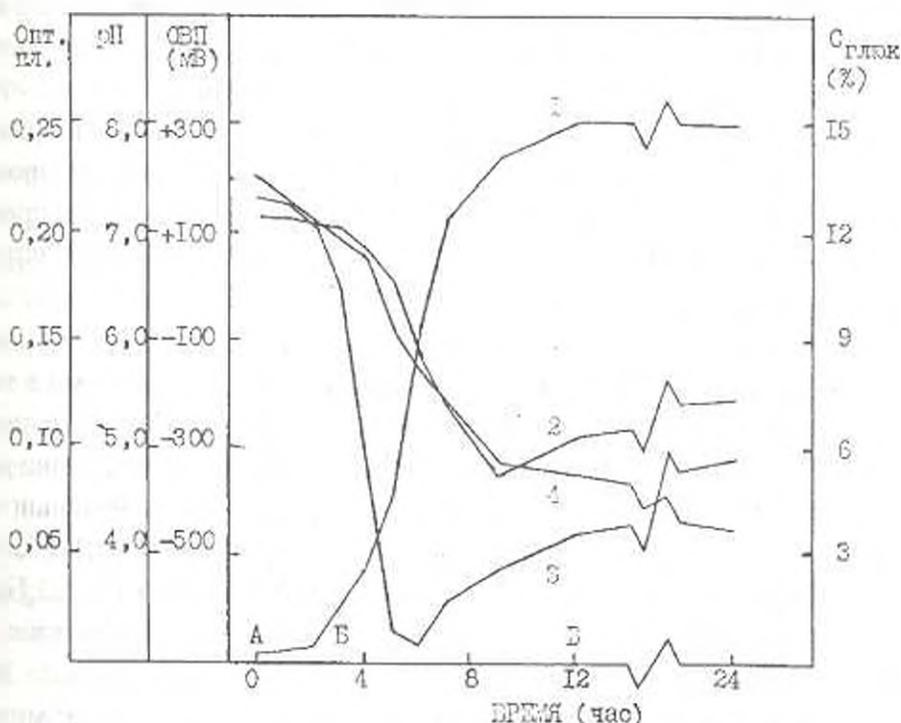


Рис. 1. Изменения оптической плотности (1), рН (2), ОВП (3) и концентрации глюкозы (4) в процессе анаэробного роста *E.coli* К 12 (λ) в пептонной среде с глюкозой.

превышает 10^5 , рН не претерпевает существенных изменений, а ОВП переходит от положительных значений к отрицательным до $-50-65$ мВ (рис.1,А). С четвертого часа с переходом в логарифмическую фазу роста оптическая плотность суспензии резко увеличивается и к девятому часу выходит на максимальный уровень, рН начинает постепенно падать, а ОВП претерпевает резкое падение до $-600-620$ мВ к пятому-шестому часу (рис.1,Б). Далее, после девятого часа с переходом в стационарную фазу роста продолжается утилизация глюкозы, но наблюдается некоторое повышение рН и ОВП среды (рис.1,В). В процессе анаэробного роста бактерий в петитной среде без глюкозы логарифмическая фаза роста значительно растягивается во времени, к девятому часу оптическая плотность не доходит даже до половины значений, наблюдаемых в процессе роста бактерий в среде с глюкозой, рН уменьшается незначительно, а ОВП падает лишь до -210 мВ (не показано).

Характер изменений рН и ОВП среды в процессе анаэробного роста *E.coli* в петитной среде с глюкозой указывает, скорее всего, на определенную связь между изменениями этих параметров. Вместе с тем, эти изменения позволяют допустить, что физиологическое состояние бактерий в разные фазы роста различно, что важно при изучении и, особенно, интерпретации транспортных процессов у них.

2) К механизму изменений рН и ОВП среды в процессе анаэробного роста *E.coli*. Выявленные изменения некоторых физико-химических параметров среды в процессе анаэробного роста бактерий поставили ряд вопросов, некоторые из которых были в центре нашего внимания (какими процессами обусловлены наблюдаемые изменения; взаимосвязаны ли они между собой; могут ли характеризовать физиологическое состояние бактерий?).

Падение рН в процессе роста бактерий может быть обусловлено не только выбросом кислых продуктов метаболизма глюкозы [3-5,8], например, молочной кислоты, но и секрецией H^+ из клеток с помощью протонных насосов мембраны, например, H^+ -АТФазного комплекса. Последующее его увеличение же может быть связано с утилизацией кислых продуктов метаболизма глюкозы, выброшенных клетками в среду, или со входом H^+ в клетку через протонные каналы.

Изменение же ОВП суспензии определяется скорее всего не выбросом веществ из клеток в среду, как предполагают одни авторы [3,4,8], а процессами, происходящими на поверхности мембраны бактерий, как это было показано нами [1] и предполагается другими авторами [5-7]. Здесь, возможно, играют роль генерация $\Delta\psi$ и перенос зарядов через мембраны бактерий [5-7].

С этой точки зрения было интересно изучить изменение тех же параметров в процессе роста в аналогичных условиях мутантов *E.coli* с дефектами в мембранных транспортных белках (рис.2). В процессе роста *E.coli* AN 718 с дефектом по α -субъединице F_1 и с неработающим H^+ -АТФазным комплексом падение рН в течение шести часов практически не наблюдается, затем он падает незначительно лишь до 6,1 (в процессе роста *E.coli* К 12 (λ) рН падает до 4,8) (ср. рис.2 и 1,Б). Скачок ОВП до -540 мВ запаздывает на 5-6ч по сравнению с *E.coli* К 12 (λ) (рис.2,Б). При этом минимальные значения рН и ОВП среды наблюдаются практически в одно и то же время. В процессе же анаэробного роста *E.coli* ТК 509 с дефектом по TrkA белку и с неработающей Trk системой поглощения K^+ запаздывает логарифмическая фаза роста, изменение рН с минимальным значением к девятому часу не отличается от

такового в процессе роста *E.coli* К 12 (λ) (ср. рис.2 и 1,Б). Быстрее начинается падение ОВП, но минимальное значение в -550-565 мВ наблюдается также к шестому часу, как в процессе роста *E.coli* К 12 (λ) (рис.2, Б).

Совокупность полученных данных указывает на то, что изменения рН и ОВП

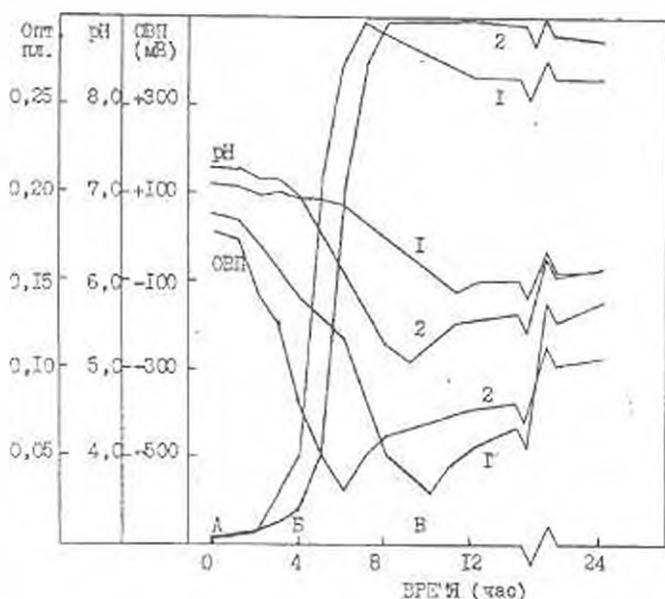


Рис.2. Изменения оптической плотности, рН и ОВП в процессе анаэробного роста мутантов *E.coli* AN 718 (1) и TK 509 (2) в питонной среде с глюкозой.

среды в процессе анаэробного роста *E.coli*, расходящиеся во времени, определяются разными механизмами, между которыми, по-видимому, не всегда существует однозначная связь. Далее, скачки этих параметров скорее всего не определяют переход культуры в стационарную фазу роста, ибо у мутанта *E.coli* AN 718 они наблюдаются значительно позднее, чем кривая роста оптической плотности выходит на стационарный уровень. Наконец, транспортные системы мембраны бактерий, а именно скорее всего F_1F_0 , нежели Tgk система, осуществляющие перенос H^+ и K^+ и участвующие в генерации и использовании ΔpH [17,19], влияют на изменения параметров среды в процессе анаэробного роста *E.coli*.

Остаются сложности в объяснении изменений ОВП в процессе роста бактерий. Резкое падение ОВП среды с последующим его возрастанием трудно объяснить, как полагают некоторые авторы [5-7], изменением ΔpH у бактерий, остановкой его генераторов. Необходимо учесть, что, во-первых, дикий тип и мутанты *E.coli*, выращенные в питонной среде с глюкозой, обладают ΔpH в -125-140 мВ независимо от наличия экзогенного источника энергии, который при введении глюкозы возрастает кратковременно на 20 мВ [17]; во-вторых, у мутантов наблюдается резкое падение ОВП среды до -540-565 мВ, как и у дикого типа, но ΔpH при введении глюкозы не возрастает [17]. Объяснение наблюдаемых изменений рН и ОВП среды в процессе анаэробного роста *E.coli* переносом зарядов через мембраны бактерий с изменением их концентраций в околоклеточном пространстве, отражающимся на ОВП среды [6-7], также вряд ли может быть однозначным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баграмян К.А., Карагулян Э.А., Трчунян А.А. и др. Биолог. журн. Армении, 41, 393-397, 1988.
2. Карагулян Э.А., Гонян С.А., Трчунян А.А. Биофизика, 29, 319-320, 1984.
3. Октябрьский О.Н., Пшеничнов Р.А., Ткаченко А.Г. и др. Микробиология, 50, 467-472, 1981.
4. Октябрьский О.Н., Пшеничнов Р.А. Микробиология, 51, 515-519, 1982.
5. Октябрьский О.Н., Смирнова Т.В., Зеленин Е.Н. Биофизика, 29, 831-834, 1984.
6. Октябрьский О.Н., Смирнова Т.В. Биофизика, 31, 459-463, 1986.
7. Октябрьский О.Н., Смирнова Т.В. Изв. АН СССР. Сер. биол., 4, 616-620, 1986.
8. Работнова И.Л. Роль физико-химических условий (рН и гН₂) в жизнедеятельности микроорганизмов. М., 1957.
9. Работнова И.Л. Микробиология, 52, 166-168, 1983.
10. Трчунян А.А., Дургарьян С.С., Оганджян Е.С. и др. Биол. науки, 12, 82-88, 1986.
11. Bagratyan K.A., Martirosou S.M. FEBS Lett., 246, 149-152, 1989.
12. Bergmeyer H.U. Herausgegeben von Methoden der Enzymatischen Analyse, 1, 624-626, 1974.
13. Durgaryan S.S., Martirosou S.M. Bioelectrochem. Bioenerg., 5, 554-560, 1978.
14. Elferink M.G.L., Hellingwerf K.J., Nano F.E., et al. FEBS Lett., 167, 185-190, 1983.
15. Gibson F., Cox G.B., Downie J.A., et al. J. Biochem., 162, 665-670, 1977.
16. Konings W.N., Elferink M.G.L., Hellingwerf K.J., et al. Environmental Regulation of Microbial Metabolism. N.Y., London, 1984.
17. Martirosou S.M., Petrosian L.S., Trchounian A.A., et al. Bioelectrochem. Bioenerg., 8, 613-620, 1981.
18. Martirosou S.M., Trchounian A.A. Bioelectrochem. Bioenerg., 8, 605-611, 1981.
19. Martirosou S.M., Trchounian A.A. Bioelectrochem. Bioenerg., 11, 29-36, 1983.
20. Martirosou S.M., Trchounian A.A. Bioelectrochem. Bioenerg., 15, 417-426, 1986.
21. Martirosou S.M., Ogandjanian E.S., Trchounian A.A. Bioelectrochem. Bioenerg., 19, 353-357, 1988.
22. Rhoads D.B., Epstein W. J. Biol. Chem., 252, 1394-1401, 1977.
23. Robillard G.T., Konings W.N. Eur. J. Biochem., 127, 597-603, 1982.

Поступила 30.1.1991

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 612.017.4-006.6

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ
НЕКОТОРЫХ БИОПОЛИМЕРОВ

А.С. АГАБЯН, Р.А. ЗАХАРЯН, О.Я. ДАВТЯН

Институт молекулярной биологии НАН Армении, 375044, Ереван

В работе проведено сравнительное изучение противоопухолевой активности ряда интерферон-индуцирующих биополимеров. Показано, что двухспиральная РНК, используемая в виде кальциевого преципитата, в отличие от официального препарата нуклеината натрия обладает выраженным противоопухолевым действием. Значительное противоопухолевое действие обнаружено также у эндотоксина, выделенного из *Bacillus thuringiensis*. Предполагается, что оба биополимера осуществляют свое противоопухолевое действие посредством стимуляции синтеза эндогенного интерферона.

Կատարվել է ինտերֆերոն-խթանող որոշ բիոպոլիմերների հակաուռուցքային ակտիվության համեմատական ուսումնասիրությունը: Ցույց է տրվել, որ երկպարույրայն ՌՆԹ-ն, օգտագործված կալցիումի նստվածքի չևով, հակառակ պաշտոնապես ընդունված նատրիումի նուկլէինատի պրեպարատի, օժտված է արտահայտված հակաուռուցքային ազդեցությամբ: Ուվալանին հակաուռուցքային ակտիվություն հայտնաբերվել է նաև *Bacillus thuringiensis*-ի անջատված էնդոտոքսինի մոտ: Ենթադրվում է, որ երկու բիոպոլիմերներն իրենց հակաուռուցքային ազդեցությունը իրագործում են էնդոգեն ինտերֆերոնի սինթեզը խթանելու միջոցով:

The comparative study of antitumour activity of some interferon induced biopolymers has been worked out. The two-helix RNA used in form of calcium precipitate has an expressed antitumour activity unlike the official preparation of sodium-nucleinate. Significant antitumour activity was revealed for endotoxin obtained from *Bacillus thuringiensis*. Both biopolymers their antitumour action effected by stimulation of endogenic interferon synthesis which was supposed.

ԸՏՐՈՒՄ - нуклеинат натрия - эндотоксин - интерферон - опухолевый рост.

Биополимеры, в частности низкомолекулярные РНК и ряд бактериальных эндотоксинов, являются признанными индукторами интерферона [6,10]. Земсков с соавт. показали широкий спектр биологического эффекта препарата нуклеината натрия [8]. Описана эффективность этого препарата при бронхопневмониях, острых респираторных заболеваниях, язвах желудка, неспецифическом язвенном колите и т.д. [8,9,11]. В настоящее время имеется значительное число сообщений, посвященных биологическим свойствам рибонуклеиновых кислот (РНК), и особенно ее двухспиральной форме (дсРНК). Установлено, что дсРНК обладает высокой интерферониндуцирующей и противовирусной активностью [5,6] и способна заметно усиливать процессы репарации и регенерации тканей [3]. Выраженные биологические свойства обнаружены также у ряда бактериальных эндотоксинов. Так, было показано, что эндотоксины *E.coli*, *S.typhimurium*, *Hemophilus influenzae* являются активными индукторами интерферона [10]. Prasad с соавт. установили, что эндотоксин *B. thuringiensis* обладает способностью подавлять рост асцитной опухоли Йоншида вследствие значительного усиления иммунного ответа организма [12,13]. В то же время нами показано, что эндотоксин *B.thuringiensis* обладает выраженной способностью индуцировать человеческий, иммунный интерферон [4], и поэтому предполагается возможность проявления противоопухолевой активности этого эндотоксина через систему интерферона.

Исходя из вышесказанного, представлялось интересным провести сравнительную оценку противоопухолевой активности дсРНК, нуклеината натрия и эндотоксина *B.thuringiensis*.

Материал и методика. В работе использовали коммерческий препарат нуклеината натрия (НН). Выделение и очистка дсРНК и эндотоксина *B.thuringiensis* описаны нами ранее [2,7]. Гепатому ХХII-а (22-а) получили после прививки мышам линии СЗНА 2×10^6 клеток гепатомы, саркому-45 - путем прививки клеток опухоли (2×10^6) крысам линии Август и, наконец, опухоль толстой кишки крыс получили посредством введения животным ДНК, выделенной из аденокарциномы толстой кишки человека. Подробная методика получения опухоли толстой кишки крыс и гистоморфологическая характеристика слизистой оболочки толстой кишки (СОТК) описаны в другой нашей работе [1].

Все препараты вводили животным внутривенно (в/в), дсРНК применяли в виде кальциевого преципитата (Са-дсРНК). Влияние препаратов на рост опухоли определяли в случаях с гепатомой 22-а и саркомой-45 по их весовым характеристикам, а в случае с опухолью толстой кишки - по гистоморфологической картине СОТК животных.

Результаты и обсуждение. В первой серии экспериментов изучали влияние нуклеиновых кислот и эндотоксина на рост гепатомы 22-а и саркомы-45. Нуклеиновые кислоты вводили животным в следующих концентрациях: ИИ-5 мг/мышь и 50 мг/крысу, Са-деРНК-20 мкг/мышь и 100 мкг/крысу, эндотоксин вводили животным в дозе 40 мкг/мышь и 80 мкг/крысу. Результаты этих экспериментов отражены в табл. 1 и 2. Из приведенных таблиц видно, что в результате проведенных исследований установлено значительное ингибирование роста экспериментальных опухолей препаратами РНК. Наиболее выраженное противоопухолевое действие оказали препараты Са-деРНК, введенные животным за 24 ч до трансплантации опухолевых клеток. Развитие опухолей в этом случае подавлялось в среднем на 70%. В то же время введение ИИ животным в том же временном режиме приводило к подавлению роста опухолей лишь на 47%. Введение препаратов РНК через 24 ч после трансплантации опухолевых клеток приводило к уменьшению противоопухолевой активности препаратов почти в 2 раза. Многократное введение препаратов через 24, 48 и 72 ч после трансплантации опухолей не приводило к усилению их противоопухолевого эффекта.

Таблица 1. Влияние Са-деРНК и ИИ на развитие гепатомы 22-а и саркомы-45.

Характер воздействия	Масса опухоли, г			
	гепатома 22-а	% подавления	саркома-45	% подавления
1. Контроль (исключены) (n = 20)	2,07 ± 0,180	-	4,560 ± 0,141	-
2. ИИ				
а) за 24 ч до трансплантации (n = 20)	1,195 ± 0,102 P < 0,05	42,3	2,297 ± 0,201 P < 0,01	50,9
б) через 24 ч после трансплантации (n = 20)	1,472 ± 0,160 P < 0,05	29,1	3,155 ± 0,285 P < 0,05	30,8
3. Са-деРНК				
а) за 24 ч до трансплантации (n = 20)	0,630 ± 0,08 P < 0,01	70	1,189 ± 0,05 P < 0,05	73,9
б) через 24 ч после трансплантации (n = 20)	1,095 ± 0,120 P < 0,01	47,2	2,402 ± 0,117 P < 0,05	47,4

Изучение противоопухолевой активности эндотоксина *B.thuringiensis* проводили по той же схеме. Результаты этих экспериментов суммированы в табл. 2, из которой видно, что подавление роста опухолей эндотоксином эффективно как при введении препарата за 24 ч до трансплантации опухолевых клеток, так и через 24 ч после трансплантации. И в этих экспериментах многократное использование препарата не приводило к усилению противоопухолевой активности.

Таблица 2. Влияние эндотоксина *B.thuringiensis* на развитие гепатомы 22-а и саркомы-45.

Воздействие эндотоксином	Масса опухоли, г			
	гепатома 22-а	% подавления	саркома-45	% подавления
1. Контроль (исключены) (n = 20)	2,130 ± 0,180	-	4,510 ± 0,205	-
2. Эндотоксин				
а) за 24 ч до трансплантации (n = 20)	0,630 ± 0,187 P < 0,01	70,5	1,145 ± 0,03 P < 0,01	74,6
б) через 24 ч после трансплантации (n = 20)	0,700 ± 0,05 P < 0,01	67,2	1,550 ± 0,12 P < 0,01	65,6

Полученные результаты предполагают, что в основе подавления роста экспериментальных опухолей препаратами Са-дсРНК и эндотоксина *B.thuringiensis* лежит индукция эндогенного интерферона у животных. Это предположение подтверждается тем обстоятельством, что высокая степень индукции интерферона различными индукторами, как правило, отмечается при предварительной, до заражения, обработке культуры клеток интерферонотенами.

Следующая серия экспериментов была направлена на изучение влияния препаратов РНК на развитие опухолевого процесса в толстой кишке белых крыс.

В этих экспериментах препараты РНК вводили животным после развития у последних неопластических изменений в СОТК, определяемых гистоморфологическим путем. Препараты РНК вводили животным по следующей схеме: в неделю раз животным вводили 50 мг НН, время лечения - три недели, аналогичный курс лечения проводили с Са-дсРНК, доза препарата - 100 мкг/крысу (разовая доза). Морфологическая характеристика СОТК контрольных и опытных животных приведена в табл. 3.

Таблица 3. Влияние препаратов РНК на развитие опухоли в толстой кишке крыс.

Характер воздействия	Морфологическая характеристика СОТК
1. Контроль (нелеченые) (n = 20)	Губулярная аденома с признаками тяжелой дисплазии и ослизнением
2. НН (n = 20)	Губулярная аденома с признаками тяжелой дисплазии и ослизнением
3. Са-дсРНК (n = 20)	Продифференция эпителия, в криптах сужение межкриптовых перегородок, соединительная ткань представлена фиброзно измененными волокнами и фибробластами

Из приведенной таблицы видно, что Са-дсРНК в отличие от нуклеината патрия оказывает значительный ингибирующий эффект на опухолевую прогрессию в толстой кишке крыс с четким изменением морфологической картины СОТК в сторону нормализации.

Таким образом, проведенные исследования выявили выраженные противоопухолевые свойства дсРНК и эндотоксина *B.thuringiensis*. Полученные результаты позволяют однозначно заключить, что ингибирование роста опухолей в наших экспериментах связано с индукцией эндогенного интерферона примененными препаратами, усилением иммунного ответа животных и повышением неспецифической противоопухолевой резистентности организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агабалян А.С., Давтян О.Я. и др. ДАН Армении, 4, 179-183, 1987.
2. Агабалян А.С., Захарян Р.А. и др. Журн.экспер. и клин. медицины, 6, 559-562, 1985.
3. Агабалян А.С., Назаров Л.У. и др. ДАН Армении, 3, 173-178, 1993.
4. Агабалян А.С., Рухкян Л.А. и др. А.С. СССР, 3875028/28-14/.
5. Буката Л.А., Носик Н.Н. В кн: Изучение индуктора интерферона - двухспиральной РНК в различных биологических системах. 7-17, Рига, 1989.
6. Ершов Ф.И., Носик Н.Н. Антибиотики, 6, 444-448, 1979.
7. Захарян Р.А., Месропян Н.П. и др. Экспер. онкология, 3, 54-56, 1985.
8. Земсков А.М., Провоторов В.М. Антибиотики, 11, 853-855, 1979.

9. Помазян В.А., Пешко В.А. и др. Вест. хирургии, 10, 75-78, 1977.
10. Соловьев В.Д., Бектемиров Т.А. В кн: Интерфероны в теории и практике медицины. М., 1981.
11. Ткач С.М., Бычкова Н.Г. и др. Врач. дело, 9, 58-62, 1989.
12. Prasad S., Jalitha H., Shetna Y. Current science, 42, 568-573, 1973.
13. Prasad S., Shetna Y. Indian J. Exp. Biology, 14, 285-289, 1976.

Поступила 8. IX.1994

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 577.5:579.253.4

ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ КОМПОНЕНТОВ БЕЛОКСИНТЕЗИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ КАПСУЛЯРНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ У *ESCHERICHIA COLI* K-12

Г.Г. ОГАНЕСЯН, А.А. БАРСЕГЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян

Изучено влияние мутаций в генах, детерминирующих биосинтез компонентов белоксинтезирующей системы клетки, на сверхсинтез капсулярных полисахаридов (КПС) у *lon* мутантов *Escherichia coli* K-12. Показано, что *ropB* мутации, затрагивающие структуру β -субъединицы РНК-полимеразы, приводят как к увеличению, так и снижению синтеза КПС. Рибосомные же мутации *rpsL* приводят к снижению или полной остановке биосинтеза КПС. Сочетание рибосомных и РНК-полимеразных мутаций в одной клетке усугубляет их действие на образование КПС.

Ուսումնասիրված է բջժի սպիտակուս սինթեզող ապարատի կոմպոնենտների բխոսինթեզը ցայմանավորող գենային մուտացիաների ազդեցությունը, որը *Escherichia coli* K-12-ի *lon* մուտանտների մոտ առաջ է բերում կապսուլյար (պատիճի) բազմաշաքարների (ԿՊՏ) գերսինթեզ: Ցույց է տրված, որ *ropB* մուտացիաները, որոնք ազդում են ՌՆԹ-պոլիմերազի β - ենթամիավորի կառուցվածքի վրա, ավելացնում կամ նվազեցնում են ԿՊՏ սինթեզը: Ռիբոսոմային *rpsL* մուտացիաները առաջ են բերում ԿՊՏ բխոսինթեզի նվազում կամ լրիվ կանգ: Ուսումնասիրված է ՌՆԹ-պոլիմերազի և ռիբոսոմային մուտացիաների համատեղ ազդեցությունը ԿՊՏ առաջացման վրա:

The influence of mutations in genes, determining the biosynthesis of components of protein synthesising system of cell, for overproduction of capsular polysaccharides (CPS) of *lon* mutants of *Escherichia coli* K-12 is studied. The *ropB* mutations effecting on the structure of β -subunits of RNA-polymerase bring to increase or decrease the synthesis of CPS. Ribosomal *rpsL* mutations bring to decrease or stop the biosynthesis of CPS. The combined action of ribosomal and RNA-polymerase mutations on formation of CPS is investigated.

Капсулярные полисахариды - мутация - рибосома - РНК-полимерата.

Биосинтез КПС у *E. coli* K-12 находится под негативным контролем *lon* гена [11,12]. Этот ген детерминирует биосинтез АТФ-зависимой протеазы, избирательно подвергающей протеолизу дефектные и короткоживущие пативные белки клетки, в том числе белки, контролирующие инициацию септообразования и биосинтез КПС колановой кислоты [5,6,9,12]. Мутации в *lon* гене приводят к более чем 100-кратному увеличению биосинтеза колановой кислоты, тогда как биосинтез составляющих ее

мономеров увеличивается не более чем в 20 раз [8,13]. Lon- протеаза разрушает RcsA позитивный регуляторный белок, который на уровне транскрипции инициирует активность *eps* генов, детерминирующих биосинтез КПС [7,11,12]. В отсутствие АГФ-зависимой протеазной активности *eps* гены переходят в состояние конститутивного синтеза колановой кислоты, в результате чего клетки капсулируются [7]. Помимо изменений действия специфических регуляторов, сдвиги в экспрессии *eps* генов могут произойти также на этапах их транскрипции и трансляции. Известно, что мутации в РНК-полимеразных и рибосомных генах, обладающих плейотропным действием, приводят к ошибкам биосинтеза белков на стадии их транскрипции и трансляции.

Целью настоящей работы являлось изучение влияния РНК-полимеразных и рибосомных мутаций на экспрессию генов, детерминирующих биосинтез КПС.

Материал и методика. Бактериальные культуры. В работе были использованы штаммы *E. coli* K-12. JC335 (F⁺, *leu*⁻, *his*⁻, *arg*⁻, *metB*⁻); A200 *leu*⁻ lon⁻ дериват штамма JC335 [2]. РНК-полимеразные *groV* и рибосомные *grsL* рекомбинанты штамма A200 [2,4].

Бактериофаги: трансдуцирующие бактериофаги P1 *vir* и P1_{КС}, вирусный фаг M59 [2-4,10].

Питательные среды: синтетическая среда M9 с необходимыми добавками ростовых факторов по Адамсу [1]; мясо-пептонный бульон (МПБ) и мясо-пептонный агар (МПА) для выращивания бактерий и T-агар (0,6% и 1,2%) для трансдукции [2-4]. Для ферментации использовали среду M9 с 10%-ной глюкозой и 0,5% СаСО₃.

Трансдукция P1 *vir* и P1_{КС} фагами, константа скорости адсорбции и морфология негативных колоний бактериофага M59, биосинтез полисахаридов производились по ранее описанным методикам [2-4].

В работе использовали устойчивые к рифампицину, стрептомицину и одновременно к обоим антибиотикам штаммы. Мутации *groV* (*gf* - *r*) и *grsL* (*sr* - *r*), имеющие шлейотропное проявление, методом трансдукции были перенесены в реципиентный капсулированный штамм A200. Отбор трансдуктантов производили по устойчивости к антибиотикам и по близлежащим тесно сцепленным маркерам. У отобранных рекомбинантов изучалось сохранение шлейотропного характера каждой мутации. Были поставлены опыты по ферментации полисахаридов. После трехсуточной ферментации определяли титр жизнеспособных клеток, количество синтезированного полисахарида, вязкость культуральных растворов и вязкость 0,1% водных растворов очищенных полисахаридов.

Результаты и обсуждение. Результаты, представленные в табл. 1, показывают, что и РНК-полимеразные, и рибосомные мутации в разной степени влияют на биосинтез КПС. Все проверенные рибосомные мутации приводили к снижению выхода полисахаридов, а мутация *grsL59* вызывала полное прекращение их биосинтеза.

Таблица 1. Сравнительное изучение биосинтеза капсулярных полисахаридов у *groV* и *grsL* трансдуктантов штамма A200.

Штамм	<i>groV</i> <i>grsL</i> аллель	Конечный титр бактерий $\times 10^8$ кл/мл	Уровень синтеза КПС, %	Вязкость КЖ, спз*	Вязкость 0,1% растворов КПС, спз
A200	—	7,1	100	3,6250	0,8526
A-p1	<i>gro</i> B401	2,1	74	2,5192	0,8428
A-p2	<i>gro</i> B402	1,7	64	2,4444	0,8428
A-p3	<i>gro</i> B403	9,4	177	8,9280	0,8624
A-p9	<i>gro</i> B409	6,7	95	3,3300	0,8526
A-p23	<i>gro</i> B423	8,7	51	1,9656	0,8232
A-c2	<i>grsL</i> 2	2,1	43	1,4112	0,8996
A-c9	<i>grsL</i> 9	1,9	39	1,2114	0,8426
A-c10	<i>grsL</i> 10	3,7	48	1,9304	0,8424
A-c37	<i>grsL</i> 37	3,9	80	2,5200	0,8428
A-c59	<i>grsL</i> 59	0,9	1	0,6930	0,0121

* Условное обозначение: спз - сантипуаза - единица вязкости.

Из РНК-полимеразных мутаций groB403 вызвало двухкратное увеличение биосинтеза КПС, остальные - снижение от 1,1 до 2 раз.

Наблюдалась четкая корреляция между количеством синтезированного полисахарида и вязкостью культуральных растворов. По вязкости 0,1% водных растворов мутанты почти не отличались между собой, что свидетельствует о том, что РНК-полимеразные и рибосомные мутации не вызывают структурных изменений КПС.

После трехсуточной ферментации по конечному титру жизнеспособных клеток штаммы сильно отличались друг от друга. Способность единичной клетки к биосинтезу полисахаридов определялась с помощью вирулентного бактериофага M59, лизирующего только капсулированные клетки. Эффективность его адсорбции зависит от толщины полисахаридного слоя вокруг клетки. Результаты проверки эффективности посева, определения размера негативных колоний и константы скорости адсорбции бактериофага M59 на клетках мутантных штаммов приведены в табл. 2.

Таблица 2. Кинетика адсорбции и эффективность посева бактериофага M59 на groB и groL штаммах.

Штамм	Эффективность посева фага M59*	Размер негативных колоний, мм	Константа скорости адсорбции $\times 10^9$ кл/мл
A200	1	10-12	6,6
A-p1	0,99	7-9	5,4
A-p2	0,97	7-9	4,9
A-p3	1,05	13-15	15,0
A-p9	1,00	8-10	6,4
A-p23	0,97	6-7	2,5
A-c2	0,98	5-6	2,3
A-c9	0,96	5-6	1,9
A-c10	0,99	5-6	2,4
A-c37	0,99	9-11	5,2
A-c59	0	*	0

Примечание: * Соотношение между количеством негативных колоний, образованных на мутантных штаммах, и исходной культуры A200.

Бактериофаг M59 с одинаковой эффективностью образует негативные колонии на газонах исследуемых штаммов (кроме штамма A-c59). Размеры негативных колоний широко варьируют от штамма к штамму от 3 до 15 мм, что зависит от соотношения скорости биосинтеза полисахарида с циклом развития фага. Если биосинтез КПС происходит медленно, то бляшки получаются мелкими, а при обильном их синтезе вокруг прозрачных негативных колоний образуются полупрозрачные ободки вследствие разложения полисахаридов, индуцируемых фагом полисахариддеполимеразой. В связи с отсутствием капсулы у штамма A-c59 бактериофаг M59 на нем не адсорбируется. Обнаружена корреляция между синтезом КПС и константой скорости адсорбции фага M59. У всех исследованных штаммов, кроме активного штамма A-p3, константы скорости адсорбции существенно ниже по сравнению с исходным штаммом A200.

Изучено совместное влияние мутантных аллелей groB и groL генов на биосинтез КПС. groB аллели в стрептомициноустойчивые штаммы A-c2 и A-c59 были перенесены методом трансдукции. Отбирались устойчивые к рифампицину метиоциновые прототрофы. У отобранных рекомбинантов изучали выход полисахаридов, вязкость культуральных растворов и кинетику скорости адсорбции бактериофага M59 (табл.3).

Таблица 3. Совместное влияние РНК-полимеразных и рибосомных мутаций на биосинтез полисахаридов и константу адсорбции фага М59.

РНК-полимеразные мутации	Рибосомные мутации					
	grsL2			grsL59		
	количество КПС, %	вязкость кж. суз	константа скорости адсорбции М59 x 10 ⁹ кл/мл	количество КПС, %	вязкость кж. суз	константа скорости адсорбции М59 x 10 ⁹ кл/мл
-	100	1,4112	2,3	100	0,6930	0
grs В401	78	0,9450	1,9	100	0,6804	0
grs В402	87	1,1700	2,0	100	0,6300	0
grs В403	94	1,3332	2,2	200	0,7560	0
grs В409	74	0,9198	1,7	100	0,6804	0
grs В423	71	0,8820	1,5	100	0,6990	0

При совместном действии РНК-полимеразных и рибосомных мутаций биосинтез КПС снижается еще больше. Даже grs В403 мутация, способствующая 2-кратному повышению выхода КПС, во взаимодействии с grsL мутациями приводит к его снижению.

Таким образом показано, что РНК-полимеразные и рибосомные мутации могут играть существенную роль при биосинтезе КПС. В ряде случаев их можно использовать в качестве селективных факторов для повышения активности штаммов-продуцентов полисахаридов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамс М. Бактериофаги. М., 1961.
2. Барсегян А.А., Оганесян Г.Г., Оганесян М.Г. Биолог. журн. Армении, 36, 6, 439-484, 1983.
3. Барсегян А.А., Оганесян Г.Г. Биолог. журн. Армении, 36, 12, 1136-1141, 1983.
4. Оганесян Г.Г., Барсегян А.А., Оганесян М.Г. Биолог. журн. Армении, 37, 5, 398-404, 1984.
5. Edmunds T., Goldberg A.L. J. Biol. Biochem., 32, 187-191, 1986.
6. Goldberg A.L. Microbiology, ASM Washington, DC, 340-345, 1985.
7. Gottesman S., Stout V. Mol. Microbiol., 5, 7, 1599-1606, 1991.
8. Merkovitz A. In: Surface Carbohydrates of the Prokaryotic Cell, Acad. Press, Inc. N.Y., 415-462, 1977.
9. Mizusawa S., Gottesman S. PNAS USA, 802, 358-362, 1983.
10. Stirm S., et al. Zentralblatt. Bacteriologischen Higiene J. ABTOrig., A266, 26-28, 1974.
11. Stout V., Gottesman S. J. Bacteriol., 172, 2, 6, 59-669, 1990.
12. Terres-Cabassa A.S., Gottesman S. J. Bacteriol., 169, 3, 981-983, 1987.
13. Trisler P., Gottesman S. J. Bacteriol., 160, 1, 184-191, 1984.

Получила 9.IX.1994

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ СВОЙСТВ ПОЛИНУКЛЕОТИДОВ: СВИДЕТЕЛЬСТВА СПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЦЕПЦИИ

А.Ф. КАЗАНЧЯЦ, В.М. САМВЕЛЯН, Р.А. ЗАХАРЯН

Институт молекулярной биологии НАН Армении, 375044

Институт кардиологии им. Л.А. Оганяна МЗ Армении, 375044, Ереван

На изолированном сердце лягушки исследованы кардиотропные и холинотропные свойства ряда полирибонуклеотидов. Показано, что для однонитчатых полирибонуклеотидов характерен положительный инотропный и холинолитический эффект в отношении мускариновых холинорецепторов. Двухспиральная РНК (ридостин) и низкомолекулярная РНК, напротив, обладают отрицательным инотропным и холиномиметическим эффектами, блокируемыми атропином. Регистрируемые эффекты можно объяснить существованием специфических рецепторов для различных полинуклеотидов на плазматической мембране кардиомиоцитов.

Ձորտի մեկուսացված սրտի վրա ուսումնասիրվել են որոշ պոլիռիբոնուկլեոտիդների կարդիոտրոպ և խոլինոմոդուլյավորող հատկանիշները: Յուրյ է տրված, որ միաթել պոլիռիբոնուկլեոտիդներին բնութագրական է դրական ինոտրոպ և խոլինոլիտիկ ազդեցությունը մուսկլարինային խոլինոկետորների նկատմամբ: Երկսպարույր ՌՆԹ-ն (ռիդոստին) և ցածրամոլեկուլյար ՌՆԹ-ն օժտված են բացասական ինոտրոպ և խոլինոմիմետիկ ազդեցությամբ ատրոպինով բլոկադայի դեպքում: Չրանցված ազդեցությունները կարելի է բացատրել տարբեր պոլինուկլեոտիդների համար հատուկ ռեցեպտորների գոյությամբ կարդիոմիոցիտների պլազմատիկ մեմբրանի վրա:

The cardiotropic and choline modulating properties of some polyribonucleotides were investigated. The one chain polyribonucleotides are characterized with positive inotropic and cholinolytic effect on muscarinic choline receptors. Two-helix RNA (ridostin) and low molecular RNA possess with negative inotropic and cholinomimetic effect blocked with atropin. The effects registered may be explained by existence of specific receptors for different polynucleotides on the plasmatic membrane of cardiomyocytes.

Полинуклеотиды - рецепторы сердца.

Исследования последних лет показали, что нуклеотидные нуклеотиды - АТФ и другие нуклеотидтрифосфаты, взаимодействуя с плазматической мембраной ряда клеток, индуцируют трансмембранный сигнал, вызывающий определенные сдвиги в метаболизме клетки, а именно изменения уровня инозитол фосфата, концентрации внутриклеточного кальция, уровня фосфорилирования белков поверхностной мембраны [7,9,11]. Взаимодействие нуклеотидтрифосфатов с клеточной мембраной осуществляется путем связывания со специфическими, так называемыми P2, пуринорецепторами, число которых на поверхности клетки варьирует и зависит от типа клеток [7].

Ранее нами [1-4], а затем и другими авторами [8,10,12] было показано, что рецепция ДНК, двухспиральных форм РНК (дс-РНК) олигонуклеотидов на плазматической мембране клеток млекопитающих высокоспецифична, обусловлена взаимодействием с протеинами и по своим характеристикам аналогична взаимодействию лиганд-рецептор. Трансмембранный сигнал, индуцированный дс-РНК,

сопровождается повышением уровня цАМФ, внутриклеточного Ca^{2+} , степени фосфорилирования белков поверхностной мембраны, однако, в отличие от АТФ, взаимодействие дс-РНК с рецептором поверхностной мембраны клетки не сопровождается активацией протеинкиназы-С, что свидетельствует о принципиально разных путях воздействия АТФ и дс-РНК на метаболизм клетки. Данные, полученные нами [3], позволяют предположить, что протеиновые факторы узнавания нуклеиновых кислот на плазматической мембране проявляют специфичность в узнавании определенных последовательностей и, по-видимому, конформации молекулы нуклеиновой кислоты. В данной работе представлены результаты функционального тестирования полинуклеотидов, различающихся по вторичной структуре и составу оснований, по кардиотропным свойствам и способности изменять чувствительность мускариновых рецепторов сердца.

Материал и методика. На изолированных по Штраубу сердцах лягушек препараты изучены в концентрациях от 1×10^{-7} до 1×10^{-3} г/мл, каждая не менее чем на 5 изолированных сердцах. Кардиотонический и кардиодепрессивный эффекты устанавливали по изменению амплитуды сокращений в процентах от исходного уровня. Одновременно изучали также влияние препаратов на чувствительность холинорецепторов сердца по изменению мускариновых эффектов ацетилхолина [5,6]. Холинолитический и холиномиметический эффекты также выражали в процентах.

Изучены кардиотропные свойства следующих препаратов: ридостиндвуспиральная РНК (дс-РНК), полирибонуклеотиды-поли-А, поли-Г, поли-Ц, поли-И (НИКТИ БАЗ, Бердск), поли-У ("Reanal", Венгрия), низкомолекулярная РНК (им-РНК, "Serva" Германия).

Данные экспериментов обработаны методом вариационной статистики.

Результаты и обсуждение. Препараты поли-Ц и поли-И в концентрациях 1×10^{-7} - 1×10^{-4} г/мл не изменяли амплитуды сокращений изолированного сердца лягушки, проявляя одновременно незначительный холинолитический эффект. Препарат поли-У оказывает ярко выраженное кардиотоническое действие до 180% при концентрации 1×10^{-3} г/мл и 156% при концентрации 1×10^{-4} г/мл. Дальнейшее увеличение концентрации до 1×10^{-1} г/мл вызывает значительное уменьшение амплитуды сокращений, но все же кардиотоническое действие препарата сохраняется, достигая 71%.

Отсутствие отрицательного инотропного эффекта при такой высокой концентрации препарата свидетельствует о крайне низкой токсичности этого вещества.

При воздействии поли-У наблюдается также изменение чувствительности мускариновых холинорецепторов сердца: во всех концентрациях проявляется холинолитический эффект, наиболее выраженный при концентрации 1×10^{-3} г/мл.

Эффект поли-А проявляется весьма своеобразно - кардиотонический эффект имеет "двугорбый" профиль, с двумя пиками максимальных амплитуд, достигающих 123% от исходных сокращений. Подобно остальным полинуклеотидам, поли-А также проявляет холинолитический эффект, равный 46%.

Наряду с поли-У и поли-А, поли-Г также вызывает увеличение амплитуды сердечных сокращений на 190% и проявляет значительный (3-5%) холинолитический эффект.

Несколько неоднозначно влияние низкомолекулярной им-РНК на сокращение сердечной мышцы. В концентрациях от 1×10^{-6} до 1×10^{-4} г/мл препарат проявляет выраженный кардиотонический эффект, регистрируемый также после длительного промывания раствором Рингера. В то же время в 25-30% опытов им-РНК оказывает

кардиодепрессивное действие, достигающее 42% при концентрации 1×10^{-4} г/мл. При концентрации 1×10^{-3} г/мл этот эффект углубляется, вплоть до полной остановки сердечных сокращений в большинстве экспериментов.

Опыты показали, что им-РНК проявляет отчетливый холиномиметический эффект, повышая в концентрации 5×10^{-4} г/мл чувствительность мускариновых рецепторов к ацетилхолину на 62%.

Препарат де-РНК оказывает выраженное кардиодепрессивное действие в концентрациях 1×10^{-4} - 1×10^{-3} г/мл, приводящее к остановке спонтанных сокращений сердца.

В серии опытов, в которых показано кардиодепрессивное действие им-РНК, препарат де-РНК оказывал слабо выраженный положительный инотропный эффект.

Предварительно отгестированный эффект ацетилхолина углубляется после введения препарата де-РНК, при этом выраженное холиномиметическое действие достигает 28% при концентрации 1×10^{-4} г/мл. Интересно отметить, что после промывания раствором Рингера холиномиметический эффект де-РНК не только сохраняется, но и увеличивается почти вдвое.

Таким образом, все изученные соединения, за исключением поли-Ц и поли-И, обладают кардиотропными свойствами и модулируют чувствительность мускариновых холинорецепторов сердца. Сопоставление их инотропных эффектов показало, что наибольшее положительное инотропное действие оказывают препараты поли-Г и поли-У. Отрицательный инотропный эффект, характерный для де-РНК, в корне противоположен действию доноритовых полинуклеотидов, что, по-видимому, свидетельствует о влиянии вторичной структуры рибонуклеиновых полимеров на направленность их инотропного эффекта. Величина же кардиотропного эффекта отлична у полинуклеотидов с качественно различной природой мономерного нуклеотида.

Анализ полученных данных показал, что кроме де-РНК и им-РНК все остальные препараты проявляют стабильный холинолитический эффект, достигающий 76% у поли-У в концентрации 1×10^{-3} г/мл, 46% у поли-А в концентрации 1×10^{-4} г/мл. Де-РНК и им-РНК оказывают холиномиметическое действие, достигающее у первого в концентрации 1×10^{-5} г/мл - 28% и у второго в концентрации 1×10^{-4} г/мл - 62%. Учитывая наличие дозозависимых кардиодепрессивных и холиномиметических эффектов де-РНК, необходимо отметить их сходство с действием низких концентраций ацетилхолина.

С целью выяснения механизма кардиодепрессивного и холиномиметического действия ридостина были поставлены эксперименты по блокировке мускариновых рецепторов с помощью атропина.

После 5-минутного взаимодействия атропина с мускариновыми холинорецепторами сердца лягушки полностью снимается кардиодепрессивный эффект как ацетилхолина, так и ридостина. Блокирующее действие атропина сохраняется длительное время в течение нескольких часов и соответственно не проявляется кардиодепрессивное влияние ридостина. Результаты опытов с блокировкой холинорецепторов сердца свидетельствуют о том, что, по-видимому, кардиодепрессивное действие ридостина обусловлено взаимодействием его с холинорецепторами сердца.

Поскольку поли-А и поли-Г отличаются от дс-РНК односпиральной и регулярной структурой, можно предположить, что характер модулирующего эффекта в отношении холинорецепторов сердца определяется структурной специфичностью полинуклеотидов.

Что касается холиномодулирующего эффекта им-РНК, то выраженное повышение чувствительности холинорецепторов сердца в этом случае может быть обусловлено присутствием в препарате им-РНК полирибонуклеотидов с выраженной вторичной структурой. Этим же дс-подобным фактором можно объяснить отрицательную направленность инотропного эффекта им-РНК в ряде опытов.

На основании полученных данных можно заключить, что регистрируемые эффекты изученных веществ на сократительный аппарат сердечной мышцы лягушки и реактивность его мускариночувствительных холинорецепторов, по-видимому, объясняются существованием специфических рецепторов для полинуклеотидов на плазматической мембране кардиомиоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Захарян Р.А. Структура и транскрипция генома. Ереван, 1981.
2. Захарян Р.А., Бакунц К.А., Скобелева Н.А. Нейрохимия, 8, 1, 34-38, 1989.
3. Захарян Р.А., Карагезян К.А. Структура и функция белков и нуклеиновых кислот. Цхалтубо, 1982.
4. Захарян Р.А., Овсепян В.А., Аракелян А.Г. Биолог. журн. Армении, 42, 9/10, 923-926, 1989.
5. Лукомская Н.Я. Физиологическая роль ацетилхолина и изыскание новых лекарственных средств. Л., 1957.
6. Самвелян В.М. Извест. АН Арм ССР (сер. биол.), 18, 3, 15-20, 1965.
7. Friedberg L., Weisman G.A., De B.K. J. Membr. Biol. 83, 251-259, 1985.
8. Gabor G., Bennet R.M. Biochem. Biophys. Res. Commun., 122, 1034-1039, 1984.
9. Gordon J.L. Biochem. J., 233, 309-319, 1986.
10. Loke S.L., Stein C.A., Zhang L.H., et al. Nat. Acad. Sci. USA, 86, 3474-3478, 1989.
11. Rozengart E., Heppel L.A. Biochem. Biophys. Res. Commun., 67, 1581-1588, 1975.
12. Yakubov L. A., Deeva E.A., Zarytova V.F., et al. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 86, 6454-6458, 1989.

Поступила 23.V.1991

НОВЫЕ ШТАММЫ ГАЛОФИЛЬНЫХ БАЦИЛЛ

М.О.АЦАМЯН

*Институт микробиологии НАН и Республиканский Центр депонирования микробов НАН
и Министерства образования и науки РА, 378510, г.Абовян*

Из различных почв, в том числе солончаков Армении и других стран, выделено и изучено 28 культур галофильных бактерий. Среди изученных культур - 5 штаммов облигатных галофилов, не развивающихся при содержании ниже 7% NaCl.

На основе результатов изучения морфологических характеристик исследованные штаммы выделены в отдельные группы с указанием типичных представителей и ранее описанных родственных таксонов.

Создана коллекция этих штаммов и их База данных, которые включены в коллекцию Республиканского Центра депонирования микроорганизмов Армении.

Տարբեր հողամուշներից, այդ թվում Հայաստանի և այլ երկրների աղուտներից մեկուսացվել և ուսումնասիրվել են 28 հալոֆիլ բացիլների կուլտուրաներ: Ուսումնասիրված կուլտուրաների թվում կան օրգանա հալոֆիլների 5 շտամներ, որոնք չեն աճում 7%-ից ցածր NaCl պարունակող միջավայրի վրա:

Սորձո-ֆիզիոլոգիական հատկությունների ուսումնասիրման հիման վրա մեկուսացված շտամները բաժանվել են առանձին խմբերի՝ մատնանշելով տիպիկ ներկայացուցիչները և նախկինում նկարագրված մերձավոր տարրերը:

Ստեղծված են այդ շտամների հավաքածու և Տվյալների բազան, որոնք ընդգրկված են Հայաստանի Մանրէների Ավանդադրման Հանրապետական Սենտրոնի հավաքածուի մեջ:

28 strains of halophilic bacilli have been isolated and studied from various soils including salted soils of Armenia and other countries. Among the cultures studied there are 5 strains of obligative halophiles not able to grow on media with less than 7 per cent of sodium chloride.

On the basis of morpho-physiological properties isolated cultures were divided into different groups with indication of typical strains and early described related taxa.

The Collection and Database of cultures studied were created and included in the Republican Centre for Deposition of Microorganisms of Armenia.

Галофильные бактерии - галофилы - База данных микробов

Одним из основных направлений современной микробиологии и биотехнологии является изучение и применение экстремофильных форм, в частности галофильных микроорганизмов [4,9,13]. Галофилы описаны и изучены в основном среди представителей неспороносных микроорганизмов [2,12,14,15]. Другой важнейшей группой галофильных организмов являются аэробные спорообразующие бактерии сравнительно мало изученные, но нашедшие важное промышленное применение в производстве циклодекстринов и некоторых ферментов [11].

Целью настоящей работы являлось выделение галофильных бактерий из почв Армении и других регионов и изучение их физиолого-биохимических особенностей.

Материал и методика. Культуры выделяли из солончаков Казахстана, Армении, Болгарии, а также других типов почв Туркмении, Аджарии и Индии.

Выделение культур проводилось высевом из пастеризованных и непастеризованных разведений почв на агаризованные среды с различными концентрациями NaCl, от 12 до 23%, используемые для

культивирования галофильных микроорганизмов [2].

Состав питательной среды (г/л): пептон-10,0; дрожжевой экстракт-1,0; NaCl-150,0; KCl-2,0; натрий лимоннокислый трехзамещенный-3,0; $MgSO_4$ -20,0; $CaCl_2$ -следи; агар-20,0; pH 7,2.

Чистые культуры получали рассевом накопительных культур на твердые среды того же состава с последующим высевом в пробирки с агаризованной средой.

Выращивание культур проводили в конических колбах Эрленмейера емкостью 300 мл, заполненных 50 мл жидкой среды. Инкубирование вели при 37° на водяной качалке с режимом работы 180 об/мин. С целью выявления галофилии культур их выращивали при содержании различных концентраций NaCl до насыщенных растворов соли.

Для изучения физиолого-биохимических особенностей использовали известные дифференциальные тесты, принятые для исследования аэробных спорообразующих бактерий [8,10].

Результаты и обсуждение. Работами Каннера и других авторов [2,4,7] установлена приуроченность распространения галофильных микроорганизмов в субстратах с высоким содержанием NaCl.

Сводные данные наших микробиологических анализов представлены в таблице. Как показывают результаты этих исследований, галофильные бациллы обнаруживаются в солончаках, сероземах, красноземах, иле и образцах ассенизационных отходов. Как правило, их обилие приурочено к субстратам с наиболее богатой микрофлорой и органикой. Например, галофилы широко представлены в ассенизационных отходах и в иле. Обнаруживается некоторое повышенное содержание их в солончаках.

В целом, можно отметить, что облигатные и в определенной степени факультативные галофильные бациллы выявляются в различных типах почв без какой-либо эколого-географической закономерности их распространения. Известно, что это явление было отмечено и в работах Мишустина и его сотрудников [5,6] в отношении распространения термофильных бацилл.

В наших опытах оптимум роста облигатных галофилов отмечался при концентрации NaCl в пределах 15-23%, а у факультативных культур галофилов - в пределах 15%. У галотолерантных штаммов оптимальный рост отмечался при концентрации соли 10-12%.

Исходя из изложенного и учитывая слабую изученность галофильных бацилл, в особенности в таксономическом плане, выделенные нами культуры условно разделены на отдельные группы в зависимости от их галофильности:

- штаммы облигатных галофилов, развивающиеся при концентрации NaCl в среде от 7 до 23% и не растущие в среде с содержанием 5% NaCl, всего 5 штаммов;
- штаммы факультативных галофилов, развивающиеся при содержании NaCl от 5 до 20%, всего 9 штаммов;
- штаммы галотолерантных микроорганизмов, развивающиеся при концентрации NaCl до 15%, всего 14 штаммов.

Внутри указанных групп выделены отдельные подгруппы в соответствии с некоторыми их морфофизиологическими особенностями.

За исключением единичных штаммов, каковыми являются представители облигатных галофилов - штг., штг. 3837', 3838 и некоторые другие, у остальных при спорообразовании спорангий раздувается по типу кластрициального и плекстрициального расположения. Форма спор у выделенных штаммов варьирует от

* Здесь и далее номера штаммов представлены по коллекции Республиканского Центра депонирования микробов НАН и Министерства образования и науки РА (РЦДМ) с условным акронимом ИНМИА.

Распространение различных групп галофилов в почве*

Субстрат, регион	Количество обследованных образцов	Распространение отдельных групп галофилов		
		облигатные	факультативные	галотолеранты
Ассептизационные отходы и шл. Ияля (д.Насия, Шахбобад)	6	—	—	—
Серозем целинный, Туркмения	3	-	-	—
Соловчак, Болгария	4	-	-	—
Сульфатно-хлоридный солончак-солончак, Армения	3	-	-	-
Лечебная грязь, г.Поморие, Болгария	2	-	-	-
Заброшенная шахта, Индия	4	-	-	-
Пруд, шл, Индия	5	-	-	—
Краснозем, Аджария	2	-	-	-
Соловчак, Казахстан	6	-	-	-
Термальный источник, Камчатка	3	-	-	-
Кислая торфяная почва, Венгрия	2	-	-	-
Карбонатный чернозем, Армения	3	-	-	-
Горнолуговая почва, Памир	2	-	-	-
Серозем целинный, Ашхабадский район	4	-	-	-
Почва с высоты 3300м, Тянь-Шань	3	-	-	-
Почва из-под хлопчатника, Ташкентская обл.	2	-	-	-
Почва из русла реки, Болгария	2	-	-	-

* Условные обозначения: (-) - отсутствие указанной группы; (+++) - наличие в обильном, (++) - умеренном и (+) - единичном количествах.

сферических, округлых до овальных и эллипсоидных.

Что касается культуральных особенностей, то изученные штаммы бактерий на агаризованной среде Звягинцевой указанного выше состава образуют гладкие, влажно- и жирноблестящие, беловато-кремовые, округлые колонии различной степени роста. Штамм 3853 образует розоватые колонии без пигментации среды. Колонии в среду не врастают.

На основании комплекса морфологических и физиолого-биохимических особенностей изученные нами галофильные организмы могут быть распределены по следующим группам и подгруппам с указанием типичного штамма и родственных таксонов. Исследованная нами коллекция штаммов характеризуется обилием свойствами, ростом в анаэробных и микроаэрофильных условиях, отсутствием нитролообразования. За исключением штамма 3841, все изученные культуры дигидроксиацетон не образуют, в равной степени гидролиз казеина обнаружен лишь у штамма 3854. Помимо применения общепринятых микробиологических тестов, нами изучены образование дигидроксиацетона (ДГА) и реакция Вогеса-Проскауэра (VP).

Группа 1. Спорангий раздувается с образованием терминальных эллипсоидных спор. Культуры родственны *B. polymyxa*, *B. circulans* и *B. halophilus*.

- 3841-реакция V-P и денитрификация положительные, крахмал гидролизует, ДГА не образует;

- 3859-денитрификация положительная, крахмал, желатин гидролизует, ДГА не образует, реакция V-P отрицательная;

— 3839-крахмал не гидролизует;

- 3836, 3857-крахмал и желатин гидролизуют, реакция V-P и денитрификация отрицательные, ДГА не образуют;

Типичный штамм- 3836.

— 3858-крахмал не гидролизует.

Группа 2. Спорангий раздувается с образованием терминальных сферических спор. Культуры данной группы бактерий родственны *B. sphaericus*, *B. halophilus*.

- 3863-денитрификация и реакция V-P положительные, казеин, крахмал, желатин гидролизует;

— 3844-реакция V-P отрицательная;

— 3849-желатин не гидролизует;

— 3843-денитрификация отрицательная;

— 3842,3846,3856,3860,3861,3862-реакция V-P отрицательная;

Типичный штамм- 3846;

— 3840,3847-крахмал не гидролизуют;

Типичный штамм- 3847;

— 3848-желатин не гидролизует;

- 3845-казеин гидролизует, денитрификация, реакция V-P отрицательные, крахмал и желатин не гидролизует.

Группа 3. Спорангий не раздувается с образованием терминальных эллипсоидных спор. Культуры данной группы родственны *B. firmus*, *B. pumilus*.

- 3852-денитрификация положительная, реакция V-P отрицательная, крахмал и желатин гидролизует;

— 3837-денитрификация отрицательная.

Подгруппа 3.1. Спорангий не раздувается с образованием парацентральных эллипсоидных продолговатых спор.

-3850, 3853-денитрификация и реакция V-P отрицательные, крахмал и желатин гидролизуют.

Типичный штамм- 3853.

Подгруппа 3.2. Спорангий не раздувается с образованием овальных спор.

-3851- реакция V-P, денитрификация положительные, крахмал, желатин гидролизует;

—3838- реакция V-P, денитрификация отрицательные;

—3855- крахмал и желатин не гидролизует.

Группа облигатных галофильных бацилл представлена 5 штаммами, из которых 3 (3836,3839,3840) характеризуются образованием раздувающихся спорангиев с образованием овальных терминальных спор. Два других штамма облигатных галофилов характеризуются нераздуваемым спорангием с образованием овальных парацентральных спор (3837,3838). Оптимум роста этих штаммов при 12-15% NaCl.

Группа факультативных галофильных бацилл представлена 9 штаммами (3841-3849), которые характеризуются раздутым спорангием с образованием сферических или овальных спор. Оптимум роста культур данной группы при 12% NaCl.

Группа галотолерантных штаммов представлена 14 культурами (3850-3863), где выявляются бактерии как с раздувающимися, так и нераздувающимися клетками при их спорообразовании. Штаммы с нераздувающимися спорангиями представлены культурами 3850, 3851, 3852, 3855. Оптимум роста культур галотолерантных бацилл при содержании в среде 7% NaCl, однако некоторые из них хорошо растут при содержании 12% NaCl.

Следует подчеркнуть, что в наших опытах оптимум роста и вегетативного

развития изученных культур не всегда коррелирует с интенсивностью спорообразования. Так, для большинства исследованных культур спорообразование было более выраженным при содержании NaCl 7%, иногда 12%.

Изучение ферментативных свойств выделенных галофильных бацилл выявило наличие среди них активных продуцентов аспартазы (3841, 3843, 3850, 3851, 3855), бета-галактозидазы (3841, 3842) и цикломальтодекстрин глюкозилтрансферазы (3848, 3849).

С использованием штамма 3849 было изучено образование циклодекстринов и установлен направленный биосинтез бета-циклодекстрина [1].

Подробное изучение морфофизиологических и биохимических свойств выделенных штаммов даст основание выделить некоторые из них в новые таксоны, описанию которых будет посвящена отдельная статья.

Все указанные штаммы с соответствующей характеристикой депонированы в Республиканском Центре депонирования микробов Армении [3].

Данная работа частично финансировалась за счет гранта 93-3512 ИНГАС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абелян В.А., Адамян М.О., Абелян Л.А., Балаян А.М., Африкян Э.К. Биохимия, 60, 6, 891-897, 1995.
2. Звягинцева И.С., Тарасов А.Л. Микробиология, 56, 5, 839-844, 1987.
3. Каталог культур микроорганизмов. Республиканский Центр депонирования микробов (РЦДМ). Под ред. Африкяна Э.Г., Хачатурян А.А., изд-во "Гитутюн" НАН Армении. 260, Ереван, 1996.
4. Жизнь микробов в экстремальных условиях. Под ред. Д. Кашнера, 520, М., 1981.
5. Мишустин Е.И. Термофильные микроорганизмы в природе и практике. 390, М., 1950.
6. Мишустин Е.И., Перцовская М.И. Микроорганизмы и самоочищение почвы. 659, М., 1954.
7. Хачатурян А.А., Казанчян Н.Л., Хачатурян И.С., Адамян М.О., Хачикян Л.А. Биол. журн. Армении, 48, 1, 12-18, 1995.
8. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 2, 1104-1139, 1986.
9. Dundas I.F.D. Physiology of Halobacteriaceae. In: Advances in microbial physiology, L., N.Y., S.F.: Academic Press, 85-120, 1977.
10. Gordon R.E., Haynes W.C., Pang C.H.W. The Genus Bacillus. USD of Agriculture, Washington D.C., 283, 1973.
11. Horikoshi K., Akiba T. Alkalophilic microorganisms. A new microbial world. Tokyo: Springer Verlag., 215, 1982.
12. Javor B., Requadi C., Stoeckenius W. J. Bacteriol., 151, 3, 1532, 1982.
13. Larsen H. The Procarvates. Berlin-Heideeburg-New York: Springer-Verlag, 1, 78, 985-994, 1981.
14. Rodrigues-Valera F., Guadalupe J., Kushner D.J. Syst. Appl. Microbiol., 4, 3, 369, 1983.
15. Tindall B.J., Ross H.N.M., Grant W.D. Syst. Appl. Microbiol., 5, 11, 41, 1984.

Получила 16. VIII. 1995.

ТЕРМОАЦИДОФИЛЬНЫЕ СЕРО- И ЖЕЛЕЗООКИСЛЯЮЩИЕ БАКТЕРИИ ИЗ СУЛЬФИДНЫХ МЕСТОРОЖДЕНИЙ АРМЕНИИ

Н.С. ВАРТАНЯН

Институт микробиологии НАН и Республиканский Центр демонстрации микробов НАН и Министерства образования и науки РА, 378510, г. Абовян

Из отвалов и рудничных вод Шамлугского, Ахталского и Арманисского месторождений Армении выделено три штамма термоацидофильных железоокисляющих бактерий. Выделенные штаммы способны окислять Fe^{2+} при повышенной температуре вплоть до 68° , оптимальная температура роста $50-55^{\circ}$. Оптимальные значения pH - в пределах 1,4-1,6.

Удельная скорость железооксидазной активности выделенных штаммов составила $0,35-0,55$ мкг/мл Fe^{2+} превращенного 1 мг белка за минуту.

Հայաստանի Շամլուղ, Ախթալա և Արմանիս սուլֆիդային ճեղքավայրերի հանքավայրային ջրերից և թափոններից մեկուսացվել են թերմոապիոֆիլ երկաթ օքսիդացնող բակտերիաների երեք շտամներ: Անջատված շտամները ընդունակ են օքսիդացնելու Fe^{2+} ընդհուպ մինչև 68° -ում, չնայած անի օպտիմալ ջերմաստիճանը՝ $50-55^{\circ}$ է: pH-ի օպտիմալ արժեքները ընկած են 1,4-1,6 սահմաններում:

Մեկուսացված շտամների մոտ երկաթօքսիդալային տեսակարար ակտիվությունը կազմել է $0,35-0,55$ մկգ/մլ Fe^{2+} , փոխարկված 1 մգ սպիտակուցի կողմից 1 րոպեում:

Three strains of thermoacidophilic iron oxidizing bacteria have been isolated from sulfide ores of Shamlugh, Akhtala and Armanis regions of Armenia. Isolated strains were capable to oxidize iron at 68° with optimal temperature of growth at $50-55^{\circ}$. Optimum values of pH were in the range of 1,4-1,6.

Specific iron oxidizing activity of strains isolated was $0,35-0,55$ mcg/ml Fe^{2+} transformed by 1 mg protein per minute.

Термоацидофильные серо- и железоокисляющие бактерии - сульфобациллы.

Интенсивность бактериального выщелачивания металлов во многом определяется особенностями использованных бактерий, в частности устойчивостью к экстремальным условиям. В этом отношении особый интерес представляют термоацидофильные серо- и железоокисляющие бактерии [5,7], среди которых перспективностью в выщелачивании металлов выделяются умеренно термофильные *Thiobacillus*-подобные бактерии и сульфобациллы, как предпочтительные обитатели сульфидных руд [8,2].

Целью настоящей работы являлось выделение и изучение новых серо- и железоокисляющих бактерий, активных в окислении сульфидных минералов.

Материал и методика. Объектами исследования служили штаммы 86, 69 и 42 термоацидофильных серо- и железоокисляющих бактерий, выделенных нами из Шамлугского, Ахталского и Арманисского месторождений Армении. Накопленные культуры вышеуказанных штаммов были получены высевом проб рудничных вод и отвалов в среде следующего состава (г/л): $(NH_4)_2SO_4$ - 0,5; NaCl - 0,3; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,5; KH_2PO_4 - 0,2; $Ca(NO_3)_2$ - 0,01.

К среде добавляли дрожжевой экстракт в концентрации 0,01%. В качестве источника энергии

использовали двухвалентное железо в виде $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в количестве 10 г/л. Инкубирование проводили при 50° в стационарных условиях.

Очистку культур проводили на силикагеле, пропитанном средой того же состава.

Кардинальные температуры роста выделенных штаммов изучали на Temperature gradient incubator TN-3 (Япония).

Количество железа определяли комплексометрически с помощью трилона Б [3], ионы SO_4^{2-} - спектрофотометрическим методом [6]. Ферментативные активности определяли на бесклеточных экстрактах бактерий, полученных путем обработки клеток ультразвуковым дезинтегратором УЗДН-1 при 22 кПа в течение 10 мин, и остатки клеток осаждали центрифугированием при 10000 об/мин в течение 15 минут.

Железооксидазную активность определяли колориметрическим методом [4], а тиосульфатоксидазную и сульфитоксидазную активность - по феррецианидному методу [9].

Результаты и обсуждение. Изучение кардинальных температур роста выделенных штаммов показало, что оптимальная температура роста для шт. 42 и 69 составляет 50° , а у шт. 86 - 55° , что значительно выше таковой для известных до настоящего времени умеренных термофилов [8]. Нижний температурный предел - 30° . Окисление Fe^{2+} выделенными штаммами наблюдается вплоть до 68° (рис.).

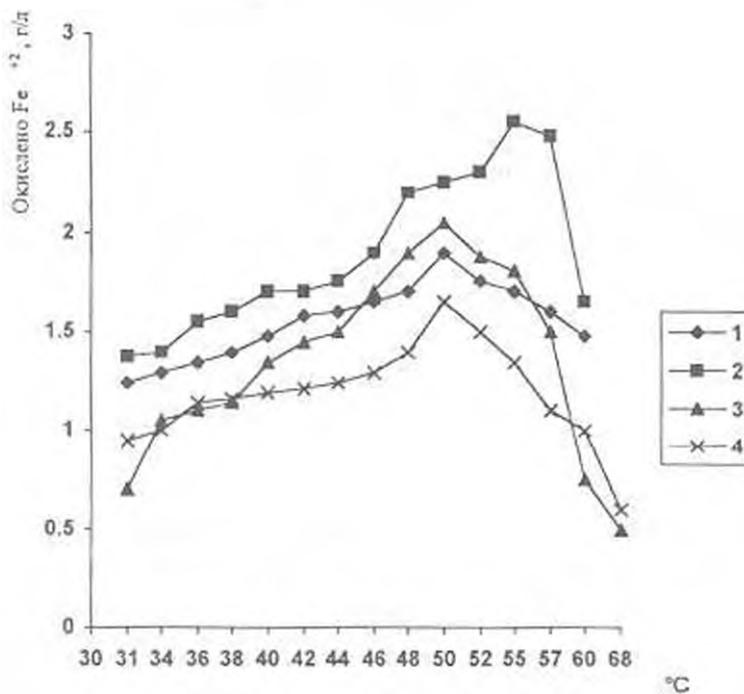


Рис. Влияние температуры на окисление железа штаммами термоацидофильных серо- и железоокисляющих бактерий (рН 1,8) - 1 - шт. 41; 2 - шт. 86; 3 - шт. 69; 4 - шт. 42.

Изучение влияния рН среды на окисление Fe^{2+} показало, что оптимальные значения рН находятся в пределах 1,4-1,6.

Резкое уменьшение количества окисляемого Fe^{2+} отмечалось при рН 2,6-2,8. Нижний предел рН для роста бактерий составлял 1,0. При рН 0,8 окисление Fe^{2+} не

наблюдалось ни у одного штамма.

Исследования показали, что все три штамма выделенных бактерий способны окислять элементарную серу. Данные таблицы указывают, что по способности окислять серу штаммы 86, 69 и 42 значительно превосходят типовой штамм термоацидофильной бактерии *Sulfobacillus thermosulfidooxidans subsp. asporogenes* шт.41, а также известные мезофильные типовые бактерии *Thiobacillus thiooxidans* ВКМ В-460, *T. ferrooxidans* ВКМ В-458.

Окисление элементарной серы мезофильными типовыми бактериями и штаммами термоацидофильных серо- и железooksисляющих бактерий (время культивирования 10 дней, начальный pH 3,3).

Штаммы бактерий	Образовано SO_4^{2-} , г/г	lg числа клеток	Конечный pH
<i>Ethiooxidans</i> ВКМ В-460	16,6 ± 0,75	8,7	2,05
<i>T. ferrooxidans</i> ВКМ В-458	11,5 ± 2,5	7,28	2,5
<i>S. thermosulfidooxidans</i> шт.41*	23,6 ± 1,2	7,48	1,9
Термоацидофильный шт.86*	25,9 ± 0,7	7,95	1,8

Примечание: * Культивирование проводили при 45°.

Рост выделенных штаммов на среде, содержащей тиосульфит в качестве единственного источника энергии, не наблюдался.

У бактерий, выращенных на среде с Fe^{2+} , определяли железooksидазную, тиосульфатоксидазную и сульфитоксидазную активности.

Удельная скорость железooksидазы составляла 0,35-0,55 мкг/мл Fe^{2+} превращенного 1 мг белка за 1 минуту.

Сульфитоксидазная и тиосульфатоксидазная активности у бактериальных клеток, выращенных на среде с Fe^{2+} , не обнаруживались. Однако, учитывая способность выделенных штаммов окислять элементарную серу, а также механизм окисления серы у типовых бактерий, наличие сульфитоксидазной и тиосульфатоксидазной активностей у изучаемых штаммов не вызывает сомнений. Остается предполагать, что вышеуказанные ферменты являются индукцибельными и обнаруживаются только в присутствии в среде соответствующих субстратов.

Таким образом, выделенные штаммы являются экологическими разновидностями *S. thermosulfidooxidans*, характеризующимся более высокой термо- и кислотоустойчивостью, имеющими все необходимые физиолого-биохимические предпосылки для успешного осуществления выщелачивания металлов из сульфидных руд и отвалов.

Выполнение данной работы частично финансировалось грантом ИГАС 93-3512.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вартанян Н.С., Каравайко Г.И., Пивоварова Т.А. Микробиология, 59, 3, 411-417, 1990.
2. Головачева Р.С., Каравайко Г.И. Микробиология, 47, 5, 822, 1978.
3. Резников А.А., Муликовская Е.П., Соколов И.Ю. Методы анализа природных вод, М., 1970.
4. Blaylock В.А., Nason А. J. Biolog. chemistry, 238, 10, 1963.
5. Brierly J.A. FEMS Microbiol. Rev., 75, 2-3, 287-292, 1990.

6. *Dodgson R.S. Biochem. J., 78, 312-319, 1961.*
7. *Larsson L., Olsson G., Holst O., Karlsson H.T. Biotechnol. Letts., 15, 1, 99-104, 1993.*
8. *Norris P.R., Barr D.W. FEMS Microbiol. Lett., 28, 221-224, 1985.*
9. *Schook L.B., Berk R.S. J. Bacteriology, 133, 3, 1377-1382, 1978.*

Поступила 20.XI.1993

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 576.851.5

ԱԿԱԼՈՖԻԼ ԲԱՏԻԼՆԵՐԻ ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Կ. Վ. ՇՈՏՉՅԱՆ

ՀՀ ՉԱԱ միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտ և ՀՀ ՉԱԱ և Բարձրագույն կրթության և գիտության նախարարությանն առընթեր Սանրէների Ավանդադրման Հանրապետական Կենտրոն, 378510, ք. Արովյան

Տարբեր տիպի հողերից մեկուսացվել են ավելի քան 200 ալկալոֆիլ սպորավոր բակտերիաների շտամներ: Մորֆոլոգիական և ֆիզիոլոգիական բազմակողմանի ուսումնասիրությունների հիման վրա կատարվել է մեկուսացված շտամների խմբավորում: Ստացված ալկալոֆիլ շտամների մոտ հայտնաբերված և բերութագրված են օբլիգատ, ֆակուլտատիվ և ալկալոդիմապկուն շներ: Ստացված տվյալները հաստատում են ալկալոֆիլ բացիլների մեծ բազմազանությունը:

Շտամները և նրանց Տվյալների բազան ընդգրկված են Սանրէների Ավանդադրման Հանրապետական Կենտրոնի (ՄԱՀԿ) հավաքածուի մեջ:

Из разных типов почв выделено более 200 штаммов алкалофильных спорообразующих бактерий. На основе исследований их морфологических и физиологических свойств штаммы выделены в отдельные группы. Среди полученных алкалофильных штаммов выявлены и охарактеризованы облигатные, факультативные и алкалотолерантные формы. Полученные данные выявляют большое биоразнообразие алкалофильных бацилл.

Штаммы и их база данных включены в коллекцию культур Республиканского Центра депонирования микроорганизмов (РЦДМ).

More than 200 alcalophilic sporeforming bacterial strains have been isolated from different types of soils. Based on the morpho-physiological properties they have been divided into different groups. Within the alcalophilic strains obligative, facultative and alcalotolerant cultures have been detected and characterized. The data received indicate on the large biodiversity of alcalophilic bacilli.

The strains studied and their Database were included in the Republican Centre for Deposition of Microorganisms of Armenia (RCDM).

Ալկալոֆիլ բացիլներ - ալկալոֆիլություն - Տվյալների բազա

Գիտական և կիրառական նշանակությամբ մանրէների առավել կարևոր խմբերից են պատկանում էքստրեմոֆիլ միկրոօրգանիզմների ձևերը, որոնց թվին են դասվում ջերմաստիճանի, միջավայրի տարբեր pH-ի և աղերի էքստրեմալ կոնցենտրացիաներին հարմարված յուրահատուկ տեսակները: Վերջին տարիներին տարբեր երկրներում այդ շտամները գտնվում են ուշադրության կենտրոնում, հիմնականում նրանց արդյունաբերական ձևերը: Ներկայումս եվրոպական համայնքում գործում է ԲԻՈՏԵԽ

համալիր ծրագիրը, որն ընդգրկում է 40 տարբեր երկրների գիտական հաստատություններ, որոնք ուսումնասիրում են էքստրեմոֆիլ մանրէների էկոլոգիան, ֆիզիոլոգիան, բիոքիմիան, հատկապես նրանց կողմից արտադրվող յուրօրինակ ֆերմենտները և նրանց կիրառումը:

Ալկալոֆիլ (հիմնասեր) միկրոօրգանիզմների խմբին են դասվում այն մանրէները, որոնք կարողանում են աճել միջավայրի բարձր pH-ի պայմաններում:

Ալկալոֆիլ բացիլների առաջին համառոտ նկարագրությունը տրվել է 1934թ-ին Վեդդերի (Vedder, 1934) կողմից, որն առաջարկել է նոր տեսակ *Bacillus alcalophilus* (NCTC 4553): Այդ տեսակը ներկայացված է Բերգեի [6] որոշիչում, և նրա աճի օպտիմումն ընկած է pH 8,6-10 սահմաններում, իսկ հետագայում մեկուսացվեցին այլ բացիլյար ձևեր, որոնք ունեն միջավայրի հիմնայնության նկատմամբ արտահայտված կայունություն:

Ընդհանրապես, ալկալոֆիլ միկրոօրգանիզմները լայնորեն տարածված են և կարող են գտնվել երկրի վրա ամենուրեք, բայց ավելի մեծ հաճախականությամբ նրանք հանդիպում են հիմնային հողերում, որտեղ միկրոօրգանիզմների քանակը որոշ չափով հարաբերակցում է հողի նմուշի pH-ին [1]:

Ալկալոֆիլ մանրէների նկատմամբ էլ ավելի մեծ ուշադրություն դարձվեց Հորիկոշիի (Horikoshi K.) և նրա աշխատակիցների հետազոտություններից հետո [9], որոնց հաջողվեց նշված ձևերից ստանալ առանձին շտամներ արդյունաբերական կիրառության համար: Հատկապես մեծ արտադրական նշանակություն ստացան ալկալոֆիլ հատուկ շտամներ, որոնց օգնությամբ ճապոնիայում կազմակերպվեց ցիկլոդեքստրինների լայն արտադրություն: Հատկանշական է, որ այդպիսի շտամների օգտագործմամբ հնարավորություն ընձեռնվեց ստեղծել ցիկլոդեքստրինների առանձին տիպերի նպատակասլաց թողարկումը: Ներկայումս ճապոնիայում նշված բակտերիաների օգտագործմամբ արտադրվում է տարեկան 500 տոննայից ավելի ցիկլոդեքստրիններ: Արտադրվող լվացող նյութերի մեջ ևս լայնորեն օգտագործում են հիմնային պրոտեազներ և լիպազներ, որոնց արտադրությունը կազմում է արդի մանրէաբանական արդյունաբերության կարևորագույն ճյուղը [5,8]:

Չնայած ալկալոֆիլ մանրէների կարևորությանը և տարածվածությանը, այնուամենայնիվ նրանց դասակարգման և առանձին հատկությունների ուսումնասիրման հարցերը հեռու են բավարար լինելուց:

Մեր աշխատանքների հիմնական նպատակը հանդիսացել է Հայաստանի հիմնական հողատիպերում ալկալոֆիլ մանրէների տարածվածության և նրանց կենսաբանական հատկությունների ուսումնասիրությունը:

Նյութ և մեթոդ: Բացիլների ալկալոֆիլ ձևերի մոնոկուլտուրաները մեկուսացվել են հողից, հիմնականում 0-25սմ խորություն մշակովի անտիվ հորիզոնից:

Կուլտուրաների մեկուսացման համար օգտագործվել է Հորիկոշիի միջավայրը [9], գ/լ-ում՝ շաքարառենկային էքստրակտ-5,0, պեպտոն-5,0; օսլա-10,0; KH_2PO_4 -1,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -0,2; Na_2CO_3 -10,0, $NaCl$ -5,0; ազար-ազար-20,0, սննդամիջավայրի բի-ր՝ 9,0-10,0, աճեցումը՝ 30-37°C-ում 2-5 օր նշված սննդամիջավայրը օգտագործվել է նաև մեկուսացված միկրոօրգանիզմների մաքուր կուլտուրաների ստացման համար:

Կուլտուրաների բնութագրման նպատակով հատկանշիչների ուսումնասիրությունը կատարվել է համաձայն հայտնի մեթոդների [7], ուսումնասիրվող էքստրեմոֆիլ ձևի սրահանջների համապատասխան որոշ վերապահումներով: Կատարվել է նաև շտամների տեսակային պատկանելիության որոշում լստ Բերգեի որոշիչի [6] և սկզբնադրուրների [7]:

Արդյունքներ և քննարկում: Ուսումնասիրությունների արդյունքում պարզվել է, որ օբլիգատ ալկալոֆիլ տեսակի շտամներ հիմնականում հանդիպում են շագանակագույն, գորշ և հատկապես աղուտ- ալկալի հողերում, իսկ ֆակուլտատիվ և ալկալոֆիլացկուն ձևերը լեռնա-մարգագետնային, սևահողային և շագանակագույն հողատիպերում (աղյուսակ 1): Միաժամանակ անհրաժեշտ է ընդգծել, որ ըստ ստացված տվյալների ալկալոֆիլ սպորավոր բակտերիաները լայն տարածում ունեն

ուսումնասիրված հողատիպերում, նշված արդյունքները հաստատում են նաև այլ հեղինակների տվյալներ էքստրենոֆիլ մանրէների էկոլոգիայի վերաբերյալ թթվասեր, ջերմասեր, հիմնասեր և այլ խմբերի մասին [2,3,4]: Հարկ է նշել, որ ալկալոֆիլ բակտերիաները, հատկապես նրանց օբլիգատ ձևերը ավելի առատ են հայտնաբերվում հիմնային տիպի հողերում և աղուտներում: Նշված օրինակները մասնակիորեն կապված են ուսումնասիրված խմբի կենսաբանական հատկությունների, գլխավորապես սպորների առաջացման հետ, որոնք կարող են դիմանալ և գոյատևել միջավայրի անբարենպաստ պայմաններում:

Բացի միջավայրի հիմնայնությունից, ալկալոֆիլ մանրէները պահանջում են նաև սննդառության անհրաժեշտ պայմաններ, հատկապես օրգանական յուրահատուկ նյութեր, և նրանց զարգացումը ոչ հիմնային պայմաններում, հավանական, է տեղի է ունենում նշված նյութերի հաշվին:

Աղյուսակ 1. Ալկալոֆիլ բացիլների տարածվածությունը Հայաստանի տարբեր հողատիպերում

Հողատիպերը	Հետազոտված նմուշների քանակը	Տարբեր ալկալոֆիլ ձևերի հայտնաբերումը*		
		օբլիգատ	ֆակուլտատիվ	ալկալոդիմացկուն
Լեռնա-մարգագետնային	15	+	+++	++
Սևահող	7	+	+++	+++
Սևահող				
-անմշակ	7	+	+++	++
-հերկած	8	+	+++	++
Կարբոնատային				
-անմշակ	10	+++	+	+
-հերկած	18	+++	+	+
Շագանակագույն				
-անմշակ	10	+	+++	++
-հերկած	20	++	++	++
Գորշ				
-անմշակ	6	+	+++	++
-հերկած	6	++	++	++
Սարգագետնային	10	++	+++	++
Աղուտներ, սոդային				
-անմշակ	21	+++	+	+
-մեխրագված	25	+++	+	+

*Պայմանական նշաններ՝ /+/- փոքր, /++/- չափավոր, և /+++/-առատ տարածվածությունը:

Սեր փորձերի արդյունքում հաջողվել է մեկուսացնել օբլիգատ ալկալոֆիլ շտամներ՝ թվով 7 շտամ, որոնք դրսևորում են 2% Na₂CO₃-ի առկայությամբ միջավայրում աճելու կարողություն (միջավայրի pH-ը այդ ժամանակ լինում է 12-ից ավելի):

Ֆակուլտատիվ ալկալոֆիլ շտամները թվով 141 շտամ, որոնց մենք խմբավորել ենք առանձին խմբով, չնայած որ աճում են pH 9 պայմանում, բայց դրսևորվում են նաև աճ չեզոք pH-ի (pH 7,0) պայմաններում: Ալկալոդիմացկուն շտամները թվով 50 կարողանում են աճել pH 10 սննդամիջավայրի պայմաններում, իսկ pH ստորին սահմանը այդ շտամների համար 8 է: Նշված օբլիգատ, ֆակուլտատիվ և ալկալոդիմացկուն խմբերն իրենց հերթին բաժանել ենք առանձին ենթախմբերի, ելնելով նրանց մորֆոլոգիական և ֆիզիոլոգիական առանձնահատկություններից:

Սեր կողմից մեկուսացված ալկալոֆիլ բացիլների շտամները բնութագրվում են բազմապիսի կուլտուրալ հատկություններով: Ընդհանրապես, նրանք ազարային պինդ սննդամիջավայրերում զարգանալիս ներկայանում են հարթ, սպիտակ կամ բաց դեղնավուն գաղութներով, եզրերը կարող են լինել ռիզոիդ կամ ոչ ռիզոիդ:

Ուսումնասիրված շտամներից 8-ը (3111*, 3124, 3236, 3251, 3259, 3310, 3317)

առաջացնում են վարդագույն գաղութներ, որոնցից 3319-ը առաջացնում է դեղնավուն պիգմենտ, որը չի տարածվում միջավայրի մեջ: Կարելի է արձանագրել, որ մեկուսացված և մեր կողմից ուսումնասիրված ալկալոֆիլ բացիլների կուլտուրաները լավ են զարգանում մանրէաբանական լայնորեն օգտագործվող սննդամիջավայրերում (մսա-պեպտոնային ազար և բուլյոն, ձկան էքստրակտ և այլն): Վճռական գործոնը հանդիսանում է NaCl-ի առկայությունը սննդամիջավայրում և ֆակուլտատիվ ու օբլիգատ ալկալոֆիլների համար համապատասխան pH-ը:

Հետազոտված կուլտուրաներից իրենց կուլտուրալ հատկանիշներով առանձնանում են մի քանի շտամներ: Օրինակ, 7 շտամ (3106, 3126, 3264, 3275, 3304, 3306, 3307) բնութագրվում են դեղնա-վարդագույն ոչ ռիզոիդ գաղութներով՝ Հորիկոչիի ազարային միջավայրում զարգանալիս: Ի տարբերություն նշված շտամների, երեք կուլտուրաներ (3249, 3313, 3348) բնութագրվում են դեղնավուն ոչ ռիզոիդ գաղութներով նույն սննդամիջավայրում: Նրանց իրենց կուլտուրալ հատկություններով նման են 3247, 3248 ալկալոֆիլ շտամները:

Մեր կողմից ուսումնասիրված ալկալոֆիլ բացիլների հավաքածույուն հայտնաբերվել է մեկ շտամ՝ 3257, որն առաջացնում է ինտենսիվ դեղին, ոչ ռիզոիդ, իսկ 3276 կուլտուրայի համար էլ հատկանշական է նարնջագույն գույնի գաղութներ: Նմանատիպ դեղին գույնի գաղութներ են առաջացնում նաև 3249, 3313, 3348 շտամները: Առանձին շտամներ (3118, 3231, 3327) բնութագրվում են սպիտակավուն, հարթ, ոչ ռիզոիդ բավականին պինդ գաղութներով՝ Հորիկոչիի սննդամիջավայրում: Մեր փորձերում առանձնահատուկ ուշադրություն է նվիրվել օբլիգատ ալկալոֆիլ շտամների ուսումնասիրությանը:

Ինչպես ցույց է տրված ադ. 2-ում, ալկալոֆիլ շտամները իրենց մորֆոֆիզիոլոգիական հատկություններով ներկայանում են 4 տարբեր խմբերով: Նրանք բնութագրվում են NaCl-ի 15% պարունակությամբ սննդամիջավայրում աճելու ունակությամբ, և սպորառաջացման ընթացքում սպորանգիումի ուռչեցումով: Ինչ վերաբերվում է այդ շտամների աճին 45° -ի պայմաններում, ապա նրանց մեջ որոշ շտամներ զարգանում են այդ ջերմաստիճանի տակ, իսկ առանձին կուլտուրաներ՝ ոչ: Օբլիգատ ալկալոֆիլ շտամների մեջ, առանձնահատուկ կուլտուրալ հատկություններով աչքի է ընկնում 3319 շտամը, որը մեկուսացվել է հողի նմուշից՝ Հորիկոչիի ազարային սննդամիջավայրի վրա 37°-ում: Նշված միջավայրի վրա այս շտամն առաջացնում է փայլուն հարթ գաղութներ, որոնք ունեն դեղնավուն պիգմենտացիա, չի ներաճում ազարային միջավայրի մեջ: Վեգետատիվ բջիջները ձողիկաձև են, սպորները՝ օվալաձև ենթածայրային դասավորությամբ, ուռեցնում են սպորանգիումը:

Հիդրոլիզում է օսլան, կազեինը և ժելատինը, նիտրատները չի վերականգնում նիտրիտների, լիմոնաթթուն չի յուրացնում, ացետիլ մեթիլ կարբինոլ չի առաջացնում, առաջացնում է ուրեազա: Տվյալ շտամը կարելի է դասակարգել որպես *B. alcalophilus* տեսակի նոր ենթատեսակ:

Բնութագրվում է նաև 3276 օբլիգատ ալկալոֆիլ շտամը, որը մեկուսացվել է հողի նմուշից՝ Հորիկոչիի ազարային սննդամիջավայրի վրա 37°-ում: Այդ միջավայրի վրա առաջացնում է հարթ, փայլուն, նարնջագույն, ոչ ռիզոիդ գաղութներ: Վեգետատիվ բջիջները ձողիկաձև են, սպորները՝ օվալ, ենթածայրային դասավորությամբ, ուռեցնում է սպորանգիումը:

Հիդրոլիզում է օսլան, կազեինը և ժելատինը, ացետիլմեթիլկարբինոլ չի առաջացնում, նիտրատները վերականգնում է մինչև նիտրիտների, յուրացնում է լիմոնաթթուն, աճում է մինչև 15% NaCl-ի առկայությամբ: Իրեն դրսևորած

* Շտամների համադրները տրված են Սանդրեները (կվանդադրման) Հանրապետական Կենտրոնի դեպոզիտացված կուլտուրաների շփրով:

հատկություններով 3276 շտամը կարելի է դասել *B. alcalophilus* "subsp. *halodurans*" տեսակին:

Աղ. 2-ում զետեղված տվյալները ի հայտ են բերում մեր կողմից մեկուսացված և ուսումնասիրված ալկալոֆիլ բացիլների բնորոշ հատկությունները, և հաստատում նրանց մեծ բազմազանությունը:

Հատկանշական է, որ ներկայացված խմբերում, որոնց մեջ դասավորվել են միանման կուլտուրալ հատկություններով շտամներ, հայտնաբերվում են օբլիգատ և ֆակուլտատիվ շտամներ, ինչպես նաև NaCl-ի տարբեր խտությունների նկատմամբ զանազան վերաբերմունք ցուցաբերող կուլտուրաներ:

Աղյուսակ 2. Տարբեր խմբերի օբլիգատ - ֆակուլտատիվ ալկալոֆիլ բացիլների բնորոշ հատկությունները:

Խմբերը	Շտամների ընդհանուր քանակը	Աճի pH-ը		Աճը NaCl-ի առկայությամբ		Աճը 45°	Սպորանգիումի ուռչեցում
		9-11	12-14	10%	15%		
1	56	54	2	26	15	16	22
2	32	29	3	16	6	9	19
3	8	7	1	6	2	3	5
4	6	6		4	1	-	5
5	16	15	1	10	6	3	5
6	3	3	-	1	1	2	1
7	2	2	-	2	-	2	-
8	1	1	-	-	-	-	1
9	1	1	-	1	1	-	1
10	5	5	-	3	2	2	-
11	15	15	-	9	2	6	9
12	2	2	-	1	-	2	-
13	1	1	-	-	-	1	-
Ընդամենը	148	141	7	79	38	46	68

Կարելի է արձանագրել, որ ուսումնասիրված ալկալոֆիլ շտամների մեծամասնությունը զարգանում է 10% NaCl-ի առկայությամբ, և նրանց բավական մեծ թվով կուլտուրաներ ունակ են զարգանալու 45° ջերմաստիճանում: Ինչ վերաբերվում է սպորանգիումի ուռչեցմանը, ապա այդ ցուցանիշը նկատվում է բավական մեծ թվով ալկալոֆիլ բակտերիաների խմբերում:

Ստացված տվյալներից կարելի է եզրակացնել, որ ալկալոֆիլ բացիլների տեսակային բազմազանությունը պայմանավորված է նրանց մորֆո-ֆիզիոլոգիական հատկություններով:

Աշխատանքի կատարումը մասնակիորեն ֆինանսավորվել է Եվրահամայնքի ԻՆՏՍՍ 93-3512 ծրագրի կողմից:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Жизнь микробов в экстремальных условиях. Под ред. Д.Кашнера , 519, М., 1983.
2. Мишустин Е.И., Перцовская М.И. Микроорганизмы и самоочищение почвы. 650, М., 1954.
3. Мишустин Е.И. Термофильные микроорганизмы в природе и практике. 390, М., 1950.
4. Хачатурян А.А., Казанчян Н.Л., Хачатурян И.С., Адамян М.О., Хачикян Л.А. Биолог. журн. Армении, 48, 1, 12-18, 1995.
5. Adams M.W. Enzymes and proteins from organisms that grow near and above 100°. Annu. Rev. Microbiol., 47, 627-658, 1993.
6. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Eds. Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe

- M.E., Holt J.G. The Williams and Willkins Co., Baltimore, 2, 1986.
 7. Gordon R.E., Haynes W.C., Pang C.H.W. The Genus Bacillus. USD of Agriculture, Washington, D.C., 283, 1973.
 8. Gilmour D.J. Commercial use of microbe extremophiles. Chem. and Ind., 9, 285-288, 1990.
 9. Horikoshi K., Aikba T. Alcalophilic Microorganisms. A new microbial world. Tokyo: Springer Verlag, 215, 1982.

Ստացված է 05.V.1995

Бюлог. журн. Армения, 1-2 (49), 1996.

УДК. 579.64:631.46

**KLEBSIELLA ՅԵՊԻ ԴԻԱԶՈՏՐՈՖՆԵՐԸ ԳԱՐՈՒ-
ԱՐՄԱՏԱՅԻՆ ՀԱՄԱԿԱՐԳՈՒՄ**

Վ.Չ.ՆԱԿՈՂՈՍՅԱՆ

«Չ Չ ՊԱՍ միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտ, 378510, ք.Արտվյան»

Ուսումնասիրվել է 6 կուլտուր արմատային համակարգից մեկուսացված *Klebsiella* սեղիկ պատկանող ազոտֆիքսող 6 կուլտուրաների տեսակային կազմն ու ազոտի ֆիքսման ակտիվությունը: Պարզվել է, որ մեկուսացված այդ բակտերիաներից 4-ը համեմատաբար մոտ են *K.planticola*, 1-ը՝ *K.oxytoca* տեսակներին, իսկ *Klebsiella sp.*-ն նկարագրվել է որպես նոր տեսակ:

Изучены видовой состав и активность азотфиксации 6 культур клебсиеллы, выделенных из корневой системы ячменя. Выявлено, что 4 культуры близки к виду *Klebsiella planticola*, 1 - *K. oxytoca*, а пятая *Klebsiella sp.* описывается как новый вид.

Different species and nitrogen fixing activity of 6 cultures of *Klebsiella* isolated from root system of barley were studied. The 4 cultures were identified as close to species *K. planticola*, 1 - as *K. oxytoca*. The strain of *Klebsiella sp.* was described as a new species.

Ազոտֆիքսացիա - արմատային համակարգ - գարի - Klebsiella.

Klebsiella-ն որպես ոչ սինթիտիկ ազոտֆիքսատոր հայտնի է մի շարք եղիկնակների աշխատանքներից [5-7]: Ցույց է տրվել, որ դաշտային փորձերում բրնձի սերմերը *K.pneumoniae*-ով մշակելիս ավելանում է բույսի չոր մասսան և ազոտի պարունակությունը [9]: Հայտնի է նաև, որ ազոտի ֆիքսման մեծ ակտիվություն նկատվել է շաքարեղեգի և մի շարք ասոցիատիվ դիազոտրոֆների. այդ թվում և *Klebsiella*-ի համակեցության պայմաններում [12]: *K. oxytoca* տեսակին պատկանող ազոտֆիքսատոր ցորենի արմատներից մեկուսացրել և ուսումնասիրել են ամերիկյան գիտնականները [10]: Սակայն ընդհանուր առմամբ անհրաժեշտ է նշել, որ բույսերի արմատային համակարգում զարգացող մի շարք դիազոտրոֆների համեմատ [1-3] *Klebsiella*-ն անհամեմատ քիչ է ուսումնասիրվել: Հայաստանի հողերում նրա առկայության մասին տեղեկություններ չկան:

Հացազգիների արմատային համակարգում զարգացող ասոցիատիվ դիազոտրոֆների ուսումնասիրման նպատակով նախկինում մեր կողմից մեկուսացվել էին հարյուրից ավելի ազոտֆիքսող մանրէների համակեցություններ, որոնցից մեզ հաջողվել է անջատել նաև *Klebsiella* ցեղին պատկանող մի շարք դիազոտրոֆներ: Սույն հաղորդումը նվիրված է նրանց ուսումնասիրությանը:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրությունների նյութ է հանդիսացել զարու արմատային համակարգում վարգապող, ազոտֆիքսող մանրէների բարդ համակենցոթյուններից (H^2A^{100} , A^{10}) մեկուսացված 6 կուլտուրաները՝ շտամեր N 1-6

Բույսի արմատների նմուշները վերցվել են 1988-1990թթ. Հայաստանի ցածրադիր և ռաիալեռնային տարբեր շրջաններից (Էջմիածին, Մասիս, Արվյան):

Klebsiella-ի հայտնաբերման և ուսումնասիրման համար օգտագործվել են էշրիի, Վինոգրադսկու, Չուպեկի, ՄՊԱ, իսկ որոշ դեպքերում նաև GB [11] սննդամիջավայրերը:

Կուլտուրաների իդենտիֆիկացիան կատարվել է Բերգևի [6] որոշիչով, իսկ ազոտի ֆիքսման ակտիվությունը Վինոգրադսկու հեղուկ սննդամիջավայրում որոշվել է սպեոտրիմետրիկ եղանակով [8], որի մեթոդական մասը մեր կողմից ներկայացվել է նախկինում [4]:

Արդյունքներ և քննարկում: Ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ զարու արմատային համակարգից մեկուսացված վերոհիշյալ վեց կուլտուրաները *Klebsiella* ցեղին պատկանող տարբեր տեսակներ են:

Հայաստանի ցածրադիր վայրերում մշակվող զարու արմատային համակարգից (ռիզոպլան, ռիզոսֆերա) մեկուսացված 4 կուլտուրաները՝ շտամեր N1-4 իրենց 10-ում զարգանալու ունակության շնորհիվ տարբերվել են գրականությունից հայտնի ազոտֆիքսող *K.pneumoniae* տեսակից: Նշված կուլտուրաները իրենց մորֆոֆիզիոլոգիական ու բիոքիմիական առանձնահատկություններով համեմատաբար մոտ են Բերգեի որոշիչով նկարագրված *K.planticola* տեսակին, չնայած այդ կուլտուրայի ազոտի ֆիքսման ունակության վերաբերյալ տեղեկություն չի բերված: Ի տարբերություն որոշիչում նկարագրված այդ տեսակի, մեր կողմից փորձարկված բոլոր կուլտուրաները, ազոտֆիքսող սնանքների բարդ համակենցոթյուններից մեկուսացնելուց հետո, օժտված են եղել ազոտի ֆիքսման ակտիվությամբ: Նրանց այդ հատկությունն է հայտ է եկել ինչպես ատրոբ, այնպես էլ միկրոատրոֆիլ պայմաններում զարգանալիս: Իրենց այդ առանձնահատկություններով ու տաքսոնոմիական որոշ հատկանիշներով նշված կուլտուրաները հավանաբար *K.planticola* տեսակի նոր ենթատեսակներ, հնարավոր է նաև նոր տեսակներ են հանդիսանում:

Գարու ռիզոսֆերայից մեկուսացված են 2 կուլտուրա: Կուլտուրաներից մեկը շտամ N6 մասամբ համապատասխանում է նույն որոշիչում նկարագրված *K.oxytoca* տեսակին, որի ազոտի ֆիքսման հատկության վերաբերյալ, ինչպես նախորդ տեսակի դեպքում, տեղեկություններ չի բերված:

Մյուս կուլտուրան շտամ N5, իր մորֆոֆիզիոլոգիական ու բիոքիմիական մի շարք առանձնահատկություններով տարբերվել է նկարագրված բոլոր *Klebsiella*-ներից: Ստորև բերված են նրա հիմնական հատկությունները: Անշարժ ձողեր են 2,8-6,0x0,5-0,9 μ մեծությամբ, առաջացնում են կապսուլա (պատիճ), գաղութներն էշրիի սննդամիջավայրում կլոր են, 2-5մմ մեծության, բավական ուռուցիկ, հարթ մակերեսով ու եզրերով, սպիտակավուն, որոնք սովորաբար տարբեր ակտիվությամբ տարալուծում են կապիճը: Կուլտուրան ֆակուլտատիվ աճատրոբ է, ՄՊԱ-ում չի զարգանում, հիդրոլիզում է օսլան, դիհիդրոօքսիացետոն և ացետիլմեթիլկարբիմոլ չի առաջացնում, նիտրատները չի վերականգնում, արաբինոզ և գլյուկոզ օգտագործելիս առաջացնում է թթու, մթնոլորտի ազոտը ֆիքսում է ինչպես ատրոբ, այնպես էլ միկրոատրոֆիլ պայմաններում:

Այսպիսով, Հայաստանի հողերում ու հացազգիների արմատային համակարգում, բացի *Azotobacter*-ից, *Azospirillum*-ից և սպորավոր մի շարք բացիլներից *Klebsiella*-ի առկայությունը լրացնում է մեր պատկերացումը ոչ սիմբիոտիկ ազոտֆիքսացիայի մասին նոր տվյալներով, միաժամանակ ստեղծելով նրանց հետագա ավելի խորը ուսումնասիրությունների անհրաժեշտություն:

Հետագա փորձերը ցույց տվեցին, որ ուսումնասիրված *Klebsiella*-ի մաքուր կուլտուրաների մեծ մասը լաբորատոր պայմաններում դժվարությամբ են պահպանվում: Ինչպես ցույց են տալիս արյուսակում բերված տվյալները, *K.planticola*

շտամներ N2 և N3 ազոտֆիքսող մանրէների համակեցություններից մեկուսացնելուց հետո, մեկ տարվա ընթացքում կորցրել են իրենց ազոտի ֆիքսման, իսկ հետագայում նաև զարգանալու ունակությունը: Նման երևույթ չի նկատվել *K. oxytoca* շտամ N6 և *Klebsiella sp.* շտամ N5 կուլտուրաների մոտ, որոնք պահպանել են իրենց զարգացումն ու ազոտի ֆիքսման մեծ ակտիվությունը լաբորատոր պայմաններում պահպանման հինգ տարիների ընթացքում: Դա հիմնականում պայմանավորված է ինչպես ազոտֆիքսող մանրէների համակեցության ներսում տարբեր պոպուլյացիաների միջև գոյություն ունեցող յուրահատուկ փոխհարաբերության ու սննդային կապերի բնույթով, այնպես էլ այնտեղ դոմինանտող դիագոտրոֆների և նրանց ուղեկցող այլ մանրէների տեսակային կազմով:

***Klebsiella* ցեղի դիագոտրոֆների զարգացումն ու ազոտֆիքսացիան երկարա-պահպանման պայմաններում.**

Տեսակներ	Կուլտուրաների համարները	Պենիցիլինի սրվակներում ֆիքսված ազոտը, մոլ 9 օրում				
		մեկուսացումից հետո 1988թ	1989թ	1991թ	1993թ	1995թ
<i>Klebsiella planticola</i>	1	0,32	0,01	0	x	-
	2	0,10	0	x	-	-
	3	0,26	0	x	-	-
	4	0,14	0,15	0,11	0	0
<i>Klebsiella sp.</i> <i>K. oxytoca sp.</i>	6	0,32	0,30	0,32	0,33	0,28
	5	0,40	0,35	0,37	0,38	0,36

Ծանոթություն. 0-ազոտի ֆիքսման ակտիվություն չի հայտնաբերվել, x կուլտուրան հետագայում չի աճել:

Ստացված տվյալներից հավանաբար պետք է հետևեցնել, որ *Klebsiella* ցեղի ասոցիատիվ դիագոտրոֆները հանդես գալով հիմնականում ազոտֆիքսող մանրէների բարդ համակեցությունների կազմում, որոշակի դեր են խաղում ոչ սինթետիկ ազոտֆիքսացիայի պրոցեսում և նպաստում բույսերի ազոտային սննդառությանը:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Восьмой восточно-европейский симпозиум по биологической азотфиксации "NITROGENFIX-92", 22-26 сентября 1992 года, Саратов, Россия. Микробиология, 62, 2, 359-363, 1993.
2. Глаголева О.Б., Злотников А.К., Умаров М.М. Микробиология, 64, 2, 201-204, 1995.
3. Натонский исследовательский семинар по азоспирилле и родственным микроорганизмам. Венгрия, Шарвар, 4-7 сентября 1994г. Микробиология, 64, 3, 430-432, 1995.
4. Пюкогосян В.Г. Биолог. журн. Армении, 34, 3, 269-274, 1981.
5. Умаров М.М. Ассоциативная азотфиксация. М. 1986.
6. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, London, 1, 1984.
7. Cakmakci M., Luttu, Evans H.J., Seidler R.J. Plant and Soil, 61, 1-2, 53-63, 1981.
8. Hardy R.W., Burns R.S., Holsten R.D. Soil. Biol. and Biochem, 5, 47, 1973.
9. Nandi A.S., Sen S.P. Plant and Soil, 63, 3, 465-476, 1981.
10. Rennie R. J. Can. J. Microbiol., 27, 1, 8-14, 1981.
11. Seldin L., Van Elsas J.D., Penido Elisa G.G. Plant and Soil, 70, 249-255, 1983.
12. Vose P.B. Can. J. Microbiol., 29, 8, 837-850, 1983.

Ստացված է 12.XII.1995.

ДВУХСТУПЕНЧАТЫЙ МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ

Л.А. АБЕЛЯН

Институт микробиологии НАН Армения, 378510, г.Абовян

Разработан двухступенчатый метод получения D-молочной кислоты из экстракта клубней топинамбура и остаточного раствора производства циклодекстринов. Показано, что на выход и оптическую чистоту молочной кислоты влияют концентрации сахара и дрожжевого экстракта, а также аэрация. Процесс обладает высокой интенсивностью и заканчивается за 60 часов.

Մշակված է D-կաթնաթթվի ստացման երկփուլային մեթոդ՝ գետնախնկորի պալարների հյութից և ցիկլոդեքստրինների արտադրության մնացորդային լուծույթից: Տոնյ է տրված, որ կաթնաթթվի ելանքի և օպտիկական մաքրության վրա ազդեցություն են թողնում շաքարակուրի և շաքարասնկային էքստրակտի քանակությունը, ինչպես նաև՝ ատրապիան: Պրոցեսը օժտված է մեծ ինտենսիվությամբ և ավարտվում է 60 ժամում:

Two-steps method for D-lactic acid production from topinambur tubers extract and residual sugars of cyclodextrin production has been worked out. Concentrations of sugar and yeast extract as well as aeration have influenced on yield and optical purity of lactic acid. The process has a high intensificity and was finished during 60 hrs.

Молочная кислота - Sporolactobacillus inulinus - инулин - глюкоза.

Молочная кислота - один из первых продуктов, полученных микробиологическим путем, причем в качестве сырья чаще всего используют мелассу, а также гидролизованный крахмал, к которому добавляют источники витаминов - солодовый и кукурузный экстракт, минеральные соли, источники азота и фосфора [1,3,4].

В настоящей статье описывается двухступенчатый метод получения молочной кислоты с существенной интенсификацией процесса из экстракта клубней топинамбура и остаточных сахаров производства циклодекстринов с применением *Sporolactobacillus inulinus*.

Материал и методика. В работе использовали культуру *S. inulinus* ATCC 15538. Молочную кислоту определяли спектрофотометрически [2] и тонкослойной хроматографией в системе растворителей н.бутанол-уксусная кислота-вода=4:0.5:1.0, об/об. Редуцирующие вещества идентифицировали согласно описанному методу [5].

Для эффективного получения молочной кислоты культуру *S. inulinus* выращивали на твердой питательной среде, содержащей источник сахара (остаточный раствор производства циклодекстринов или экстракт клубней топинамбура - в дальнейшем глюкоза и инулин соответственно), неорганические соли и факторы роста (дрожжевой экстракт, пептон) с агаром в следующих соотношениях (г/л): глюкоза или инулин-20,0; дрожжевой экстракт-10,0; пептон-10,0; ацетат натрия-10,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,2; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,01; $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ - 0,01; NaCl - 0,01; агар-2,0 (среда 1).

Для обеспечения высокой оптической чистоты D-(-)-молочной кислоты на следующей стадии приготовления инокулята необходимо увеличить концентрацию источника сахара и снизить добавляемое количество дрожжевого экстракта. Лапная среда содержала также 1,0% $CaCO_3$ в качестве нейтрализующего агента и имела следующий конечный состав, г/л: глюкоза или инулин - 100,0; дрожжевой экстракт - 7,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,2; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,01; $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ - 0,01; NaCl - 0,01;

CaCO₃ - 10,0 (среда II).

Основная ферментационная среда была идентична второй, с той лишь разницей, что содержала 6,0% CaCO₃.

На среде I культуру выращивали при 37° в течение 3 суток до удовлетворительного роста, переносили в среду II и культивирование осуществляли без перемешивания в течение 24ч при 37°. Полученный таким образом инокулят использовали для посева основной питательной среды.

Результаты и обсуждение. Выявлено, что как выход молочной кислоты, так и ее оптическая чистота в большей степени зависят от концентрации сахара и дрожжевого экстракта, оптимальные значения которых составляли 100 (табл.1) и 7,5 г/л (табл.2) соответственно. Дальнейшее увеличение концентрации сахара приводило к ухудшению оптической чистоты, а увеличение количества вносимого дрожжевого экстракта не оказывало заметного положительного эффекта.

Таблица 1. Влияние источника сахара на выход и оптическую чистоту D-молочной кислоты.

Концентрация сахара, г/л	Выход молочной кислоты, г/л	Оптическая чистота D-молочной кислоты, %
20	19,0	97,6
40	38,4	98,3
60	57,6	98,6
80	77,6	98,9
100	98,1	99,2
150	145,5	98,6
200	190,0	98,4

Таблица 2. Влияние дрожжевого экстракта на выход и оптическую чистоту D-молочной кислоты (концентрация сахара 100 г/л).

Дрожжевой экстракт, г/л	Выход молочной кислоты, г/л	Оптическая чистота D-молочной кислоты, %
2,5	97,0	97,1
5,0	97,5	97,8
7,5	98,1	99,0
10,0	98,0	99,2

На качество и количество молочной кислоты большое влияние оказывает также количество инокулята. Чем больше его количество, тем полнее образование целевого продукта (табл.3).

Таблица 3. Влияние количества инокулята на выход молочной кислоты (10% источника сахара; 37°; инкубация 3 суток).

Количество инокулята, г/л	Выход молочной кислоты, г/л	Оптическая чистота D-молочной кислоты, %
50,0	37,6	97,4
70,0	43,3	97,9
100,0	72,4	98,6
125,0	87,2	99,0
150,0	98,0	99,0
175,0	98,2	99,2

Следует отметить, что при проведении процесса без перемешивания нейтрализующий агент- карбонат кальция плотно оседает на дне реактора. Это намного замедляет процесс нейтрализации образовавшейся молочной кислоты, недиссоциированная форма которой является ингибитором молочнокислого брожения. Данный недостаток возможно ликвидировать постоянным титрованием

ферментационной среды раствором гидроксиды, карбоната или бикарбоната натрия, а также аммиачной водой. Но это связано с некоторыми техническими трудностями. Поэтому для решения данной проблемы нами был выбран более простой путь - слабое перемешивание, т.е. аэрация. Известно, что бактерии не содержат цитохромов и ферментов ЦТК и осуществляют брожение в анаэробных условиях. Аэробный метаболизм может привести к ингибированию роста и превращению пирувата не в лактат, а в другие продукты. Однако в случае с *S. inulinus* в данных условиях эксперимента слабое перемешивание, т.е. микроаэрация ферментационной среды не только не приводит к потере выхода молочной кислоты, но и существенно ускоряет процесс. Так, если в статических условиях брожение заканчивается за 72ч, то при перемешивании ферментация длится около 60 часов (табл.4).

Таблица 4. Образование молочной кислоты в зависимости от скорости перемешивания (300 мл колбы с 200 мл ферментационной среды с содержанием 10% источника сахара при 37°. Без перемешивания ферментация продолжалась в течение 72 ч, а при перемешивании - 60ч).

Интенсивность перемешивания, об/мин	Выход молочной кислоты, г/л	Оптическая чистота D-молочной кислоты, %
Без перемешивания	98,1	99,2
25	96,2	99,0
50	96,4	99,0
75	98,0	99,0
100	95,4	99,0
150	95,0	99,0

Таким образом, разработан эффективный метод получения D-молочной кислоты из новых источников с использованием культуры *S. inulinus*. По сравнению с процессом, применяемом в настоящее время в промышленности, интенсивность данного способа почти в 2,5 раза выше. Кроме того, почти на 10% выше оптическая чистота получаемого продукта, которая не снижается при повторной ферментации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьева Л.И. Промышленная микробиология. М., 1989.
2. Bergmeyer H.U., Berut E., Schmidt F., Stork H. Methods of enzymatic analysis. 3, 1196-1201, Acad. Press, N.Y., 1974.
3. Hoshino K., Taniguchi M., Marumoto H., Shimizu K., Fujii M. Agric. Biol. Chem., 55, 479-485, 1991.
4. Iwasaki K., Nakajima M., Sasahara H. J. Ferment. Bioeng., 73, 375-379, 1992.
5. Somogyi M. J. Biol. Chem., 195, 19-23, 1952.

Поступила 9.IX.1994.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНСЕКТИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ КУЛЬТУР *BACILLUS THURINGIENSIS* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

Л.А. ЧИЛ-АКОПЯН, [Б.Д. ХЛИСТОВСКИЙ], М.О. АДАМЯН, М.А. КИНОСЯН

Институт микробиологии НАН и Республиканский Центр депонирования микробов НАН и
Министерства образования и науки РА, 378510, г. Абовян
Северо-Кавказский НИИ фитопатологии, 350039, г. Краснодар

Показана возможность использования гусениц тутового шелкопряда для биотестирования инсектицидных препаратов из культур *B. thuringiensis*. Приводится описание методики для практического применения.

Ցույց է տրված բթևնու շերամի բրթորների օգտագործման հնարավորությունը *B. thuringiensis*-ի կուլտուրաների միջատասպան ակտիվության բիոտեստավորման համար: Բերված է գործնական կիրառման մեթոդի նկարագրությունը:

The possibility of use of silkworm larvae for the bioassay of insecticide activity of *B. thuringiensis* cultures has been shown. The description of method for practical application has been presented.

Тутовый шелкопряд - бактериальные инсектициды - биотестирование.

Для оценки активности производимых инсектицидов из культур *B. thuringiensis* (BT) используется метод биотестирования с применением в качестве тест-объектов различных насекомых [5]. В основе этих способов лежит биологический метод определения минимальной концентрации (или дозы) препаратов, вызывающей 50%-ную гибель тест-насекомых (JK_{50}).

Основным насекомым, используемым в качестве тест-объекта для препаратов, выпускаемых промышленностью СНГ, является непарный шелкопряд (НШ). Источником материала для биотестирования яиц НШ являются их природные популяции. Следствием этого является нестандартность тест-объекта, использование грены, инфицированной латентным вирусом, что приводит к противоречивым результатам в оценке вирулентности препаратов. Кроме того, чрезвычайная аллергогенность НШ затрудняет работу с ним.

Целью настоящей работы являлась разработка методики определения инсектицидной активности культур BT с применением тутового шелкопряда (ТШ).

ТШ имеет ряд существенных достоинств [5]: широкий спектр чувствительности, возможность круглогодичного хранения и оживления стандартной грены (яйцекладок) заводского изготовления, удобные размеры личинок и поверхностное расположение на корме, доступность и дешевизна искусственной питательной среды (ИПС).

Выполненные нами ранее исследования подтвердили достоинства ТШ в качестве тест-объекта [6]. В настоящей работе приведены итоги дальнейших исследований с описанием методики, выполненных в Институте микробиологии НАН Армении (ИНМИА).

Материал и методика. В опытах использована грена тугового шелкопряда гибрида К₁хК₂ (Кавказская1хКавказская2) с гренажного завода г.Георгиевска Ставропольского края. Грену инкубировали в соответствии с правилами ее инкубации на гренажных заводах [3]. Выращивание гусениц проводилось в чашках Петри с ИПС [4] в нашей модификации следующего состава (%): порошок листьев шелковицы-14; порошок зародышей пшеницы-11; пшеничная мука-16; глюкоза-3; смесь минеральных солей Вессона-0,5; аскорбиновая кислота-0,2; пропионовая кислота-0,25. Режимы выращивания гусениц; 23, 26, 29^o ± 1^o; относительная влажность 65-70%.

Для испытаний вирулентности к ТШ использованы штаммы (в виде культуральной жидкости-КЖ), приведенные в табл. 1.

Таблица 1. Испытанные штаммы.

Подвиды и серотипы	Номера штаммов		Название препарата
	оригинальные	по коллекции	
<i>B. thuringiensis</i>			
<i>thuringiensis</i> - 1	202	1135	Битоксибациллин
<i>kurstaki</i> - 3	7-52	1194	Лендодил
<i>dendrolimus</i> - 4	49/8	1138	Центробациллин
<i>galleriae</i> - 5	69/6	1055	Энтобактерия
<i>caucasicus</i> - 10	844	844	БИП

КЖ получали выращиванием штаммов на питательной дрожжевополисахаридной среде- ЛПС (ВВК-3,0%, кукурузная мука-1,5%) до полной споруляции. Титр спор определяли рассевом на МПА в чашках Петри и в счетной камере Горяева.

Методика испытаний вирулентности культур на ТШ, изложенная ниже, разработана с учетом методик биотестирования на других насекомых (ГУ на бактериальные инсектицидные препараты).

Инсектицидная активность определялась по ЛК₅₀ от КЖ штаммов и ее четырех последовательных десятикратных разведений, %: 100; 10; 1; 0,1; 0,01.

Опыты проводились на однородных личинках, появившихся на третий возраст. Гусеницы по 10 или 15 особей раскладывались в чашки Петри на листок бумаги и оставались без корма в течение 16-18 часов. Испытуемые суспензии КЖ, в количестве 0,5мл, тщательно смешивались с 5г ИПС и в виде ломтиков подкладывались гусеницам. Повторяемость опытов 3-5-кратная. В контрольном опыте вместо КЖ в ИПС добавлялось соответствующее количество стерильной воды.

Инсектицидная активность определялась по гибели гусениц ежедневно в течение 6 дней. После подкормки препаратом гибель гусениц определялась по формуле Аббота. По полученным данным гибели гусениц методом Кербера определялась ЛК₅₀ [2]. Доверительный интервал вычислялся по методу Де Вейра [1].

С целью выяснения корреляции степени вирулентности штаммов к ТШ и насекомому вредителю поставлен сравнительный опыт. Эксперимент с ТШ проводился одновременно на ИПС и листе шелковицы, а с кольчатым шелкопрядом (КШ)- на листе яблони. Листья брались в равном с ИПС весовом отношении. Испытуемая суспензия наносилась на лист также в равном количестве, из расчета 0,1мл на 1г корма. Отличие состояло в том, что суспензия вносилась в 5г ИК однократно и корм подавался в течение всего времени наблюдения. Листья, в количестве 1г, смачивались суспензией (0,1мл) и скармливались ежедневно. В сумме вес скармливаемого листа равнялся весу ИПС в опыте.

Результаты и обсуждение. Данные, представленные в табл. 2, убеждают, что при внесении КЖ и его разведений в 1г корма в количестве 1мл достигается гибель гусениц ТШ в пределах 0-100%.

Для определения оптимальной температуры при оценке инсектицидности бактерий гусеницы ТШ выращивались в разных температурных условиях. Полученные данные свидетельствуют о том, что температура 29^o наиболее благоприятна для ускоренного выявления результатов гибели личинок (табл.3).

ИНСЕКТИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЙ

Таблица 2. Динамика гибели гусениц при испытании различных концентраций КЖ штамма 844 (средние данные трех повторностей; 26°).

Концентрация КЖ, %	Концентрация КЖ, млн спор/г корма	Гибель гусениц по дням, %					
		1	2	3	4	5	6
100	350	82	89	95	97	97	97
10	35	44	55	69	93	97	97
1	3,5	0	2	4	20	22	22
0,1	0,35	0	0	0	9	11	22
0,01	0,035	0	0	2	2	2	2
Контроль (без КЖ)	-	0	0	2	2	4	4
млн спор/г субстрата		60,2	38,0	25,1	7,9	7,2	5,5

Таблица 3. Биологическая активность штамма 844 при выращивании гусениц ТШ в разных температурных условиях.

Температура, °С	Число повторностей в опыте	Показатели гибели гусениц	Результаты опытов по дням					
			1	2	3	4	5	6
23	3	1*	57,5	39,8	16,8	14,9	9,1	5,3
		2**	0	0	0	10,6	10,6	10,6
26	3	1	60,2	38,0	25,1	7,94	7,24	5,49
		2	0	0	2	2	4	2
	3	1	95,4	34,1	19,6	10,6	7,3	6,4
		2	0	0	0	0	0	0
29	3	1	28,8	14,1	8,91	3,46	2,18	1,81
		2	0	0	2	2	2	4
	4	1	21,05	12,3	9,7	8,3	5,93	5,93
		2	0	0	0	0	0	0
	5	1	22,3	15,5	10,0	7,7	-	-
		2	0	4	5,3	8	-	-
31	3	1	42,3	23,2	12,8	8,5	6,5	4,6
		2	0	2	4	4	6,6	6,6

Примечание: * ЛК₅₀, млн спор/г корма; ** гибель гусениц в контроле, %; (-) - данные отсутствуют.

При 29° и прочих ранних условиях ЛК₅₀ более чем вдвое ниже, чем при других испытанных температурах, что свидетельствует о преимуществе постановки опытов при этой температуре. В результате получены равнозначные температурные оптимумы для ВТ и развития ТШ.

Для выяснения влияния антисептика - пропионовой кислоты - на вирулентность испытываемых штаммов проведены сравнительные испытания ИИС с добавлением полной дозы - 0,5%, рекомендуемой авторами [4], половины дозы и без антисептика (табл.4).

Таблица 4. Биологическая активность штамма 844 при разных дозах антисептика (средние данные 4-х повторностей; 29°).

Дозы антисептика, %	ЛК ₅₀ , млн спор/г корма по дням					
	1	2	3	4	5	6
0,5	19,1	13,5	8,7	6,5	4,8	4,3
0,25	21,1	12,3	9,7	8,3	5,9	5,9
Контроль (без антисептика)	33,1	7,0	4,8	Опыт не учтен		

Приведенные данные свидетельствуют об отсутствии ингибирующего действия антисептика на вирулентность испытываемой культуры. Разницы между применяемой полной и половинной доз антисептика не отмечено. Для дальнейших работ принято применение половинной дозы антисептика.

В следующей серии опытов показано, что наравне с гусеницами III возраста ТIII, могут быть использованы в равной мере, и почти с аналогичными показаниями ЛК₅₀, также и гусеницы IV и V возрастов (табл.5). Однако испытания на гусеницах III возраста целесообразнее и экономичнее.

Таблица 5. Биологическая активность штамма 844 для гусениц ТIII разных возрастов (средние данные 3-х повторностей, 29°).

Возраст гусениц	ЛК ₅₀ , млн спор/г корма по дням					
	1	2	3	4	5	6
III	19,05	13,5	8,7	6,45	4,78	4,3
IV	13,8	7,7	6,9	4,3	2,45	2,45
V	12,3	4,7	2,3	1,7	1,3	1,02

В динамике летального действия на гусениц КIII и ТIII отмечены индивидуальные особенности. Однако на пятые сутки этот показатель выравнивается. Эти данные свидетельствуют о равноценности получаемых данных летальности тутового шелкопряда и других вредителей от культур ВТ (табл.6).

Таблица 6. Вирулентность штамма 844 к тутовому и кольчатому шелкопрядам (средние данные 3-х повторностей, 26°).

Наскомые	Корм	ЛК ₅₀ , млн спор/г корма по дням					
		1	2	3	4	5	6
Тутовый шелкопряд (III возраста)	ИПС	28,8	14,1	8,91	3,16	2,18	1,81
	Лист шелковницы	31,6	10,96	6,91	4,1	2,12	0,99
Кольчатый шелкопряд (V возраста)	Лист яблони	0	370,9	86,96	20,07	6,6	3,2

Для выбора оптимального дня учета проанализированы данные таблиц. Установлено, что наиболее целесообразным является учет на третьи сутки. Ускорение учета вдвое является также преимуществом при сравнении с НИИ, следовательно, описываемый метод можно рекомендовать как экспресс-метод. Более того, учитывая скорость гибели гусениц с первого дня, можно оценивать штаммы через двое и одни сутки, приняв за стандарт показатели ЛК₅₀ соответствующих дней для каждого штамма.

В табл. 7 приведены сведения о биологической активности к ТIII штаммов,

Таблица 7. Сравнительная вирулентность промышленных штаммов ВТ к гусеницам ТIII (шаг разведения КЖ 1:10, средние данные 5-ти повторностей, 29°).

Штаммы во НИИМИА	Титр КЖ, млрд/мл	Показатель гибели гусениц*	ЛК ₅₀ , млн спор/г корма по дням					
			1	2	3	4	5	6
			1135	2,8	1	100	100	100
1194	2,83	1	6,12±0,06	6,1±0,09	3,6±0,39	2,6±0,18	2,04±0,19	1,17±0,29
		2	3,71±0,6	2,1±1,6	1,5±0,2	1,12±0,22	0,87±0,1	0,89±0,1
1138	5,5	1	94,6	97,3	97,3	98,6	98,6	100
		2	144,5±0,19	117±0,24	91,2±0,2	69,1±0,03	50,1±0,07	35,5±0,37
1055	3,3	1	97,3	100	100	100	100	100
		2	13,91±0,2	6,91±0,14	5,12±0,15	3,98±0,14	3,55±0,13	1,77±0,17
844	3,5	1	90,6	97,3	100	100	100	100
		2	28,8±0,45	14,1±0,21	8,91±0,2	3,46±0,31	2,1±0,02	1,81±0,17

Примечания: 1-средний % погибших гусениц от наивысшей испытанной концентрации - КЖ; 2-среднее значение ЛК₅₀, млн спор/г корма (средняя ошибка с вероятностью 95%, гибель в контроле составляла не более 4%).

являющихся основой производства бактериальных инсектицидных препаратов против вредителей-чешуекрылых. Данные получены при проведении опыта в полном соответствии с условиями разработанной методики. Аналогичные данные получены при разведении КЖ с шагом 1:2.

Проведенные исследования позволяют рекомендовать тутовый шелкопряд в качестве тест-объекта для оценки активности бактериальных инсектицидных препаратов из культур *Bt*, используемых против вредоносных насекомых отряда чешуекрылых.

Выполнение данной работы частично финансировалось грантом ИНТАС 93-3512.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. 180, Л., 1962.
2. Лескова А.Я., Рыбина Л.М., Строева И.А. Идентификация культур *B. thuringiensis* и оценка их патогенных свойств. Методические указания. Л., 1984.
3. Основные правила по приготовлению промышленной грены тутового шелкопряда на гренажных заводах. М., 1984.
4. Руднев Е.Д., Хлистовский Е.Д., Шаболта О.М., Кондратьева Л.А. А.С. СССР 1106457, Бюлл. N29, 1984.
5. Хорходин Е.Г., Шагов Е.М. Сельхоз. биология, 4, 37-43, 1987.
6. Чил-Акопян Л.А., Кондратьева Л.А., Хлистовский Е.Д., Адамян М.О., Киносян М.А., Арутюнян Е.Г. Биолог. журн. Армении, 41, 11, 938-940, 1988.

Поступила 17.VIII.1995.

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 579.66:632.951

ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И РЕПРОДУКЦИЯ ИНСЕКТИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ЛАРВИЦИДНЫХ КУЛЬТУР *BACILLUS THURINGIENSIS* И *BACILLUS SPHAERICUS* В ПОЧВЕ

К.О. ЧИЛИНГАРЯН

Республиканский Центр депонирования микробов НАН
и Министерства образования и науки РА, 378510, г. Абовян

Изучалась степень сохранения жизнеспособности и инсектицидной активности культур, рекомендуемых в качестве пролупецтов новых бактериальных препаратов против комаров в трех типах почв.

Показано резкое снижение титра культур во всех типах почвы в течение первого месяца, в дальнейшем, от 5 месяцев до года, отмечалось повышение титра у культур *B. thuringiensis* в черноземной почве, а у *B. sphaericus* во всех типах почв. Вирулентность культур сохранялась в течение всего срока наблюдений на высоком уровне.

Ուսումնասիրվել են նոր բակտերիալ մոճակասպան պրեպարատների համար երաշխավորված կոլտուրաների կենսունակության պահպանման աստիճանը և ինսեկտիցիդային ակտիվությունը երեք տիպի հողերում:

Ցույց է տրվել, որ բոլոր տիպի հողերում առաջին ամսվա ընթացքում հետազոտված կոլտուրաների տիտրը կտրուկ իջել է: Հետագայում հինգերորդ ամսից մինչև 1 տարվա ընթացքում նկատվել է *B. thuringiensis* կոլտուրաների տիտրի բարձրացում սնահողում, իսկ

B.sphaericus կուլտուրաների՝ բոլոր տիպի հողերում: Հետազոտման ամբողջ ժամանակահատվածում բոլոր շտամների վիրուլենտությունը պահպանվել է բարձր մակարդակի վրա:

Degree of preservation of viability and insecticide activity of active cultures, recommended as producers of new bacterial preparations against mosquitoes in three types of soils were studied. During the first month the titer of cultures in all types of soils quickly decreased. Further, after the 5th month till a year the increase of titer was observed for cultures of *B.thuringiensis* in *czernozyoms* and cultures of *B.sphaericus* in all types of soils. High level of cultures virulence was preserved during the whole period of experiments.

Ларвицидные бактерии - жизнеспособность - хранение

Сохранение спор и вегетативных клеток культур *Bacillus thuringiensis* и *Bacillus sphaericus*, в особенности их ларвицидных серотипов, в почве и других природных субстратах вызывало значительный научно-практический интерес [1,3,7-10].

Показано, что споры *B.thuringiensis subsp. kurstaki* - продуцента препарата "Динел" - в черноземных почвах находят благоприятные условия для размножения и процент приживаемости исключительно высок [3].

Споры *B.thuringiensis subsp. thuringiensis* и *subsp. morrisoni* в стерильной почве прорастали и их количество увеличивалось, а в нестерильной почве происходило снижение жизнеспособности клеток и спор [7].

Для штамма *B.thuringiensis subsp. aizawai* установлено, что в автоклавированной почве жизнеспособность спор снижалась медленнее, чем в стерильной [9,10].

Целью данной работы являлось изучение степени сохранения жизнеспособности и ларвицидной активности культур, рекомендуемых в качестве продуцентов новых ларвицидных препаратов.

Материал и методика. Объектом исследования служили штаммы *B.thuringiensis subsp. israelensis* (ВТi) ИИМИА 2477 и *B.sphaericus* (BS) серотипа H5 ИИМИА 2626, выделенные в Институте микробиологии НАН Армении и предлагаемые для производства новых ларвицидных препаратов [4,5].

Исследованы также типовые штаммы тех же видов из коллекции Республиканского Центра депонирования микробов (РЦМ): *B.thuringiensis subsp. israelensis* ИИМИА 1125 и *B.sphaericus* серотипа H5 ИИМИА 2630 [2].

Культуры выращивались на твердом рыбно-пептонном агаре (РПА) при 30° в течение 72 часов до полной споруляции. Затем культуры смывались стерильным физ.раствором, подсчитывался титр в камере Горяева и проверялась ларвицидная активность к личинкам второго возраста *Aedes aegypti*. Постановка опытов проводилась общепринятым методом [6].

Суспензии спор оставляли при комнатной температуре в течение трех месяцев при 25-28°. Спустя три месяца рассевом на РПА в чашках Петри подсчитывался титр спор и клеток, а также кристаллообразование. Из указанных суспензий проводили заражение почвы. Навески почвы по 25 г вносились в сосуды, причем каждый образец почвы использовался как в стерильном (стерилизация 121°, 30 минут), так и в нестерильном виде. В каждый сосуд вносились по 25 мл суспензий исследуемых штаммов. Сосуды хранились при комнатной температуре в течение года. Температура инкубации - в пределах 18-32°. В работе использовались образцы почвы, полученные из Института почвоведения РА, со следующими характеристиками. Торф, pH 5,0; чернозем карбонатный, Армавирский район, из-под озимой пшеницы, pH 7,5, гумус 4,5 %; горно-луговая дерновая почва, Гегамский хребет, альпийский луг, pH 5,0, гумус 16,8 %.

Результаты и обсуждение. Спустя 3 месяца во всех водных суспензиях титр культур как *B.thuringiensis*, так и *B.sphaericus* значительно снизился, однако

РЕПРОДУКЦИЯ ИНСЕКТИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ

жизнеспособность культур сохранилась, так же как и способность продуцировать энтомоцидные токсины (табл. 1).

Таблица 1. Сохранение жизнеспособности культур *B.thuringiensis* и *B.sphaericus* в воде.

№ штаммов по ИИМИА	Вид, разновидность	Титр спор в суспензии, млн.кл/мл		Процент спорообразования
		исходный	спустя 3 месяца	
1125	<i>B.thuringiensis</i> <i>subsp. israelensis</i> типовой штамм	26,8	0,52	90-100
2477	<i>B.thuringiensis</i> <i>subsp. israelensis</i> оригинальный штамм	28	0,79	90-100
2630	<i>B.sphaericus</i> H5 типовой штамм	32	0,001	50-90
2626	<i>B.sphaericus</i> H5 оригинальный штамм	34,8	0,1	50-90

При хранении в почве у культур вида *B.thuringiensis subsp. israelensis* в течение первого месяца титр резко снижается с 1340-1400 млн/г до соответственно 0,5-34 и 1,4-35,6 млн/г в разных типах почв, причем наименьшее снижение титра для обоих штаммов (ИИМИА 1125 и 2477) отмечалось при хранении в черноземе (табл.2).

Таблица 2. Сохранение жизнеспособности культур *B.thuringiensis* и *B.sphaericus* в почве.

№ штамма по ИИМИА	Субстрат		Титр спор (млн/г) спустя				
			исходный	1 мес.	2 мес.	5 мес.	12 мес.
<i>BT</i> 1125	Т	стер.	1340	6,25	3	5,3	0,8
		не стер.		1,5	1,5	1,0	0,5
	Ч	стер.		34,1	6,1	4,6	>16
		не стер.		16,1	>19	4,5	>5
ГЛ	стер.	0,8	5,7	1,9	3,6		
		не стер.	0,5	4,4	0,4	3	
	Т	стер.	1400	1,7	5	0,7	5,1
		не стер.		2,8	2,5	0,5	4,4
Ч	стер.	> 40		>20	41	> 44	
	не стер.	21,6		8,3	7,2	> 30	
ГЛ	стер.	35,6	1,2	0,8	4		
		не стер.	1,4	1	0,7	3,1	
	Т	стер.	1600	4,5	1	0,8	0,4
		не стер.		3	0,8	7,6	> 20
Ч	стер.	7,2		8,25	7,9	> 18	
	не стер.	6		8,5	15	> 17,5	
ГЛ	стер.	33	8	1,9	5,4		
		не стер.	3	5,4	0,5	4,5	
	Т	стер.	1740	7,5	1	1,1	> 15
		не стер.		2,55	2,5	0,2	> 20
Ч	стер.	25		6,7	8,3	> 42	
	не стер.	6,9		6,3	12,8	> 20	
ГЛ	стер.	22	0,5	0,3	1,1		
	не стер.	4,5	3,4	2,6	0,4		

* Условные обозначения: Т - торф, Ч - чернозем, ГЛ - горно-луговая почва.

Для всех типов почв в стерильных вариантах титр был выше, чем в нестерильных вариантах. Дальнейшее понижение титра во всех вариантах почв в течение последующего периода от 2 месяцев до года происходило более плавно. После 2 месяцев хранения для обоих штаммов отмечается значительное снижение титра в черноземной почве и повышение его в горно-луговой почве. Через 5 месяцев хранения для обоих штаммов снова отмечается повышение титра в черноземной почве, что, по-видимому, подтверждает данные болгарских авторов [3] о приживаемости

B.thuringiensis в черноземных почвах и размножении в них. Спустя год хранения в почве для оригинального штамма ИНМИА 2477 отмечаются более высокие титры по сравнению с эталонным штаммом ИНМИА 1125 во всех типах почвы, правда, следует отметить отчетливое возрастание титра в черноземе и горно-луговой почве.

Вирулентность обоих штаммов сохраняется спустя год во всех вариантах опыта.

Для культур вида *B.sphaericus*, как и в случае со штаммами *B.thuringiensis*, отмечается резкое падение титров обоих исследованных штаммов в течение первого месяца хранения с 1600-1740 млн спор/г до нескольких млн спор/г. В отличие от штаммов *B.thuringiensis*, для штаммов *B.sphaericus* отмечается довольно хорошая приживаемость в течение месяца, наряду с черноземом, и горно-луговой почве. Для обоих штаммов титр в стерильной почве в несколько раз выше, чем в нестерильной почве (табл. 2).

Через 2 месяца титры заметно снижаются в горно-луговой почве у обоих штаммов, но для коллекционного штамма ИНМИА 2630 отмечается его возрастание в черноземе. Спустя 5 месяцев повышается титр в черноземе у оригинального штамма ИНМИА 2626. Спустя год отмечается повышение титра у обоих штаммов во всех вариантах почв, что подтверждает хорошую приживаемость культур данного вида в почве. Вирулентность культур данного вида сохранялась в течение всего срока наблюдений на высоком уровне.

Выполнение данной работы частично финансировалось грантом ИНТАС 93-3512.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранова В.И. Автореф. канд. дисс., 1972.
2. Каталог культур микроорганизмов. Республиканский Центр депонирования микробов (РЦДМ), под ред. Африкян Э.Г., Хачатурян А.А., изд-во "Гитутюн" ИАН Армении. 260, Ереван, 1996.
3. Кузманова Й., Артинова Н. Почвозн. и агрохим. 19, 6, 91-97, 1984.
4. Меликсетян В.Ш., Карпов Э.Г., Чилингарян К.О., Африкян Э.Г., Кулькова Т.А., Алексеев А.П., Попов А.И., Григорянц О.Е., Вишникина М.И. А.С. СССР 1231873, 1986.
5. Меликсетян В.Ш., Кулькова Т.А., Чилингарян К.О., Африкян Э.Г., Алексеев А.П., Карпов Э.Г., Игнатъев В.И. А.С. СССР 1398120, 1987.
6. Орманян Ж.Х., Татевосян П.Е., Киносян М.А. Биолог. журн. Армении, 48, 1, 67-71, 1995.
7. Akiba Y. Appl. Entomol. and Zool., 21, 1, 76-80, 1986.
8. West A.W. Soil. Biol. and Biochem., 16, 4, 357-360, 1984.
9. West A.W., Burges H.D., Wyborn C.H. J. Invertebr. Pathol., 44, 2, 121-127, 1984.
10. West A.W., Burges H.D., White R.J., Wyborn C.H. J. Invertebr. Pathol., 44, 2, 128-133, 1984.

Поступила 12. XII 1995

ПОСЛОЙНЫЙ АНАЛИЗ ТРАНСКАЛЛЮЗАЛЬНЫХ ОТВЕТОВ В
АССОЦИАТИВНОЙ КОРЕ ПОСЛЕ РАЗРУШЕНИЯ
СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЫ

С.Н. АРАКЕЛЯН, Э.Н. БАХЧИЕВА

Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН Армении, 375028, Ереван

Теменная ассоциативная кора - соматосенсорная кора - фокальный транскаллюзальный потенциал (ФТП) - фокус максимальной активности (ФМА).

В настоящей работе исследовалась динамика изменения ФТП в теменной ассоциативной коре после одностороннего разрушения С1 области коры мозга в поздние посткоагуляционные сроки (1,5 - 2 года).

Материал и методика. Исследования проведены на взрослых кошках весом от 2,5 до 3,5 кг, паркетизированных пембугаюм (45-50 мг/кг внутривенно). Предварительно у животных под наркозом производили коагуляцию соматосенсорной области (2,3а,3в, согласно цитовархитектоническому атласу Хасслера и Мус-Клементта) постоянным током силой 1,5-8,0 мА, в течение 2-8 мс, с помощью уплощенного серебряного электрода. Животных брали на эксперимент спустя 1,5-2 года. ФТП регистрировали из ассоциативной (5.7 по Хасслеру) области коры интактного полушария. Производили трепанацию черепа параллельно сагитальному шву (на расстоянии 2-3 мм). Поверхность коры орошали теплым физиологическим раствором (37-38°). В качестве раздражающих электродов использовали биполярные пуговчатые стальные электроды с межэлектродным расстоянием 1-2 мм. Применяли прямоугольные стимулы длительностью 0,2-0,5 мс и интенсивностью 8-10 в. Отводящим электродом служил вольфрамовый микроэлектрод с входным сопротивлением 3-4 МОм и кончиком микроэлектрода в пределах 1-2 мкм. ФТП усиливали с помощью усилителя постоянного тока УПТ-2, последовательно соединенного с УБП-2-03. Микроэлектрод погружали в кору на глубину до 2 мм при помощи микроманипулятора с последовательной регистрацией ФТП через каждые 0,1 мм, начиная от поверхности коры. Экспериментальные данные оценивали на основании сравнительного анализа электрофизиологических показателей у интактных и оперированных животных.

Осуществляли морфологический контроль местоположения раздражающих и отводящих электродов. Обработку экспериментальных данных производили методом вариационной статистики.

Результаты и обсуждение. Эксперименты выполнены в острых опытах на 55 кошках, интактных (15) и оперированных (40).

Изучена послойная регистрация ФТП в ассоциативной коре мозга у интактного и оперированного животного в ФМА и вне его. В ФМА у интактного животного при погружении микроэлектрода в толщу коры мозга амплитуда обеих фаз ФТП прогрессивно уменьшалась и на глубине 1-1,2 мм происходила реверсия ФТП. Следует отметить отсутствие реверсии ФТП вне ФМА у интактных животных, к тому же

амплитуда обеих фаз ФТП вне ФМА была значительно меньше таковой в ФМА. У оперированных кошек, по сравнению с интактными, заметно возрастала амплитуда ФТП преимущественно за счет отрицательной его фазы как в ФМА, так и вне его. После реверсии ФТП, наряду со спадом амплитуды, компонентный состав ФТП оставался без изменений. Амплитуда ФТП вне ФМА у оперированных кошек намного превышала таковую у интактного животного. Таким образом, сравнение результатов исследования выявило облегчение ФТП как в ФМА, так и вне его у оперированных кошек. Анализ динамики изменения амплитудно-временных параметров и компонентного состава ФТП в поздние посткоагуляционные сроки выявил выраженное наличие позднего компонента в виде вторичной положительности.

Охарактеризованы сравнительные значения величин положительных и отрицательных фаз ФТП в ФМА и вне ФМА у интактного и оперированного животного. Послойный анализ ФТП в ассоциативной коре интактного и оперированного животного в ФМА и вне его выявил следующие параметры усредненных величин отдельных компонентов. У интактного животного амплитуда положительной фазы ФТП в ФМА в точке касания составила 300 мкВ, отрицательной фазы - 450 мкВ. По мере погружения микроэлектрода в кору амплитуда обеих фаз уменьшалась и на глубине 1 мм происходила реверсия ФТП с постепенным нарастанием амплитуды положительной фазы до 180 мкВ, отрицательной - до 120 мкВ. На глубине 2 мм амплитуда как положительной, так и отрицательной фаз ФТП уменьшалась до 120 и 80 мкВ соответственно. У оперированных животных амплитуда положительной фазы ФТП в ФМА в точке касания составила 500 мкВ, отрицательной фазы - 750 мкВ, на глубине 1 мм происходила реверсия ФТП, после реверсии амплитуда положительной фазы составила 300 мкВ, а отрицательной фазы - 420 мкВ. На глубине 2 мм амплитуда как положительной, так и отрицательной фаз ФТП уменьшалась до 200 и 230 мкВ соответственно. Вне ФМА у интактного животного в точке касания микроэлектрода величина амплитуды положительной фазы ФТП достигала 300 мкВ, отрицательной - 350 мкВ. На глубине 1 мм амплитуда обеих фаз ФТП уменьшалась, однако, в отличие от ФМА, не наблюдались реверсии ФТП. Вне ФМА у оперированного животного амплитуда положительной фазы ФТП в точке касания равнялась 600 мкВ, отрицательной - 670 мкВ. При погружении микроэлектрода на глубину 1 мм потенциал реверсировал, после реверсии величины амплитуда обеих фаз постепенно нарастала и на глубине 2 мм снова уменьшалась.

Сравнительный анализ амплитудных характеристик ФТП у интактных и оперированных животных в ФМА и вне его выявил отсутствие реверсии вне ФМА у интактных животных, а в остальных случаях на глубине 1-1,2 мм происходила реверсия ФТП.

Выявлены временные характеристики положительной и отрицательной фаз ФТП у интактных и оперированных животных. Длительность положительной фазы ФТП у интактного животного в точке касания в ФМА составляла 6 мс, отрицательной - 13 мс. На глубине 1 мм в ФМА происходила реверсия ФТП, после которой на глубине 2 мм длительность ФТП составляла 3,9 и 7,9 мс для положительной и отрицательной фаз соответственно. У оперированных животных в ФМА ФТП составлял 5 и 10 мс для положительной и отрицательной фаз соответственно. На глубине 1 мм в ФМА происходила реверсия, после которой на глубине 2 мм ФТП составлял 4 и 8 мс для

положительной и отрицательной фаз соответственно. Вне ФМА у интактных животных в точке касания ФТП составлял 5 и 12 мс для положительной и отрицательной фаз соответственно. При погружении микроэлектрода длительность как положительной, так и отрицательной фаз уменьшалась без реверсии. На глубине 2 мм длительность ФТП составляла 4 и 6 мс для положительной и отрицательной фаз соответственно.

У оперированных животных вне ФМА длительность ФТП в точке касания составляла 4 и 10 мс для положительной и отрицательной фаз соответственно. На глубине 1 мм происходила реверсия, далее к 2 мм длительность ФТП составляла 3 и 6 мс для положительной и отрицательной фаз соответственно. В целом сравнительный анализ величины и длительности положительной и отрицательной фаз ФТП как в ФМА, так и вне его у интактных и оперированных животных выявил определенную закономерность: по мере погружения микроэлектрода длительность ФТП уменьшалась, к 1 мм происходила его реверсия, затем длительность ФТП нарастала, наконец, на глубине 1,8 - 2,0 мм снова уменьшалась.

Изучены временные характеристики латентных периодов у интактного и оперированного животного. Сопоставление величин латентных периодов ФТП у интактных и оперированных животных в ФМА и вне его существенных изменений не выявило. Имели место колебания латентных периодов в пределах 2,0 - 2,5 мс. Следует отметить, что послышная организация ассоциативной коры, в отличие от проекционных областей, имеет более богатую сеть каллозальных связей и обладает полимодальной природой афферентации.

Данные настоящего исследования об особенностях зарегистрированных ФТП в ФМА и вне его у интактных и оперированных кошек, с одной стороны, подтверждают положение о гомотопичности и гетеротопичности каллозальных терминалей, с другой - факт участия каллозальных связей, играющих роль запасных путей в механизме возможной компенсаторной перестройки при односторонних поражениях ЦНС, что согласуется с данными литературы [1 - 4].

Факт отсутствия реверсии у интактных животных вне ФМА, по-видимому, является результатом электротонического распространения активности из ФМА. Что касается наличия реверсии у оперированных животных вне ФМА, то мы полагаем, основываясь на современных представлениях о феномене пластичности, что это может быть результатом образования новых связей за счет формирования "коллатерального" или терминального спраутинга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alloway K.D., Burton H. *Neuroscience*, 14, 15-36, 1985.
2. Caminiti R., Innocenti G.M. *Exp. Brain Res.*, 42, 1, 53-62, 1981.
3. Manzoni T., Caminiti R., Spidalieri G., Morell E. *Exp. Brain Res.*, 34, 3-4, 453-470, 1979.
4. Matsunami K., Hamada J. *J. Neurophysiol.*, 52, 4, 676-689, 1984.

Поступила 26.IV.1991.

РЕГУЛИРОВАНИЕ pH СРЕДЫ ПРИ ФЕРМЕНТАЦИИ L-АРГИНИНА ДЛЯ ПРЕОДОЛЕНИЯ ИНГИБИЦИИ СИНТЕЗА АЗОТОМ

Г.Г. СЕВОЯН, А.С. ЗУРАБЯН, Р.А. БРУТЯН

*Научно-исследовательский институт биотехнологии, 375056, Ереван**L-аргинин - биосинтез аминокислот.*

При культивировании микроорганизмов в некоторых случаях наблюдается явление ингибирования субстратом [3,4,5]. При разработке технологии процесса биосинтеза L-аргинина было выявлено, что увеличение концентрации сульфата аммония выше уровня 28 г/дм^3 в начальной ферментационной среде приводит к ингибированию роста биомассы и биосинтеза аргинина. В то же время молекула аргинина включает четыре атома азота, и при вышеприведенной предельной концентрации количество аргинина теоретически может достигнуть только 18 г/дм^3 , без учета расхода молекул азота на развитие биомассы.

Настоящее исследование было предпринято для разработки режимов культивирования с целью увеличения биосинтеза аргинина.

Материал и методика. В работе использовали штамм-продуцент L-аргинина *Escherichia coli* I.GE-28, сконструированный в НИИ биотехнологии. Культивирование штамма-продуцента проводили на предварительно разработанной питательной среде в лабораторных ферментерах АК-210, с рабочим объемом 7 дм^3 и автоматическим регулированием pH и температуры. L-аргинин и сопутствующие аминокислоты в культуральной жидкости (КЖ) определяли бумажной и тонкослойной хроматографией, для определения L-аргинина в КЖ использовали метод Сакагучи [1]. Аммиачный азот определяли методом Кисльдаля [2].

Результаты и обсуждение. При биосинтезе аргинина имеет место закисление среды. Поэтому подпитывая среду по азоту, одновременно нейтрализовали pH среды при помощи 25%-ного водного раствора аммиака. При этом существенное значение имеют начальная концентрация азота в среде и скорость подачи титранта.

Для разработки оптимальных параметров процесса было проведено специальное исследование по определению оптимальных pH для процесса роста и биосинтеза аргинина (табл. 1).

Таблица 1. Зависимость времени накопления максимального количества биомассы и удельной скорости биосинтеза от разных значений pH среды.

pH	Время накопления максимального количества биомассы, ч	Удельная скорость биосинтеза, г/лч
6,0	24	0,25
6,5	21	0,31
7,0	20	0,45
7,5	20	0,37
8,0	21	0,26

Как видно из табл.1, наименьшее время для накопления максимального количества биомассы наблюдается в довольно широких пределах рН среды (6,5-8,0), а оптимум рН для максимального значения удельной скорости биосинтеза составляет 7,0.

Таблица 2. Характеристика основных параметров ферментации L-аргинина (исходное значение $(NH_4)_2SO_4$ - 15 г/дм³, рН среды - 7,0 с регулированием 25%-ным водным раствором аммиака).

Продолжительность ферментации, ч	ОП	Аммиачный азот, г/дм ³	L-аргинин, г/дм ³
0	0,8	0,12	-
16	10,2	0,21	-
24	15,3	0,20	6,5
32	15,3	0,18	10,1
40	15,3	0,16	13,5
48	15,3	0,14	17,0
56	15,3	0,12	20,5
64	15,3	0,11	24,0
72	15,3	0,10	27,8
80	15,3	0,09	31,2
88	14,8	0,08	35,0

Экспериментально была подобрана начальная концентрация аммония сернокислого в среде - 15 г/дм³. При автоматическом поддержании рН среды на уровне 7,0 при помощи подпитровки 25%-ным водным раствором аммиака выход целевого продукта составил 35 г/дм³ (табл.2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Губень-Вейль. Методы органической химии, М., 1963.
2. Грачева И.М. и др. Лабораторный практикум по технологии ферментных препаратов. М., 1982.
3. Мосичев М.С., Складнев А.А., Котов В.В. Общая технология микробиологических производств. М., 1982.
4. Музыченко Л.А., Гуркин В.А., Кантере В.М. Математическое моделирование микро-биологических процессов, Пушино, 1973.
5. Перт С. Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. М., 1978.

Поступила 6.IX 1994.

ОСАЖДЕНИЕ БИОМАССЫ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ
МЕТОДОМ КОАГУЛЯЦИИ

А.Х. ПАРОПЯН, М.П. МАЛАТЯН

*Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян**Фототрофные бактерии - биомасса - коагуляция.*

В микробиологической промышленности для выделения биомассы из культуральной жидкости часто применяют двухэтапный процесс, включающий предварительное осаждение клеток, а затем сушку осажденной массы тем или иным способом. Эффективным методом обезвреживания является осаждение клеток путем коагуляции с последующей декантацией надосадочной жидкости [4,5]. При выборе подходящего реагента и оптимальных условий (температура, рН и др.) необходимо учитывать ряд особых требований [1]. Коагулянт не должен ухудшать качество и свойства получаемого продукта, быть токсичным, повреждать клетки бактерий, окрашивать биомассу, разрушать содержащиеся в клетках пигменты, сильно изменять рН среды. Эти требования обусловлены составом культуральной жидкости, свойствами данного микроорганизма и назначением продукта. Данные по использованию метода коагуляции для осаждения бактерий немногочисленны [6,7].

Цель настоящей работы состояла в подборе подходящего коагулянта и условий осаждения для пурпурных бактерий, биомасса которых является ценным кормовым продуктом.

Материал и методика. Объектом исследований служили культуры фототрофных бактерий *Rhodobacter sphaeroides* ИИМИА В-6506 и *Rhodospirillum rubrum* ИИМИА В-6509, выделенные из минеральных источников Армении [3].

Культуры хранили на среде Ормеруда [8]. Ферментационной средой для массового выращивания служила минеральная вода Арзни N 23 с гидролизатом БВК (0,1 % сухого БВК).

Культуральную жидкость разливали в 0,5 л высокие стаканы, затем к ней добавляли раствор одного из осаждающих веществ и тщательно перемешивали. Испытывали растворы различной концентрации (0,1 - 5%).

Испытание осадителей проводили при определенных температурах и значениях рН культуральной жидкости. Значение рН устанавливали добавлением 0,1 N растворов NaOH или H₂SO₄. Степень осаждения определяли измерением оптической плотности культуральной жидкости на спектрофотометре СФ-26 при 660 нм. Состояние клеток в осажденной биомассе изучали с помощью фазово-контрастного микроскопа.

Результаты и обсуждение. Изучение влияния температуры на осаждение клеток *Rh.sphaeroides* показало, что нагревание культуральной жидкости до 50-60° не оказывает заметного действия. Положительных сдвигов не наблюдалось также при подкислении культуральной жидкости до рН 3,0. В то же время подщелачивание среды до 9,0-9,5 приводило к коагуляции биомассы. Однако, осадок при этом получался неплотным и объемистым. Последующая промывка дистиллированной водой не снижала рН.

Предварительное изучение осаждающего действия испытанных соединений выявило заметные различия в способности осаждать клетки *Rh.sphaeroides* из культуральной жидкости. Был отобран ряд соединений, вызывающих коагуляцию и осаждение клеток этой бактерии для дальнейшего изучения. Обобщенные результаты испытаний отдельных электролитов приведены в таблице.

Сравнительное изучение отобранных осадителей показало, что наиболее сильное осаждающее действие оказывают соединения железа, в частности хлорное железо, от которых, однако, пришлось отказаться из-за сильной токсичности и окрашивания бактериальной массы.

Следующими по эффективности осаждения были соединения алюминия. Значительное осаждающее действие оказывали сернокислый алюминий и алюмокалиевые квасцы. Эти соединения не токсичны. Скармливание биомассы, осажденной этими реагентами, цыплятам и курам-несушкам в течение длительного времени не вызывало нежелательных последствий [2].

Соединения кальция оказались значительно менее эффективными. Осаждение шло медленно и было недостаточно полным. Их следовало добавлять в больших количествах, что приводило к увеличению объема осадка.

Испытание осаждающего действия различных электролитов на клетки *Rh.sphaeroides*.

Электролиты	Значение pH после добавления осадителя	Температура при осаждении, °С	Концентрация осадителя, г/л	Скорость осаждения, мин	% осаж-дения	Изменение цвета биомассы
FeCl ₃ · 6H ₂ O	6,5-7,0	18	0,5	1	100	Коричневый
Al ₂ (SO ₄) ₃	7,0-7,5	25	1,0	10	100	Не меняется
Na ₂ SiO ₃	7,0-7,5	35	5,0	5	90	Желто-коричневый
KAl(SO ₄) ₂ · 12H ₂ O	7,0-7,5	20	0,75	1	100	Не меняется
CaCl ₂ · 2H ₂ O	9,0-9,5	18	4,0	45	90	Зеленоватый
CaO	9,0-9,5	40	0,75	30	80	Беловатый

В результате исследования осаждающего действия различных осадителей мы остановили свой выбор на алюмокалиевых квасцах как наиболее эффективном осадителе для культуры *Rh.sphaeroides*, не имеющем существенных отрицательных свойств. Этот осадитель не токсичный и не оказывает повреждающего действия на бактериальные клетки. Высев осажденных клеток на питательную среду показал, что они не утратили жизнеспособности. Действие коагулянта быстрое и при минимальном количестве он проявляет себя как высокоэффективный осадитель. Однако следует отметить специфичность осаждающего действия алюмокалиевых квасцов на несерные пурпурные бактерии. Будучи хорошим осадителем для *Rh.sphaeroides*, они не пригодны для осаждения *Rh.rubrum*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воюцкий С.С. Курс коллоидной химии. М., 1964.
2. Карапетян С.К., Баласанян Р.Г., Малатян М.Н., Паронян А.Х. Биолог. журн. Армении, 33, 2, 150-155, 1980.
3. Малатян М.Н., Арутюнян Т.Г., Паронян А.Х., Кенпен О.И., Александрюшкина Н.И. Микробиология, 3, 517-519, 1982.
4. Накамура Х. Микробиология, 30, 4, 628-632, 1961.

5. Тутова Г.Э., Куц П.С., Идельчик М.С., Каменская И.И. Микроб. пром., 2 (110), 11-14, 1974.
6. Хотьянович А.В., Боровков В.В., Веденева Н.А. Использование микроорганизмов в животноводстве и для защиты растений. Л., 1968.
7. Jamagishi H., Hattori T., Fumusaka G. Soil and Plant Nutr., 15, 3, 1969.
8. Ormerod J.G., Ormerod S.K., Gest H. Arch. Biochem. and Biophys., 94, 2, 449-463, 1961.

Поступила 8.X.1994

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 616.31.314:577.15.

АКТИВНОСТЬ ЛИЗОЦИМА В СЛЮНЕ БОЛЬНЫХ ПЕРИОДОНТИТОМ

А.Б.МАЖИНЯН, А.В. ГАСПАРЯН, В.Г. ТАТИНЦЯН

*Ереванский государственный медицинский университет, 375025
Республиканский Центр депонирования микробов ИАН
и Министерства образования и науки РА, 378510, г. Абовян*

Лизоцим - диагностика - слюна - периодонтит.

Лизоцим (мурамидаза; мукопептид N-ацетилмурамоидгидролаза, КФ 3.2.11.17) - фермент, катализирующий гидролиз β -(1-4)гликозидазной связи между N-ацетилмурамовой кислотой и N-ацетилглюкозаминном в молекуле пептидогликана клеточной стенки главным образом грамположительных бактерий [6]. Лизоцим находится почти во всех тканях и биологических жидкостях человека и создает антибактериальный барьер в организме.

Определение активности лизоцима в слюне применяется в диагностических целях. Увеличение количества лизоцима в слюне является тестом, свидетельствующим о болезни, и применяющимся при разных стоматологических заболеваниях [3-5,7,9], а также при заболеваниях верхних дыхательных путей [8] и пищеварительного тракта [1]. Одним из распространенных заболеваний зубов является периодонтит, воспаление, которое развивается между верхушкой корня зуба и стенкой зубной альвеолы в результате проникновения патогенных микроорганизмов из канала корня зуба в периодонт при пульпите, кариесе или механических повреждениях.

Целью нашей работы являлось применение лизоцим-теста для определения количества лизоцима в слюне у больных периодонтитом.

Материал и методика. Исследовали 25 человек - стоматологические больные в возрасте от 25 до 60 лет.

Слюну из полости рта отбирали в стерильные пробирки, после прополаскивания ротовой полости водой, используя механическую стимуляцию. Слюнную жидкость из зубо-десневой кармана пораженных зубов отбирали с помощью стерильной турунды (ватный тампон, 12 мм). Последнюю вносили в зубо-десневой карман окружности пораженного зуба, оставили 3-4 мин. Турунда впитывала около 0,1 мл слюнной жидкости.

Количество лизоцима в смешанной слюне и турундах определяли после их 10-20-кратного разведения в 1/15 М фосфатном буфере, pH 6,5.

Определение количества и активности лизоцима проводили по следующей методике, разработанной нами.

АКТИВНОСТЬ ЛИЗОЦИМА

В качестве стандартной бактериальной культуры, с целью лизирования клеточной стенки лизоцимом, использовали односуточную культуру *Micrococcus luteus* (*M. lysodeicticus*), выращенную на агаризованной питательной среде. Водная суспензия культуры при нефелометрировании на приборе ФЭКН-56 с 6-ым светофильтром (зеленым) имеет показатель оптической плотности 0,66.

В качестве стандартного препарата лизоцима использовали лизоцим фирмы "Serva" (Германия), выделенный из белка куриного яйца, с активностью 2150 ед/мл. Растворы серийных разведений стандартного препарата лизоцима в диапазоне концентрации 1 мкг - 20 мкг/мл готовили на 1/15 М фосфатном буфере, pH 6,5 и применяли для построения калибровочной кривой.

Ход определения. На 1 мл разведенных растворов смешанной слюны или слюнной жидкости добавляли 2 мл водной суспензии культуры *M. luteus*. Контрольный вариант: 1 мл раствора фосфатного буфера или дистиллированной воды и 2 мл суспензии культуры. Выдерживали на водяной бане при 37° в течение 5 мин. Для прекращения реакции добавляли 1 каплю 0,1N HCl и 3 мин кипятили в водяной бане. Затем пробы охлаждали и нефелометрировали на приборе ФЭКН-56.

Калибровочную кривую строили по полученным данным, откладывая по оси абсцисс содержание лизоцима (количество фермента (мкг/мл) с соответствующей активностью), а по оси ординат - оптическую плотность. Калибровочную кривую использовали для определения количества и активности лизоцима в слюне больных периодонтитом.

Результаты и обсуждение. Из исследованных 25 стоматологических больных у 8 выявлен периодонтит. Среди них у одного больного (Н.) - острый, серозный (поражен 1 зуб), у 5 больных - хронический гранулематозный (поражены 1 или 2 зуба) и у 2 больных (Ж. и III.) обострившейся хронический (гнойный процесс, поражены 3-4 зуба) периодонтит. Характеристика количества и активности лизоцима в слюне больных периодонтитом представлена в таблице.

Характеристика количества и активности лизоцима в слюне больных периодонтитом.

Боль-ные	Возраст больных (годы), форма периодонтита	Количество пораженных зубов	Пробы слюны	Определение лизоцима			
				до лечения		после лечения (через 7 дней)	
				количество лизоцима, мкг/мл	активность лизоцима, ед/мл	количество лизоцима, мкг/мл	активность лизоцима, ед/мл
А	44, X	2	С	0,003	6,46	0,03	64,6
			Г	0,002	4,3	0,03	64,6
Л	60, X	1	С	0,016	34,4	0,14	302,0
			Г	0,014	30,2	0,018	38,8
М	37, X	1	С	0,02	43,0	0,14	302,0
			Г	0,014	30,2	0,1	215,0
К	28, X	2	С	0,06	130,0	0,16	344,0
			Г	0,003	4,46	0,02	43,0
С	25, X	1	С	0,02	43,0	0,12	258,0
			Г	0,002	4,3	0,017	356,0
Н	36, O	1	С	0,02	43,0	0,12	258,0
			Г	0,14	302,0	0,09	193,0
Ж	43, O/X	3	С	0,22	473,0	0,24	516,0
			Г	0,02	43,0	0,022	47,3
III	30, O/X	4	С	0,32	688,0	0,3	646,0
			Г	0,06	130,0	0,05	108,3

* Условные обозначения: X - хронический периодонтит, O - острый периодонтит, O/X - обострившейся хронический периодонтит, С - смешанная слюна, Г (гургуля) - зубо-десневая жидкость.

Литературные данные указывают, что нормальное содержание лизоцима в слюне здоровых людей составляет 0,2 мг/мл слюны [2]. Следует указать, что очень часто возможные отклонения от нормы обусловлены нервно-психическим состоянием

организма в целом, а также общим состоянием зубов и десен [4].

В наших опытах в смешанной слюне и зубо-десневой жидкости больных с хроническим периодонтитом (А., Л., М., К., С.) количество лизоцима ниже нормы: 0,003 - 0,06 мг/мл смешанной слюны и 0,002 - 0,014 мг/мл зубо-десневой жидкости соответственно для каждого больного. Литературные данные указывают, что при хронических воспалительных процессах периодонтита отмечается заметное снижение уровня эндогенного лизоцима в зубо-десневом кармане (периодонте), что свидетельствует о недостаточных иммунологических механизмах резистентности тканей в этих условиях [5]. Снижение содержания лизоцима в полости рта и в зубо-десневых карманах подтверждает наличие хронического процесса. Другие стоматологические заболевания зубов и десен у больных не были учтены, однако они также влияли на общее количество лизоцима. Следует отметить, что и при хроническом кариесе зубов отмечается снижение количества лизоцима в слюне [9]. Результаты весьма противоречивы и при хроническом пульпите - в одних случаях активность лизоцима ниже, а в других - выше [7]. После лечения пораженных периодонтитом зубов у хронически больных через 7 дней количество лизоцима повышается в смешанной слюне до 0,03-0,16 мг/мл и в жидкости зубо-десневых карманах до 0,03-0,1 мг/мл соответственно для каждого больного, т.е. ближе к норме.

У больного (Н.) с острой, серозной формой периодонтита количество лизоцима в смешанной слюне составляло 0,02 мг/мл, а в жидкости зубо-десневого кармана - 0,14 мг/мл. Наблюдался воспалительный процесс в кариозной полости зуба, сопровождавшийся гнойными болями, десна была не изменена. Отмечалось более высокое содержание лизоцима в жидкости зубо-десневого кармана, чем в слюне полости рта. Быстрое лечение больного предотвращает гнойную форму. После лечения зуба через 7 дней количество лизоцима в смешанной слюне составляло 0,12 мг/мл, а в жидкости зубо-десневого кармана - 0,09 мг/мл, т.е. ближе к норме.

У больных (Ж. и Ш.) с обострившейся хронической формой и поражением нескольких зубов наблюдался гнойный процесс десен. Количество лизоцима выше нормы в смешанной слюне: у больного Ж. - 0,22 мг/мл, у больного Ш. - 0,32 мг/мл, а в жидкости зубо-десневого кармана, в среднем, 0,02 и 0,06 мг/мл соответственно. При обострившейся хроническом периодонтите заметно повышается количество лизоцима в смешанной слюне. После лечения 1-2 зубов через 7 дней количество лизоцима остается выше в смешанной слюне, так как остаются воспалительные процессы десен и остальных зубов, а также сопутствующие другие стоматологические заболевания. В данном случае для полного выздоровления необходим длительный процесс лечения.

Таким образом, выявление количества лизоцима как диагностический тест, хотя и не является специфичным при периодонтите, так как используется и при других стоматологических заболеваниях, но может прояснить характерную картину общего состояния болезни, чем и способствовать его лечению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бейер Л.В. Вопросы детской гастроэнтерологии, 5, 27-31, 1984.
2. Большая медицинская энциклопедия. 13, 105-106, М., 1980.
3. Бондаренко В.С. Иммунология и аллергия, 23, 108-110, 1989.

4. Варенко Ю.С. Лабораторное дело, 5, 366-371, 1987.
5. Денисова И.А. Стоматология, 66, 3, 28-30, 1987.
6. Диксон М., Узбб Э. Ферменты. 2, 452-455, М., 1982.
7. Ермошенко Л.С. Вопросы стоматологии, 4, 38-40, 1984.
8. Маркушева Л.И. Актуальные вопросы клинической микробиологии, 98-100, 1985.
9. Марченко А.И. Иммунология и аллергия, 20, 74-76, 1986.

Поступила 12.1.1996

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 581.1.035

ВВЕДЕНИЕ В ИЗОЛИРОВАННУЮ КУЛЬТУРУ *BRYONIA ALBA*

Ю.Г. ПОПОВ, М.К. МКРТУМЯН, Е.П. ЩЕРБАКОВА

*Ереванский государственный университет,
кафедра микробиологии и физиологии растений, 375049
Институт ботаники НАН Армении, 375063, Ереван*

Переступень белый - клональное микроразмножение.

Несмотря на достижения синтетической химии, лекарственные препараты растительного происхождения занимают значительное место. При возрастающей интенсификации сельского хозяйства природные запасы лекарственных растений продолжают сокращаться. Многие дикорастущие лекарственные растения в настоящее время относятся к редким, исчезающим видам или стоящим на грани исчезновения из-за большого спроса на них и занесены в Красную книгу [1,2,5]. Одной из задач современного ресурсоведения является поиск новых источников лекарственного сырья. Биотехнология предлагает, с одной стороны, использовать для этой цели новые экспериментально созданные системы - культуры растительных тканей и клеток, а с другой - получение методом клонального микроразмножения большого количества посевного материала для создания плантаций лекарственных растений.

К числу таких лекарственных растений относится *Bryonia alba* - переступень белый. Ввиду того, что препарат из переступня имеет широкий спектр действия [7,8], а в последнее время показано и его радиозащитное действие, повышающее сопротивляемость и адаптивные возможности организма к ионизирующему излучению [3,6], сильно возрос спрос на это растение.

Bryonia alba - многолетнее растение семейства *Cucurbitaceae*. В качестве лекарственного сырья используются корни на 4-5 год жизни растения, и при заготовке сырья все растение погибает. Исходя из вышеизложенного, нами начата работа по введению в изолированную культуру брионии и изучению возможностей клонального микроразмножения.

Материал и методика. Исходным материалом служили эксплантаты корня, листа и стебля взрослого растения брионии, а также пазушные почки. Эксплантаты стерилизовались 0,1%-ным раствором пиваида с последующей 3-кратной промывкой стерильной водой. После стерилизации эксплантаты разрезались на кусочки и помещались на питательную среду. В опытах использовалась

питательная среда по Мурасиге и Скуту. В зависимости от условий опыта в среду добавлялись различные органические соединения и фитогормоны в определенных сочетаниях концентраций.

Пробирки с эксплантатами содержались в термальной камере при температуре 22-26° в темноте или при освещении 10-12 тыс.лк при 16-часовом фотопериоде.

Результаты и обсуждение. Как известно, существует несколько подходов к размножению в культуре *in vitro* [4]. Одним из них является пролиферация каллюса с последующей регенерацией из него растений. В соответствии с поставленными задачами при подборе оптимальной питательной среды для культивирования каллюсных тканей брионии было испытано 6 сред, отличающихся набором и соотношением витаминов и гормонов роста. Оказалось, что наиболее эффективной средой, индуцирующей рост каллюсных тканей, является среда, содержащая в своем составе, помимо набора солей, витамины (тиамин 1 мг/л, пиридоксин 0,5 мг/л, никотиновую кислоту 0,5 мг/л), гидролизат казеина (0,5г/л), 2,4-Д (2 мг/л) и БАП (0,5 мг/л). На этой среде происходило интенсивное нарастание каллюсной массы листового и стеблевого происхождения. Из-за сильной инфицированности получить стерильный эксплантат корня не удалось. Каллюсная ткань листового происхождения имеет молочно-белый цвет, твердая, компактная, на свету интенсивно зеленеет. Каллюсная ткань стеблевого происхождения желтовато-коричневого цвета, мягкая, рыхлая. При уменьшении в питательной среде концентрации 2,4-Д до 1 мг/л и культивировании на свету у ткани листового происхождения наблюдался процесс вторичной дифференцировки-массовое образование почек и побегов. Образовавшиеся адвентивные побеги изолировались, разрезались на черенки с одним узлом и переносились на безгормональную питательную среду, на которой происходило развитие пазушных меристем. Если же черенки переносились на гормональную среду, то в этом случае основание черенка разрасталось и из образовавшегося каллюса вновь образовывались адвентивные побеги.

Однако надо учитывать, что метод регенерации растений из каллюса имеет и существенные недостатки. Поскольку каллюсные культуры часто характеризуются генетической нестабильностью, получение потомства, не отличающегося от родителя, в ряде случаев бывает затруднено. Кроме того, с увеличением периода каллюсного роста морфогенетический потенциал тканей может быть утрачен [4]. Поэтому нами проводилась работа по индукции пролиферации пазушных меристем взрослого растения.

После поверхностной стерилизации из отрезков стебля нарезаются черенки с одним узлом и помещаются на питательную среду с ИУК 1 мг/л. Через 20 дней начиналось развитие пазушных почек, а спустя 40-45 дней растения достигали 7-10 см длины и имели 8-10 узлов. Полученные растения могут быть расчеренкованы, пересажены на свежую питательную среду, и весь цикл повторяется. Таким образом за один пассаж можно увеличить количество растений в 5-7 раз.

Следующим этапом микроразмножения является укоренение размноженных побегов. Для этого необходимо исключить из питательной среды цитокинины, дополнив ее ауксинами [4]. Нами для индукции корнеобразования у растений брионии в питательную среду в качестве ауксина добавлялась ИУК в концентрации 0,5, 1 или 2 мг/л. Только на среде, содержащей 1 мг/л ИУК, наблюдалось образование корней, однако процент таких растений был очень низкий. Необходимо продолжить работу

по подбору условий для массового укоренения растений.

Таким образом, в результате проделанной работы нами отработаны условия введения в изолированную культуру и массового размножения растений переступня.

ЛИТЕРАТУРА

1. Артамонов В.И. Редкие и исчезающие растения. М., 1989.
2. Березнеговская Л.Н., Гусев И.Ф., Дмитрук С.Е., Смородин А.В., Смородин В.В., Трофимова Н.А., Шмыкова Н.А. Культура тканей и клеток алкалоидных растений. Томск, 1975.
3. Григорян Г.Х., Паносян А.Г., Оганесян Н.М. В кн.: Ավանդական ժողովրդական բժշկություն - ժառանգությունը և հեռանկարները, Երևան, 1992.
4. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М., 1981.
5. Красная книга Армянской ССР. Растения. Ереван, 1989.
6. Оганесян Н.М., Меликян И.Е., Григорян В.Х., Муридджанян М.И., Асрян К.В., Батикян И.Г., Абрамян А.К., Маликоян С.А. В кн.: Ավանդական ժողովրդական բժշկություն - ժառանգությունը և հեռանկարները, Երևան, 1992.
7. Паносян А.Г. В кн.: Ավանդական ժողովրդական բժշկություն - ժառանգությունը և հեռանկարները, Երևան, 1992.
8. Тер-Саакян С.Я. В кн.: Ավանդական ժողովրդական բժշկություն - ժառանգությունը և հեռանկարները, Երևան, 1992.

Поступила 4.X.1994

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 595.371

РАЗМЕРНО-ВЕСОВАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ЭКВИВАЛЕНТ МАССЫ ГАММАРИД ОЗЕРА СЕВАН И ЕГО ПРИТОКОВ

Г.М. МАНУКЯН

Институт гидроэкологии и ихтиологии НАН Армении, 378610, г.Севан

Озеро Севан - гаммариды - линейные размеры - энергетический эквивалент массы.

В комплексных экологических и эколого-физиологических исследованиях экосистемы озера Севан одним из необходимых компонентов является изучение трансформации веществ и энергии разными членами сообщества данных животных. Определенную роль в этих сообществах играют гаммариды *Gammarus* (рачки-бокошлявы), представленные в бассейне озера двумя видами - *G.lacustris* и *G.pulex*. Для познания продукционных процессов в их популяциях, особенностей роста, питания, дыхания важно располагать данными о весе животных и энергетической ценности их массы. Одним из универсальных способов определения массы животных без непосредственного взвешивания является расчет по линейным размерам. Известно [1,2], что зависимость массы тела от его длины выражается степенной функцией вида:

$$W = aL^b,$$

причем параметры уравнения (a и b) характеризуют отдельные виды и популяции животных. Напей задачей явилось выяснение значения этих параметров для популяций

гаммарид оз. Севан и его притоков, а также определение энергетической ценности (калорийности) рачков разных половозрастных групп.

Материал и методика. Материалом служили сборы животных бентоса, собранные шпачерпачем Петерсона с площадью захвата 0,025 м² на разных глубинах. Животных промеряли под бинокулярным микроскопом, определяли пол, длину с точностью до 1 мм, икриносных самок освобождали от икры, подсчитывали количество икринок. Взвешивали на торсионных весах с точностью до 0,1 мг.

При расчетах уравнений связи между массой и длиной тела использовали программу регрессионного анализа. Коэффициенты уравнения регрессии вычисляли методом наименьших квадратов [6]. Статистическую обработку материала проводили на ЭВМ-28. В работе учтены лишь те уравнения, которые аппроксимировали конкретную зависимость с наивысшими значениями коэффициентов корреляции.

Для определения калорийности разных популяций гаммарид животных разбивали на ряд размерных групп - от особей длиной 2-4 мм до имеющих максимальный размер. У половозрелых животных (начиная с 6-8 мм) определяли калорийность самок и самцов раздельно. Определение калорийности проводили методом мокрого сжигания (биохроматное окисление) [5], в трех повторностях для каждой размерной группы. Оксикалорийный коэффициент был принят равным 4,0 кал/мг, O, как это рекомендовано Гигиняком [3].

Результаты и обсуждение. Установлено соотношение линейных размеров и массы тела для двух исследуемых видов амфипод *G. lacustris* и *G. pulex*. Получены степенные уравнения, параметры которых приведены в табл. 1.

Статистическая обработка показала довольно высокую точность расчета параметров уравнений. Высокие значения коэффициентов корреляции (r) (0,94-0,98) подтверждают наличие тесной связи между $\lg W$ и $\lg L$ (рисунки не приводятся). Величины показателя степени "b" у исследованных популяций изменялись в пределах 2,39-2,59. Полученные уравнения свидетельствуют об отрицательной аллометрии роста ($b < 3$) у обоих видов гаммарид.

Как видно из табл. 2, калорийность у гаммарид из исследуемых популяций

Таблица 1. Параметры уравнения зависимости массы (W, мг) от длины тела (L, мм) для *Gammarus spp.*

Вид, популяция	Показатель					
	n	O	b	O ₁	r	n
Оз. Севан, <i>G. lacustris</i>	0,05	0,0073	2,51	0,037	0,98	160
р. Гаваргет <i>G. lacustris</i>	0,06	0,115	2,39	0,054	0,96	162
р. Арчичи, <i>G. lacustris</i>	0,05	0,072	2,52	0,034	0,98	210
р. Макенис, <i>G. pulex</i>	0,04	0,092	2,54	0,046	0,94	414

Таблица 2. Калорийность различных популяций *G. lacustris* и *G. pulex* (кал/мг сух. в-ва).

Вид, популяция	Размерные классы (мм)						
	4-5,9	6-7,9	8-9,9	10-11,9	12-13,9	14-15,9	16-17,9
Оз. Севан, <i>G. lacustris</i>	2,93	4,32/3,95	3,98/3,91	3,78/3,53	3,35/3,35	2,81/3,33	- /2,77
р. Гаваргет <i>G. lacustris</i>	3,15	3,77/3,91	3,91/3,99	3,73/3,70	3,13/3,55	3,20/3,36	- /2,93
р. Арчичи, <i>G. lacustris</i>	3,35	4,40	3,78/3,56	3,53/3,70	3,30/3,75	3,15/3,25	- /3,15
р. Макенис, <i>G. pulex</i>	2,83	3,75/3,71	3,40/3,21	2,50/3,05	2,72/3,91	2,40/2,80	- /2,60

изменялась незначительно. В целом значения калорийности сходны с данными, полученными для различных ракообразных [4,7].

Максимальные значения калорийности отмечались у особей с наименьшими линейными размерами и у наиболее крупных "старых" особей, которые для первых составляли от 2,93 до 3,35 в зависимости от популяций *G.lacustris* и 2,83 кал/мг сух. в-ва - для *G.pulex* из р.Макенис. Для "старых" особей *G.lacustris* значения калорийности составляли 2,77 - 3,15, а для *G.pulex* - 2,0 кал/мг сух.в-ва. К моменту наступления половозрелости животных калорийность достигает максимальных значений у особей размерами 8-10 мм в популяции *G.lacustris* из р. Гаварагет и у 6-8 мм особей прочих исследованных популяций, для *G.lacustris* эта величина составляет 3,19-4,4, а для *G.pulex* из р. Макенис - около 3,7 кал/мг сух.в-ва.

Можно предположить, что с началом репродуктивного периода рачков питательные вещества расходуются на продуцирование половых продуктов, в связи с чем и происходит постепенное снижение калорийности рачков обоих полов, достигающее, как показано выше, минимальных значений у особей старших возрастов, у которых, по-видимому, резко снижена интенсивность накопления органического вещества.

Сравнительный анализ калорийности рачков различных популяций показал, что наиболее высокие ее значения отмечались у *G.lacustris* (среднее значение калорийности - 3,6 кал/мг сух.в-ва). Более низкие значения калорийности (в среднем 2,9 кал/мг сух.в-ва) отмечаются у *G.pulex* из р.Макенис, что, по-видимому, является видовым признаком.

ЛИТЕРАТУРА

1. Винберг Г.Г. Успехи соврем. биол., 6, 274-293, 1966.
2. Винберг Г.Г. Журн.общ. биол., 32, 6, 714-722, 1971.
3. Гигиняк Ю.Г. Общие основы изучения водных экосистем. Л., 1979.
4. Лупнова Е.И. Физиология морских животных. Тез. докл. Всесоюзн. конф., Мурманск, 1989.
5. Остапеня А.П. ДАН БССР, 9, 4, 213-276, 1965.
6. Ужнов А.А. Журн. общ. биол., 37, 1, 71-86, 1976.
7. Шерстюк В.В. Гидробиол. журн., 7, 6, 98-103, 1971.

Поступила 13.VIII.1993.

ГАЛЛИЦЫ (DIPTERA, CECIDOMYIIDAE), РАЗВИВАЮЩИЕСЯ НА
ИВОВЫХ (SALICACEAE) В АРМЕНИИ

Л.С. МИРУМЯН, А.Е. ТЕРТЕРЯН

Институт зоологии НАН Армении, 375044, Ереван

Фауна Армении - ивовые галлицы.

Ивовые галлицы образуют обособленную систематическую группу, в которой большая часть видов относится к роду *Dasineura* и лишь единичные представители отмечены из родов *Bremiolina* [1], *Iteomya*, *Oligotrophus*, *Resseliella* [4].

В Армении из растений-хозяев наибольшее число галлиц (8 видов) отмечено на ивах (*Salix sp.*).

Целью наших исследований было выявление видового состава и экологии галлиц, развивающихся на ивах в различных районах Армении.

Видовой состав галлиц на ивовых. Bremiolina gemmicola Mat. et Mirum. Является новым видом для фауны Армении. В деформированных почках белотала (*Salix triandra*) развивается одна оранжевая личинка, которая здесь же и окукливается. Вылетают галлицы в начале апреля. Лет длится 5-6 дней. Генерация одногодичная. Обнаружен в Эчмиадзинском районе (с. Араташен).

Dasineura heterobia Loew. Нами обнаружено весеннее поколение галлицы на сережках ивы трехтычиночной (*S. triandra*), являющейся новым кормовым растением для вида. В многочисленных камерах сильно увеличенных сережек развиваются мелкие оранжевые личинки. Окукливание в галлах. Личинки зарегистрированы в начале мая. Нередко на вершинах побегов ив можно обнаружить прошлогодние галлы летнего поколения в виде бурых розеток. Вид найден в Араратском районе (Веди, Урцадзор). Широко распространен в Палеарктике.

Dasineura iteobia Kieff. Вид впервые указывается для фауны Армении. Оранжевые личинки в количестве до 10 экземпляров развиваются в утолщенных опушенных почках ивы трехтычиночной (*S. triandra*), снаружи прикрытых коричневыми чешуйками. Вылет имаго в конце апреля-начале мая. Вид обнаружен в Араратском районе (Урцадзор), а также в окр. Еревана (Аван-Арицдж, Советашен). Общее распространение: Россия, Литва, Западная Европа.

Dasineura marginemtorquens Bremi. Является новым видом для фауны Армении. Листовая пластинка ивы белой (*S. alba*) сворачивается в виде валика на нижнюю сторону, слегка уплотняется и приобретает желтоватый оттенок. В галлах развиваются мелкие бледно-оранжевые личинки. Вылет имаго в конце июня-начале июля. Обнаружен в Разданском районе (Анкаван). Общее распространение: Россия, Украина, Латвия, Литва, Казахстан, Западная Европа, Япония.

Dasineura rosaria Loew. Верхушечные почки побегов ивы *S. excelsa* преобразуются в розеточные галлы - "ивовые розы", в основании которых развивается одна бочонковидная оранжевая личинка. Окукливание в галлах. Вид обнаружен в

Мегрипском районе (Мегри) [2]. Широко распространен в Палеарктике.

Dasineura saliciperda Dufour. На ветвях ив (*Salix* sp.) вид образует округлые удлиненные вздутые, в которых развиваются оранжевые личинки. Встречается в предгорьях и в горных районах Армении. Общее распространение: Украина, Латвия, Литва, Казахстан, Западная Европа, Турция, Япония.

Dasineura salicis Schrank. На ветвях ив красно-желтые личинки образуют округлые, сильно выступающие многокамерные галлы. Вид обнаружен в окр. Еревана, Ленинакана, Араратском и Иджеванском районах. Широко распространен в Палеарктике и Голарктике.

Dasineura terminalis Loew. На верхушках побегов ив *S.alba*, *S.excelca*, *S.triandra* образуются веретеновидные, слегка утолщенные галлы из сморщенных листочков, внутри которых развиваются оранжево-красные личинки. В году 2-3 поколения. Вид найден в Абовяпском (Гохт), Араратском (Урцадзор), Эчмиадзинском (Арагацеш) районах. Широко распространен в Палеарктике.

Галлицы, вредящие ивам в Армении, выделяются своеобразием пищевой специализации, особенностями распределения по природным поясам, количеством поколений и жизненными циклами.

Галлицы *D.iteobia*, *D.heterobia*, *D.terminalis* распространены в пустынно-полупустынном поясе Араратской равнины. К засушливым районам приурочена и галлица *D.rosaria*. Вид *D.terminalis* встречается и в мезофильных формациях предгорной зоны. К полизональным видам можно отнести галлиц *D.saliciperda* и *D.salicis*, которые обнаружены в Араратской равнине и в северных, юго-восточных лесных районах Армении. К горно-лесному поясу приурочена галлица *D.marginemtorquens*. Ивовые галлицы поражают различные органы растений: ветви, листья, почки и сережки. В Армении у ивовых галлиц отмечено три типа жизненных циклов - I, II, III [3]. К I типу развития отнесена галлица *D.marginemtorquens*. II тип развития наблюдается у галлиц *D.heterobia*, *D.iteobia*, *D.rosaria*. III тип развития характерен для *Bremiolina gemmicola*. Моновольтинными являются виды *B.gemmicola*, *D.iteobia*, *D.rosaria*, которые по срокам вылета имаго отнесены к ранне-весенней фенологической группе. Би- и тривольтинные виды *D.heterobia*, *D.marginemtorquens*, *D.terminalis* относятся к летне-осенней фенологической группе. По широте пищевой специализации среди ивовых галлиц выделяются монофаги- *B.gemmicola*, *D.heterobia*, специализированные к развитию на иве *S.triandra*, а также *D.rosaria*, зарегистрированная на иве *S.excelca*, и *D.marginemtorquens* - на иве *S.alba*. К узким олигофагам принадлежат широко распространенные по районам Армении виды галлиц. *D.terminalis* зарегистрирована на трех видах ив - *S.alba*, *S.excelca*, *S.triandra*.

Некоторые виды галлиц, вредящие ивам, осваивают в Армении новые кормовые растения. Галлица *D.iteobia* специализировалась к развитию на новом для нее кормовом растении *S.triandra*, а *D.rosaria* впервые зарегистрирована на *S.excelca*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мамаев Б.М., Мирумян Л.С. ДАН Армении, 91, 2, 91-98, 1990.
2. Мирумян Л.С., Тертерян А.Е. Биолог. журн. Армении, 41, 9, 781-783, 1988.
3. Федотова З.А. Деп. ВИНИТИ, N 5738, 39, 1986.
4. Skuhrava M. Catalogue of Palearctic Diptera, Budapest, 4, 72-297, 1986.

Поступила 8.IX.1994

НОВЫЕ ДАННЫЕ О ВРЕДИТЕЛЯХ ПЛОДОВ И СЕМЯН КСЕРОФИТНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ДЕНДРОФЛОРЫ АРМЕНИИ

Г.А. АРУТЮНЯН, Р.Г. АРУТЮНЯН

*Институт ботаники НАН Армении, 375063
Институт зоологии НАН Армении, 375044, Ереван*

Флора Армения - ксерофитные растения - вредители плодов.

Ряд видов аборигенных деревьев и кустарников ввиду своей засухоустойчивости, морозоустойчивости и нетребовательности к почвам являются весьма перспективными для облесения и озеленения засушливых районов Армении. Однако семенное возобновление у этих пород почти отсутствует. Всхожесть семян часто составляет всего 5-10% и они становятся практически непригодными для посева. На снижении всхожести семян влияют насекомые-вредители. Фауна вредителей плодов и семян лесных насаждений Армении изучена недостаточно [2-5], почти отсутствуют сведения о карпофагах ксерофитных представителей дендрофлоры республики [1].

Материал и методика. Материалом для настоящей работы служили наши сборы, проведенные в 1986-92 гг. в 26 районах Армении.

Результаты и обсуждение. В результате обследования генеративных органов древесных пород Армении на представителях 16 видов растений нами выявлено 69 видов вредных насекомых, из которых 21 отмечается впервые для фауны республики (табл.). Приведенные в таблице виды по отрядам распределены следующим образом: жесткокрылые - 2, переночатокрылые - 5, двукрылые - 7, чешуекрылые - 7.

Вредители плодов и семян ксерофитных представителей дендрофлоры Армении.

Кормовое растение	Наименование вредителя	Повреждаемая часть генеративного органа растения
Астрагал закавказский	<i>Bruchophagus astragali Fed.</i>	Семена
Барбарис восточный	<i>Rhagoletis berberidis Jerm.</i>	Мякоть плода
Боярышник тангутский	<i>Grapholitha janthiana Dup.</i>	Мякоть плода
Жостер мелкоплодный	<i>Rhagoletis batava Hec.</i>	Мякоть плода
Жимолость грузинская	<i>Eupoecilia ambiguella Hbn.</i>	Мякоть плода
Кизильник приятный	<i>Phagocarpus permundus Hart.</i>	Мякоть плода
Курчавка шиловатая	<i>Ascetia cervinana Car.</i>	Семена
Можжевельник многоплодный	<i>Megastigmus gravis Nik.</i>	Мякоть плода
	<i>Rhagoletis flavigenualis Hering.</i>	Семена
Парнолистик лебедовый	<i>Vladivirca zygophyllyvorella Kurz.</i>	Семена
	<i>Ephysternis subdiminutella Station.</i>	Семена
Пуцырник восточный	<i>Bruchidius salicinusus Khnz.</i>	Семена
Роза атропатская	<i>Grapholitha tenebrosana Dup.</i>	Мякоть плода
	<i>Carpocapsa scirrhosella H.-S.</i>	Мякоть плода
	<i>Megastigmus aculeatus Swed.</i>	Семена
	<i>Carpomyia schineri Lw.</i>	Мякоть плода
Селищанка Шобера	<i>Nitrariomyia lukjanovitshi Rohd.</i>	Мякоть плода
Унаби европейская	<i>Carpomyia vesuviana A.Cast.</i>	Мякоть плода
Фисташка тушкановая	<i>Megastigmus pistaciae Wolk.</i>	Семена
Эфедра розлая	<i>Eurytoma ermolenkoi Zerova</i>	Семена
Чинагель серебристый	<i>Bruchidius halodendri Gebl.</i>	Семена

Из зарегистрированных нами видов наиболее серьезный вред ксерофитным деревьям и кустарникам в годы исследований причиняли астрагаловый семяед, барбарисовая пестрокрылка, можжевельниковый семяед, унабиеная муха-пестрокрылка, фиستانковый семяед. Ниже приводим сведения об этих видах.

Bruchophagus astragali Fed. - астрагаловый семяед. Зимуют взрослые под кустами астрагала. Весной питаются нектаром цветов. Яйцекладка в конце мая на бобах астрагала, через 4-6 дней выходят личинки и питаются внутри семян, полностью уничтожая их содержимое. Окукливание в семенах. Вылет взрослых насекомых в конце августа. В год дает одно поколение. Повреждаемость семян в среднем составляет 60-67% (Ехегнадзорский, Меграинский районы).

Rhagoletis berberidis Jermy - барбарисовая пестрокрылка. Личинки вредителя развиваются в мякоти плодов и в основном вредят семенам. В условиях южной и центральной Армении дает одно поколение. Личинки мухи зимуют в пупариях, в почве на глубине 3-7 см. В 1989г. барбарисовая пестрокрылка повреждала в среднем 65-71% семян барбариса.

Megastigmus gravis Nik. - можжевельниковый семяед. Этот вид встречается всюду в можжевельниковых редколесьях Армении. Лет обычно начинается в середине июля и продолжается весь август. Яйца откладываются в шишкоягоды урожая текущего года. Эмбриональное развитие продолжается около 14-20 дней. Личинки питаются незрелыми ядрами шишкоягод и зимуют внутри семени, где и окукливаются. Стадия куколки длится около 20 дней. Часто личинками семяеда поражены все семена шишкоягод, особенно у можжевельника многоплодного *Juniperus polycarpus*.

Carponomyia vesuviana A. Costa - унабиеная плодовая муха. В Араратском районе в 1987г. от 82 до 86% плодов унаби были заражены этим вредителем. Личинки питаются мякотью плодов. Обычно в одном плоде развиваются 2-3 личинки. В конце августа они покидают плоды. Зимуют в пупариях, в почве на глубине 2-4 см. Вылет имаго отмечается в начале июня.

Megastigmus pistaciae Wolk. - фиستانковый семяед. В Армении встречается всюду, где растет тунолистная фиستانка - *Pistacia mutica*. Зимуют личинки старших возрастов в семенах. Окукливание в конце мая. В год развивается одно поколение. Лет имаго начинается в середине июня и продолжается весь июль. Вылетевшие самки прокалывают яйцекладом незатвердевший плод и откладывают в семя по одному яйцу. Личинки пацелю уничтожают семя плода, плод не созревает и остается висеть на дереве. В результате повреждения этими личинками почти 90% семян становятся непригодными в качестве посевного материала.

Приведенные здесь сведения о видовом составе и вредности не являются исчерпывающими, они будут дополнять и уточнять в ходе дальнейшего изучения фауны ксерофитных древесных пород Армении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Г.А. Бюлл. Бот. сада АН АрмССР, 23, 129-134, 1973.
2. Арутюнян Г.А. Материалы I Всесоюз. совещания по "Арчовой проблеме", 98-106, Ереван, 1976.
3. Арутюнян Г.А. Биолог. журн. Армении, 35, 2, 145-148, 1982.
4. Зерова М.Д., Арутюнян Г.А. Зоол. журн., 63, 4, 623-625, 1984.
5. Мирзоян С.А. Дендрофильные насекомые лесов и парков Армении. Ереван, 451. 1977.

Получила 27.X.1995.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЫНОСА ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ
ПОВЕРХНОСТНО-СКЛОНОВЫМ СТОКОМ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Р.О. ОГАНЕСЯН, М.А. НАЛБАНДЯН

*Институт гидроэкологии и ихтиологии НАН Армении, 378610, г.Севан**Озеро Севан - поверхностно-склоновый сток - биотелы - вынос химических элементов.*

Для Севанской лимносистемы важное значение имеет поступление в озеро биогенных элементов с водосборного бассейна, основными источниками которых являются речной приток, атмосферные осадки, диффузный сток, подземный приток*.

Одной из особенностей антропогенного эвтрофирования озера Севан является наличие рассеянных источников биогенов, трудно поддающихся контролю. Особенности водосборного бассейна, в частности, сложный высокогорный рельеф создают определенные трудности в исследовании поверхностного стока.

Большая крутизна уклоны склонов в водосборе и характер залегающих почв способствуют образованию склонового стока, являющегося одним из основных компонентов в формировании поверхностного стока. Широкий спектр горных почв водосбора, связанный с выраженной высотной поясностью, играет важную роль в формировании поверхностно-склонового стока, зависящего от водоудерживающей способности почвы.

В связи с вышеуказанными сложностями в определении выноса химических элементов поверхностно-склоновым стоком возникла необходимость создания модели стока в лабораторных условиях, в частности, для Севанского водосборного бассейна.

Для лабораторного эксперимента по данной методике используются специальные аквариумы из органического стекла, куда помещаются почвенные образцы, причем поверхностный почвенный слой, перенесенный в экспериментальные аквариумы, сохраняет характер естественного природного залегания. Почвенные образцы заранее взвешиваются. Модель создает возможность учитывать крутизну местности и водоудерживающую способность почвы. Она позволяет определить содержание тех или иных химических элементов в стоке, проходящем как непосредственно по поверхности почвы, так и через исследуемый почвенный слой. Вода поступает в экспериментальные аквариумы со скоростью, рассчитанной для данного почвенного типа и обеспечивающей формирование поверхностно-склонового стока, близкого к естественному. При проведении лабораторного эксперимента учитываются также объем поступающей в аквариум воды и время образования стока. Предварительно проводится химический анализ поступающей в аквариумы воды. Затем после прохождения воды через почвенный слой химическому анализу подвергается уже образованный сток. Концентрация в стоке представляет собой разницу концентраций, определяемых в поступающей в аквариумы воде и в уже образованном стоке.

Данная модель позволяет уточнить оценочные значения выноса химических элементов поверхностно-склоновым стоком в зависимости от типа почв.

Поступила 9. IX. 1996.

* Оганесян Р.О. Автореф. докт. дисс. Киев, 1989.

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԷԿՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՀԻՄՆԱՀԱՐՑՆԵՐԸ «ԱՆՅՈՒՄ ԳՆՊԻ ՋԱՐԳԱՅՈՒՄ»
ԾՐԱԳՐԻ ՆԱԽԱԳԾՈՒՄ

Կ.Ս.ՂԱՆԻՆԵԼՅԱՆ

Երևանի պետական համալսարան, տնտեսական աշխարհագրության ամբիոն, 375049,
ՍՍՀ-ի Զարգացման Ծրագիր

1996թ ՍՍՀ-ի Զարգացման Ծրագրի Հայաստանյան ներկայացուցչությունը ձեռնամուխ եղավ «Անցում դեպի զարգացում» ծրագրի մշակմանը Ծրագրի նպատակն է Հայաստանին տարբեր ոլորտներում տեխնիկական աջակցություն ապահովելու համար մշակել առաջարկությունների փաթեթ և ներկայացնել այն ենթադրվող դոնոր-երկրներին:

Այդ նպատակով մշակվել է բնապահպանության ոլորտին վերաբերող նախագծերից կազմված փաթեթ, որը ոլորտում տիրող իրավիճակի և իրականացվող ծագմամբարության համառոտ նկարագրի հետ մեկտեղ ամփոփ տեսքով ներկայացված է ստորև:

Ոլորտի ընդհանուր նկարագիր

Հայաստանի տնտեսությունը զարգացել է նախկին Խորհրդային Միության պայմաններում, ուր երկար ժամանակ անտեսվել է բնապահպանությունը Առանց ռեսուրսային հնարավորությունների հաշվառման, զարգացվել են էներգատար, աաշարատար արտադրություններ, որոնք հիմնականում չեն ունեցել մաքրման, օափոնների վերամշակման և օգտագործման արդյունավետ համակարգեր: Արդյունքում մեծ վնաս է հասցվել կենսոլորտին և բնակչության առողջությանը: 1970-1980թթ -ին ձևավորվեց կրիտիկական էկոլոգիական իրավիճակ Երևան, Վանաձոր, Ալավերդի, Հրազդան և Սրբաբեր ջրաղբների օղային ավազանի բարձր աղտոտվածություն, որը պարբերաբար հանգեցնում էր ֆուտոցիմիակսն թունամշուշի առաջացմանը, ջրային ռեսուրսների բարձր աղտոտվածություն և էվտրոֆիկացում, բնական էկոհամակարգերի աստիճանաբար դեգրադացիա և այլն:

Սի շարք իրականացված բնապահպանական միջոցառումների շնորհիվ իրավիճակը սկսեց հետզհետե բարելավվել, սակայն 1988թ կործանարար երկրաշարժը ապա շրջափակումը և զուգակցող էներգետիկ ճգնաժամը դարձյալ վնաս հասցրեցին շրջակա միջավայրին:

Սեծագույն վնաս հասցվեց հանրապետության անտառներին, ուր տեղի ունեցան մասայական հատումներ և Սևանա լճին, որի դարավոր ջրային պաշարները վերստին օգտագործվեցին էներգետիկ նպատակներով: Լիճը դարձյալ հայտնվեց կործանման եզրին:

Էներգետիկ ճգնաժամի ատաճառով լիարժեք չեն զործում կեղտաջրերի մաքրման կայանները:

Բնապահպանության ոլորտին նառապարության կողմից հատկացվող ֆինանսական միջոցները խիստ սահմանափակ են էկոլոգիապես կայուն զարգացման որմքեր նարելը է ձևավորել, եթե ստեղծվի թափոնների դեկավարման լիարժեք համակարգ, իսկ ձեռնարկությունները վերազինվեն ժամանակակից անթափոն տեխնոլոգիաներով և մաքրման սարքավորումներով: Ասկայն նշված ուղու իրագործումը զգալի նյութական ներդրումներ է պահանջում:

1993թ Հայաստանում ներդրվեց «Բնօգտագործողը և աղտոտողը վճարում է» սկզբունքը, ըստ որի բյուջե մուծվող համապատասխան զուժարները ծախսվում են բնապահպանության նպատակով: Ասկայն զոյացող զուժարները պահանջարկից անհամեմատ պակաս են:

1995-1996թթ զուչորեն նարելի է նշել որպես տնտեսության աստիճանաբար վեռելքի սկիզբ: Ռիստի և խիստ կարևոր է զարգացնել իրավական և տնտեսական մեխանիզմների այնպիսի համակարգ, որը թույլ կտա կանխել բնությանը զուգահեռ հասցվելիք վնասը, կոթանի սակավաթափոն տեխնոլոգիաների, բարձրարդյունավետ մաքրման սարքավորումների, ինչպես նաև թափոնների վերամշակման և իրացման ժամանակակից համակարգերի ներդրումը: Խնդիրը առավել բարդ է նոր տնտեսական հարաբերությունների անցման փուլում:

Շատ կարևոր է նաև անընդհատ էկոլոգիական կրթության համակարգի ստեղծման և կայուն մարդկային զարգացման հայեցակարգի զարգացման իրականացման տարածման շնորհիվ աջակցել բնակչության լայն շրջաններում «էկոլոգիական աշխարհայացքի» ձևավորմանը:

Հայաստանի Հանրապետության 1996-1998թթ Պետական ներդրումների Ծրագրում (PIP) որպես հիմնական պրոբլեմներ նշված են:

-հողային երոզիան կապված բնակլիմայական առանձնահատուկ պայմանների և լանջերի ինտենսիվ օգտագործման (գյուղատնտեսական հանդակների 60% ենթարկված է երոզային);

-մակերեսային ջրերի աղտոտվածությունը և ջրային ռեսուրսների անարդյունավետ օգտագործումը, ինչն արդյունք է՝

-արդյունաբերական և կենցաղային աղտոտված ջրերի անվերահսկելի արտահոսքի,

-էներգետիկ ճգնաժամը մեղմելու նպատակով ջրային ռեսուրսների չափից ավելի օգտագործման;

-ազգային պարկի, արգելոցների և արգելավայրերի, անտառների ոչ բավարար պահպանման հետևանքով բուսական և կենդանական աշխարհի զանազան տեսակների կորուստը,

-էներգետիկայի և արդյունաբերական ձեռնարկությունների, ինչպես նաև տրանսպորտային միջոցների կողմից օդային ավազանի աղտոտումը թունավոր նյութերի արտանետման արդյունքում

Ուզմավարությունը բնապահպանության ոլորտում

ա) Պետական ներդրումների ծրագիր (PIP).

Ըստ Պետական ներդրումների Օրագրի՝ 1996-1998թթ հասար առաջնահերթ խնդիրներն են.

- Բնապահպանման օրենսդրության կատարելագործումը;

- Շրջակա միջավայրի կառավարման կատարելագործումը;

- Բնօգտագործման և բնապահպանական նորմատիվների մշակումը և ներդրումը;

- Միջավայրի աղտոտվածության պետական հսկողության կատարելագործումը;

- Բնակչության էկոլոգիական կրթության մակարդակի բարձրացումը

բ) Սոցիալ- տնտեսական զարգացման ծրագիրը նախատեսում է հետևյալ միջոցառումների իրականացում

- Սևանա լճի էներգետիկ նպատակներով ջրի բացթողումների դադարեցում; ոռոգման նպատակով ջրի բացթողումների քանակի սահմանափակում,

- Սևանա լճի կենսաբանական հավասարակշռության պահպանման ծրագրի մշակում;

- Հոսքաջրերի կենսաբանական մաքրման կայանների աշխատանքների բարելավում;

- խախտված հողերի ռեկուլտիվացման խրախուսող տնտեսական մեխանիզմի մշակում;

- Անտառների վերականգնում;

- Խմելու ջրի մատակարարման հիմնահարցի լուծում,

- էկոլոգիական օրենսդրության կատարելագործում.

գ) Օրենսդրություն

Հայաստանի Հանրապետությունում աստիճանաբար տեղի է ունենում օրենսդրության «էկոլոգիզացում», սակայն պրոցեսը բավականին դանդաղ է ընթանում:

1991-1994թթ Հայաստանի Գերագույն խորհրդի կողմից ընդունվել են «Բնության պահպանության մասին ՀՀ օրենսդրության հիմունքները», օրենքներ «Բնության հատուկ պահպանվող տարածքների», «Աթոլորտային օդի պահպանության մասին, ինչպես նաև հողային, ջրային, անտառային և ընդերքի մասին» օրենսգրքերը:

1995թ Մոյսեբերին Ազգային ժողովն ընդունեց «Օրենք շրջակա միջավայրի վրա ազդեցության փորձաքննության մասին»: Օրենքը նախատեսում է շրջակա միջավայրի վրա ազդեցության գնահատումը կարգավորող սիստեմական սկզբունքների և մոտեցումների ներդրում բոլոր գործող և ապագա օրենքներում:

Օրենքի նպատակն է ապահովել մասնագիտական և հասարակական փորձաքննության անցկացում տնտեսական, սոցիալական և այլ տեսակի գործունեության նկատմամբ (նոր շինարարություն, վերականգնում, ընդլայնում, տեխնիկական վերազինում և այլն)

Տնտեսական անցումային շրջանում հիմնական գործունեությունը կարգավորվում է հատկապես տվյալ օրենքով. Այուս նպատակն է ապահովել էկոլոգիական փորձաքննություն, զարգացման հայեցակարգերի, առաջարկությունների, քաղաքականության, համալիր նախագծերի և ծրագրերի նկատմամբ:

Օրակարգի հիմնախնդիրները

1. ՀՀ օրենքների մեծամասնությունը որոշ չափով դեկլարատիվ են և անմիջականորեն չեն ազդում բնապահպանական գործունեության վրա:

Կիրարկման մանրամասն ընթացակարգը կարգավորվում է Կառավարության և տարբեր նախարարությունների կողմից ընդունվող որոշումներով: Հարկ է նշել, որ ասվածը չի վերաբերվում փորձաքննության մասին վեոհիշյալ օրենքին, որն արդեն պարունակում է Լիդարկման մանրամասն մշակված ընթացակարգ:

2. էկոլոգիական օրենքները և ստանդարտները բավականաչափ համաձայնեցված չեն, երբեմն նրանք նույնիսկ հակասական բնույթ կարող են կրել:

3. Բնապահպանական օրենքների խախտումները չեն կարող բացահայտվել և պաշտոնապես գրանցվել առանց համապատասխան պետական և հասարակական վերահսկողության: Այնինչ իրավախախտումները բացահայտելու և համապատասխան սանկցիաներ կիրառելու արարողակարգային մեխանիզմները համախ բացակայում են:

4. Բնապահպանական իրավական կուլտուրայի պակասությունը քաղաքացիների և պետական ծառայողների շրջանակներում:

Ներկայումս մշակման ընթացքում են «Շրջակա միջավայրի մասին», «Խմելու ջրի ապահովումը և ռացիոնալ օգտագործումը», «Կենդանական աշխարհի պահպանությունը և ռացիոնալ օգտագործումը»:

«Բնական պաշարների վճարովի օգտագործումը» օրենքների նախագծերը:

1995թ. որոշ փոփոխություններ են արվել քրեական և քաղաքացիական օրենսգրքերում, սակայն լիարժեք էկոլոգիական օրենսդրության ձևավորման համար անհրաժեշտ է կանոնակարգ, հաստատել գործող և ապագա օրենքների նկատմամբ, համալիր էկոլոգիական փորձաքննություն անցկացնելու վերաբերյալ: Դրան զուգահեռ «Շրջակա միջավայրի մասին» օրենքն ընդունելուց հետո, անհրաժեշտ է ուշադրությունը բնեղել ատոմային էներգետիկային, կոշտ և վտանգավոր թափոններին, ինչպես նաև թունավոր քիմիական նյութերին վերաբերվող օրինագծերի մշակմանը:

Բնապահպանական օրենսդրության բարելավումը որպես առաջնահերթ խնդիր նշված է 1996-1998թթ. Պետական Ներդրումների Ծրագրում, 1996թ. Սոցիալ-տնտեսական Ձարգացման Ծրագրում և 1996թ. Հայաստանի Սարդկային Ձարգացման Ձեկույցում:

Առաքնային պրակտիկ միջոցառումներ

«Անցում դեպի զարգացում» ծրագիրը նշված բոլոր ուղղություններով պարունակում է առնվազն մի քանի նախագիծ: Բացառություն է կազմում Սևանա լճի հիմնահարցը, քանի որ Համաշխարհային Բանկը արդեն ֆինանսավորում է «Սևանա լճի էկոլոգիական հավասարակշռության վերականգնումը» ծրագրի մշակումը:

Բնապահպանական ոլորտում ներկայացված է 68 նախագիծ՝ Նախագծերը խմբավորված են 8 ենթաոլորտներում (բաժիններում), որոնց համապատասխանում են բնապահպանական ոլորտի հիմնական առաջնային ուղղություններին. Արանոժ դոնորի համար հնարավորություն է ստեղծվում ֆինանսավորել կամ առանձին նախագծեր, կամ ենթաոլորտներում ներկայացված նախագծերի որջ խմբեր. Աշխատանքի մեջ ներգրավված են 33 պետական և 24 ոչ կառավարական կազմակերպություններ:

Գիտությունների Ազգային Ակադեմիայի համակարգից որպես նախագծերի հեղինակներ և կատարողներ ծրագրի նախագծում ընդգրկված են հետևյալ գիտահետազոտական հիմնարկները՝ Անօրգանական Զիմիայի Ինստիտուտ, Երկրաբանական Գիտությունների Ինստիտուտ, Ինժեներական Գեոֆիզիկայի և Սեյսմոլոգիայի Ինստիտուտ, Միկրոբիոլոգիայի Ինստիտուտ, Սոլեկուլյար Կենսաբանության Ինստիտուտ, Մանրէների Ավանդադրման Հանրապետական Կենտրոն, էկոլոգո-Նոոսֆերային հետազոտությունների Կենտրոն, Ինժեներական Կենտրոն:

ՈՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ ԵՎ ՆՅՈՒԹԵՐ

1. Հայաստանի Հանրապետության 1996-1998թթ. Պետական Ներդրումների Ծրագիր:
2. Հայաստանի Հանրապետության 1996թ. Սոցիալ-Տնտեսական Ծրագիր:
3. Հայաստանի Մարդկային Ձարգացման Ձեկույց - 1995թ.:
4. Հայաստանի Մարդկային Ձարգացման Ձեկույց - 1996թ.:
5. Հայաստանի Ազգային էկոլոգիական Ծրագրի Հավելվածագր, 1993թ.:
6. Հայաստանի Ազգային էկոլոգիական Ձեկույց, 1993թ.:
7. *Բսկոյան Ա.* Հայաստանի բնապահպանական Օրենսդրությունը, Երևան, 1994թ.:
8. *Ter-Nikogosian V.* Development and Enforcement of new Armenian Environment Protection Legislation: Problems and Solutions. Fourth International Conference on Environmental Compliance and Enforcement. Thailand, 1996.
9. *Դանիելյան Կ.* Հայաստանի զոոպահպանության հիմնախարչերը Կայուն և Ձարգացման հայեցակարգի տեսակետից: Երևան, 1996թ.:
10. Բնապահպանության և Լկոնոմիկայի նախարարների Միջազգային կոնֆերանսի (Հելսինկի, 1996) նյութերը:
11. Էկոնոմիկայի նախարարության ու Բնապահպանության և ընդերքի նախարարության այլ նյութեր, 1996թ.:

Ստացված է 13 XI 1995.

ՎԱՍՏԱԿԱԶՄՑ ԳԻՏՆԱԿԱՆՈ

(Օնեղյան 70 - ամյակի առթիվ)

Լրացավ ՀՀ Գիտությունների Ազգային Ակադեմիայի Լ Օրթելու անվան Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի առաջատար գիտաշխատող, կենսաբանական գիտությունների դոկտոր Վաղինակ Արապիճյանի Սիրզոյանի ծննդյան 70-ամյակը:

Վ. Սիրզոյանը ծնվել է 1926 թ. հունիսի 20-ին, Ստեփանավանի շրջանի Հորարծի գյուղում: Տեղի 7-ամյա դպրոցն ավարտելուց հետո, 1942 թ. ընդունվում է Ստեփանավանի անասնաբուժական-անասնաբուծական տեխնիկումը և այն ավարտում գերազանցության դիպլոմով: Նույն տարում էլ դառնում է երևանի անասնաբուժական-անասնաբուծական ինստիտուտի ուսանող:

Վաղ են երևան եկել Վ. Սիրզոյանի գիտական հետազոտություններ կատարելու հակումն ու ունակությունները: Երրորդ կուրսում պրոֆեսոր Սարգիս Աաքանյանի ղեկավարությամբ դիագնոստիկայի և ռենտգենոլոգիայի ամբիոնում ուսումնասիրել է ռենտգենյան ճառագայթահարման տարբեր դոզաների ազդեցությունը ճագարների արյան կարծիք գեղիկների մետեցման ռեակցիայի արագության վրա և պարզել, որ այդ պայմաններում կտրուկ կերպով այն արագանում է: Սիսթամանակ բացահայտել է, որ փոփոխության է ենթարկվում նաև լեյկոֆորմուլան ավելանում է լեյկոցիտների քանակը: Զորորդ կուրսում անխոնջ ուսանող, պրոֆեսոր Հայկ Ստեփանյանի առաջարկությամբ, ուսումնասիրում է շան բնական ստամոքսահյուսքի ազդեցությունը գորտի մեկուսացված սրտի գործունեության վրա և ապացուցում, որ շան 2-3 տոկոսանոց ստամոքսահյուսքը վերականգնում է գորտի սրտի դադարած աշխատանքը:

Ինստիտուտն ավարտելուց հետո սկսվում է Վ. Սիրզոյանի գիտա-աշխատանքային կենսագրությունը Հայաստանի ԳԱ Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտում, որտեղ որպես կրտսեր գիտական աշխատող նա ծավալում է ակտիվ թե՛ գիտական, և թե՛ հասարակական աշխատանքներ:

Վ. Սիրզոյանի տասնամյա գիտական գործունեության արդյունքները արտացոլվել են մի շարք գիտական հոդվածներում և նրա «Լեյկոցիտոզիան վերականգնման օնտոգենետիկ ուսումնասիրությունը կենդանիների էնոկլեպցիայի, ողնուղեղի կիսահատման և վերջույթների անդամահատման պայմաններում» թեմայով թեկնածուական ատենախոսությունում, որը հաջողությամբ պաշտպանել է 1959 թվին և արժանացել կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի:

Խոսելով Վ. Սիրզոյանի գիտական աշխատանքի արդյունքների նշանակության մասին, ակադեմիկոս Էզրաս Հասարայանը նշել է. «Խանգարված ֆունկցիաների փոխհատուցման պրոբլեմը պատկանում է ժամանակակից կենսաբանության և բժշկագիտության առավել իրատես պրոբլեմների շարքին և մեծ հետաքրքրություն է ներկայացնում ինչպես տեսական, այնպես էլ գործնական առումով»:

Վ. Սիրզոյանի զանազան վնասվածքների պայմաններում ներկենտրոնական կառույցների օնտոգենետիկ ուսումնասիրությանը նվիրված թեկնածուական թեզում և այլ աշխատանքներում բերված են նոր տվյալներ, որոնք հետաքրքրական են տեսական ու գործնական առումով, քանի որ կարող են օգնել բացահայտելու վերականգնողական և փոխհատուցողական պրոցեսների հիմքում ընկած օրինաչափությունները:

Ուսումնասիրելով տարբեր հասակի ճագարների անդամահատության հետևանքները, Վ. Սիրզոյանը հաստատել է, որ հեռացված վերջույթի ֆունկցիաների փոխհատուցումը ողջ մնացած վերջավորության կողմից կատարվում է տարբեր արագությամբ օրինակ, ճագարների մոտ, որոնք կույր են ծնվում, փոխհատուցումը ընթանում է դանդաղ, իսկ հավի ճտերի մոտ, որոնք դուրս են գալիս աչքերը բաց ու պատրաստի ֆունկցիաներով, փոխհատուցման պրոցեսները համեմատաբար արագ են ընթանում:

Զարգացնելով է Հասարայանի նյարդային համակարգի պլաստիկության էվոլյուցիոն տեսությունը, Վ. Սիրզոյանը պարզել է, որ ողնուղեղի վնասումներից հետո օնտո- կամ ֆիլոգենետիկ զարգացման ստորին աստիճանում գտնվող կենդանիների գլխուղեղի մեծ կիսագնդերը եական դեր չեն խաղում կոմպենսատոր հարմարանքների զարգացման գործում, այն դեպքում, երբ բարձրակարգ կենդանիների մոտ նրանց դերը դառնում է անզանահատելի:

Վ. Սիրզոյանը հանդիսանում է տեսողական ռեցեպցիայի բնագավառի ճանաչված գիտնականներից մեկը, որը հարստացրել է Ֆիզիոլոգիական գիտությունը մի շարք նոր, եզակի և հեռանկարային հետազոտություններով, նվիրված անալիզատորների նեյրոֆիզիոլոգիայի ակտուալ պրոբլեմներին, ինչպես նաև աչքի հիվանդությունների և տեսողության թուլության հարցերին, որոնք թույլ կտան բացահայտել արտաքին միջավայրի որոշ գործոնների բացասական ազդեցությունը, ինչպես տեսողության, այնպես էլ օրգանիզմի առողջության ու կենսագործունեության վրա: Նրա կողմից բավարար չափով ուսումնասիրվել է տեսողական անալիզատորի ծայրամասային հատվածում ընթացող պրոցեսների զարգացման ու կատարելագործման օրինաչափությունները, լուսազգացության ֆիզիոլոգիական մեխանիզմները, որոնք ապահովում են օրգանիզմի հարմարեցման ձևերն ու փոխազդեցությունները արտաքին միջավայրի հետ: Պրոբլեմի հույժ կարևորությունը հատկապես նկատելի է, որ գնալով աճում է աչքի ցանցենու հիվանդություններով տառապող հիվանդների թիվը կապված բնակչության կյանքի տևողության ավելացման և արտաքին միջավայրի բացասական գործոնների ազդեցության հետ: Այժմ աչքի ցանցենու պաթոլոգիան բժշկագիտության մեջ զբաղեցնում է առաջին տեղերից մեկը, որը շատ դեպքերում կարող է հանգեցնել տեսողության կորստի կամ թույլ տեսողության Հասակային առումով տեսողության ֆիզիոլոգիայի ուսումնասիրությունները Վ. Սիրզոյանին թույլ են տվել բացահայտել ոչ միայն սենսոր համակարգերի էվոլյուցիայի էությունը, այլ նաև որոշել օֆտալմոլոգիայի մի շարք գործնական խնդիրներ:

Ընդհանրացնելով հարկ է նշել, որ Վ. Սիրզոյանի բոլոր շրջանների հետազոտություններում գլխավոր շեշտը դրվել է տեսողական անալիզատորի պերիֆերիկ բաժնի կենսահոսանքների օնտո-ֆիլոգենետիկ զարգացման օրինաչափությունների պարզաբանման հարցերին ողնաշարավոր կենդանիների էվոլյուցիոն լայն սահմաններում: Նա առավել ուշադրություն է դարձրել ցանցաթաղանթի տեսողական ֆունկցիայի

զարգացման ու կատարելագործման օնտոգենետիկ ասպեկտներին, դրա զարգացման յուրահատկությունների կախվածությանը արտաքին միջավայրի պայմաններից, պաթո-մորֆոլոգիական և պաթո-ֆիզիոլոգիական փոփոխություններից, սուր անեմիզացիայից, լազերային ու ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներով վնասումներից հետո ցանցաթաղանթի ճնշված ֆունկցիայի սպոնտան և բուժման վերականգնման պրոբլեմներին:

Վ.Ս.Սիրզոյանի հետազա հետազոտական գործունեության զարգացումը ընթացել է օնտոգենետիկ ողնաշարավոր կենդանիների, այդ թվում և մարդու ցանցաթաղանթի կենսահոսանքների ձևավորման, զարգացման ու կայունացման ընդհանուր օրինաչափությունների պարզաբանման հարցերին, որի հիման վրա առաջարկվել է աչքի ցանցենու ֆունկցիայի զարգացման եռետալային տեսությունը և բացահայտել յուրաքանչյուր տապաի առանձնահատկությունների օնտո-ֆիլոգենետիկ ասպեկտները: Հայտնաբերվել է, որ տեսողության զարգացման աստիճանը ուղղակիորեն կապված է կենդանիների կյանքի պայմաններից, որի իմացությունը կարող է նպաստել առողջության պահպանման պրոբլեմների լուծմանը:

Վ.Ս.Սիրզոյանի գիտահետազոտական աշխատանքների մի մասը նվիրված է նյարդային համակարգի վերականգնողական պրոցեսների ուսումնասիրությանը նորմալ և նրա տարբեր բաժինների վնասումների պայմաններում: Այդ աշխատանքներում մեծ տեղ է հատկացվում կենդանիների տեսողական համակարգի վնասումների ժամանակ վերականգնողական մեխանիզմների պարզաբանման հարցերին: Ձգալի տեղ է հատկացված տաքարյուն կենդանիների աչքի ցանցաթաղանթի վերականգնողական պրոցեսների ուսումնասիրությանը լազերային ճառագայթման և ֆերմենտային պրեպարատներով ներգործելուց հետո: Պարզվել է, որ ֆերմենտաթերապիայի ազդման պայմաններում վնասված ցանցաթաղանթի ֆունկցիոնալ կառուցվածքային վերականգնումը տեղի է ունենում բավական արագ ու լիարժեք, քան ստուգիչ կենդանիների նոտ: Նրա արած նորամուծությունները լայն արծագանք են ստացել և արժանվում գնահատվել Օդեսայի ակադ. Վ.Պ.Ֆիլատովի անվան ակնային հիվանդությունների գիտահետազոտական ինստիտուտի առաջատար գիտնական Ա.Ի.Կոլոմիցեի կողմից: Վ.Ս.Սիրզոյանին ուղղված նամակում նա գրում է. «Հաշվի առնելով Ձեր տվյալները՝ մենք հեռանկարային ենք համարում ուսումնասիրել ֆերմենտային պրեպարատների ֆունկցիոնալ և լազերային թերապիայի գուգակցված ազդեցությունը ցանցաթաղանթի վրա»: Այդ ասպարեզում Վ.Ս.Սիրզոյանի որոնումները ակտիվորեն շարունակվում են նաև այժմ: Նա իր հետազոտություններում զբաղվել է ոչ միայն նյարդային համակարգի պլաստիկականության, այլ նաև վնասված այլ հյուսվածքների վերականգնողական պրոցեսների ուսումնասիրությամբ ինչպես գիտափորձում, այդպես էլ կլինիկայում:

Վերջին տարիներին Վ.Ս.Սիրզոյանը հատուկ ուշադրություն է նվիրել էնզիմոթերապիայի (լեկոպային, պապահին, լեկոզին, կոլալիզին) և ֆիզիկական գործունեության (լազերային ճառագայթախարում) բժշկության մեջ կիրառման ուսումնասիրություններին: Այդ աշխատանքներում ցույց է տրված, որ վնասված նյարդային և այլ հյուսվածքների էնզիմոթերապիան լազերաթերապիայի հետ գուգակցման ժամանակ, առավել բարերար ազդեցություն է գործում վերականգնողական պրոցեսների վրա: Ստացված տվյալների հիման վրա մշակվել են մի քանի մեթոդական հանձնարարականներ, որոնք լայն կիրառություն են գտել պրակտիկ բժշկության մեջ:

Վ.Ս.Սիրզոյանի բազմամյա գիտահետազոտական արդյունքները ամփոփված են 100-ից ավելի հրատարակված աշխատանքներում, այդ թվում նաև «Թոշունների լուսազգայությունը» մենագրությունում և ղոկտորական թեզում:

Վ.Ս.Սիրզոյանը գիտական գործունեությանը զուգընթաց կատարել և կատարում է նաև գիտականակերպչական մեծածավալ աշխատանք հանդիսանում է Լ.Օրբելու անվան Ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի Գիտական խորհրդի անդամ, Հայաստանի «Ուղեղի հետազոտության միջազգային կազմակերպության» ասոցիացիան նրա թեկնածությունը ներկայացրել է ԻԲՐՕ-ի անդամության համար:

Նա իր նախածեռնությամբ ստեղծված «Ստեփանավանցի գիտնականների ընկերության» նախագահն է:

Թեև բուրբել է իր կյանքի յոթ տասնամյակը, Վ.Ս.Սիրզոյանը երիտասարդական ավյունով ու քանասիրաբար շարունակում է իր գիտական բեղմնավոր գործունեությունը և լուրջ ներդրում անում մեր անկախ Հայաստանի Հանրապետության գիտության զարգացման գործում:

Խ.Ն.Նսահապեկյան, Զ.Ս.Սարգսյան, Ռ.Մ.Նարությունյան

ՆՈՐԱՅՐ ՄԱՐՏԻՐՈՍԻ ՍԻՍԱԿՅԱՆ

(Շննդյան 90-ամյակին)

Տաղանդաշատ հայ ազգն ինչպես անցյալում, այնպես էլ քսաներորդ դարում տվել է գիտության, մշակույթի, արվեստի ու մարդկային գործունեության բազմաթիվ այլ ոլորտների կարկառուն դեմքեր:

Շուտով բոլորում է նրանցից մեկի ակադեմիկոս Նորայր Սարտիրոսի Սիսակյանի ծննդյան 90 տարին Այսօր էլ, երբ տեսաժապավենի նման մտովին վերհիշում ու արդի այքերով ես նայում նրա գիտահասարակական գործունեությանը, ականա ցանկանում ես համեմատել նրան այն առաջին մեծության աստղերի հետ, որոնց գուցե և արդեն չկան. բայց նրանց արձակած պայծառ լույսը շարունակում է հասնել մեզ և դեռ երկար կառկայծի:

Այսօր կարծում եմ շատ տեղին է ևս մեկ անգամ հիշելու մեր բազմապատասխան ու պանծալի հայրերին ակնկալելով, որ նրանց օրինակը ոչ միայն հպարտություն կներշնչի, այլև կոզևորի ներկա սերունդներին, ձգտելու լինել լավագույնը գործունեության ընտրած բնագավառում:

Լինելով Նորայր Սիսակյանի աշակերտը, կցանկանայի նշել, որ մեկ հանրամատչելի և սահմանափակ ծավալով հողվածի սահմաններում լիովին նկարագրել նրա կյանքն ու բազմաբովանդակ գործունեությունը դժվարին խնդիր է: Նրա մասին, առանձին պատեի առիթներով գրված են մի քանի տասնյակ հողվածներ տարբեր լեզուներով և հատկանշական այն է, որ նրանցից մեծ մասը հրապարակվել են նրա կենդանության օրոք:

Նորայր Սիսակյանը ծնվել է 1907թ. հունվարի 25-ին Աշտարակում, գյուղացու ընտանիքում. Ղեռ պատանի հասակում գրկվելով ծնողներից նա կրում է բազմաթիվ գրկանքներ Նրա մանկության և պատանեկության տարիները համընկել են հայ ժողովրդի կյանքի ծանր տարիների հետ: Սակայն մեծ իր պատանու ուսման ձգտումը, և նա ավարտելով դպրոցը 1928թ. ընդունվում է Երևանի Պետական համալսարան, իսկ մեկ տարի անց մեկնում Մոսկվա ուսումը շարունակելու: Տիմիրյազևի անվ. Գյուղատնտեսական ակադեմիայում:

Իր ողջ կյանքի ընթացքում նա ձգտել է սովորել, լրացնել իր գիտելիքները: Լինելով արդեն հանրաճանաչ գիտնական, և Սիսակյանն իր աշակերտներին ասում էր. «Նետազոտողն իրավունք չունի հանգստանալու և ապրելու նախկինում ձեռք բերած հաջողություններով, նա յուրաքանչյուր օր պետք է լրացնի իր գիտելիքները ինչ-որ նոր բանով, սովորելով շրջապատից, զրքերից ու բնությունից»: Ղեռ ինստիտուտում սովորելու տարիներին նա ցուցաբերում է փայլուն ընդունակություններ, աշխատասիրություն և սեր գիտահետազոտական աշխատանքի նկատմամբ: Սննկատ չանցան նրա այդ հատկությունները և 1932թ. սկսվեց նրա անմիջական գիտական գործունեությունը, որպես ասպիրանտ հանրառայն գիտնական-ակադեմիկոս Ղ. Պրյանիշչիկովի ղեկավարությամբ: Հետագայում (1935թ.), վերջինիս առաջարկով, երիտասարդ գիտնականը տեղափոխվում է ԽՍՀՄ ԳԱ Նորաստեղծ կենսաքիմիայի ինստիտուտ շարունակելու իր գիտահետազոտական աշխատանքները ակնամկոր կենսաքիմիկոս Ս. Բախի ղեկավարությամբ: Բազմիցս առիթներ են եղել բնութագրելու այն ժամանակ տակավին երիտասարդ գիտնական և Սիսակյանին, որպես այքի ընկնող ընդունակությունների ու արպտող մտքի տեք մասնագետի Սի առիթով ակադեմիկոս Բախն ասել է. «Ես սիրում եմ զրուցել Նորայր Սիսակյանի հետ, ինձ գրավում է նրա նպատակասլացությունը և արագ կողմնորոշվելու ընդունակությունը, նրա սիրտն արագ է բարախում»: Հարագատ մնալով խոշորագույն գիտական կենտրոնին, նա մինչև կյանքի վերջը շարունակեց իր գիտահետազոտական աշխատանքներն ինստիտուտում, որպես լաբարատորիայի վարիչ և փոխտնօրեն:

Բազմաբովանդակ ու բազմակողմանի են և Սիսակյանի գիտական հետաքրքրությունները և հետազոտությունների շրջանակն ու բնագավառները: Անդրադառնալով նրա գիտական ժառանգությանը առաջին եզրակացությանը որ հանգում ես, դա այն է, որ միայն արտակարգ տաղանդի ու կազմակերպչածության, խորը գիտելիքներ ունեցող գիտնականը կարող էր իր ուրույն խոսքն ասել այդ չափազանց տարաբնույթ ու խորին հարցերի բնագավառում:

Եթե փորձենք խմբավորել նրա կողմից իրականացված գիտահետազոտական աշխատանքները, ապա կարելի է առանձնացնել հետևյալ հիմնական ուղղությունները: Նյութափոխանակությունը կենդանի օրգանիզմում, տեխնիկական կենսաքիմիա, ենթաբջջային կառուցվածքների ֆունկցիոնալ կենսաքիմիա և տիեզերական (կոսմիկական) կենսաբանություն:

Իր գիտական գործունեության սկզբնական տարիները գիտնականը նվիրել է բույսերի կենսաքիմիայի և ֆիզիոլոգիայի մի շարք կարևորագույն հիմնարար և գործնական խնդիրներին, այն է շաքարանյութերի նյութափոխանակության ու կուտակման, իսկ այնուհետև բույսերի երաշտադիմացկունության օրինաչափությունների պարզաբանման խնդիրներին:

Պրպտուն միտքը, մեծ ընդունակությունները, խորը գիտելիքները և նպատակին հասնելու հետևողականությունը հաջողությամբ պատկեցին գիտնականի ջանքերը նա արժանացավ սկզբում գիտության քեկնածուի, իսկ այնուհետև 33 տարեկան հասակում գիտության դոկտորի գիտական աստիճանի: Նշենք, որ նշված բնագավառներում նրա հայտնաբերած օրինաչափություններն այժմ էլ արդիական են: Օրինակ, ցույց է տրված, որ ջրի սուղ պայմաններում առաջին հերթին խանգարվում են շաքարանյութերի, սպիտակուցների նյութափոխանակությունը, ֆոտոսինթեզի ու շնչառության բնույթը և այդ պրոցեսներին մասնակցող ֆերմենտների ակտիվությունը: Ստացված արդյունքները ոչ միայն պարզաբանում էին մի շարք հիմնարար հարցեր, այլև հիմք հանդիսացան բույսերի նոր երաշտադիմացկուն սորտերի սելեկցիայի համար:

Հետագայում և Սիսակյանն իր ուշադրությունը կենտրոնացնում է բույսերի ենթաբջջային գոյացումների կենսաքիմիայի խնդիրների ուսումնասիրմանը, և նա հիրավի համարվում է նաև ենթաբջջային գոյացումների ֆունկցիոնալ կենսաքիմիայի ուղղության հիմնադիրը, որը հետագայում արագ զարգացում ապրեց և դարձավ կենսաբանության կարևորագույն ու հանգույցային բնագավառներից մեկը:

Միայն գիտական կանխատեսության հզոր ունակությամբ օժտված գիտնականը կարող էր կռահել և

հիմնադրել այդ գիտական նոր ուղղությունը, որի դերը կենդանի բջիջների գործունեության, նյութափոխանակության և ընդհանրապես կենսաբանական ու բժշկության տարբեր հարցերի պարզաբանման գործում դժվար է գերազնահատել: Նշանակալից տեղ են գրավում գիտնականի ուսումնասիրությունները նվիրված բույսերի ենթաբջջային գոյացումների քլորոպլաստների կենսաքիմիային, ուր տեղի է ունենում օրգանական նյութերի առաջնային սինթեզը՝ ֆոտոսինթեզի պրոցեսում: Նա իր աշակերտների հետ միասին ցույց տվեց, որ այդ գոյացումները չափազանց բարդ կենսաքիմիական համակարգեր են՝ օժտված բազմաֆունկցիոնալ հատկություններով: Գույց տրվեց նաև բազմապիսի կենսակատալիզատորների առկայությունը, և նրանց մասնակցությունը նյութափոխանակության պրոցեսներում: Ապացուցվեց այդ ենթաբջջային գոյացումների կարևորագույն նշանակությունը բջիջների և ամբողջ օրգանիզմի կենսագործունեության պրոցեսներում: Ն.Սիսակյանի նշված բնագավառի նվաճումները լայն ճանաչում գտան գիտական հանրության կողմից, և 1952թ. արժանացան խՍՀՄ պետական մրցանակի:

Շարունակելով իր հետազոտությունները ենթաբջջային գոյացումների կենսաքիմիայի բնագավառում, ակադեմիկոս Ն.Սիսակյանին հաջողվեց առաջին անգամ հայտնաբերել մի շարք կենսական պրոցեսներ, որոնք հետագայում հիմնադիր ուղղություններ հանդիսացան կենսաքիմիայի բնագավառում: Այսպես, նրան հաջողվեց կանխատեսել և ապացուցել, որ քլորոպլաստները ավտոնոմ գոյացումներ են, ուր ոչ միայն տեղի են ունենում տարբեր նյութերի առաջնային սինթեզ ֆոտոսինթեզի պրոցեսում, այլև ընդունակ են սինթեզելու յուրօրինակ սպիտակուցներ, քանզի առաջին անգամ ցույց տրվեց ժառանգակիր նյութի (ՂԼԹ) և ռիբոսոմների առկայությունն այդ գոյացումներում:

Նշանակալից տեղ են գրավում նաև ենթաբջջային այլ գոյացումների կորիզի, միտոքոնդրիումների, բջջային թաղանթների կենսաքիմիային նվիրված հարցերի ուսումնասիրությունները, որոնք ոչ միայն լույս սփռեցին մեր պատկերացումներին բջիջներում ընթացող կենսական պրոցեսների վրա, այլև զգալի կերպով նպաստեցին կենսաքիմիայի և մոլեկուլյար կենսաբանության նոր ուղղությունների զարգացմանը:

Ստացված արդյունքները լայն ճանաչում գտան գիտական հասարակության կողմից, և գաբև տվեցին այդ ուղղության զարգացմանը նաև աշխարհի տարբեր երկրներում:

Ակադեմիկոս Ն.Սիսակյանն, ավելի քան շատ-շատերը, զգում էր այս կամ այն գիտահետազոտական խնդրի կարևորությունը: Նա առաջիններից մեկն էր, որ սկսեց ուսումնասիրել ռադիոակտիվ ճառագայթման ազդեցությունը կենդանի բջիջների, ենթաբջջային կառուցվածքների ֆունկցիոնալ ակտիվության վրա: Գիտնականին հաջողվեց ի հայտ բերել մի շարք օրինաչափություններ, փոփոխություններ, որոնք առաջանում են օրգանիզմներում ռադիոակտիվ ճառագայթման հետևանքով: Ստացված արդյունքները, որոնք քննարկվեցին առումային ենթադրաբանական խաղաղ օգտագործմանը նվիրված մի շարք միջազգային գիտաժողովներում լայն ճանաչում գտան և հետագայում իրենց զարգացումն ստացան ինչպես մեր երկրում, այնպես էլ աշխարհի գիտական շատ կենտրոններում:

Ն.Սիսակյանը բազում տարիների գիտական գործունեության ընթացքում մշտապես առաջնային խնդիրներից մեկն է համարել տեսական հարցերի սերտ կապը կենսական անհրաժեշտ խնդիրների լուծման հետ և այդ վաղաքագիծ ուղեկցել է նրան իր ողջ կյանքի ընթացքում: Նա քաջ գիտակցում էր գիտության անզերազանցատեսանելի դերը ինչպես մարդկության կենսական անհրաժեշտ խնդիրների, այնպես էլ պետական-քաղաքական հարցերի լուծման գործում: Այդ իսկ պատճառով նա մշտապես զբաղվել է նաև տեխնիկական կենսաքիմիայի հարցերով: Այսպես, Հայրենական մեծ պատերազմի տարիներին հաջողությամբ իրականացվեց կառավարության հանձնարարությունը մարտիկներին վիտամինային հարուստ սննդով ապահովելու առաջադրանքը և արժանացավ կառավարական պարգևի:

Մեծ էր նաև նրա մասնակցությունը հայրենական զինեզործության ու կոնյակի արդյունաբերության գիտական հիմունքների մշակման գործում: Գիտնականը մեծ սիրով շատ ժամանակ է տրամադրում Հայաստանի խաղողի տարբեր սորտերի ուսումնասիրմանը՝ նպատակ ունենալով հայտնաբերել այն առանձնահատկություններն ու պոտենցիալ հնարավորությունները, որոնք ճիշտ օգտագործման դեպքում կարելի է ստանալ բարձր որակի զինեզործ ու կոնյակներ:

Ն.Սիսակյանի նախածնունդային Հայաստանում Այգեզինեզործական ինստիտուտում կազմակերպվում է զինու և խաղողի կենսաքիմիայի լաբորատորիա, որի ղեկավարն ու խորհրդատուն էր երկար տարիներ Ձգալի են Ն.Սիսակյանի ու նրա դպրոցի հաջողությունները նաև այս բնագավառում: Պարզաբանվեցին այն կենսաքիմիական պրոցեսները, որոնք պայմանավորում են խմիչքի բուրմունքը, համն ու սննդարար հատկանիշները: Ուսումնասիրելով Հայաստանի աշխարհառչակ կոնյակների, ինչպես նաև խերեսային զինեզործ ու շամպայնի ստացման պրոցեսում ընթացող կենսաքիմիական պրոցեսները, ի հայտ բերվեցին նոր օրինաչափություններ, և կատարելագործվեցին եղած տեխնոլոգիաները: Կատարված ուսումնասիրությունները հիմք հանդիսացան այս բնագավառի զարգացման համար տարբեր հանրապետություններում: Բազմեցին համապատասխան լաբորատորիաներ, որոնցից մեկն էլ Ա.Բախի անվ. կենսաքիմիայի ինստիտուտում: Այդտեղ էլ սկսվեցին հրապարակվել գիտական ժողովածուներ նվիրված զինեզործության կենսաքիմիայի հարցերին, որոնք խմբագիրն էր ակադեմիկոս Ն.Սիսակյանը և որոնք բարձր գնահատվեցին և լայն ճանաչում գտան մասնագետների շրջանում:

Շնորհիվ կենսաբանության բնագավառում ունեցած խորը և բազմակողմանի գիտելիքներին, ակադեմիկոս Ն.Սիսակյանին «Կոսմիկական դարաշրջանի» նախաշեմին հաջողվեց լինել այն գիտնականների առաջին շարքերում, որոնք հիմնադրեցին այն հիմքերն ու ուղղությունները, որոնք հետագայում նպաստեցին տիեզերագնացության արագ զարգացմանը: Նրա կողմից հիմնադրվեցին գիտության այդ նոր, նախկինում չուսումնասիրված բնագավառի զարգացման ուղղություններն ու նպատակները: Նրա անմիջական դերակատարությամբ կազմակերպվեցին նոր գիտահետազոտական կենտրոններ, որտեղ սկսվեցին հետազոտական աշխատանքներ տիեզերական կենսաբանության ու բժշկության բնագավառում: Նրա նախածնունդային իրականացվեցին մանրակրկիտ ուսումնասիրություններ տիեզերքի անսովոր, յուրօրինակ գործոնների՝ անկշռելիության, երկրի ձգողականության, ճառագայթման, փակ սիստեմների էկոլոգիայի.

տիեզերագնացների ընտրության ու պատրաստման գիտական հիմունքների, օրգանիզմների նյութափոխանակության և այլ հարցերի ուղղությամբ: Անզերագնահատելի են և Սիսակյանի և Նրա աշակերտների այս բնագավառում ձեռք բերած հաջողությունները, որոնք գտան իրենց գործնական կիրառումը տիեզերական թռիչքների կազմակերպման գործում: Եւ այն գիտնականներից մեկն էր, որի կարծիքը որոշիչ էր այս կամ այն տիեզերագնացի թռիչքի համար: Նրա աշակերտներից մեկը ակադեմիկոս Գազենկոն, որը հետագայում ղեկավարում էր տիեզերական կենսաբանության և բժշկության բնագավառը, երբ ԽՍՀՄ ԳԱ-ն նշում էր և Սիսակյանի մահվան մեկ տարին, իր ելույթում ասաց, որ այն ժամանակ շատ քչերը գիտեին, որ ակադեմիկոս և Սիսակյանը տիեզերական կենսաբանության բնագավառում նույնն էր, ինչ Կորոլյովը տիեզերական տեխնիկայի բնագավառում: Ասկայն այսքանով չէր սահմանափակվում Նրա գործունեությունը այս բնագավառում: Գիտնականի նախածեղությունը կազմակերպվեցին Նոր պարբերական հրատարակություններ «Տիեզերական կենսաբանության պրոբլեմները», «Սարդու առաջին թռիչքը տիեզերք», որոնց ղխավոր խմբագիրը հանդիսանում էր ինքը՝ և Սիսակյանի նախածեղությամբ ու անմիջական ղեկավարությամբ ՅՈՒՆԵՍԿՈ-ի շրջանակներում կազմակերպվեցին առաջին միջազգային համաժողովները նվիրված մարդը տիեզերքում և տիեզերական կենսաբանության արդի կարևորագույն հարցերին:

Ի ճանաչումն և Սիսակյանի անզնահատելի ծառայությունների տիեզերական կենսաբանության ու բժշկության կազմակերպման ու զարգացման բնագավառում նա ընտրվում է Միջազգային աստղագնացության ակադեմիայի փոխ-արեզիդենտ, Միջազգային աստղագնացության ֆեդերացիայի կենսաստղագնացության կոմիտեի նախագահ և շենք նաև, որ զնահատելով Նրա ծառայությունները, Լուսնի վրա մի մեծ աշխարհագրական տեղամաս «Սիսակյանի ծով» անվանումն է ստացել:

Այս ամենին ավելացնենք նաև այն, որ նա մի քանի հարյուր գիտական հոդվածների և մենագրությունների հեղինակ է, որոնք թարգմանվել են բազմաթիվ լեզուներով:

Ակադեմիկոս և Սիսակյանը որպես անհատականություն, իր մեջ զուգակցում էր տարաբնույթ արտակարգ ընդունակություններ: Լինելով խոշոր անհատականություն գիտության բնագավառում, որը ոչ միայն հիմնադրեց և զարգացրեց Նոր ուղղություններ, դաստիարակեց ճանաչված գիտնականների մի հոծ բանակ, որն անվանվեց Սիսակյանի դպրոց, միաժամանակ գիտության տարանդակվոր կազմակերպիչ էր: Ընտրվելով ԽՍՀՄ ԳԱ ակադեմիայի կենսաբանական բաժանմունքի ակադեմիկոս-քարտուղար, հետագայում ղխավոր գիտական քարտուղար, բարձրագույն ատեստացիոն հանձնաժողովի նախագահի տեղակալ, պետական մրցանակների կոմիտեի անդամ, իր մեծ տաղանդին հատուկ հմտությամբ նա մեծ աշխատանք ծավալեց գիտության կազմակերպման ու զարգացման բնագավառում:

Ակադեմիկոս և Սիսակյանը հանդիսացել է նաև մի շարք անագրերի՝ ԽՍՀՄ ԳԱ «Վեստնիկ», «Իզվեստիա», «Քիմիչմիա» և այլն, ղխավոր խմբագիրը: Գիտնականը հանդես է եկել բազմաթիվ դասախոսություններով շատ երկրներում՝ Ֆրանսիա, ԱՄՆ, Ճապոնիա, Գերմանիա, Անգլիա, Բելգիա և այլն:

Միջազգային գիտական հասարակության կողմից բարձր են գնահատվել Նրա գիտական նվաճումները, նա արժանացել է Ա.Բախի, Սեչենիովի անվան մրցանակների, պարգևատրվել է Ֆրանսիայի Պաստյորի ինստիտուտի, Բելգիայի Լյեժի համալսարանի, Բալզակի միջազգային կոմիտեի ոսկե մեդալներով: Ջաջ գիտակցելով գիտության պրոգրեսի ու միջազգային համագործակցության կարևոր նշանակությունը մարդկության բարոքության ու խաղաղության պահպանման գործում նա իր մեծ ծառայություններն է մատուցել միջազգային մասշտաբով գիտությունը մարդկության բարեկեցությանը ծառայելու համար: Հանդիսանալով միջազգային Պագուտչովյան մի շարք համաժողովներում ԽՍՀՄ ներկայացուցիչ նա իր մեծ լուսնային ներդրել խաղաղության պահպանման գործում, որի համար ըստ արժանվույն են գնահատվել գիտնականի ցանքերը նաև այդ բնագավառում, պարգևատրվել է խաղաղության միջազգային կոմիտեի մեդալով ու պատվոգրով: Միջազգային բնագավառում առանձնակի տեղ զտավ նրա գործունեությունը Սիսակյանի Ազգերի կազմակերպության, կուլտուրայի, լուսավորության և գիտական կապերի տարածման ու հաստատման կոմիտեում (ՅՈՒՆԵՍԿՈ) սկսած 1956 թ. սկզբում որպես կատարողական և կոնսուլտատիվ կոմիտեների անդամ, իսկ հետագայում միաժամանակ ընտրվել է ՅՈՒՆԵՍԿՈ-ի 13-րդ սեսիայի ղխավոր քարտուղար: Այս կապակցությամբ նրա արտասանած ճառը, որը նվիրված էր գիտությունը մարդկության բարոքությանը ծառայեցնելու հարցերին անվանվեց «գիտության ծոցերը»:

Ակադեմիկոս և Սիսակյանը մեծ էր ոչ միայն որպես գիտնական ու գիտության կազմակերպիչ, այլ նաև որպես անհատականություն: Սի առիթով ակադեմիկոս Կելդիչն ասել է «Մենք զգում ենք Նորայր Սիսակյանի կարիքը, մեզ չի հերիքում նրա սուր ընկալումը, նրա պահանջկոտությունը իր և ուրիշների նկատմամբ, և այդ ամենի հետ նրա խոր մարդկային վերաբերմունքը հանդեպ մարդը»:

Ապրելով հեռու իր հայրենիքից և լինելով գերբարդված, նա այնուամենայնիվ մշտապես հետաքրքրվում էր իր ժողովրդի կյանքով և հատկապես գիտության զարգացման հարցերով: Նրան շատ հուզում էին այն ամենն ինչ կատարվում էր Հայաստանում: Մշտապես աջակցում էր հայ գիտնականներին բազմապիսի հարցերում: Բավական է նշել, որ միայն նրա շնորհիվ այն ժամանակ դժվարիմ պայմաններում Հայաստանի ԳԱ կազմում քացվեցին երկու խոշոր գիտական կենտրոններ՝ կենսաբիոմիայի ու հիդրոպոնիկայի և ագրոբիոմիական պրոբլեմների ինստիտուտները, որոնք հետագայում դարձան լայն ճանաչում գտած գիտահետազոտական կենտրոններ:

Հայ ժողովուրդը նույնպես արժանին է հատուցել իր տաղանդավոր գավակին, բացելով տուն-թանգարան նրա հայրենիքում Մշտառակում, կանգնեցնելով նրա արձանը, դարոց ու փողոցներ կոչելով նրա անունով: Այդպիսին էր և Սիսակյանը, որն ապրեց ընդամենը 59 տարի անմնացորդ նվիրվելով գիտությանը, հայրենիքին ու ժողովրդին:

Լ.Ա.Մարկոսյան

РОМЕЛЛА МИХАЙЛОВНА ГАЛАЧЬЯН

Отечественная биология понесла тяжелую утрату: 30 июня 1996г. скончалась Ромелла Михайловна Галачьян - заслуженный деятель науки Армении, доктор с/х наук, научный консультант Института микробиологии Национальной Академии.

Р.М.Галачьян родилась в 1910г. в г. Коканде (Узбекистан) в семье рабочего. С переездом семьи на постоянное жительство в Ереван Ромелла Михайловна поступила на садово-виноградный факультет Ереванского сельскохозяйственного института, который окончила в 1931 году. По окончании ВУЗа работала инструктором по борьбе с вредителями и болезнями в ОБВ, откуда вскоре была командирована на курсы организаторов Службы учета при Всесоюзном институте защиты растений в Ленинграде, по окончании которых Р.М. Галачьян работала в Ереване в качестве фитопатолога. В течение 1933-37гг. Р.М. Галачьян училась в аспирантуре ВИЗРа, которую окончила успешной защитой диссертации на степень кандидата сельскохозяйственных наук. В период 1938-1941гг. работала на Московской станции защиты растений старшим научным сотрудником, а в дальнейшем - заведующей лабораторией бактериозов.

С 1941 года до своей кончины Р.М. Галачьян работала в Институте микробиологии НАН РА, сначала старшим научным сотрудником, затем заведующей лабораторией микробных регуляторов, а позднее - научным консультантом. В 1955г. она успешно защитила диссертацию на ученую степень доктора сельскохозяйственных наук.

Научную деятельность Р.М. Галачьян отличали целеустремленность и исключительная последовательность в решении поставленных задач. Она являлась одним из ведущих специалистов по изучению бактериозов растений и внесла существенный вклад в эту область. Уже в первые годы научной деятельности объектом ее разносторонних исследований явились бактериозы фасоли и огурца, этиопатогенез и меры борьбы с ними. Благодаря ее исследованиям была установлена высокая эффективность серологических методов в ранней диагностике этих инфекций.

Р.М. Галачьян принадлежит многолетние исследования бактериозов опончных и технических культур. Ею были обнаружены в Армении многие бактериальные болезни, подробно изучены пути их распространения и рекомендованы меры борьбы с ними. Особенно много Ромеллой Михайловной было сделано в исследовании бактериального рака томатов, опубликованная ею в 1958г. монография стала крупным вкладом в эту область науки.

Впервые выявив в Армении это вредоносное карантинное заболевание, Р.М. Галачьян провела углубленные и разносторонние исследования, применив в своей работе ряд новых методов изучения как динамики заболевания, так и биологии его возбудителя. Она подробно изучала вопросы этиологии, механизма развития болезни, диагностики, условия распространения и вредоносности заболеваний, морфологические особенности возбудителя и его изменчивость.

В течение ряда лет Р.М. Галачьян проводила оригинальные исследования по изучению фитонцидных свойств различных растений. На основании полученных данных ею были обоснованы заключения об определенной роли фитонцидов в иммунитете растений. Эти данные, доложенные на Всесоюзных конференциях, вызвали большой интерес у многих фитопатологов.

Значительный научно-практический интерес представляют выполненные Р.М.Галачьян в последние годы работы по изучению возбудителей опухолей свеклы и других растений. Ей удалось выделить из культур этих бактерий метаболиты, резко стимулирующие рост ряда растений. В частности, было показано резкое усиление процессов корнеобразования некоторых трудно укореняющихся сортов винограда при обработке этими метаболитами. Эти исследования были доведены до широких производственных испытаний.

Р.М.Галачьян - автор 2 монографий и более 150 научных работ. Она активный участник многих союзных и международных конференций, пользовалась высоким авторитетом среди фитопатологов страны.

Усилиями Р.М.Галачьян подготовлены многочисленные кадры высококвалифицированных специалистов и научных работников.

Р.М.Галачьян отличалась исключительное трудолюбие, преданность науке, скромность и чуткое внимание к товарищам по работе.

Ромелла Михайловна Галачьян останется в памяти всех ее коллег и друзей.

Группа товарищей

ЕВА САРКИСОВНА АРУТЮНЯН

Научная общественность и редакция "Биологического журнала Армении" понесли тяжелую утрату, скончалась Ева Саркисовна Арутюнян - ответственный секретарь редакции и один из крупнейших микологов.

Е.С. Арутюнян родилась в 1924 году в Иркутске. Переехав в Армению, она поступила в Ереванский государственный университет, который окончила в 1951 г. по специальности "Ботаника". Затем поступила в аспирантуру ЕГУ на кафедру питных растений и в 1954 г. окончила ее успешной запиской диссертации на ученую степень кандидата биологических наук.

После защиты диссертации Ева Саркисовна продолжила научно-исследовательскую деятельность, совмещая ее с педагогической. С 1952 г. она ассистент, а с 1954 г. - доцент кафедры морфологии и систематики растений ЕГУ.

В 1956 г. Е.С. Арутюнян выехала по семейным обстоятельствам из республики и в течение года работала в Ташкенте. С 1958 по 1981 г. она работала в Москве сначала в ВИИТИ, а с 1961 г. - доцентом кафедры фитопатологии Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева.

Е.С. Арутюнян - автор монографии, практикума и 20 научных статей по актуальным вопросам лесной и сельскохозяйственной фитопатологии. Ее работы широко известны в кругу специалистов.

Ева Саркисовна никогда не прерывала своих связей с Арменией, с армянскими коллегами. В 1984 г. она переехала в Ереван и в том же году была утверждена в должности ответственного секретаря "Биологического журнала Армении".

Ева Саркисовна имеет большие заслуги в обеспечении качественного издания центрального органа биологической науки республики. Своей искренней преданностью делу, добросовестностью, высокой ответственностью она снискала уважение у членов редколлегии, сотрудников редакции и широкого круга авторов журнала. С характерным для нее стремлением к поиску, она старалась найти новые, часто оригинальные решения той или иной проблемы, связанной с изданием журнала, помогла молодым перспективным авторам почувствовать себя увереннее, ускоряя публикацию их статей в журнале.

Искренняя и отзывчивая, и в то же время требовательная и принципиальная, Ева Саркисовна навсегда останется в памяти тех, кто знал ее и работал с ней.

Редколлегия и редакция "Биологического журнала Армении"

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

<i>Աղաքանյան Ա.Ս.</i> Տոմատի տարբեր ծևերի և հիբրիդների ռեակցիան ծաղիկների ամորժատման նկատմամբ	3
<i>Հարությունյան Ռ.Ս., Սարտիրոսյան Կ.Յ., Շիրինյան Գ.Ս., Դազարյան Ա.Ա., Զոչար և Հ.Պ.</i> Թատմական Հայաստանի տարածքից գաղթածների անտրոպոգենետրկական ուսումնասիրությունը Ալաշկերտ (և Գետաշեն գյուղի բնակիչներ)	10
<i>Սինասրեկյան Լ.Ա., Դանիելյան Ի.Ս., Դարիրյան Զ.Կ., Վարդևանյան Պ.Օ., Փանոսյան Գ.Ա.</i> Դևձ-ի մեթիլացման մակարոդսկների և հալման պարամետրերի տարբերությունը հացազգիների ծլող սերմերում	14
<i>Պետրոսյան Ս.Թ., Աղաքանյան Զ.Ա., Շամցյան Ս.Գ., Պոպով Զ.Գ.</i> Կալլուսագոյացումը և օրգանոգենեզը տոպինամբուրի մեկուսացված հյուսվածքային կուլտուրայում	18
<i>Զաքարյան Ա.Պ., Կարագուլյան Է.Ա., Թոչումյան Ս.Հ.</i> Սիջավայրի որոշ ֆիզիկա-քիմիական պարամետրերի փոփոխությունը բակտերիաների անաերոբ աճի ընթացքում	21
<i>Աղաբալյան Ա.Ս., Զաքարյան Ռ.Ա., Դավթյան Օ.Յ.</i> Որոշ բիոպոլիմերների հակաուռուցքային ակտիվության համեմատական գնահատականը	26
<i>Հովհաննիսյան Հ.Գ., Բարսեղյան Ա.Ա.</i> Escherichia coli K-12 -ի սպիտակուց սինթեզող ապարատի կոմպոնենտների մուտացիաների ազդեցությունը կապսուլյար բազմաշաքարների առաջացման վրա	30
<i>Դազանյան Ա.Ֆ., Սամվելյան Վ.Ս., Զաքարյան Ռ.Ս.</i> Պոլիմուլեոսոիդները որոշ հատկանիշների ուսումնասիրությունը հատուկ ռեգեպցիայի վկայությունը	34
<i>Աղանյան Ս.Օ.</i> Հալոֆիլ բացիլների նոր շտամները	38
<i>Վարդանյան Ն.Ս.</i> Հայաստանի սուլֆիդային հանքավայրերից անջատված թերմոսպիրոֆիլ ծծումբ և երկաթ օքսիդացնող բակտերիաներ	43
<i>Չիտյան Կ.Կ.</i> Ալկալոֆիլ բացիլների համեմատական բնութագիրը	46
<i>Նիկողոսյան Վ.Գ.</i> Klebsiella ցեղի դիագնոստիկները գարու արմատային համակարգում	51
<i>Արեւյան Լ.Ա.</i> Կաթնաթթվի ստացման երկփուլային մեթոդ	54
<i>Չիլ-Հակոբյան Լ.Ա., Խյիստովսկի Ե.Դ., Աղանյան Ս.Օ., Կինոսյան Ա.Հ.</i> Bacillus thuringiensis կուլտուրաների միջատասպան ակտիվության որոշումը շերամորդի միջոցով	56
<i>Չիլինգարյան Կ.Հ.</i> Bacillus thuringiensis և Bacillus sphaericus լարվիցիդ կուլտուրաների կենսունակությունը և միջատասպան ակտիվության վերարտադրումը հողում	61

Համառոտ հաղորդումներ

<i>Առաքելյան Ա.Ն., Բախչիևա Զ.Ն.</i> Զուգորդական կեղևում անդրբրտային պատասխանների շերտային վերլուծումը մարմնագալակապ կեղևի քայքայումից հետո	65
<i>Սևոյան Գ.Գ., Զուրարյան Ա.Ա., Բրուտյան Ռ.Ա.</i> Սիջավայրի pH-ի կարգավորումը L-արգինինի ստացման ժամանակ, սինթեզի արգելակումը ազոտով հաղթահարելու համար	68
<i>Պարոնյան Ա.Խ., Սալաթյան Ա.Ն.</i> Ֆոտոսինթեզող բակտերիաների կենսազանգվածի նստեցումը կոագուլացման մեթոդով	70
<i>Մաժինյան Ա.Բ., Գասպարյան Ա.Վ., Տատինցյան Կ.Կ.</i> Լիզոցիմի ակտիվությունը պերիոդոնտիտով հիվանդների բջույն	72
<i>Պոպով Զ.Գ., Սկրտումյան Ս.Կ., Շերբակովա Ե.Ն.</i> Լոշտակի (Bryonia alba) հյուսվածքային կուլտուրան	75
<i>Մանուկյան Գ.Ս.</i> Սևանա լճի և Նրա վտակների գամարիդների չափակշռային բնութագիրը և զանգվածի էներգետիկական համարժեքը	77
<i>Սիրումյան Լ.Ս., Տերտերյան Հ.Ե.</i> Ուռազգիների (Salicaceae) վուս գարգացող գալանվակները (Diptera, Cecidomyiidae) Հայաստանում	80
<i>Հարությունյան Գ.Ս., Հարությունյան Ռ.Գ.</i> Նոր տվյալներ Հայաստանի դենդրաֆլորայի ցետոֆիտներկայացուցիչների պտուղների և սերմերի վնասատուների մասին	82
<i>Հովհաննիսյան Ռ.Օ., Նալբանդյան Ս.Ա.</i> Լաբորատոր պայմաններում մակերևութային լանջի հոսքով քիմիական էլեմենտների դուրս բերման որոշման եղանակ	84

Լրատու

Պանդեյան Կ.Ս. Հայաստանի էկոլոգիական հիմնահարցերը «Անցում դեպի զարգացում» ծրագրի նախագծում	85
Նահապետյան Խ. Հ., Սարգսյան Զ.Ս., Հարությունյան Ռ.Ս. Կաստակաչառ գիտնականը (Ծննդյան 70 ամյակի առթիվ)	88
Սարկոսյան Լ.Ս. Նորայր Սարտիրոսի Սիսակյան (Ծննդյան 90-ամյակին)	90
Ռոմելա Սիքալեյի Դալաշյան	93
Եզն Սարգսի Հարությունյան	94

СОДЕРЖАНИЕ

Աղաճյանյան Ա.Մ. Реакция разных форм и гибридов томата на кастрацию цветков	3
Արությունյան Ք.Մ., Մարտիրոսյան Կ.Յ., Շիրինյան Գ.Տ., Կազարյան Ա.Ա., Կոչար Ն.Ք. Антропогенетическое исследование выходцев с территорий исторической Армении. Алашкерт (жители села Н.Геташен)	10
Մինասբեկյան Լ.Ա., Դանիելյան Ի.Տ., Գարիբյան Ժ.Վ., Վարդևանյան Ս.Օ., Սանոսյան Գ.Ա. Различия в уровнях метилирования и параметрах плавления ДНК в сухих и прорастающих семенах злаковых	14
Սետրոսյան Մ.Դ., Աղաճյանյան Ժ.Ա., Շամցյան Մ.Գ., Սոբոլյով Կ.Գ. Каллусообразование и органогенез в изолированной культуре топинамбура	18
Հախարյան Ա.Ս., Կարապետյան Է.Ա., Կրիստյան Ա.Ա. Изменение некоторых физико-химических параметров среды в процессе анаэробного роста бактерий	21
Աղաբալյան Ա.Տ., Հախարյան Ք.Ա., Դավթյան Օ.Կ. Сравнительная оценка противовоспалительной активности некоторых биополимеров	26
Օհանեսյան Գ.Գ., Բարսեղյան Ա.Ա. Влияние мутаций компонентов белоксинтезирующей системы на образование капсулярных полисахаридов у <i>Escherichia coli</i> K-12	30
Կազանչյան Ա.Փ., Սամվելյան Վ.Մ., Հախարյան Ք.Ա. Исследование некоторых свойств полинуклеотидов: свидетельства специфической рецепции	34
Ադամյան Մ.Օ. Новые штаммы галофильных бацилл	38
Վարդանյան Ն.Տ. Термоацидофильные серо- и железоокисляющие бактерии из сульфидных месторождений Армении	43
Չիտչյան Կ.Վ. Сравнительная характеристика алкалофильных бацилл	46
Նիկողոսյան Վ.Գ. Дiazотрофы из рода <i>Klebsiella</i> в корневой системе ячменя	51
Աբելյան Լ.Ա. Двухступенчатый метод получения молочной кислоты	54
Չիլ-Առաքելյան Լ.Ա., Խլիստովսկի Է.Դ., Ադամյան Մ.Օ., Կինոսյան Մ.Ա. Определение инсектицидной активности культур <i>Bacillus thuringiensis</i> с использованием тутового шелкопряда	56
Չилингարյան Կ.Օ. Жизнеспособность и репродукция инсектицидной активности ларвицидных культур <i>Bacillus thuringiensis</i> и <i>Bacillus sphaericus</i> в почве	61

Краткие сообщения

Արաքոլյան Տ.Ն., Բախուբեկյան Զ.Ն. Послойный анализ транскрипционных ответов в ассоциативной коре после разрушения соматосенсорной коры	65
Տեղադրյան Գ.Գ., Զարգարյան Ա.Տ., Բրուտյան Ք.Ա. Регулирование pH среды при ферментации L-аргинина для преодоления ингибиции синтеза азотом	68
Սարգսյան Ա.Խ., Մալախյան Մ.Ն. Осаждение биомассы фотосинтезирующих бактерий методом коагуляции	70
Մախինյան Ա.Բ., Գասպարյան Ա.Վ., Կրիստյան Վ.Գ. Активность лизоцима в слюне больных периодонтитом	72
Սոբոլյով Կ.Գ., Մկրտչյան Մ.Կ., Շերբախովա Է.Ն. Введение в изолированную культуру <i>Brucella abortus</i>	75
Մանուկյան Գ.Մ. Размерно-весовая характеристика и энергетический эквивалент массы	75

гаммарид озера Севан и его притоков	77
Мирумян Л.С., Тертерян А.Е. Галлицы (Diptera, Cecidomyiidae), развивающиеся на ивовых (Salicaceae) в Армении	80
Арутюнян Г.А., Арутюнян Р.Г. Новые данные о вредителях плодов и семян ксерофитных представителей дендрофлоры Армении	82
Оганесян Р.О., Налбандян М.А. Метод определения выноса химических элементов поверхностно-склоновым стоком в лабораторных условиях	84

Хроника

Даниелян К.С. Основные экологические вопросы Армении в проекте программы "Переход к развитию"	85
Нахпетян Х.А., Саркисян Дж.С., Арутюнян Р.А. Заслуженный ученый (к 70 летию со дня рождения)	88
Маркосян Л.С. Нораир Мартиросович Сисакян (90 лет со дня рождения)	90
Ромелла Михайловна Галачян	93
Ева Саркисовна Арутюнян	94

CONTENTS

<i>Aghajanian A.M.</i> Reaction of different forms and hybrids of tomato on castration of flowers	3
<i>Harutyunian R.M., Martirosian K.Yu., Shinnian G.S., Kazanian A.A., Kochar N.R.</i> Antropogenetic investigation of population migrated from territory of historical Armenia. Alashkert (inhabitants of v. N.Getashen)	10
<i>Minasbekian L.A., Danielian I.S., Gharbian J.V., Vardevanian P.O., Panosian G.A.</i> Differences of levels of methylation and parameters of melting DNA in dry and growing seeds of cereals	14
<i>Petrosian M.T., Aghajanian J.A., Shantsian M.G., Popov Yu.G.</i> Callus formation and organogenesis in isolated tissue culture of topinambur	18
<i>Zakarian A.P., Karagouljian E.A., Trchounian A.H.</i> Alteration of some physico-chemical parameters of medium in anaerobic growth conditions of bacteria	21
<i>Aghabalian A.S., Zakharian R.A., Davtian O.Ya.</i> Comparative evaluation of antitumour activity of some biopolymers	26
<i>Hovhanissian H.G., Barseghian A.A.</i> The influence of mutations of protein synthesising system components on formation of capsular polysaccharides of <i>Escherichia coli</i> K-12	30
<i>Kazanchian A.F., Samvelian V.M., Zakharian R.A.</i> Study of some properties of polynucleotides: the evidence of specific reception	34
<i>Adamian M.O.</i> New strains of halophilic bacilli	38
<i>Vartanian N.S.</i> Thermoacidophilic sulfur and iron oxidizing bacteria isolated from sulfide ore deposits of Armenia	43
<i>Chichian K.V.</i> Comparative characteristics of alcalophilic bacilli	46
<i>Nikoghosian V.G.</i> Diazotrophs of the genus <i>Klebsiella</i> from root system of barley	51
<i>Abelian L.A.</i> Two-steps method for lactic acid production	54
<i>Chil-Hakobian L.A., Khlistovski E.D., Adamian M.O., Kinonian M.H.</i> Determination of insecticide activity of <i>Bacillus thuringiensis</i> cultures by <i>Bombyx mori</i>	56
<i>Chilingarian K.H.</i> Viability and reproduction of insecticide activity of <i>Bacillus thuringiensis</i> and <i>Bacillus sphaericus</i> larvicide cultures in soil	61

Short communications

<i>Arakelian S.N., Bakhchieva Z.N.</i> Analysis of layers of transcallosomal replies in associated cortex after destroying of somatosensory cortex	65
<i>Savoyan G.G., Zurabian A.S., Brutian R.A.</i> Regulation of pH medium during production of L-arginine for overcoming the inhibition of biosynthesis by nitrogen	68

<i>Paronian A.Kh., Malatian M.N.</i> Precipitation of phototrophic bacteria biomass by method of coagulation	70
<i>Mazhinian A.B., Gasparian A.V., Tatintsian V.G.</i> Lysozyme activity in saliva of patients with periodontitis	72
<i>Popov Yu.G., Mkrumian M.K., Sherbakova E.N.</i> Tissue culture of Bryonia alba	75
<i>Manoukian G.M.</i> Characteristics of size-wight and energetic equivalent of mass Gammarus ssp. of Lake Sevan and its flows	77
<i>Mirumian L.S., Terterian A.E.</i> Gall-midges phytophages (Diptera, Cecidomyiidae) developing on Salix (Salicaceae) in Armenia	80
<i>Harutyunian G.A., Harutyunian R.G.</i> New data about pests of fruits and seeds of xerophyte representatives of Armenian dendroflora	82
<i>Hovhanissian R.O., Nalbandian M.A.</i> Method for determination removal of chemical elements by surface slope in laboratory conditions	84

Chronics

<i>Danielian K.S.</i> Main ecological questions of Armenia in Project of Programme "Transition to development"	85
<i>Nshapetian Kh.A., Sarkisian J.S., Harutyunian R.A.</i> Distinguished scientist (70-th years birthday)	88
<i>Markossian L.S.</i> Norair M. Sisakian (90-th anniversary of the birthday)	90
<i>Romella M. Galachian</i>	93
<i>Eva S. Harutyunian</i>	94