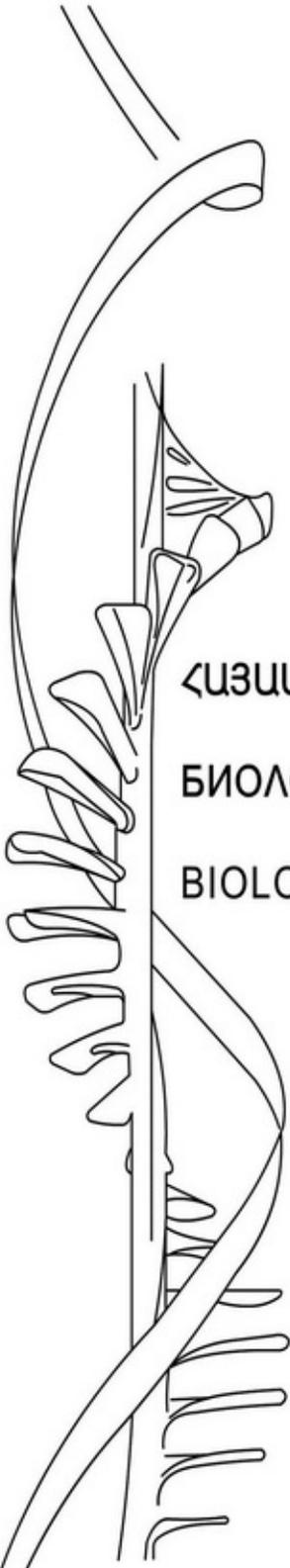




ISSN 0366-5119

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



ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

Выходит с 1948 года на армянском, русском и английском языках

«Հայաստանի կենսաբանական հանդեսը» հրատարակվում է Հայաստանի Օրոշությունների Ազգային Ակադեմիայի կողմից և տպագրում է հողագետական, կենդանաբանության, ֆիզիոլոգիայի, կենսաքիմիայի, կենսաֆիզիկայի, կենսաոնկոլոգիայի, 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.Գ.Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Մ.Մ.Ավագյան, Հ.Գ.Բակավաճյան, Մ.Ա.Պավթյան, Ժ.Դ.Ջակոբյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ), Ռ.Մ.Նարոթյունյան, Վ.Ն.Վազարյան, Պ.Ա.Ղանդիլյան, Կ.Գ.Ղարազյան, Մ.Խ.Մայրապետյան, Ա.Ն.Մովսիսյան, Ռ.Ն.Պապանյան (պարտասխանատու քարտուղար)

Խմբագրական խորհուրդ՝ Է.Գ.Աֆրիկյան (նախագահ), Յու.Թ.Ավետիսյան, Է.Յ.Գաբրիելյան, Ա.Ա.Գալոյան, Ա.Լ.Թախտաջյան, Պ.Ա.Խուրշուդյան, Բ.Յ.Ղարիբջանյան, Կ.Ա.Պողոսյան, Ա.Գ.Փանոսյան, Լ.Լ.Օսիպյան

Редакционная коллегия: Э.К.Африкян (главный редактор), Ц.М.Авакян, Ж.И.Ахонян (заместитель главного редактора), Р.М.Арутюнян, О.Г.Баклаваджян, П.А.Гандилян, М.А.Давтян, В.О.Казарян, К.Г.Карагезян, С.Х.Майрапетян, С.О.Мовсисян, Р.О.Паламян (ответственный секретарь)

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

Տնօրէնը՝ Ս.Մ.Խ.97 թ. Ստորագրուած է տպագրելու 04.11.97 թ. ԲՖ 02824
Բուրձնային օֆսէթ 1. Թպատն օֆսէթային. Թպ. լիւթ 9,0. Մշտ. լիւթ 9,8
Մշտ. լիւթ 8,4. Թպատն 250. Զակաւ 58.

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

Издательство Гитупон, 375019, пр. Маршала Баграмяна, 24 г.
Типография ООО "Ай Эдиг"
Адрес: Ереван, ул. Алабяна 41*

ДЕЙСТВИЕ МОЛИБДЕНА НА ПРОЦЕСС ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, АКТИВНОСТЬ АНТИОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ И МЕТАБОЛИЗМ ФОСФОЛИПИДОВ

Г.В. ЗАХАРЯН*, М.М. МЕЛКОНЯН*, К.Г. КАРАГЕЗЯН**

*Институт молекулярной биологии НАН Армении, 375044, Ереван

**Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци, 375025

Изучали процессы перекисного окисления липидов, содержание и состав фосфолипидов, а также активность супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы в печени белых крыс при введении различных доз молибдена. Установили, что под влиянием молибдена наблюдается увеличение количества перекиси и снижение уровня ферментов антирадикальной защиты клетки. Показана ведущая роль увеличения лизофосфатидилхолинов в изменении уровня общих фосфолипидов.

Աստվանաիրվել են լիպիդների պերօքսիդացիոն պրոցեսները, ֆոսֆոլիպիդների պարունակությունն ու կազմը, ինչպես նաև գերօքսիդիզիմուտազի, գլուտատիոնպերօքսիդազի, գլուտատիոնրեդուկտազի ֆերմենտային ակտիվությունները սպիտակ առնետների լյարդում, մոլիբդենի տարբեր դոզաներ ներարկելիս: Հայտնաբերվել է, որ մոլիբդենի մեծաքանակ ընդունման դեպքում նկատվում է պերօքսիդացիոն պրոցեսների արագորյան ուժգնացում և զբջի հակառադիկալային պաշտպանության ֆերմենտների ակտիվության անկում: Ցույց է տրվել սպիտակ առնետների լյարդի իյոսվածքներում լիզոֆոսֆատիդիլխոլինների պելեացման առաջատար դերը ընդհանուր ֆոսֆոլիպիդային մակարդակի փոփոխության մեջ:

Lipid peroxidation, processes the contents and composition of phospholipids, as well as the activity of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione reductase were studied in rats liver tissue at injection of various doses of molybdenum. The increase of peroxide and the decrease of level of the cell antimicrobial protection enzymes were observed under the influence of molybdenum. The leading role of the lysophosphatidylcholines increase in alteration of the level of total phospholipids was revealed.

Молибден - фосфолипиды - перекисное окисление - антиокислительные ферменты - супероксиддисмутаза - глутатионпероксидаза

Согласно современным представлениям [2,5], уровень активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) является следствием неакцепторной функции молекулярного кислорода, непосредственно взаимодействующего с метаболитами, что возможно в случае образования активированных форм кислорода или при отсутствии в среде радикалов, т.е. неспаренного электрона, обладающего высоким уровнем реакционной способности. В связи с отмеченным особого внимания заслуживает

образование в клетке активных форм кислорода в виде анион радикала ($O_2^{\cdot-}$) и синглетного кислорода. В физиологических условиях уровень указанных разновидностей кислорода оказывается строго лимитированным благодаря наличию в тканях ферментов, участвующих в реакциях ингибирования их образования на стадии активации кислорода - супероксиддисмутазы (СОД) и способствующих утилизации высоких концентраций гидроперекисей - глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГП).

Исходя из вышесказанного, нами была поставлена цель проследить за динамикой процесса перекиссообразования, изменениями активностей СОД, ГП, ГР и состава фосфолипидов в печени на фоне молибденовых отравлений.

Материал и методика. Исследование проводили на беспородных белых крысах обоего пола массой 150-200г, получавших ежедневно с помощью pipетки на протяжении 30 дней водный раствор молибденовокислого натрия (Na_2MoO_4), что в пересчете на элементарный молибден соответствует его 50, 100, 300, 500 мкг/кг массы.

Гомогенизирование печеночной ткани проводили в среде, содержащей 0,25М сахарозу и 0,01М трис-НС буфер, рН 7,4. Микросомальную фракцию выделяли центрифугированием (ВАК-60) при 105000g [1] из надосадочной жидкости, полученной после осаждения митохондрий (К-24) при 11000g. Активность реакции ПОЛ определяли в ферментативной - НАДФН - и в неферментативной - аскорбат-зависимой системах окисления по интенсивности развития розового окрашивания, обусловленного образованием хромогена в реакции комплексования малонового альдегида с тиобарбитуровой кислотой [2]. Определение содержания общего белка осуществляли методом Лоури [7]. Активность СОД - по дисмутированию $O_2^{\cdot-}$ в модельной системе, содержащей фенозинметасульфат, НАДН, нитрозодий тетраэний [8]. Активность ГП и ГР - по восстановлению глутатиона в глутатионпероксидазной реакции [9].

Фракционирование индивидуальных фосфолипидов проводили методом одномерной хроматографии в тонком слое силиката с использованием системы растворителей: хлороформ-метанол-аммиак 65:35:5. Фосфолипидные пятна идентифицировали с помощью соответствующих свидетелей. Минерализацию липидного фосфора осуществляли в среде серной и азотной кислот с последующим расчетом неорганического фосфора в микрограммах на 1г сухой массы [3].

Статистическую значимость результатов исследований оценивали методом Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Согласно проведенным исследованиям (табл.1), введение молибдена сопровождается активированием реакций перекиссообразования как в аскорбат-, так и НАДФН-зависимых системах перекисления липидов. У животных контрольной группы существенных отклонений и интенсивности выхода малонового альдегида (МДА) не наблюдали. Максимальные сдвиги в интенсивности течения реакций свободнорадикального окисления (СРО) липидов, особенно в неферментативной системе окисления, были зарегистрированы при 30-дневной заправке высокими дозами (300 и 500 мкг/кг). Учитывая зависимость течения реакций ПОЛ от состояния ферментных систем антиокислительной защиты клетки, обусловленной уровнем ее обеспеченности веществами антиоксидантного действия, мы проводили серию экспериментов по изучению активностей СОД, ГП и ГР. Согласно табл.2, эффекты молибдена сопровождаются развитием заметного дозозависимого уменьшения активности СОД в печени, особенно при его

ДЕЙСТВИЕ МОЛИБДЕНА

Таблица 1. Динамика содержания перекисей липидов (н/моль малонового диальдегида на 1 мг белка) в микросомальной фракции печени белых крыс при молибденовом токсикозе (n=6)

Дни исследований	Дозы, мг/кг	Аскорбатзависимое перекисление		НАДФН-зависимое перекисление	
К о н т р о л ь		9,53±0,56		7,69±0,58	
10	50	11,17±0,64	P<0,1	10,46±1,10	P<0,05
	100	12,58±0,51	P<0,01	11,42±0,69	P<0,02
	300	14,81±0,61	P<0,001	13,71±0,53	P<0,002
	500	17,77±0,88	P<0,001	17,49±0,32	P<0,001
20	50	16,17±0,12	P<0,01	14,75±0,85	P<0,001
	100	17,51±1,00	P<0,001	15,28±1,08	P<0,001
	300	21,56±0,63	P<0,001	14,04±0,93	P<0,002
	500	24,05±1,35	P<0,001	19,48±0,82	P<0,001
30	50	14,66±0,83	P<0,001	14,80±0,53	P<0,001
	100	18,41±0,77	P<0,001	16,81±0,63	P<0,001
	300	25,51±1,12	P<0,001	23,12±1,10	P<0,001
	500	26,35±0,92	P<0,001	25,99±0,88	P<0,001

Таблица 2. Динамика изменений супероксиддисмутазы (ед.активности/мг белка), глутатионпероксидазы (мкмоль глутатиона/мг белка) и глутатионредуктазы (мкмоль НАДН/мг белка) в печеночной ткани белых крыс при действии различных доз молибдена (n=7)

Дни исследований	Дозы, мг/кг	СОД	ГП	ГР
К о н т р о л ь		25,60±0,31	3,18±0,12	0,05±0,0039
10	50	20,25±0,60 а	3,68±0,25 г	0,065±0,004 б
	100	18,98±0,33 а	3,72±0,32 г	0,059±0,003 г
	300	16,32±0,41 а	3,83±0,25 б	0,056±0,005 в
	500	16,00±0,26 а	3,70±0,18 б	0,060±0,003 в
20	50	18,35±0,51 а	2,23±0,18 а	0,040±0,0034 б
	100	17,26±0,43 а	2,28±0,23 г	0,038±0,002 в
	300	15,38±0,34 а	2,03±0,09 а	0,038±0,003 в
	500	14,17±0,03 а	2,00±0,15 а	0,043±0,001 в
30	50	15,73±0,35 а	1,62±0,10 в	0,037±0,002 в
	100	14,32±0,28 а	1,52±0,21 а	0,035±0,004 в
	300	13,28±0,20 а	1,48±0,17 а	0,018±0,003 а
	500	12,77±0,11 а	1,37±0,19 а	0,016±0,002 а

Примечание "а" - P<0,001; "б" - P<0,01; "в" - P<0,02; "г" - P<0,1.

высоких концентрациях - 300 и 500 мг/кг. Отмеченные сдвиги мы склонны объяснить повышением при изученном токсикозе содержания активных форм кислорода (супероксидный анион, перекись водорода, липоперекиси). Как известно, образование (·) в клетках происходит при

участии молибденсодержащих ксантинооксидазы, альдегидоксидазы, пероксидазы, наиболее активирующихся при молибденозе [4]. Цитотоксичность O_2^* обусловлена ее способностью трансформироваться в другие сильнодействующие разновидности окислителей - гидроксильный радикал (ОН) и синглетновозбужденную молекулу кислорода [6]. Вместе с тем известно об уменьшении содержания меди при избыточном поступлении в организм молибдена [4]. Нам представляется, что причиной понижения активности СОД может быть истощение ее содержания вследствие дефицита в организме меди, необходимой для биосинтеза медьсодержащей СОД.

По данным табл. 2, при действии малых доз молибдена наблюдается повышение активностей ГП и ГР, а при более высоких - 300 и 500 мг/кг, наоборот, понижение. Активирование ГП при воздействии малых доз молибдена может рассматриваться как проявление компенсаторно-приспособительной антирадикальной реакции организма, постепенно утрачиваемой по мере увеличения его дозировки с одновременно развивающимся ингибированием активностей СОД, ГП и ГР. Вышеуказанное позволяет сделать вывод о стимулирующем воздействии молибдена на интенсивность течения реакции СРО липидов со значительным выходом перекисей липидов, что в известной степени обусловлено ингибирующим воздействием высоких концентраций молибдена на активность СОД, ГП и ГР. Низкие дозы молибдена оказывают на ГП и ГР стимулирующее влияние.

Известно, что перекисное окисление затрагивает фосфолипидные компоненты клетки. Исходя из этого, нам было интересно проследить за качественным и количественным содержанием фосфолипидов при затравке молибденом животных в различные сроки. Как видно из табл. 3, молибденовый токеникоз сопровождается уменьшением в печени количества

Таблица 3. Содержание фосфолипидов (% от общего количества фосфолипидов) в печени белых крыс, получавших молибден (n=7)

Дни исследований		10				20				30				
дозы, мг/кг		50	100	300	500	50	100	300	500	50	100	300	500	
ФЛ	Контроль													
ЛФХ		10,48	17,08	22,28	25,84	27,79	17,72	22,86	24,58	28,68	23,80	25,87	27,70	28,58
СФМ		10,54	10,14	10,13	10,47	10,75	11,83	10,06	11,03	10,18	10,07	9,95	11,04	11,04
МФИФ		5,48	6,26	6,14	6,27	6,42	6,32	6,15	6,56	7,15	6,54	6,90	6,89	6,84
ФХ		25,94	20,07	17,14	15,29	15,15	18,83	17,97	15,93	14,08	17,39	15,55	14,70	14,67
ФС		15,54	16,26	15,48	13,57	13,33	14,37	13,49	12,08	11,12	14,08	12,20	11,18	10,90
ФЭ		17,15	13,35	11,64	11,44	9,07	13,17	12,02	11,59	9,75	10,70	10,97	10,12	9,57
КЛ		14,90	16,79	17,14	17,09	17,45	17,72	17,41	18,15	19,00	17,39	18,53	18,28	18,37

Примечание: ЛФХ - лизофосфатидилхолин; СФМ - сфингомиелин; МФИФ - монофосфоинозитидфосфатид; ФХ - фосфатидилхолин; ФС - фосфатидилсерин; ФЭ - фосфатидилэтаноламин; КЛ - кардиолипин.

ФХ, ФЭ, ФС, т.е. именно тех липидов, в составе которых имеются β -ацилы ненасыщенных жирных кислот. Наблюдается увеличение количества ЛФХ, что связано с усилением процесса перекисидации липидов, с одной стороны, и повышением активности фосфолипазы A_2 - с другой. Количество сфингомиелина не претерпевает каких-либо существенных отклонений, что объясняется его структурой, содержащей в своем составе насыщенные жирные кислоты, которые более устойчивы к окислению. Большой интерес вызывает изменение содержания МФИФ и КЛ. Благодаря наличию диссоциированных фосфатных групп МФИФ обладают ярко выраженными анионными и гидрофильными свойствами, что позволяет им в силу своей электроотрицательности при физиологических значениях рН влиять на общий заряд мембран клеток. Результаты наших исследований показали увеличение содержания МФИФ и КЛ, что, по всей видимости, связано с компенсаторно-приспособительными механизмами, направленными на нормализацию отмеченных отклонений. Таким образом, изменение скорости окислительных реакций в печени при молибденовом токсикозе связано с изменением состава фосфолипидов, приводящим к нарушению липид-белковых взаимодействий, что может иметь немаловажное значение в патогенезе молибденоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арчаков В.И., Девичинский В.М. Биохимия, 33, 479-482, 1968.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
3. Зубер В.Л. В кн.: Методы биохимических исследований. Л., 1982
4. Машипян А.Х. Канд. дисс., Ереван, 1981.
5. Осипов А.Н., Азизова А.О., Владимиров Ю.А. Усп. биол. химии, 31, 180, 1990.
6. Швинка Ю.Э. В кн.: Биомембраны. Структура и медицинские аспекты. Рига, 1981.
7. Lowry O.H. et al. J. Biol. Chem., 153, 265-273, 1951.
8. Nishikimi M., Rao N.A. Biochem. Biophys. Res Commun., 116, 849-853, 1972.
9. Pinto R.F., Bartley W. J. Biochem., 115, 440-456, 1969.

Поступила 31.VIII.1997

ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОГО ЦЕНТРА ЦИКЛОМАЛЬТОДЕКСТРИН ГЛЮКАНОТРАНСФЕРАЗЫ *BACILLUS HALOPHILUS*

В.А. АБЕЛЯН*, К.Б. АФЯН*, Л.С. МАНУКЯН*, М.О. АДАМЯН**

*Институт микробиологии ИАН,

**Республиканский Центр депонирования микробов ИАН и
Министерства образования и науки Армении, 378510, г. Абовян

Очищенная до гомогенного состояния цикломальтодекстрина глюкозотрансфераза (ЦГТ, КФ 2.4.1.19) из *Bacillus halophilus* ИММА-3849 была подвергнута фотоинактивации и модифицированию диэтилпирокарбонатом в присутствии салицина, акарбозы и полимера β -циклодекстрина (ЦД). Установлено, что в каталитическом акте ЦГТ существенное участие принимают карбоксильная и две имидазольные группы гистидина, которые выполняют роль нуклеофильно-электрофильной пары.

Bacillus halophilus ԻՆՄԻԱ-3849 շտամի մինչև համաժեռ վիճակ մաքրված ցիկլոմալտոդեքստրին գլյուկանոտրանսֆերազը (ՑԳՏ, ՖԿ 2.4.1.19) ենթարկվել է ֆոտոինակտիվացիայի և դիէթիլպիրոկարբոնատով մոդիֆիկացիայի սալիցինի, ակարբոզի և β -ցիկլոդեքստրինի (ՑԴ) պոլիմերի ներկայությամբ: Հաստատվել է, որ ՑԳՏ-ի կատալիտիկ ակտում էական նշանակություն ունեն հիստիդինի կարբոքսիլ և երկու իմիդազոլ խմբերը, որոնք կատարում են նուկլեոֆիլ-էլեկտրոֆիլի գույզի դեր:

The photoinactivation and modification by diethylpyrocarbonate of the homogeneous cyclomaltoextrin glucanotransferase (CGTase, EC 2.4.1.19) produced by *Bacillus halophilus* INMIA-3849 have been developed in the presence of salicin, acarbose and β -cyclodextrin (CD) polymer. The carboxyl and two imidazole groups of histidine, playing the role of nucleophilic-electrophilic pair, are very important in the catalytical action of CGTase.

Bacillus halophilus - цикломальтодекстрин глюкозотрансфераза -
диэтилпирокарбонат

Активный центр цикломальтодекстрин глюкозотрансфераз (ЦГТ, КФ 2.4.1.19) состоит из двух отдельных участков - акцепторного и донорного [2,3,6,13] и имеет большую гомологию с α -амилазами [12,14,16,18]. Аналогично α -амилазам ЦГТ состоит из четырех глобулярных участков, из которых А и В идентичны таковым α -амилаз, в то время как участки С и D являются характерными только для ЦГТ [19,23]. В циклизации мальтоолигосахаридов важную роль играет COOH-концевой участок фермента [17,26,27], однако немаловажное значение имеет и NH₂-участок [15].

Необходимым условием для циклизации является взаимодействие субстрата с обоими участками одновременно [5].

В развитие наших предыдущих работ, касающихся характерных особенностей новых ЦГТ из галофильных бактерий [3,5], в настоящей статье обобщены результаты изучения активного центра ЦГТ *Bacillus halophilus* ИММА-3849 методами фотоокисления и модифицирования диэтилпирокарбонатом (ДЭПК).

Материал и методика. В качестве продуцента ЦГТ использовали культуру *B. halophilus* ИНМИА-3849, выращивание которой осуществляли по ранее описанной методике [3].

Очистка фермента и его основные характеристики описаны в предыдущей работе [3].

Фотоокисление ЦГТ осуществляли при разных значениях pH и температуры в присутствии 25 мкМ метиленовой сини при 20°, освещая пробы лампой дневного света мощностью 150 Вт на расстоянии 10 см. Контролем служили пробы с той же концентрацией фотосенсибилизатора, находящиеся в темноте, а также образцы, освещавшиеся тем же источником света, но в отсутствие метиленовой сини [8,9].

Модификацию ДЭПК осуществляли по методу Майсса [24]. Для этого к 20,2 мкМ (1,13 мг/мл) раствора ЦГТ в 0,02 М фосфатном буфере, pH 6,2, содержащем 1 мМ CaCl₂, добавляли 100-кратный молярный избыток ДЭПК в абсолютном этаноле и регистрировали прирост поглощения при 240 нм, характеризующий образование N-этоксиформилимидазола.

В экспериментах в присутствии эффекторов концентрации салицина и акарбозы равнялись 5 мМ, а количество полимера β-ЦД - 2 мг/мл. Для расчета числа модифицированных остатков использовали коэффициент молярной экстинкции N-карбокситоксигистиллина, равный 3200 М⁻¹ см⁻¹ [25], по формуле [29]:

$$n = \Delta A_{240} / l \cdot 20,2 \cdot 10^{-4} \cdot 3200,$$

где ΔA_{240} - это [$A_{240}(\text{с. цгт.}) - A_{240}(\text{т.м. цгт.})$] через 40 мин; $l \cdot 10^{-4}$ - ширина реакционной ячейки, см; 20,2 · 10⁻⁴ - молярная концентрация ЦГТ.

Реактивацию модифицированной ЦГТ осуществляли добавлением 0,5 М раствора гидроксиламина (pH 7,0).

Циклизирующую активность ЦГТ определяли метилоранж-малъюттриозным методом [22]. За единицу активности принимали количество фермента, которое продуцировало 1 мкмоль ЦД в 1 мин в условиях эксперимента. Декстринизирующую активность определяли согласно описанному методу [4]. За единицу активности принимали количество фермента, которое за 10 мин в заданных условиях реакции конвертировало 50% крахмала.

α-ЦД специфическую активность идентифицировали с применением метилоранжа [20]. Реакционную смесь (3 мл), содержащую 0,6 мл 5%-ного крахмала в 0,05 М фосфатном буфере (pH 7,0), 0,1 мл 1 мМ метилоранжа в том же буфере, 2 мл того же буфера и 0,3 мл ферментного раствора, инкубировали при 40° в течение 10 мин. Реакцию останавливали добавлением 0,15 мл 6N HCl, оставляли при 15-16° в течение 30 мин; экстинкцию определяли на спектрофотометре СФ-46 при 505 нм.

β-ЦД специфическую активность определяли по известному методу с применением фенолфалеина [28], количество различных ЦД - методом ВЭЖХ в ранее описанных условиях [3]. Белок определяли по Лоури [21], используя БСА в качестве стандарта.

Приготовление полимера β-ЦД проводили согласно ранее описанному методу [1].

В работе использовали крахмал, ДЭПК и ЦД производства "Sepra" (Германия), салицин - "Aldrich" (США), акарбозу - "Bayser" (Германия), а также реактивы отечественного производства.

Результаты и обсуждение. 1. Фотоокисление функциональных групп ЦГТ в присутствии метиленовой сини. Типичной реакцией на имидазольную группу гистидина является ее фотоокисление в присутствии метиленовой сини, играющей роль фотосенсибилизатора [9]. Фотоокисление приводит к разрыву гетероцикла имидазола и инактивации фермента. Результаты экспериментов показали, что ЦГТ подвергается интенсивной фотоинактивации (рис.1). С увеличением pH, т.е. с уменьшением концентрации H⁺-ионов в среде, скорость фотоинактивации возрастает, что свидетельствует о присутствии имидазольной группы гистидина, которая, как известно, выполняет роль "ловушки" протонов [7]. Такими свойствами ни фенольное кольцо тирозина, ни индольная группа триптофана, которые также способны фотоокисляться, но с меньшей

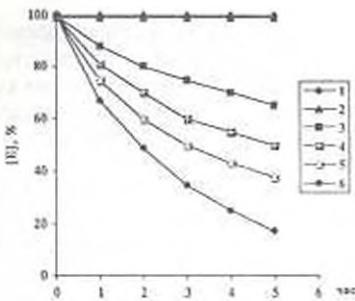


Рис. 1. Инактивация ЦГТ *B. halophilus* ИИМИА-3849 фотоокислением при различных рН. 1 - без метиленовой сини в темноте при рН 7,0; 2 - с метиленовой синью на свету; 3 - инактивация при рН 5,0; 4 - рН 6,0; 5 - рН 7,0; 6 - рН 9,0.

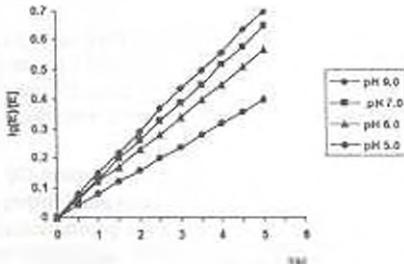


Рис. 2. Изменение $\lg[E_0]/[E]$ во времени. $[E_0]$ и $[E]$ - исходная и в данный момент времени процентная концентрации фермента соответственно, определяемые по начальной скорости реакции.

Таблица 1. Изменение pK_2 активной группы ЦГТ *B. halophilus* ИИМИА-3849 в зависимости от температуры при фотоокислении

Температура, К	pK_2
293	5,5
303	5,7
313	5,8
318	5,9

2. Модификация имидазольной группы гистидина с помощью ДЭПК.

Для подтверждения предположения о возможности участия имидазольной группы в каталитическом акте ЦГТ было исследовано влияние ДЭПК на активность фермента. Выявлено, что этоксикарбонилирование этой группы приводит к быстрой инактивации ЦГТ (рис.3). Однако данный эффект, возможно, связан также с реакцией фенольной группы тирозина и/или с ϵ - NH_2 -группой лизина, а также индольным кольцом триптофана и SH-

скоростью, не обладают [10,11].

При высокой концентрации в среде H^+ -ионов имидазольная группа положительно заряжена, что является препятствием для отдачи электронов под действием фотонов света. С увеличением рН среды имидазольная группа отдает протоны, пропорционально растет скорость фотоокисления группы. Зависимость $\lg[E_0]/[E]$ от времени t является линейной (рис.2) и процесс фотоинактивации относится к реакции первого порядка. При этом точка пересечения прямых на кривой $\lg k = f(pH)$ находится при рН 6,3, соответствующей pK имидазольной группы.

Выявлено также, что с увеличением температуры pK_2 возрастает (табл.1).

Воспользовавшись этими данными, из кривой зависимости pK_2 от $1/T$ мы рассчитали теплоту ионизации искомой группы. Она равнялась 7270 ± 200 кал/моль и соответствовала теплоте ионизации имидазольной группы гистидина.

группой цистеина [7]. Поэтому для точного установления причин инактивации фермента были сняты спектры поглощения модифицированного фермента при различных значениях длины волны, так как известно, что образование карбэтоксигистидина приводит к увеличению поглощения при 242 нм, а более медленная модификация фенольного остатка тирозина - к уменьшению поглощения при 278 нм [11]. Из полученных нами результатов видно, что ДЭПК модифицирует преимущественно имидазольное кольцо гистидина, хотя имеет место также медленное окисление фенольного остатка тирозина (рис.4).

Известно также, что если инактивация фермента обусловлена этоксикарбонилированием имидазольной группы гистидина, то с помощью деацилирования гидроксиламином можно осуществить реактивацию [7], что не наблюдается при модификации SH-группы цистеина и ϵ -NH₂-группы лизина. В нашем случае специфичность ДЭПК к имидазольной группе подтверждается тем, что гидроксиламин реактивирует ЦГТ примерно на 75% (рис.3). Следует отметить, что при модификации снижаются одновременно как декстринизирующая, так и циклизирующая активности.

Установлено также, что глюкоза, мальтоза, мальтотриоза и салицин являются конкурентными ингибиторами для изучаемого фермента, приводящими к уменьшению циклизирующей, но увеличивающими декстринизирующую активности. В их присутствии V_{max} реакции не меняется, однако значение K_m увеличивается с повы-

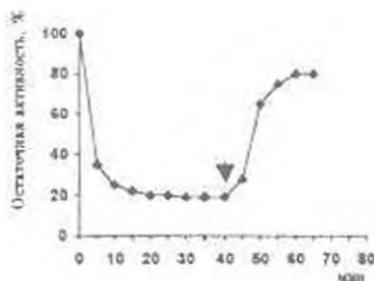


Рис.3. Динамика инактивации ЦГТ при модификации ее с помощью ДЭПК. Стрелка указывает на начало реактивации под действием гидроксиламина.

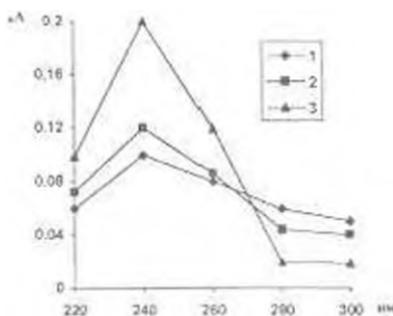


Рис.4. Изменение спектров поглощения ЦГТ под действием ДЭПК. (20,2 мкмоль ЦГТ; 2,5 мМ ДЭПК; pH 6,2, 20°). 1 - через 10 мин; 2 - 20 мин; 3 - 40 мин.

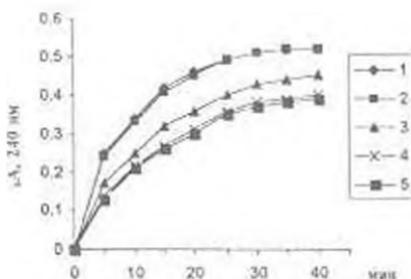


Рис.5. Изменение оптической плотности раствора ЦГТ при 240 нм в зависимости от продолжительности действия ДЭПК. (20,2 мкмоль ЦГТ; 2,5 мМ ДЭПК; pH 6,2; 30°). 1 - только ЦГТ; 2 - ЦГТ с 5 мМ салицином; 3 - ЦГТ с 5 мМ акарбозой; 4 - ЦГТ с 5 мМ салицином и 5 мМ акарбозой; 5 - ЦГТ в сочетании с 2 мг/мл полимера β-ЦД.

шением их концентрации в среде. С другой стороны, в присутствии акарбозы происходит одновременное уменьшение значения как V_{max} , так и K_m (табл. 2), т.е. акарбоза является бесконкурентным ингибитором. На основании этого салицин, акарбоза и полимер β -ЦД были применены в качестве защитных агентов при модификации. Показано, что применение только салицина не дает никакого эффекта, в то время как полимер β -ЦД, а также акарбоза и ее смесь с салицином несколько уменьшают степень этоксиформилирования (рис.5).

Таблица 2. Влияние различных ингибиторов на ЦГТазную активность

Ингибитор/ эффектор	Тип ингиби- рования	K_m , мг/мл	V_{max} , мг/мин	Диспро- порцио- нирова- ние	Модификация с помощью ДЭПК		
					модифи- цирован- ные гис- тидило- вые остатки	защищен- ные гис- тидило- вые остатки	остаточ- ная актив- ность, %
без добавок	-	2,50	0,660	±	8	0	21,0
Глюкоза	конкурент	2,45	0,660	+++	7,9	0	22,0
Мальтоза	конкурент	2,43	0,662	+++	7,9	0	24,1
Мальтотриоза	конкурент	2,43	0,662	+++	7,8	0	25,0
Салицин	конкурент	2,42	0,660	++++	8,0	0	30,0
Акарбоза	бесконк.	0,30	0,092	±	7,0	1	50,0
Полимер β -ЦД	не опре- деляли	не опре- деляли	не опре- деляли	не опре- деляли	6,0	2	95,0
Акарбоза+ салицин	не опре- деляли	не опре- деляли	не опре- деляли	не опре- деляли	5,9	2	97,0
Акарбоза+ β -ЦД	не опре- деляли	не опре- деляли	не опре- деляли	не опре- деляли	6,0	2	95,3

Примечание: (+) - слабое диспропорционирование, (±) - некоторое подавление диспропорционирующей активности.

При этом если в присутствии салицина, как и без него, модифицируются 8 остатков гистидина, то при акарбозе и ее смеси с салицином - 7 и 6 остатков соответственно (рис.6), т.е. они способны защищать 1 и 2 имидазольные группы гистидина соответственно.

Защитный эффект 2-х гистидильных групп достигается также при применении β -ЦД с акарбозой и полимера β -ЦД. Если после модификации с помощью ДЭПК ЦГТ сохраняет всего около 21% исходной активности, то в случае с салицином - около 30%, акарбозой - 50%, комбинацией акарбоза + салицин - 97,0%, полимером β -ЦД - 95% (рис.7), т.е. существует прямая связь между защищенными гистидиловыми остатками и остаточной активностью ЦГТ (рис.8). Два гистидиловых остатка, защита которых приводит к сохранению активности, могут быть расположены в активном центре ЦГТ.

Таким образом, тот факт, что салицин, связывающийся с акцепторным центром, сам по себе не защищает гистидиловые группы при модифицировании ЦГТ с помощью ДЭПК, а в сочетании с акарбозой, которая защищает 1 гистидиловый остаток, защищает 2 такие группы.

подтверждает ранее сделанное предположение о присутствии в активном центре ЦГТ донорного и акцепторного участков [2,3,6].

Тот факт, что защита одного гистидилового остатка при модификации ЦГТ с помощью ДЭПК на 50% сохраняет необходимую специфическую активность, а двух – до 97,0%, указывает на то, что и каталитическом акте ЦГТ важную роль играют два гистидиловых остатка, которые, видимо, локализованы в донорном подцентре. При этом в каталитическом акте могут участвовать или оба остатка одновременно, или же только один из них. В последнем случае, когда донорный подцентр не находится в акцепторно-индуцированной конформации, акарбоза может взаимодействовать с ним двумя типами эквипотенциальной связи, но при каждом из них защищался бы только один гистидиловый остаток. В присутствии акцептора акарбоза может связываться одним единственным, более эффективным путем, приводящим к защите обоих гистидиловых остатков в активном центре и сохраняющим полную ферментативную активность при модификации, т.е. акцепторный центр имеет предварительно связывающую функцию, приводящую к изменениям конформации всего активного центра и ориентирующую связывание донора в положении, необходимом для трансгликозилирования.

Вероятно, в каталитическом центре ЦГТ карбоксильная и имидазольная группы выполняют роль нуклеофильно-электрофильной пары, под действием которой происходит разрыв связи С-О с оттягиванием электронов к имидазольной группе и их уходом от карбоксилат-

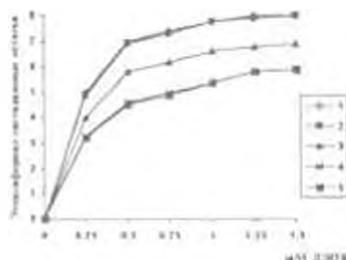


Рис. 6. Определение гистидиловых остатков в модифицированной ЦГТ через 40 мин при 30°. Условия см. на рис. 4 и в тексте. 1 - только ЦГТ; 2 - ЦГТ с 5 мМ салицином; 3 - ЦГТ с 5 мМ акарбозой; 4 - ЦГТ с 5 мМ салицином и 5 мМ акарбозой; 5 - ЦГТ в сочетании с 2 мг/мл полимером β-ЦД

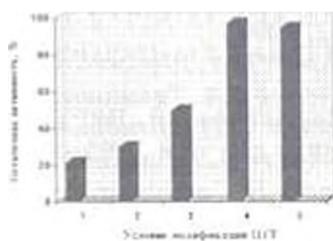


Рис. 7. Остаточная активность ЦГТ через 40 мин модификации при 30°. Условия см. на рис. 4 и в тексте. 1 - ЦГТ только (20,2 мкмоль); 2 - ЦГТ с салицином (5 мМ); 3 - ЦГТ с акарбозой (5 мМ); 4 - ЦГТ с салицином (5 мМ) и акарбозой (5 мМ); 5 - ЦГТ с полимером β-ЦД (2 мг/мл).

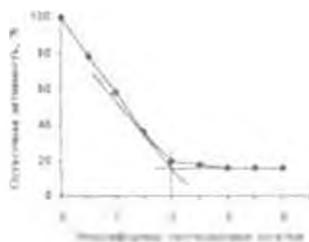


Рис. 8. Зависимость остаточной активности ЦГТ от количества восстановленных гистидиловых остатков. Данные пересчитаны от кривой 1 рисунка 6.

Авторы выражают признательность сотрудникам лаборатории биотрансформации Института микробиологии НАН Армении В.С. Меликсетян и С.Я. Балаян за техническую помощь при выполнении данного исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абелян В.А., Ямамото Т., Африкян Э.Г. Биохимия, 59, 778-787, 1994.
2. Абелян В.А., Ямамото Т., Африкян Э.Г. Биохимия, 59, 1122-1129, 1994.
3. Абелян В.А., Адамян М.О., Абелян Л.А. Биохимия, 60, 898-904, 1995.
4. Абелян В.А., Гаспарян А.В., Авакян З.Г., Африкян Э.Г. Биохимия, 56, 1578-1582, 1991.
5. Абелян В.А., Адамян М.О., Абелян Л.А., Балаян А.М., Африкян Э.Г. Биохимия, 60, 891-897, 1995.
6. Абелян В.А., Афан К.Б., Авакян З.Г., Мелкумян А.Г., Африкян Э.Г. Биохимия, 60, 1600-1608, 1995.
7. Буник В.И., Гомазкова В.С. Биохимия, 52, 1235-1247, 1987.
8. Жеребцов Н.А., Корнеева О.С., Тертычная Т.Н. Биохимия, 60, 1253-1262, 1995.
9. Ковалева И.А., Дорошко А.И., Коган З.С. Биохимия, 49, 1253-1262, 1984.
10. Кочетов Г.А. Тиампиновые ферменты. Наука, М., 74, 1978.
11. Лосева Л.П., Бендианишвили М.В., Шатилов В.Р., Шубин В.В., Кретович В.Л. Биохимия, 51, 840-849, 1986.
12. Bender H. Carbohydr. Res., 209, 145-153, 1991.
13. Bovetto L.J., Villette J.R., Fontain I.F., Sicard P.J., Bouquetlet S.J.L. Biotechnol. Appl. Biochem., 15, 59-68, 1992.
14. Dua R.D., Kochhar S. Mol. Cell. Biochem., 66, 13-20, 1985.
15. Fujitwara S., Kakihara H., Woo K., Lejeune A., Kanemoto M., Sakaguchi K., Imanaka T. Appl. Environ. Microbiol., 58, 4016-4025, 1992.
16. Hoschke A., Laszlo E., Hollo J. Carbohydr. Res., 81, 145-156, 1980.
17. Kimura K., Kataoka S., Ishii Y., Takano T., Kobayashi S. Biochem. Biophys. Res. Commun. 161, 1273-1297, 1989.
18. Kita Y., Sakaguchi S., Nitta Y., Watanabe T. J. Biochem., 92, 1499-1504, 1982.
19. Kubota T., Imanaka T. J. Gen. Microbiol., 135, 1521-1528, 1989.
20. Lejeune A., Sakaguchi K., Imanaka T. Annl. Biochem., 181, 6-11, 1989.
21. Lowry O.H., Rosenbrough N.G., Farr A.L., Randell R.J. J. Biol. Chem., 193, 265-275, 1951.
22. Makela M.J., Korpela T.K. Biochem. Biophys. Methods. 15, 307-318, 1988.
23. Matsuura Y., Kusunoki M., Harada W., Kakudo M. J. Biochem., 95, 697-702, 1984.
24. Miles R.W. Methods Enzymol., 47, 431-442, 1978.
25. Ovadi J., Libor S., Elodi P. Acta Biochem. Biophys. Acad. Sci. Hung., 2, 455-458, 1967.
26. Svensson B., Clarke A.J., Svensson I. Carlsberg Res. Commun., 48, 517-527, 1983.
27. Svensson B., Jespersen H., Sierks M.R., MacGregar E.A. Biochem. J.,

264, 309-311, 1989.

28. *Vikmon M.* In: Proceedings of the first international symposium on cyclodextrins (Szejtli, J., ed.), D.Reidel, Budapest, 69-74, 1982.
 29. *Villette J.R., Sicard P.J., Bouquetlet S.J.-L.* Biotechnol. Appl. Biochem., 15, 69-79, 1992.

Поступила 10.V.97

Биолог. журн. Армении. 3-4 (50), 1997

УДК 579.871.579.253.4

**ПЕРЕНОС И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ФЭП-КАРБОКСИЛАЗЫ
 ESCHERICHIA COLI В КЛЕТКАХ КОРИНЕФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ**

Н.А. ОГАНЕСЯН, М.Г. ГЕВОРКЯН, М.Б. ЧИТЧЯН, Э.Л. АГАБЕКЯН,
 Г.Г. ОГАПЕЗОВА, С.В. КАЖОЯН, Н.С. АВЕТИСЯН, В.А. САКАНЯН

НИИ "Биотехнология", 375054, Ереван

Сконструирована гибридная плазмида рРС6, содержащая ген ФЭП-карбоксилазы *Escherichia coli* и способная реплицироваться в клетках коринеформных бактерий. Методом электропорации получены трансформанты *Brevibacterium flavum* и *Brevibacterium lactofermentum*, содержащие плазмиду рРС6. В клетках полученных трансформантов активность ФЭП-карбоксилазы повышается почти в два раза. В условиях ферментации штамма *B.lactofermentum* 150/рРС6 наблюдается низкий уровень сегрегационной стабильности плазмиды рРС6. Линзинсинтезирующая активность рекомбинантного штамма 150/рРС6 сохраняется на уровне синтеза линзина родительским штаммом.

Կառուցվել է рРС6 հիբրիդային պլազմիդը, որը կրում է *E. coli*-ի ՖԷՊ-կարբոքսիլազի գենը և ընդունակ է կրկնօրինակվել կորինեֆորմալտերիոսների բջիջներում և լեկտրապորացիայի եղանակով ստացվել են *B. flavum*-ի և *B.lactofermentum* ի րժՍԵ պլազմիդ պարունակող տրանսֆորմանտները: Ստացված տրանսֆորմանտների բջիջներում ՖԷՊ-կարբոքսիլազի ակտիվությունը բարձրացել է երկու անգամ: Ֆերմենտացիայի պայմաններում *B.lactofermentum* ի 150/րժՍԵ շտամի րժՍԵ պլազմիդի սեգրեգացիոն կայունությունը ցածր է: *B.lactofermentum* ի 150/րժՍԵ ռեկոմբինանտ շտամը լինզին սինթեզելու ունակությամբ չի տարբերվում ծնողական ձևից:

The hybrid plasmid рРС6 was constructed. The plasmid contained the PEP-carboxylase gene of *E.coli* and was able to replicate in coryneform bacteria. By electroporation method the transformants of *B.flavum* and *B.lactofermentum* strains with the plasmid рРС6 were obtained. The PEP-carboxylase activity in coryneform transformants was increased twice. At fermentation processes the segregation stability of the plasmid рРС6 in cells of *B. lactofermentum* strain 150/рРС6 was low. The level of lysine synthesis in the recombinant strain 150/рРС6 was not changed.

Коринебактерии - rrc ген - фосфоенолпируват карбоксилаза

Глютаматсинтезирующие коринеформные бактерии, включая близкородственные виды *Corynebacterium glutamicum*, *B.flavum* и *B.lactofermentum*, давно используются в микробиологическом производстве аминокислот. Пути биосинтеза аминокислот у этих видов бактерий интенсивно исследуются. Выделен ряд генов биосинтеза различных аминокислот, изучаются механизмы регуляции их экспрессии [8,13].

Фосфоенолпируват карбоксилаза (ФЕП-карбоксилаза) занимает одно из ключевых мест в биосинтезе аминокислот, участвуя в анаплеротическом превращении ФЕПа в шавелевоуксусную кислоту (ЩУК), которая является предшественником аспарагиновой кислоты. Свойства ФЕП-карбоксилазы *E.coli*, а также некоторых видов коринебактерий хорошо изучены [5,11]. Показано, что активаторами этого фермента в обоих случаях являются ацетил-КоА, фруктозо-1,6-дифосфат, фермент подвержен обратному ингибированию аспаратом и 2-оксоглутаратом. В клетках *B.flavum* ген ФЕП-карбоксилазы подвергается репрессии глютаматом и аспаратом [15]. Представляет большой интерес возможность использования рекомбинантных плазмид с геном ФЕП-карбоксилазы для усиления путей биосинтеза тех или иных аминокислот. В клетках *E.coli*, содержащих плазмиду с геном *rrc*, наблюдается повышение активности ФЕП-карбоксилазы [7]. Определена нуклеотидная последовательность гена ФЕП-карбоксилазы *S.glutamicum* [4]. Показано, что введение в штаммы *B.lactofermentum* плазмиды, содержащей ген ФЕП-карбоксилазы из того же вида бактерий, приводит к повышению уровня синтеза некоторых аминокислот (пролина, лизина) [14].

Цель настоящей работы заключалась в конструировании плазмиды рРС6, содержащей ген ФЕП-карбоксилазы *E.coli*, а также анализе ряда свойств, полученных с помощью этой плазмиды, трансформантов коринеформных бактерий.

Материал и методика. Штаммы, плазмиды, среды. Бактериальные штаммы и плазмиды, используемые в работе, перечислены в табл. 1.

Таблица 1.

Штаммы	Генотип	Источник
<i>E.coli</i> K-12		
XSID2	Δ (<i>rrc-argE</i>)101 <i>nalArgpB</i> (λ) ⁺ <i>hsdR</i>	
<i>B.flavum</i> E-531	<i>met thr</i> АЭЦ	лаб.коллекция музей Института "Биотехнология"
<i>B.lactofermentum</i> 150	<i>leu ser</i> АЭЦ	
Плазмиды pALM1 pBLK25	<i>rrc' argE:СВА' Ap'</i> челночный вектор Km'	лаб.коллекция лаб.коллекция

Клетки *E.coli* выращивали в L-бульоне при 37°, а также в минимальной среде М9 с добавками глюкозы, тиамина, MgSO₄, аргинина и сукцината натрия [10]. Для отбора *rrc'*

трансформантов *E.coli* использовали агаризованную среду M9, не содержащую сукцината натрия. Канамицин добавляли в концентрации 30 мкг/мл. Штаммы *B.flavum* и *B.lactofermentum* выращивали в L-бульоне при 30°. Отбор трансформантов вели на L-агаре, содержащем 30 мкг/мл канамицина.

Выделение ДНК и трансформация. Выделение ДНК из *E.coli*, обработку ДНК рестриктазами, реакцию лигирования, электрофорез ДНК в агарозном геле проводили согласно известным методам [9]. Для выделения ДНК из корнебактерий клетки лизировали в буфере, содержащем 25 мМ трис-НСl, 10 мМ ЭДТА, 50 мМ глюкозы, 10 мг/мл лизоцима (рН 8), с предварительной инкубацией при 37° в течение 1,5 часов. Далее выделение проводили согласно методу [3].

Трансформацию *E.coli* проводили методом [9]. Трансформацию клеток *B.flavum* и *B.lactofermentum* осуществляли методом электропорации. Ночную культуру разводили в 10 мл в L-бульоне и выращивали до титра 1×10^8 кл/мл. Культуру осаждали центрифугированием и осадок суспендировали в 10%-ном глицерине. Клетки вновь осаждали центрифугированием и суспендировали в 1/10 объема раствора 10%-ного глицерина. К 25 мкл клеточной суспензии добавляли 0,5 - 1 мкг ДНК и полученную смесь вносили в ячейку для электропорации прибора Phamphor-500. После воздействия электрического поля клетки выдерживали в течение 1-5 мин во льду, добавляли 1 мл L-бульона и инкубировали при 30° в течение 12 ч для обеспечения экспрессии внесенных генов. Трансформированные клетки высевали на чашки с L-агаром, содержащим 30 мкг/мл канамицина, и инкубировали в течение 2-3 суток при 30°.

Определение активности ФЭП-карбоксилазы. Клетки выращивали в L-бульоне до титра 1×10^8 кл/мл, осаждали центрифугированием, промывали буфером (0,1 М трис-НСl, рН 7,5), суспендировали в том же буфере и разрушали озонированием. Активность ФЭП-карбоксилазы определяли в сульфатной фракции клеточных экстрактов по известному методу [12]. Реакционная смесь состояла из 0,1 М трис-НСl, (рН 7,4), 3,3 мМ $MnSO_4$, 0,15 мМ NADH, 10 мМ $NaHCO_3$, 2 мМ ФЭП, 0,1 мМ $Al_2O_3 \cdot KOH$, 10 мкл малакдегидрогеназы и 10 мкл клеточного экстракта соответствующего разведения; общий объем смеси составил 1 мл. Реакцию проводили в кварцевых кюветках при комнатной температуре. 1 единице активности ФЭП-карбоксилазы соответствует количество фермента, при котором 1 мкмоль NAD превращается в NADH за минуту.

Результаты и обсуждение. Клонирование гена *prc* *E.coli* на челночном векторе pB1K25. Ранее была получена плазмида pALM1, которая несет фрагмент хромосомной ДНК *E.coli*, содержащей оперон *argECBVI* [1]. На генетической карте *E.coli* K 12 рядом с этим опероном расположен ген *prc* [10]. Плазмида pALM1 оказалась способной комплементировать мутацию Δprc в штамме *E.coli* XS1D2, что указывает на присутствие в ней по крайней мере структурной части гена *prc*.

Фрагмент ДНК с геном *prc* был перенесен на челночный вектор pB1K25. Вектор pB1K25, размером 8,7 тпо, способен реплицироваться в клетках *E.coli* и корнебактерий и содержит ген устойчивости к канамицину [2]. ДНК вектора pB1K25 и плазмиды pALM1 обрабатывали совместно рестриктазами BamHI и Sall и

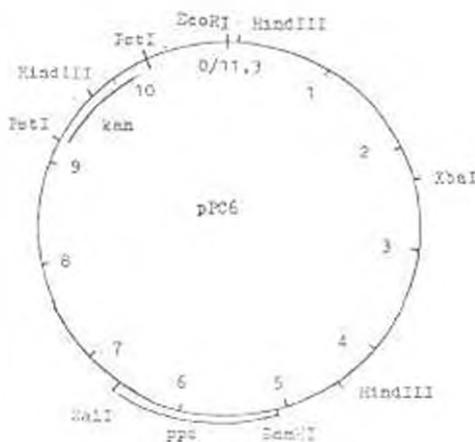


Рис. 1. Физическая карта плазмиды pRC6 (11,3 тпо).

□ - фрагмент ДНК *E.coli* с геном ФЭП-карбоксилазы (*prc*).

○ - ДНК вектора pB1K25

kan - ген аминогликозид 3-фосфотрансферазы.

полученные фрагменты ДНК соединяли ДНК-лигазой фага Т4. Лигированной смесью трансформировали клетки штамма *E.coli* XSID2. Трансформанты отбирали по способности комплементировать мутацию Δ *prc* штамма XSID2, т.е. по способности расти на среде M9 в условиях отсутствия сукцината. Среди трансформантов были отобраны клоны, содержащие плазмиду размером 11,3 тпо, которая была названа pPC6 (рис.1). Рекомбинантная плазида pPC6 при трансформации штамма XSID2 сохраняет способность комплементировать мутацию Δ *prc*. С помощью рестрикционного анализа показано наличие в составе плазмиды pPC6 *Bam*HI-SalI фрагмента ДНК размером 2.6 тпо.

Трансформация клеток *B.flavum* и *B.lactofermentum* плазмидой pPC6. Трансформацию клеток коринебактерий плазмидой pPC6 проводили методом электропорации. Трансформации подвергались штаммы *B.flavum* E-531 и *B.lactofermentum* 150. Метод электропорации описан выше. Трансформанты отбирали на L-агаре, содержащем 30 мкг/мл канамицина. Наибольший выход трансформантов наблюдался при емкости электрического импульса в 40 микрофарад. Эффективность трансформации при этом составляет 10^4 трансформантов на 1 мкг ДНК плазмиды pPC6. Выделенные из устойчивых к канамицину трансформантов E-531/pPC6 и 150/pPC6 плазмиды по структуре и фенотипическим свойствам не отличаются от плазмиды pPC6.

Активность ФЕП-карбоксилазы в клетках рекомбинантных штаммов E-531/pPC6 и 150/pPC6. Активность ФЕП-карбоксилазы определяли в клетках штаммов E-531/pPC6 и 150/pPC6, выращенных в L-бульоне, содержащем 30 мкг/мл канамицина. Как показано в табл. 2, активность ФЕП-карбоксилазы в трансформированных плазмидой pPC6 клетках почти в два раза выше, чем в клетках исходных штаммов, а также в штаммах, содержащих вектор pBHK25. В данных экспериментах активаторами ФЕП-карбоксилазы являлись ацетил-КоА и фруктозо-1,6-дифосфат. Активность ФЕП-карбоксилазы в клеточных экстрактах штаммов E-531/pPC6 и 150/pPC6 зависит от диоксана, что является характерным для фермента из *E.coli* [6], но не для ферментов коринебактерий. Во всех исследованных штаммах активность ФЕП-карбоксилазы ингибировалась аспаратом.

Таблица 2. Активность ФЕП-карбоксилазы в штаммах, содержащих плазмиду pPC6

Штаммы		Активность ФЕП-карбоксилазы, единиц/мг белка
<i>E.coli</i>	XSID2	-
	XSID2/pPC6	0,153
<i>B.flavum</i>	E-531	0,121
	E-531/pBHK25	0,101
	E-531/pPC6	0,215
<i>B.lactofermentum</i>	150	0,105
	150/pBHK25	0,100
	150/pPC6	0,194

Повышение активности ФЭП-карбоксилазы в трансформированных плазмидой рРС6 клетках *B.flavum* и *B.lactofermentum*, а также ее зависимость от диоксиана указывают на экспрессию энтробактериального ррс гена в клетках коринеформных бактерий, результатом которой является увеличение количества синтезированного в клетках фермента.

Стабильность плазмиды рРС6 в клетках штамма *B.lactofermentum* 150/рРС6. Исследовалась способность плазмиды рРС6 стабильно поддерживаться в популяции клеток штамма *B.lactofermentum* 150/рРС6 в условиях колбочочной ферментации. Ферментацию проводили в течение 72 ч на среде, содержащей 10% свекловичной мелассы (по редуцирующим веществам), 2% паприна (по сухому весу), 2% мела, рН 7,6. Концентрация канамицина составляла 30 мкг/мл. После ферментации определяли процент клеток, сохранивших устойчивость к канамицину, а также выход лизина. Согласно полученным результатам, плазида рРС6 в условиях отсутствия селективного давления крайне нестабильна. В конце ферментации только 12% клеток сохранили устойчивость к канамицину, обусловленную наличием в них плазмиды рРС6 (табл.3).

Вектор рВ1К25 в тех же условиях в клетках того же штамма проявляет высокий уровень стабильности. Причины нестабильности плазмиды рРС6 требуют дальнейших исследований. В присутствии антибиотика уровень стабильности плазмиды рРС6 повышается, однако титр клеток штамма 150/рРС6 в конце ферментации оказался на порядок ниже титра клеток, растущих на среде без антибиотика (табл. 3). Очевидно, что в присутствии антибиотика скорость роста штамма 150/рРС6 снижается. Определение лизинсинтезирующей активности штамма 150/рРС6 показало, что присутствие плазмиды рРС6 не влияет на продуктивность штамма. Несмотря на повышение активности ФЭП-карбоксилазы, штамм 150/рРС6 синтезирует столько же лизина, сколько бесплазмидный штамм 150 (35 г/л) (табл.3), что, вероятно, объясняется низким уровнем стабильности плазмиды рРС6 в условиях ферментации штамма 150/рРС6. Ингибирование ФЭП-карбоксилазы аспарагиновой кислотой также снижает эффект повышения активности этого фермента в клетках штамма 150/рРС6. При ферментации штамма 150/рРС6 на среде с антибиотиком лизинсинтезирующая активность штамма падает до 20 г/л, несмотря на повышение уровня стабильности плазмиды рРС6 (табл. 3). Очевидно, что уменьшение выхода лизина происходит вследствие понижения титра клеток в конце ферментации (табл. 3).

Таблица 3. Стабильность плазмиды рРС6 и лизинсинтезирующая активность штамма 150/рРС6.

Штамм	Титр клеток	Стабильность плазмиды, %	Выход, г/л
150	$8,2 \times 10^{11}$	-	35
150/рВ1К25	$6,5 \times 10^{11}$	93	35
150/рРС6	4×10^8	84	20
150/рРС6	$5,8 \times 10^{11}$	12	35

Таким образом, введение в клетки штамма *V.flavum* E-531 и *V.lactofermentum* 150 плазмиды рРС6 с геном ФЕП-карбоксилазы *E.coli* приводит к повышению активности этого фермента в два раза. Однако уровень стабильности плазмиды рРС6 в условиях ферментации штамма 150/рРС6 низкий, что, вероятно, ограничивает возможности рекомбинантного штамма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кочикян А.В., Метт И.Л., Аствацатурян М.З., Саканян В.А. Биолог. журн. Армении, 38, 79-83, 1985.
2. Оганесян Н.А., Безирджян М.О., Саканян В.А. Авт. свид. 4333147/3, 1989.
3. Birnboim M.C., Doly J. Nucl Acids Res. 7, 2, 1513-1523, 1979.
4. Eikmanns B.J., Follettie M.T., Griot M.U., Sinskey A. J. Mol. Gen. Genet., 218, 330-339, 1989.
5. Fujita N.T., Miwa S., Iahijima K., Izuki K., Katsuki H. J. Biochemistry, 95, 909-916, 1984.
6. Izui K., Yoshinaga T., morikawa M., Katsuki H., Woods A.E. Biochem. Biophys. Res. Commun., 40, 949-956, 1970.
7. Izui K., Sabe h., Katsuki H. FEBS Letters, 133, 2, 311-315, 1981.
8. Malumbres M., Mateos L.M., Lumbreras M.A., Guerrero C., Martin J.F. Applied and Environ. microbiology, 60, 7, 2209-2219, 1994.
9. Maniatis T., Fritsch E.F. Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. New York, 1982.
10. Miller J.H. Experiments of Molecular Genetics. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. New York, 1972.
11. Mori M., Shiiro I. J. Biochemistry, 97, 1119-1128, 1985.
12. Ozaki H., Shiiro I. J. Biochemistry, 66, 297-311, 1969.
13. Pisabarro A., Malumbres M., Mateos L.M., Oguiza J.A., Martin J.F. J. Bacteriology, 175, 6, 2743-2749, 1993.
14. Sano K., Ito K., Miwa K., Nakamori S. Patent USA, No. 4757009, 1988.
15. Shiiro I., Ujigawa K. J. Biochemistry, 84, 647-652, 1978.

Поступила 6.V.1997

СЕЛЕКЦИЯ ПОЛИСАХАРИДСВЕРХСИНТЕЗИРУЮЩИХ МУТАНТОВ У *ESCHERICHIA COLI* K-12 С ПОМОЩЬЮ БАКТЕРИОФАГОВ

Г.Г. ОГАНЕСЯН, Я.С. ХАЧАТРЯН, С.С. ОГАНЕСЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 375510, Абовян

Разработан высокоэффективный метод селекции полисахаридсверх-синтезирующих мутантов у *Escherichia coli* K-12 с помощью бактериофагов P1, T2 и T4. Мутанты, сохраняя чувствительность к соответствующим бактериофагам, приобрели способность синтезировать гетерополисахарид - коланиковую кислоту с выходом более 6 мг/мл.

Մշակվել է *E. coli* K-12-ի բուլգմաշացար գերսինթեզող մուտանտների ստացման արդյունավետ եղանակ P1, T2 և T4 բակտերիոֆագերի օգնությամբ: Ստացված մուտանտները, մնալով զգայուն համապատասխան ֆագերի նկատմամբ, ձևացնում են բերույթ ունակություն արտազուտելու կոլանիկային թթու կուլտոդ բազմաշաքարը մինչև 6 սգ/մլ:

The efficient method has been worked out for selection of polysaccharide overproducing mutants of *E. coli* K-12 by bacteriophages P1, T2 and T4. The mutants, possessed the sensitivity to mentioned bacteriophages, were able to synthesize the colanic acid polysaccharide with yield of 6mg/ml.

Escherichia coli K-12 - селекция слизистых мутантов - бактериофаг

Микробные полисахариды (ПС) благодаря своему качеству менять реологические свойства воды находят широкое применение в самых различных отраслях промышленности [4,5]. Полисахаридпродуцирующие штаммы обнаружены у многих видов микроорганизмов. Они были выделены главным образом из природных источников или из лабораторных коллекций. Единой стратегии селекции продуцентов не существует из-за сложного, многоступенчатого механизма регуляции биосинтеза полисахаридов. Гены, участвующие в этом процессе, кроме индивидуальной регуляции подвергаются также глобальной координированной регуляции типа регулона. Единичная мутация способна повысить активность десятков разрозненных генов, участвующих в биосинтезе ПС [8]. У *E. coli* K-12 обнаружены, по крайней мере, три локуса *capR* (*lon*), *capS* и *capT*, мутации в которых приводят к обильному биосинтезу ПС [4,8]. Слизистая морфология колоний является главной отличительной чертой этих мутантов. Мутации, приводящие к обильному синтезу ПС, можно индуцировать с помощью УФ-лучей [8], антибиотиков [5,9] и термшока [4]. Однако все они индуцируют мутации главным образом *capR* (*lon*) типа.

С целью получения новых продуцентов полисахаридов у кишечной палочки в качестве индуцирующих агентов нами применялись вирулентные и умеренные бактериофаги.

Материал и методика. Бактерии и бактериофаги. В работе использован штамм *E. coli* CA154 *lppH* (*lacZ*, *na*), вирулентные бактериофаги T2 и T4, умеренный бактериофаг P1,

бактериофаг М59, вирулентный по отношению к слизистым штаммам *E. coli*, - все из музея лаборатории генетики Института микробиологии НАН Армении.

Питательные среды. Полноценный бульон фирмы "Serva" (ФРГ), полноценная твердая среда с содержанием 1,5 и 0,6% агара. Ферментационные среды (г/л): а) синтетическая: KH_2PO_4 - 3, Na_2HPO_4 - 6, NH_4Cl - 1, MgSO_4 - 0,13, тиамин - 0,001, глюкоза - 20, CaCO_3 - 20; б) полноценная: дрожжевой экстракт - 8, пептон - 3, NaCl - 5, глюкоза - 20, CaCO_3 - 20, pH 7,2. Пептонная вода (г/л): пептон - 10, NaCl - 5. Фосфатный буфер - pH 6,8.

Фаголиты были получены методом агаровых слоев [1].

Получение слизистых мутантов. Культуру выращивали в пептонном бульоне (ПБ) до экспоненциальной фазы роста ($1-3 \times 10^8$ кл/мл), заражали фагом и высевали методом агаровых слоев. Чашки инкубировали двое суток при 37°. Выросшие на фоне сплошного лизиса слизистые колонии переносили отколом в жидкую среду, встряхивали для отделения клеток от фазы и высевали на полноценный агар.

Чувствительность к фагам определяли спот-тестом, нанесением суспензии 10^7 инфекционных единиц (ИЕ) на газон индикаторной культуры.

Чувствительность к УФ-облучению определяли по ранее описанной методике [2].

Биосинтез полисахарида производили в 250 мл колбах Эрленмейера, содержащих 20 мл питательной среды, на режирной качалке (150 об/мин) при 30° в течение 72 часов.

Количество биомассы определяли взвешиванием, после осаждения клеток центрифугированием, по общепринятой методике.

Определение выхода ПС. После завершения ферментации культуральную жидкость (КЖ) выдерживали в кипящей бане в течение 3 мин и полпергали центрифугированию (3000 об/мин). К супернатанту добавляли двойной объем охлажденного ацетона и смесь выдерживали при комнатной температуре 18 ч. образовавшийся преципитат отделяли, промывали 67%-ным ацетоном, затем осадок ресуспендировали в деионизированной воде. Обливи сахар в осадке определяли фенол-серническим методом, а вязкость водных растворов ПС - по Геншеру [3].

Результаты и обсуждение. Для получения слизистых мутантов были использованы бактериофаги *E. coli* P1, T2 и T4. Множественность заражения (МЗ) изменялась от 0,01 до 10. В каждом случае высев инфицированных фагом бактерий производили методом агаровых слоев на 10 чашках. Частоту выхода мутантов определяли делением всего количества обнаруженных слизистых колоний на суммарный титр бактерий, нанесенных на чашки (табл. 1).

Таблица 1. Выход слизистых колоний на фоне сплошного лизиса культуры SA154, вызванный бактериофагами P1, T2 и T4

Бактериофаг	МЗ	Количество выросших колоний на 10 чашках	Количество слизистых колоний на 10 чашках	Титр бактерий в каждой чашке	Чистота выхода слизистых мутантов
P1	10	2	0	$4,1 \times 10^7$	0
	1	183	184	—	$2,6 \times 10^4$
	0,1	270	263	—	$3,7 \times 10^4$
	0,01	5	0	—	0
T2	10	0	0	$5,7 \times 10^7$	0
	1	124	124	—	$2,2 \times 10^4$
	0,1	161	154	—	$2,8 \times 10^4$
	0,01	2	0	—	0
T4	10	3	0	$6,5 \times 10^7$	0
	1	180	178	—	$2,7 \times 10^4$
	0,1	214	210	—	$3,2 \times 10^4$
	0,01	4	0	—	0

Как видно из табл. 1, слизистые колонии образуются только при МЗ 0,1 и 1,0. При 0,01 и 10 они не были обнаружены. Средний спонтанный

выход мутантов при МЗ 0,1 был в 1,5 раза выше, чем при 1,0. Частота получения слизистых мутантов $(2-4) \times 10^6$ была в 100 раз выше, чем обычных фагоустойчивых мутантов. Индукция мутантов не зависела от природы бактериофага.

Слизистые мутанты были выделены и после многократной очистки определен их иммунитет к фагам, с помощью которых они были получены, а также к УФ-лучам и фагу М59, лизирующему только капсулированные клетки, продуцирующие коланиковую кислоту (табл.2) [10].

Таблица 2. Чувствительность слизистых мутантов штамма СА154 к бактериофагам и УФ-облучению

Бактерия хозяин	Чувствительность к бактериофагам				Относительная чувствительность к дозе УФ 10 Дж/м ²
	P1	T2	T4	M59	
СА154	+++	+++	+++	-	1
Мук P1*	+++	+++	+++	+++	1,25
Мук T2*	+++	+++	+++	+++	1,16
Мук T4*	+++	+++	+++	+++	1,22

Примечание: * - тестирование по 10 мутантов, полученных соответствующим фагом, (-) - отсутствие лизиса; (+ + +) - хороший лизис.

Как видно из табл.2, слизистые мутанты, выделенные на фоне сливного фаголизиса, не обладали иммунитетом к соответствующим фагам. По-видимому, клетки, предрасположенные к мутации в сторону сверхсинтеза внеклеточных полисахаридов, обладают также временным иммунитетом к фаголизису. Гены, регулирующие биосинтез внеклеточных полисахаридов, отличаются нестандартным поведением. Они мутируют под влиянием агентов, которые не являются мутагенными по отношению к другим генам [4,9]. Возможно, в фаголизатах или в самих фагах имеются вещества, реагирующие с регуляторными участками генов биосинтеза полисахаридов, способные вызывать мутационные изменения в них. Эти участки должны отличаться особым строением, способным реагировать на действие фагов - прямо или опосредованно.

Все слизистые мутанты оказались чувствительными к бактериофагу М59, что свидетельствует о том, что синтезируемый мутантами полисахарид является коланиковой кислотой. Этот кислый полисахарид состоит из фруктозы, галактозы, глюкозы и глюкуроновой кислоты в молярных соотношениях 2:2:1:1 соответственно [7].

С целью определения продуктивности слизистых штаммов была проведена ферментация на синтетической и полноценной средах. Ферментация длилась 72 ч, по завершении ее определялись выход полисахаридов, вязкость водных растворов полисахаридов и объем, равном объему КЖ, и выход биомассы. Результаты опытов приведены в табл.3.

Выход целевого продукта у слизистых мутантов составлял в синтетической среде около 5,5 мг/мл, а в полноценной - 4,3 мг/мл. Разница всего в 20% означает, что уровень биосинтеза полисахаридов у них мало

зависит от концентрации азота в среде. Это дает определенное преимущество в промышленных условиях, т.к. позволяет использовать дешевые питательные среды с высоким содержанием азота.

Таблица 3. Биосинтез полисахаридов слизистыми мутантами при росте на синтетической и полнорценной средах

Среды	Штамм	Выход ономысы, мг/мл	Выход ПС, мг/мл	Вязкость 0,1% водной суспензии ПС. СПЗ'
Синтетическая	СА154	2,51	0,02	-
	Мук Р1	2,56	5,62	0,8246
	Мук 12	2,41	5,38	0,8242
	Мук 14	2,62	5,71	0,8246
Полнорценная	СА154	2,86	0,01	-
	Мук Р1	2,82	4,45	0,8244
	Мук 12	2,79	4,16	0,8245
	Мук 14	2,69	4,22	0,8244

Одинаковая вязкость растворов полисахаридов (0,1%) свидетельствует о том, что мутанты продуцируют полимеры одинакового состава и структуры.

Индукцированные бактериофагами мутанты не относятся к *lon* классу слизистых мутантов, т.к. их чувствительность к УФ-облучению не увеличивается (табл.2). Они даже обладают большей устойчивостью, чем исходный штамм СА154. Это связано со сверхсинтезом полисахаридов, которые, как было ранее показано, обладают протекторным действием [6].

Бактериофаги специфически индуцировали только мутации, приводящие к слизистому фенотипу колонии. Среди более 500 проверенных мутантов, выращенных в присутствии фагов, ни один не нуждался в дополнительных факторах роста, т.е. не обладал ауксотрофным фенотипом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамс М. Бактериофаги. М., 1961.
2. Барсегян А.А., Оганесян Г.Г., Оганесян М.Г. Биолот. журн. Армении, 36, 6, 479-484, 1983.
3. Барсегян А.А., Оганесян Г.Г. Биолот. журн. Армении, 36, 12, 1136-1941, 1983.
4. Оганесян Г.Г., Пахлеванян Г.Р. Авт. свид. СССР N 1171523, 1985.
5. Патент США, N 4235966, 1980.
6. Donch J., Greenberg J. Mutat. Res., 10, 153-155, 1970.
7. Goebel W.F. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 49, 464-471, 1963.
8. Markovitz A. In: Surface carbohydrates of procariotic cells. Sutherland I., N.Y., Acad. Press, 415-467, 1977.
9. Molnar J., Holland I.B., Mandi Y. Genet. Res. Camb., 30, 19-20, 1977.
10. Stirm S., et al. Zentralblatt. Bacteriologischen Hygiene J. Abt. Orig., A 266, 26-28, 1974.

Поступила 12.V.1977

ПОЛУЧЕНИЕ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ ИЗ НЕГИДРОЛИЗОВАННОГО КРАХМАЛСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

М.М. ШАМЦЯН*, К.А. СОЛОДОВНИК*, В.И. ЯКОВЛЕВ*,
Э.К. АФРИКЯН**

*Санкт-Петербургский государственный технологический институт
(Технический университет), 198013

**Институт микробиологии НАН и Республиканский центр депонирования
микробов НАН и Министерства образования и науки Армении, 178510, г. Абовян

Из рубца коровы выделены штаммы молочнокислых бактерий *Streptococcus bovis*, которые благодаря своей амилolyтической активности позволяют осуществлять прямое малолactoкислoе сбраживание сырого крахмалoсoдepжaщeгo сырья без дорогостоящей и энергoемкoй стaдии пpeдвapитeльнoгo гидpолизa.

Լոճի ստամոքսային հատվածից գտնվելից, մեկուսացվել են *Streptococcus bovis* կարճաթթվային բակտերիաների շտամներ: Ամլոլազոված շտամները, շնորհիվ իրենց ամիլոլիտիկ ակտիվության, թույլ են տալիս իրականացնել օսյա փարուսակող հումքի ուղղակի կարճաթթվային լսմորոս առանց նախնական կիրորդվել:

The strains of lactic - acid bacteria *Streptococcus bovis* were isolated from the rumen of cow. Due to their amylolytic activity, the isolated strains permitted to provide the lactic acid fermentation from raw starchy substrates directly without expensive and energy consuming stage of preliminary hydrolysis.

L-молочная кислота - Streptococcus bovis - крахмалосодержащие отходы.

В последние годы значительно возрос интерес к различным аспектам получения и применения молочной кислоты, что обусловлено как все увеличивающимся спросом в традиционных областях ее использования, так и новыми перспективами, связанными с созданием на основе молочной кислоты биodeградируемых полимеров и других веществ. Относительно высокая стоимость молочной кислоты является основным фактором, ограничивающим ее применение в качестве исходного сырья для синтеза других продуктов.

Поскольку большинство молочнокислых бактерий не способно сбраживать полисахариды, для утилизации крахмала необходимо проводить его предварительный гидролиз, являющийся довольно энергoемкoй стaдией. Нами изучалась возможность получения молочной кислоты из негидролизованных крахмалoсoдepжaщих отxoдoв. Ранее мы сообщали о способе получения молочной кислоты с использованием сырого крахмала рисовых отрубей [2,5,6]. В настоящей работе представлены результаты экспериментов по получению молочной кислоты из сырого крахмала характерных для стран СНГ отходов сельскохозяйственного сырья - пшеничных отрубей и картофельных отходов.

Материал и методика. На базе Института микробиологии НАН Армении и кафедры технологии микробиологического синтеза Санкт-Петербургского технологического института

из различных образцов рубца коровы был выделен и идентифицирован ряд культур *Streptococcus bovis*, способных гидролизовать сырой зерновой крахмал и осуществлять гомоферментативное молочнокислое брожение.

Молочнокислое брожение проводили в колбах Эрленмейера с объемами 0,3 и 0,5 л, инкубируемых в термостатах при 37-40°.

Концентрацию крахмала и сбраживаемых сахаров и исследуемых образцах после ферментативного расщепления полисахаридов, а также концентрации глюкозы в супернатанте определяли методом Сомаджи-Нельсона [7]. Концентрацию сбраживаемых полисахаридов выражали через глюкозный эквивалент.

Измерение концентрации L-молочной кислоты проводили с помощью энзиматической реакции, используя лактатдегидрогеназу и пирватат-пируваттрансаминазу, применяя специальный набор фирмы "Boehringer Mannheim" (Германия, кат. N139084), предназначенный для определения L-молочной кислоты в пищевых продуктах и других веществах [8].

Результаты и обсуждение. Выбор *S.bovis* в качестве продуцента молочной кислоты обусловлен следующими его свойствами :

- культуры *S.bovis* обладают высокой амилолитической активностью и способны гидролизовать сырой крахмал, причем гидролиз зернового крахмала осуществляют гораздо активнее, чем картофельного [3,4],

- для культур *S.bovis* характерны высокая степень сахаролитичности и гомоферментативное сбраживание углеводов с образованием L-молочной кислоты [1,4],

- минимальные пищевые потребности *S.bovis* не сложны и в отличие от других молочнокислых стрептококков и лактобацилл для их роста необходимы только глюкоза, аммиак и неорганические соли [1].

Это позволяет осуществлять получение молочной кислоты из дешевого сырья - крахмалосодержащих отходов перерабатывающей промышленности, исключив энергоемкие стадии предобработки крахмала. Учитывая, что α -амилаза продуцента проявляет большую активность на сыром крахмале, с целью снижения энергозатрат стерилизацию субстрата проводили при комнатной температуре разбавленными растворами серной кислоты. Поскольку накапливающаяся в процессе брожения в среде молочная кислота ингибирует дальнейший рост продуцента и процессы лактатобразования, в среду вносили карбонат кальция и в качестве конечного продукта получали лактат кальция.

Установлено, что пшеничные отруби вполне удовлетворяют минимальным пищевым потребностям *S.bovis* и являются полноценным субстратом для молочнокислого брожения с применением этого рубцового стрептококка. Оптимальные значения температур для роста клеток продуцента и лактатобразования находятся в пределах 37-40° (рис. 1), а рН - в пределах 6,0 - 7,0 (рис. 2).

Получение лактата из картофельных отходов блокировалось присутствующими в субстрате фосфатами, которые будучи связанными с глюкозными остатками ингибировали действие амилазы и исключали процесс лактатобразования.

Для преодоления этого явления к субстрату на стадии стерилизации (рН 1,5 - 2,0) добавляли препарат кислой фосфатазы, продуцируемой *Aspergillus niger*. Совмещение стерилизации субстрата с действием

фосфатазы позволило осуществить молочнокислое брожение с применением *S. boydii* и получить L(-) молочную кислоту из крахмалистых отходов картофеля. В результате брожения с использованием *S. boydii* вырабатывался только L-изомер молочной кислоты.

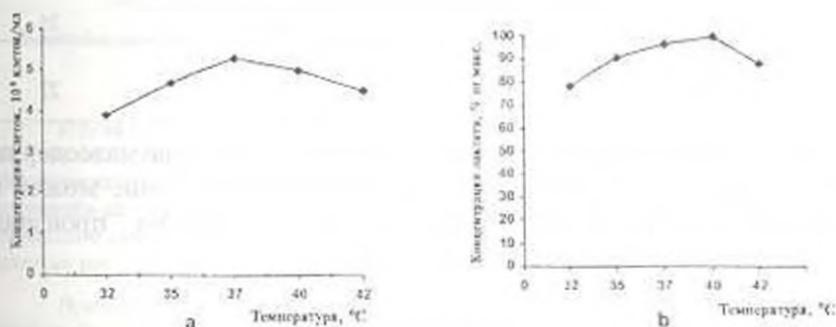


Рис. 1. Влияние температуры на процессы роста клеток *S. boydii* (а) и лактатобразования (б).

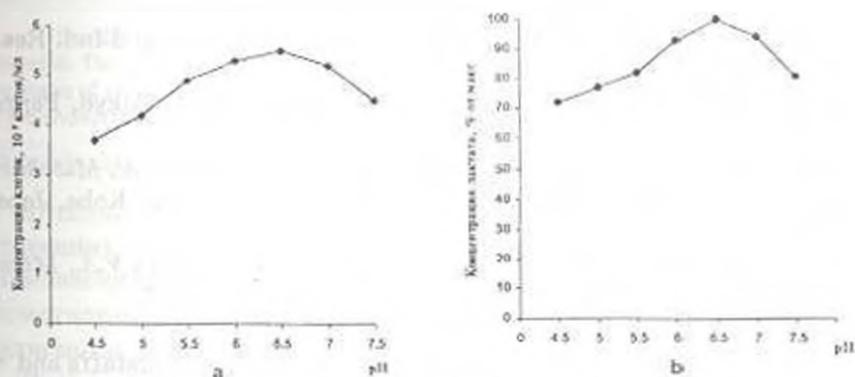


Рис. 2. Влияние pH среды на процессы роста клеток *S. boydii* (а) и лактатобразования (б).

Предлагаемый способ получения молочной кислоты с применением в качестве продуцента *S. boydii* позволяет существенно удешевить процесс ее производства за счет использования дешевого сырья и исключения энергозатратных стадий предферментационной обработки крахмала.

В таблице 1 обобщены результаты экспериментов по изучению лактатобразования при сбраживании указанных субстратов с применением одного из наиболее активных из выделенных нами штаммов *S. boydii*.

Ферментации с 8 %-ным исходным содержанием сырого крахмала завершались на 3-и сут. При этом примерно треть исходного содержания крахмала оставалась несброженной. Можно предположить, что остаточные сахара представлены разветвленными олигосахаридами с α -1-6 гликозидной связью, не гидролизуемой α -амилазой продуцента. Как показано в наших предыдущих работах, этот недостаток успешно устраняется добавлением

к ферментационной среде препаратов глюкоамилазы.

Таблица 1. Ферментация крахмала зерновых и картофельных отходов культурой *S. bovis* (концентрация крахмала в среде - 8%)

Сырье	Продолжительность ферментации, ч	Выход лактата, г/л	Остаточные сахара, г/л
Пшеничные отруби	60	48	25
Картофельные очистки	60	45	27

На основе предлагаемого способа, используя крахмалсодержащие отходы переработки сельскохозяйственной продукции, может быть разработана энерго- и ресурсосберегающая технология производства молочной кислоты с низкой себестоимостью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Краткий определитель бактерий Берги. 495, М., 1980.
2. Шамцян М.М., Яковлев В.И., Мизокэми К., Ямамото Т., Африкян Э.Г. Биолог. журн. Армении, 47, 1, 3-8, 1994.
3. Aurangzeb M., Qadeer M.A., Iqbal J. Pakistan J. Sci. and Ind. Res., 35, 12, 520-523, 1992.
4. Handbook of Amylases and Related Enzymes. 274, Tokyo, Pergamon Press, 1988.
5. Shamsian M., Okubo T., Murai M., Chu D.C., Abelian V.A., Mizokami K., Yamamoto T. Ann. Meet. Japanese Soc. Agric. Biol. Sci.- Kobe, Japan, 5, 1992.
6. Shamsian M.M., Okubo T., Murai M., Chu D.C., Abelian V.A., Mizokami K., Yamamoto T. Denpun Kagaku. 40, 3, 305-310, 1993.
7. Somogyi M. J. Biol. Chem., 174, 1, 189-200, 1952.
8. UV- method for the determination of L-lactic acid in foodstuffs and other materiales. Instructions for performance of assay. Cat. N 139084. Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica, 1987.

Поступила 11.III.1997

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОТХОДОВ БРОДИЛЬНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ В БИОСИНТЕЗЕ ВИТАМИНА В₁₂

А.М. БАЛЯНИ, А.Г. МЕЛКУМЯН, Э.К. АФРИКЯН

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

Изучали биосинтез витамина В₁₂ пропионовыми бактериями. Установлено, что производственную среду для получения витамина В₁₂ можно модифицировать использованием отходов дрожжевой промышленности практически без ущерба для выхода биомассы и витамина. Показана возможность использования углекислого газа для перемешивания культуральной жидкости при ее нейтрализации в процессе роста пропионовых бактерий.

Ըստոճնախիբել է պրոպիոնոբակտերիաների կողմից վիտամին В₁₂-ի սինթեզը Ֆաստատված է, որ վիտամին В₁₂-ի ստացման արտադրական միջավայրը կարելի է ձևափոխել, օգտագործելով շաքարասնկային արտադրության բաժինները, որը չի բերում կենսազանգվածի և վիտամինի ելքի նվազման Ցույց է տրված ածխածնի երկօքսիդի օգտագործման հնարավորությունը բակտերիաների աճման ընթացքում կուլտուրայի հեղուկի քափահարման և նրա չեզոքացման համար:

The data on biosynthesis of vitamin В₁₂ by strains of *Propionibacterium* have been presented. The industrial medium for production of vitamin В₁₂ could be modified by using the wastes of yeast industry without decrease of biomass and vitamin yield. During the growth of *Propionibacterium* the possibility of carbon dioxide use was shown.

Цианокобаламин - пропионовые бактерии - 5,6-диметилбензимидазол

Витамин В₁₂, или цианокобаламин, входит в состав ферментов, участвующих в важнейших метаболических процессах, в частности в восстановлении рибонуклеотидов в дезоксирибонуклеотиды, в реакциях трансметилирования, в образовании метионина из гомоцистеина и изомеризации метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА.

Существующие промышленные способы получения витамина В₁₂ основаны на его микробиологическом синтезе с использованием высокоактивных штаммов бактерий, продуцирующих корриноиды (*Pseudomonas denitrificans*, *Propionibacterium shermanii*, метанобразующие бактерии) [1,2,3].

В настоящей работе представлены результаты изучения возможностей удешевления процесса биосинтеза витамина В₁₂ и использования отходов микробиологической промышленности для его получения.

Обобщены результаты исследования по биосинтезу витамина В₁₂ с использованием штаммов пропионовых бактерий (ПКБ).

Материал и методика. В работе были использованы культуры *Propionibacterium shermanii* ИНИИА 10846 и 10847.

Посевной материал выращивали в анаэробных условиях при температуре 28-30° в течение 72ч на среде следующего состава (%): глюкозы - 2,0; кукурузный экстракт - 3,0; аммоний серноокислый - 0,2; кобальт хлористый - 0,0005; рН 6,8-7,0.

Основную ферментацию проводили при тех же условиях на производственной среде СП-4, содержащей (%): глюкозу - 4; кукурузный экстракт - 6; аммоний серноокислый - 0,3;

кобальт хлористый — 0,01. Весь процесс протекает 120ч (72ч роста и 48ч — после добавления нуклеотидного основания — 2,6-диметилбензимидазола (2,6-ДМБ). 2,6-ДМБ добавляли по расчету 15мг/л. Начиная с 18ч от начала роста проводили периодическую нейтрализацию среды 40%-ным NaOH, перемеривание осуществляли продувкой углекислым газом или механически.

В течение ферментации определяли количество редуцирующих веществ методом Сомеджи-Нельсона [4,6]. Количество витамина В₁₂ определяли фенат-зидроформинным методом [5]. Спектры поглощения измеряли на спектрофотометре СФ-46. Использовали 2,6-ДМБ фирмы "Sigma" и реактивы отечественного производства. Ферментации проводили как в колбах Эрленмейера, так и в 20-литровых ферментерах.

Испытывали следующие отходы: дрожжевое молоко (квасные дрожжи), автолизат пивных дрожжей и спиртовую барду.

Результаты и обсуждение. Указанные отходы вносили в питательную среду в различных концентрациях, одновременно уменьшая количество кукурузного экстракта до 3%. Остальные компоненты среды СП-4 и их концентрации не изменяли.

Опыты показали, что частичная замена кукурузного экстракта дрожжевыми отходами в различных концентрациях дает благоприятный эффект, за исключением отходов спиртовых производств (спиртовая барда). Из табл. 1 видно, что для шт. 10846 автолизат пивных дрожжей в количестве до 25% может использоваться без ущерба для выхода биомассы и витамина В₁₂, а дрожжевое молоко и спиртовая барда — неприемлемы. Для шт. 10847 возможны все исследованные варианты, кроме спиртовой

Таблица 1. Влияние состава питательной среды на накопление биомассы и выход витамина В₁₂ у штаммов *P. shermanii* ИИМИА 10846 и 10847

Состав среды,		Выход сухой биомассы, г/л		Выход витамина В ₁₂ , % по сухому весу	
		шт.10846	шт.10847	шт.10846	шт.10847
Контроль, среда СП-4		62,5	75,5	0,25	0,06
СП-4 с 3% кукурузного экстракта + дрожжевое молоко (об/об)	10%	50,0	56,5	0,07	0,08
	25%	57,5	69,0	0,04	0,045
СП-4 с 3% кукурузного экстракта + автолизат пивных дрожжей (об/об)	10%	90,0	93,5	0,23	0,07
	25%	90,0	90,5	0,235	0,05
	100%	100,0	88,0	0,085	0,08
СП-4 с 3% кукурузного экстракта + автолизат пивных дрожжей (об/об)	10%	20,1	27,5	-	-
	20%	15,0	20,0	-	-
	30%	10,5	16,5	-	-

барды.

Как известно, в процессе интенсивного роста культуры ПКБ продуцируют пропионовую и уксусную кислоты [3], которые снижают pH среды, что приводит к вымыванию витамина из клеток и снижению скорости накопления биомассы. Поэтому начиная с 16-18 ч роста ПКБ проводились периодические корректировки pH среды щелочью (обычно стерильным 40%-ным раствором NaOH или 15%-ным Na₂CO₃). Использование NaOH оправдано тем, что снимается необходимость стерилизации. Как видно из табл. 2, культуры бактерий реагируют на

указанные основания одинаково, при этом выход витамина B_{12} остается в пределах 0,2-0,3% на сухой вес биомассы. После добавления предшественника (5,6 ДМБ) в течение 48 ч непрерывно подавали стерильный воздух. Из табл. 2 видно также, что после внесения 5,6-ДМБ на 72 ч роста ПКБ в процессе перехода фактора В в полные корринонды аэрации культуральной жидкости (КЖ) дает положительный эффект.

Таблица 2. Влияние аэрации и способа корректировки pH на накопление биомассы и выход витамина B_{12} у пропионовокислых бактерий

Вариант корректировки pH	Штаммы	Аэрация	Выход сырой биомассы, г/л	Выход витамина B_{12} , % по СВ биомассы
NaOH	10846	без аэрации ++	31,0 33,0	0,36 0,32
	10847	без аэрации +	25,0 40,0	0,21 0,26
NH ₄ OH	10846	без аэрации +	30,4 32,2	0,28 0,3
	10847	без аэрации +	32,0 31,5	0,23 0,3

Учитывая значительные энергетические затраты при перемешивании КЖ в процессе ее нейтрализации, изучали возможность использования продувки углекислым газом.

Таблица 3. Влияние способа перемешивания КЖ на накопление биомассы и биосинтез витамина B_{12}

Способ перемешивания	Штамм	Выход сырой биомассы, г/л	Выход витамина B_{12} , % по СВ биомассы
Механический	10846	30,2	0,33
	10847	35,0	0,18
Продувка углекислым газом	10846	27,1	0,35
	10847	31,0	0,19

Результаты выполненных работ показали (табл. 3), что продувка КЖ углекислым газом не влияет на выход биомассы и витамина B_{12} , который остается на уровне контроля. При этом уменьшается возможность заражения КЖ посторонней микрофлорой и улучшаются анаэробные условия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быховский В.Я. Микробиологический синтез витамина B_{12} . М., 1984.
2. Быховский В.Я., Зайцева Н.И. Итоги науки и техники, 32, 1989.
3. Воробьев Л.И. Пропионовокислые бактерии. Изд-во Московского университета, М., 1995.
4. Nelson N.J. J. Biol. Chem., 153, 375-381, 1944.
5. Ono H., Fukuoka K. J. Ferm. Assoc., 16, 111, 1958.
6. Somogyi M J. Biol. Chem., 195, 1, 19-22, 1952.

Поступила 28.IV.1997

ПРИНЦИПЫ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ В БИОСИНТЕЗЕ АМИНОКИСЛОТ

А.С. ЗУРАБЯН*, Г.Г. МАРДЖАНИЯН**, Б.П. КАРАБЕКОВ*,
М.М. СИМОНЯН**

*ИИИ "Биотехнология", 375056, Ереван

**Республиканский Центр депонирования микрочов НАН и Министерства
образования и науки Армении, 378510, г. Абовян

Предложен принцип разработки математических моделей в биотехнологии с целью масштабирования и оптимизации биотехнологических процессов. Предлагается модифицированный критерий адекватности модели. Правомочность предложенного подхода подтверждена экспериментальными данными.

Կենսատեխնոլոգիական պրոցեսների ընդլայնման և օպտիմիզացիայի համար առաջարկված է մաթեմատիկական մոդելների մշակման սկզբունքը կենսատեխնոլոգիայում: Ստրեյի համապատասխանությանը առաջարկված է մոդիֆիկացված չափանիշ: Իրադրված մոտեցման իրավասությունը ասացուցված է փորձնական տվյալներով:

For large scale production and optimization of biotechnological processes the principle of the mathematical models development in biotechnology is proposed. The modified criterion for adequacy of model is suggested. The competency of suggested approach is proved by experimental data.

Биосинтез аминокислот - математическое моделирование - масштабирование биотехнологических процессов

При исследовании процессов биосинтеза аминокислот особое место занимает проблема масштабирования, то есть нахождения условий, при которых возможен непосредственный перенос опытных данных, полученных для данной системы, с одного масштаба аппарата на другой.

Процессы, протекающие при биосинтезе аминокислот, отличаются исключительной сложностью, так как на явления микробиологического синтеза накладываются физико-химические явления, связанные с переносом вещества и энергии. Сложность усугубляется тем, что одновременно протекают процессы как на микроуровне - явления в клетках, так и на макроуровне - процессы массо- и теплопередачи, которые в свою очередь зависят от гидродинамической обстановки и аппарате.

Невозможность четкого разделения явлений, одновременно происходящих на микро- и макроуровнях, приводит к необходимости приближенной оценки влияния различных уровней взаимодействия и обуславливает необходимость математического моделирования как наиболее действенного метода исследования.

В литературе известно достаточно много моделей, описывающих накопление биомассы [1,2]. Значительно меньше работ, в которых дана модель получения продуктов микробиологического синтеза [3]. Основой этих моделей, как правило, служит предположение о связи между скоростью роста, возрастом культуры и скоростью накопления продукта. Эти модели являются по существу формальными, но достаточно приемлемы для проектно-конструкторских расчетов и имитационных исследований.

Однако формальные уравнения могут сильно различаться по своей структуре при примерно одинаковой точности описания ими экспериментальных данных. Это приводит к тому, что при определении оптимальных режимов масштабного перехода при реализации процесса в других гидродинамических условиях и решении других задач моделирования, где требуется знание производных от скорости процесса, оптимальные режимы могут сильно отличаться в зависимости от структуры (вида) модели, хотя исходные уравнения могут приблизительно одинаково описывать экспериментальные данные.

Вышеотмеченное определяет главный принцип разработки формальной математической модели в биосинтезе аминокислот, заключающийся в том, что основу его составляет задача выявления корректной структуры (вида) формального описания, позволяющей имитировать как качественные, так и количественные закономерности процесса.

Таким образом, при разработке математических моделей биосинтеза аминокислот с целью оптимизации процесса и его масштабирования предпочтение следует отдавать моделям, структура (вид) которых близка к кинетическим особенностям процесса и ущерб точности описания ими экспериментальных данных. Критерий же адекватности описания, в отличие от известной зависимости, характеризующей точность описания моделью эксперимента

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |Y_i^2 - Y_i^p|, \quad (1)$$

где Y_i^2 и Y_i^p - соответственно экспериментальное и расчетное значения искомой функции в i -ой точке сравнения, N - количество точек сравнения.

При разработке таких моделей критерий адекватности представляется в виде:

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \left| \frac{\partial Y^2}{\partial X_i} - \frac{\partial Y^p}{\partial X_i} \right|, \quad (2)$$

где $\left(\frac{\partial Y^2}{\partial X_i} \right)$ и $\left(\frac{\partial Y^p}{\partial X_i} \right)$ - соответственно экспериментальное и расчетное значения производной функции в i -ой точке сравнения.

Учитывая, как было отмечено выше, невозможность четкого разделения явлений, одновременно протекающих в процессах биосинтеза аминокислот, и, как следствие, невозможность априорного постулирования структуры модели, представляется целесообразной оценка структуры гипотетической модели в рассматриваемой области протекания процесса на основе статистической оценки характера связи между входными параметрами, что особенно важно при данном подходе, возможными сочетаниями функциональных блоков входных параметров (ФБВП) и выходными параметрами процесса.

Мера линейной зависимости между случайными величинами оценивается значением парной корреляции, которая численно равна

ковариации двух нормированных переменных для стационарного ансамбля:

$$\rho_{xy} = \frac{E\{[\bar{X} - E(X)] \cdot [\bar{Y} - E(Y)]\}}{\sigma_x \cdot \sigma_y}, \quad (3)$$

где $\sigma_x^2 = E\{[\bar{X} - E(X)]^2\}$; $\sigma_y^2 = E\{[\bar{Y} - E(Y)]^2\}$; \bar{X}, \bar{Y} - векторы случайных величин X и Y , между которыми оценивается наличие связи; $E(X)$ - математическое ожидание вектора \bar{X} .

Для оценки структуры модели по выражению (3) необходимо прежде всего выделить векторы X (входные параметры и функциональные блоки входных параметров) и Y (выходные параметры) процесса. При этом представляется целесообразным из всех возможных ФБВП на основе экспертной оценки выбрать те из них, которые имеют определенное теоретическое обоснование.

Далее на основе полученной матрицы значений парных корреляций составляется знаковая модель процесса, представленная системой дифференциальных уравнений, правая часть которых дана в виде ряда Тейлора от входных параметров и ФБВП.

Приведенные выше положения были взяты за основу при разработке математической модели процесса биосинтеза L-пролина изолейцинозависимыми мутантами.

Поскольку полное описание процессов микробиологического синтеза, кроме раскрытия кинетики накопления биомассы, должно также включать описание закономерностей потребления компонентов питательной среды и выделения продуктов метаболизма, то в качестве базовой модели были выбраны уравнения Марра (5) для описания утилизации компонентов среды и Людеккига (4) для описания накопления продуктов метаболизма:

$$\begin{cases} \frac{dC_x}{dt} = -\gamma \frac{dC_i}{dt} + \eta C_x \\ \frac{dC_i}{dt} = \frac{1}{\gamma} \frac{dC_x}{dt} + \frac{\eta}{\gamma} C_x \\ \frac{dC_p}{dt} = \alpha \frac{dC_x}{dt} + \beta C_x \end{cases} \quad (4)$$

где C_x, C_i и C_p - соответственно концентрации биомассы i -ого компонента питательной среды и продукта метаболизма.

Проведенные ранее исследования показали, что определяющими входными параметрами процесса при заданном диапазоне изменения pH среды и температуре ферментации являются концентрации компонентов в исходной питательной среде.

Кроме того, для процессов аэробной ферментации одним из важнейших факторов, определяющих ход процесса, служит количество

растворенного кислорода. В соответствии с этим в качестве входных параметров модели рассматривались концентрации компонентов исходной питательной среды (изолейцина - C_{10} , г/л, сахара - C_{11} , г/л, азота - C_{12} , г/л), скорость растворения кислорода - (v , г/л час) и ФБВП, составленные на их основе. В качестве выходных параметров были выбраны скорость роста биомассы (dC_x/dt), скорость утилизации энергетического субстрата сахара - (dC_{11}/dt) и скорость накопления L -протина в культуральной жидкости (dC_p/dt).

Результаты корреляционного анализа позволили сделать следующие предложения о структуре модели.

$$\begin{aligned} \frac{dC_x}{dt} &= f\left(C_x, \frac{dC_x}{dt}, C_x\right) \\ \frac{dC_{11}^y}{dt} &= f\left(\frac{1}{\frac{C_{11}}{v} - m_1} \cdot C_{11}^y\right) \\ \frac{dC_p}{dt} &= f\left(\frac{1}{\sum_{i=1}^3 \left(\frac{C_i}{v} - m_i\right)} \cdot C_x\right) \end{aligned} \quad (5)$$

где формальный параметр m_i рассматривается как оценочное значение величины (C_i/v) в оптимальной области. Выражение

$$\frac{C_{11}}{v} - m_1 = 0, \quad (6)$$

преобразованное к виду

$$\frac{C_{11}}{v + m_1} - 1 = 0, \quad (7)$$

показывает, что размерность формального параметра m_i выражается в единицах времени (час). Это позволяет, имея в виду известную зависимость скорости растворения кислорода

$$v = \frac{dC_{O_2}}{dt} = K_L \cdot a (C_{O_2}^* - C_{O_2}), \quad (8)$$

где K_L и a - массообменные характеристики, предположить наличие связи

$$m_i = \frac{\alpha_i}{K_L \cdot a}. \quad (9)$$

С учетом этого выражения и добавлением некоторых констант, обеспечивающих математическую корректность кинетики, математическая

модель для i -го рассматриваемого штамма-продуцента L-валина постулируется в виде:

$$\left\{ \begin{aligned} \frac{dC_x}{dt} &= -\gamma \frac{dC_2}{dt} + \eta C_3; \\ \frac{dC_2^y}{dt} &= b_2 \left(\frac{K_{1,2} a}{1 + R_2} \right)^{n_2} \cdot C_2^{n_2} \cdot C_3^{n_3}; \\ \frac{dC_p}{dt} &= b_p \left(\frac{K_{1,p} a}{1 + \sum_{i=1}^n R_i} \right)^{n_p} \cdot C_2^{n_2}; \end{aligned} \right. \quad (10)$$

$$C_x(0) = C_x^0; \quad C_2(0) = C_2^0; \quad C_p(0) = 0; \quad (11)$$

$$R_i = \beta_i \left| \frac{C_x}{C_2^* - C_{0,2}} - \alpha_i \right|; \quad (12)$$

где $\gamma, \eta, \beta_i, b_k, n_k$ ($k=1-5$) - параметры модели, подлежащие оцениванию.

Оценка параметров модели проводилась минимизацией квадратичной формы, характеризующей степень совпадения результатов модельных расчетов и экспериментальных данных.

Средняя относительная ошибка описания моделью экспериментальных данных составляет 8%, что соизмеримо с уровнем экспериментальных ошибок.

Кроме того, интегрирование уравнения роста биомассы показывает, что продолжительность экспоненциальной фазы роста составляет приблизительно 6 часов, что соответствует опыту, а время генерации клеток в этой фазе (начальная концентрация биомассы равна 0,15 г/л) составляет 60 - 70 мин, что также экспериментально подтверждается.

Математическая модель процесса была получена на основании колбочочных ферментаций. Поэтому для подтверждения правомочности выводов, вытекающих из анализа модели, была проверена ее "работоспособность" в другом гидродинамическом режиме на лабораторном ферментаторе (емкость-10л, объем накопления-7л, скорость оборотов мешалки-1000 1/мин, подача воздуха-1.1). Сравнение рассчитанных по модели кривых и соответствующих им экспериментальных точек показало достаточную точность описания моделью процесса биосинтеза L-валина.

Полученная знаковая модель была апробирована для описания процесса биосинтеза L-валина и доказала свою "работоспособность", что

подтверждает объективный характер полученной модели и правомочность предложенного подхода к математическому моделированию в биосинтезе аминокислот.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амбросов В.А., Васильев Н.Н., Складнев А.А. Прикл. биохим. и микробиол., 6, 4, 363-372, 1970.
2. Бирюков В.В., Кантере В.М. Оптимизация периодических процессов микробиологического синтеза. 290, М., 1976.
3. Кафаров В.В., Винаров А.Ю., Гордеев Л.С. Моделирование биохимических реакторов. 341, М., 1979.
4. Luedeking R., Piret E.L. J. Biochem. Microbiol. Technol. Eng., 1, 4, 393-412, 1959.
5. Marr A.G., Nilson E.H., Clark D.J. The maintenance requirement of *Escherichia coli*. Ann. N.Y. Acad. Sci., 102, 3, 536-548, 1963.

Поступила 14.IV.1997

Биолог. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 579.846

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ Fe^{2+} И Fe^{3+} НА РОСТ И ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ *SULFOBACILLUS THERMOSULFIDOOXIDANS*

Н.С. ВАРТАНЯН

Институт микробиологии НАН и Республиканский центр депонирования микробов НАН и Министерства образования и науки Армении, 378510, г. Абовян

Показано, что оптимальными для роста *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* шт. 41 и окисления Fe^{2+} являются исходные его концентрации от 105,3 до 205,3 мМ. При более высоких концентрациях Fe^{2+} наблюдалась задержка роста и окисления Fe^{2+} . Ионы трехвалентного железа ингибируют рост бактерии и окисление Fe^{2+} . При этом увеличивается константа насыщения (K_s). Следовательно, ингибирование носит конкурентный характер. Константа ингибирования (K_i) составляет 12,2 - 14,7 мМ Fe^{3+} .

Ցույց է տրված, որ *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* 41 շտամի աճի և երկաթի օքսիդացման համար օպտիմալ են հանդիսանում Fe^{2+} -ի 105,3 - 205,3 մՄ սկզբնական կոնցենտրացիաները: Fe^{3+} իոնների ազելի մեծ քանակության դեպքում նկատվել է բակտերիաների աճի և Fe^{2+} օքսիդացման դանդաղեցում: Ետադեք երկաթի իոնները արգելակում են բակտերիաների աճը և Fe^{2+} օքսիդացումը, ընդ որում այդ դեպքում մեծանում է հագեցման հաստատունը (K_s): Դետևաբար, արգելակումը կրում է մրցակցային բնույթ: Արգելակման հաստատունը (K_i) կազմել է 12,2 - 14,7 մՄ Fe^{3+} :

The optimal concentrations for growth of *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*-41 and iron oxidation with initial concentrations of Fe^{2+} in limits 105,3 - 205,3 mM have been revealed. Decrease of growth and iron oxidation of bacteria at high concentrations of Fe^{2+} was observed. The Fe^{3+} ions inhibited the growth and Fe^{2+} oxidation of bacteria, so in that case the constant of saturation (K_s) increased. Consequently, the inhibition was competitive. The constant of inhibition (K_i) was 12,2 - 14,7 mM Fe^{3+} .

Сульфобациллы - окисление железа - конкурентное ингибирование

Ионы двухвалентного и трехвалентного железа в большинстве случаев являются обязательными компонентами выщелачивающего раствора [1]. Влиянием этих ионов на рост и окислительную активность *Thiobacillus ferrooxidans* во многом определяется эффективность бактериального выщелачивания металлов [6,8,9].

Нами из сульфидных месторождений Армении выделена и описана новая термоацидофильная серо- и железooksисляющая бактерия *Sulfobacillus thermosulfidooxidans subsp. asporogenes* [2,3]. Изучение зависимости скорости роста и окислительной активности *S.thermosulfidooxidans* приобретает особую важность в связи с их использованием в процессах выщелачивания металлов из руд и отвалов. Целью наших исследований являлась количественная оценка этой зависимости.

Материал и методика. Объектом исследования служил тип 41 выделенной и описанной термоацидофильной серо- и железooksисляющей бактерии *S.thermosulfidooxidans*, вошедшей в каталог микроорганизмов РЦДМ под номером В-6984 [3].

Бактерии выращивали на среде, содержащей (г/л) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 0,5; NaCl - 0,3; MgSO_4 - 0,5; KH_2PO_4 - 0,2. В качестве источника энергии использовали двухвалентное железо. К среде добавляли также дрожжевой экстракт в концентрации 0,02%. Опыты проводили в конических 250 мл колбах, наполненных 50 мл среды. Культивирование осуществляли при 45-50° в режиме встряхивания 180 об/мин. Количество клеток определяли методом предельных разведений, число жизнеспособных клеток - по таблице Мак-Креда [4]. Константу насыщения (K_m) определяли графически по Лайнуиверу-Бэрку, константу ингибирования - по формуле

$$K_i = \frac{I}{\frac{K_s}{K_m} - 1} \quad (5).$$

железо - комплексометрически трионом Б [7].

Результаты и обсуждение. Рост *S.thermosulfidooxidans* и окисление двухвалентного железа зависят от концентрации в среде ионов Fe^{2+} и Fe^{3+} . Ниже приводится количественная оценка этой зависимости.

Как видно из данных, приведенных в табл.1, оптимальными для роста бактерии и окисления Fe^{2+} являются его исходные концентрации, 105,3 и 205,3 мМ. Скорости роста (μ_{max}) и окисления Fe^{2+} (V_{max}) при этих концентрациях были максимальными - 0,42; 0,32 час⁻¹ и 6,2; 6,1 мМ час⁻¹ Fe^{2+} соответственно. При более высоких концентрациях Fe^{2+} наблюдалось замедление роста и окисления двухвалентного железа. Так, при исходных концентрациях 346,4 и 441,1 мМ Fe^{2+} удельная скорость роста бактерий снижалась в 1,4 и 5,5 раза, а скорость окисления Fe^{2+} - в 1,3 и 1,7 раза соответственно. При концентрации Fe^{2+} 37,5 мМ удельная скорость роста бактерии была близка к максимальной, однако скорость окисления Fe^{2+} составляла 28% от активности, наблюдаемой при его оптимальной концентрации. Следовательно, при низких концентрациях Fe^{2+} его окисление лимитируется по субстрату.

Трехвалентное железо является продуктом бактериального окисления Fe^{2+} и в зависимости от его концентрации накапливается в среде. Поэтому выявить влияние исходных концентраций Fe^{3+} на рост бактерий и окисление Fe^{2+} можно лишь в первые часы, когда Fe^{2+} образуются в

минимальных количествах. В наших экспериментах это соответствовало периоду с 10 до 17 час.

Таблица 1. Количественные характеристики роста *S.thermosulfidooxidans subs. asporogenes* шт.41 при различных исходных концентрациях Fe²⁺ (рН 1,7, t=50°)

Концентрация Fe ²⁺ , мМ	Удельная скорость роста. (μ _{max}), час ⁻¹	Скорость окисления, (V _{max}), мМ час ⁻¹	Время генерации, (g) час
37,5	0,34	1,8	2,0
105,3	0,42	6,2	1,65
205,3	0,35	6,1	1,98
346,4	0,29	4,7	2,4
441,1	0,076	3,7	9,1

При повышенных концентрациях Fe³⁺ наблюдалось замедление роста бактерий и окисления Fe²⁺. Оно выразилось в снижении удельной скорости роста, скорости окисления Fe²⁺ (табл.2). Причем степень ингибирования роста бактерий и окисления Fe²⁺ понижалась с увеличением исходной

Таблица 2. Рост *S.thermosulfidooxidans subs. asporogenes* шт.41 и окисление Fe²⁺ при различных исходных концентрациях Fe³⁺ (рН 1,8, t=50°, Fe²⁺ - 69,4 мМ)

Исходная концентрация Fe ³⁺ , мМ	Удельная скорость роста, (μ _{max}) час ⁻¹	Скорость окисления Fe ²⁺ , (V _{max}) мМ час ⁻¹
2,0	0,35	6,28
6,5	0,31	6,00
21,9	0,27	5,43
39,8	0,19	3,43
69,4	0,19	1,86

концентрации Fe³⁺.

Изучение кинетических параметров окисления Fe²⁺ показало, что при наличии в среде ионов Fe³⁺ увеличивается значение константы насыщения (K_s). Так, величина K_s составляла 1,2 мМ Fe²⁺ в отсутствие Fe³⁺ и 2,56 и 3,45 мМ Fe²⁺ при исходном содержании 13,4 и 26,8 мМ Fe³⁺ соответственно (рис.1). Ионы Fe³⁺ в изученных концентрациях конкурентно ингибировали окисление Fe²⁺. Константа ингибирования равнялась 12,2 - 14,7 мМ Fe³⁺.

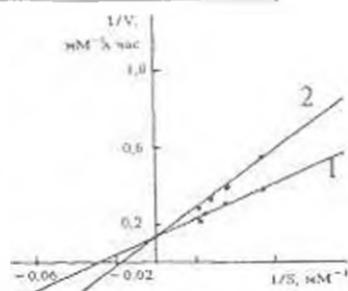


Рис. 1. Графическое определение константы насыщения (K_s) в отсутствие (1) и в присутствии Fe³⁺ (2) по Лайнуиверу-Берку. 1-K_s = 33,3 мМ Fe²⁺, 2-K_s = 55,5 мМ Fe²⁺. K_i = 44,6-49,1 мМ Fe³⁺.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биоготехнология металлов (ред. Каравайко Г.И., Грудев С.И.) М. Центр Международных проектов ГКНТ, 1985.
2. Вартамян Н.С. Биол. журн. Армении, 48, 1, 8-12, 1995.
3. Вартамян Н.С., Каравайко Г.И., Пивоварова Т.А. Микробиология, 59,

- 3, 441-447, 1990.
4. Герхардт Ф. и др. Методы общей бактериологии. 1, М., 1983.
 5. Диксон М., Узбб Э. Ферменты 1, М., 1982.
 6. Дорофеев А.Г., Пивоварова Т.А., Каравайко Г.И. Микробиология, 59, 2, 205-212, 1990.
 7. Резников А.А., Муликовская Е.П., Соколов И.Ю. Методы анализа природных вод. М., 1970.
 8. Lizama H.M., Suzuki I. Appl. Environ. Microbiol., 55, 10, 2588-2591, 1989.
 9. Nikolov L., Valkova-Valchanova M., Mchochev M. J. Biotechnol., 7, 2, 87-94, 1988.

Поступила 9. XII. 1997

Биолог. журн. Армении. 3-4 (50), 1997

УДК 579.66'15+579.66'112+674.038.1

БИОКОНВЕРСИЯ ОБРЕЗКОВ ВИНОГРАДНОЙ ЛОЗЫ В БЕЛОК КУЛЬТУРАМИ *TRICHODERMA REESEI* И ДРОЖЖЕЙ

А.В. ГАСПАРЯН, М.А. КИНОСЯН

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

Проведен ферментативный гидролиз целлюлозы обрезков виноградной лозы с помощью культур *Trichoderma reesei*. Выявлено, что в полученных ферментативных гидролизатах из сахаров в основном образуются глюкоза, целлобиоза, ксилоза, а также арабиноза, раффиноза, уроновые кислоты, что позволяет использовать эти гидролизаты для выращивания келтозо- и целлобиозоусваивающих дрожжей. Изучена возможность обогащения обрезков винограда микробным белком смешанными культурами *Tr. reesei* и дрожжей в условиях твердофазной ферментации.

Կատարվել է խաղողի վազի ետված ճյուղերի ֆերմենտային հիդրոլիզ *Tr. reesei* կուլտուրաների միջոցով: Բացահայտվել է, որ ստացված ֆերմենտային հիդրոլիզատներում շաքարներից հիմնականում առաջանում են գլյուկոզ, ցելոբիոզ, քսիլոզ, ինչպես նաև արաբինոզ, ռաֆինոզ, ուրոնաթթուներ, որը բոլի է տալիս այլ հիդրոլիզատները օգտագործել քսիլոզ և ցելոբիոզ յուրացնող շաքարասնկերի աճեցման համար: Ուսումնասիրվել է խաղողի ետված ճյուղերի մանրէային սպիտակուցով հարստացման հնարավորությունը պինդ ֆազային ֆերմենտացիայի պայմաններում *Tr. reesei*-ի և շաքարասնկերի խառը կուլտուրաներով:

The enzymatic hydrolysis of grape branches by cultures of *Tr. reesei* was carried out. In obtained enzymatic hydrolyzates mainly were formed glucose, cellobiose, xylose, as well as arabinose, raffinose, uronic acids, which permitted to use such hydrolyzates for growth of xylose and cellobiose utilizing yeasts. The possibility of enriching the grape branches with microbial protein under conditions of solid-substrate fermentation with mixed cultures of *Tr. reesei* and yeasts has been studied.

Обрезки виноградной лозы - ферментативный гидролиз - *Trichoderma reesei*

Биоконверсия растительных остатков, обогащение их белком и использование в качестве корма для животных представляет большой практический интерес и является перспективным направлением в биотехнологии [3,6,10].

Из сельскохозяйственных целлюлозолигниновых отходов характерными для Армении являются виноградные обрезки, имеющие следующий химический состав, %: целлюлоза - 30-32, лигнин - 14,0, экстрактивные вещества - 15,0 [8]. Эти данные свидетельствуют, что субстрат благоприятен для биоконверсии в белок.

Для обогащения растительного сырья белком разработаны и разрабатываются различные технологии. С этой целью используются микромицеты, особенно культуры *Tr.reesei*, обладающие целлюлазным комплексом и способные гидролизовать полимеры растительных субстратов до мономерных соединений [3,8,11,13]. При ферментативном гидролизе растительного сырья грибом *Tr.reesei* создаются благоприятные условия для выращивания дрожжей как на ферментативных гидролизатах, так и при совместном их выращивании глубинной и твердофазной ферментацией (ТФ) [2,3,6,8].

Целью данной работы явилось получение ферментативных гидролизатов виноградных обрезков с помощью *Tr.reesei* для выращивания ксилотрофных и целлюлозоутилизирующих дрожжей, а также изучение возможности обогащения микробным белком обрезков виноградной лозы смешанными культурами *Tr.reesei* и указанных дрожжей в условиях твердофазной ферментации.

Материал и методика. Объектами исследования служили штаммы культур *Tr.reesei* ИИМИА 10060, 10180 и 10206 - продуценты целлюлолитических ферментов, а также дрожжи рода *Candida* из коллекции культур Республиканского центра депонирования микробов НАН и Министерства образования и науки РА (РЦДМ) с условным обозначением ИИМИА

Для выращивания грибных культур использовалась среда Чанека - Дюкса следующего состава, %: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 0,3; KCl - 0,05; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,05; KH_2PO_4 - 0,1; FeSO_4 - 0,001; кукурузный экстракт - 0,5; целлюлоза (предварительно обработанные щелочью измельченные виноградные обрезки) - 1,5 - 2,0; pH 5,0. Культивирование проводилось в конических колбах емкостью 500 мл, содержащих 75 мл среды, на каталиках (200 - 250 об/мин) при 30°. В качестве посевного материала использовались 7-суточные культуры *Tr.reesei*, выращенные на среде с 0,05% 2-диоксиглюкозы. На одну колбу использовался посевной материал с одного косяка.

Источником целлюлаз служил фильтрат культуральной жидкости (КЖ) *Tr.reesei*.

Целлюлолитическая активность определялась общепринятыми методами [1,4,12]. За единицу С_А активности (экзо-целлюлогидролитной или экзо-1,4-β-глюкогалактосидной активности) принималось такое количество фермента, которое в принятых условиях (pH 4,7-5,0, 50°, 30 мин фильтровальной бумаги) катализирует образование 1 мкмоль ПВ по глюкозе за 1 мин. За единицу С_А активности (экзо-1,4-β-глюкогалактосидной активности) принимается такое количество фермента, которое в принятых условиях (pH 4,7-5,0, 50°, 0,5% Na-KMnO₄) катализирует образование 1 мкмоль ПВ по глюкозе за 1 мин.

В качестве растительного субстрата при ферментативном превращении использовались обрезки виноградной лозы, измельченные в лабораторных условиях.

Редуцирующие вещества (РВ) по глюкозе определялись методом Шоматта-Нельсона [14], а также методом хроматографии на бумаге с использованием как качественных, так и количественных методов определения разных сахаров. Количество глюкозы определяется гексозоокислительным методом.

Общий азот определялся методом Кьельдаля [1].

Опыты по протейнизации обрезков винограда в условиях твердофазной ферментации в стационарном слое проводили в конических колбах объемом 200 мл с 2, 5 и 10 г обрезков, увлажненных до 80 % питательной средой следующего состава, %: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 0,3; KH_2PO_4 - 0,12; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,06; CaCl₂ · 2H₂O - 0,01; NaCl - 0,01; pH 5,2-5,3. Посевной материал дрожжей

готовили на среде того же состава, но с глюкозой (1%) и дрожжевым экстрактом (0,5%). Дрожжи выращивали в колбах на качалках в течение 18 ч до полного расхода глюкозы и вносили в количестве 2 мл на каждую колбу для ТФ. Культуру *Tr.reesei* выращивали в глубоких условиях в течение 3 суток и вносили в количестве 1 мл вместе с дрожжами на каждую колбу. Продолжительность ТФ - 15-20 суток с периодическим перемешиванием.

После ТФ получаемый продукт высушивался, анализировался на содержание белка или сырого протеина. Сырой протеин определялся методом Кьельдаля после ивличения неорганического азота (0,5 М ТХУ).

Результаты и обсуждение. Данные, представленные в табл.1, показывают, что изученные штаммы *Tr.reesei* характеризуются комплексом целлюлаз.

Обработанные штаммы *Tr.reesei* обладают разной целлюлолитической активностью. Согласно литературным данным [5,7,11], биосинтез целлюлаз у микроорганизмов зависит от состава питательной среды и условий культивирования. Так, максимальное образование целлюлаз на разных средах для штаммов грибов родов *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Hemicola*, *Chaetomium*, *Phoma* в среднем составляет: C_1A - 0,5-31 ед/мл, а C_2A - 0,2-50 ед/мл КЖ.

Таблица 1. Биосинтез целлюлаз штаммами *Tr.reesei* в динамике роста

№ штаммов <i>Tr.reesei</i> по ИММНА	Время культивирования, сут			
	7		10	
	целлюлолитическая активность, ед/мл КЖ			
	C_1A	C_2A	C_1A	C_2A
10060	0,5	2,3	0,1	1,0
10180	1,2	3,0	1,6	4,5
10206	2,6	5,5	3,2	7,5

Штамм 10060 на указанной среде продуцирует в основном C_1A фермент, максимальный выход которого составляет 2,3 ед/мл после 7 суток культивирования. Дальнейшее культивирование продуцента приводит к инактивации фермента. Максимальный выход целлюлаз у штаммов 10180 и 10206 отмечается в течение 10 суток культивирования и составляет: C_1A -1,6 и 3,2 ед/мл, а C_2A — 5,5 и 7,5 ед/мл КЖ соответственно.

Максимальная каталитическая активность целлюлаз указанных штаммов проявляется при pH 4,7-5,0 и температуре 50-55°.

Результаты исследования ферментативного гидролиза виноградных обрезков с помощью целлюлаз культур *Tr.reesei* показали, что максимальное накопление РВ в ферментативном гидролизате происходит за 6 ч гидролиза. Продолжение гидролиза до 24 ч приводит к незначительному увеличению РВ (табл.2).

Таблица 2. Образование РВ при ферментативном гидролизе виноградных обрезков целлюлазами *Tr.reesei* [условия: 2г субстрата; 20 мл КЖ (2,5 ед/мл C_1A и 7,0 ед/мл C_2A); 50°; качалка 150 об/мин]

Время гидролиза, ч	Общее количество РВ, мг/мл
Исходное	8,0
2	29,1
4	50,4
6	60,6

Ферментативный гидролиз виноградных обрезков целлюлазами *Tr.reesei* обуславливает накопление в ферментативном гидролизате РВ в количестве 68,2 мг/мл, т.е. в концентрации более 30% по сухому весу, из которого на долю глюкозы приходится 37,5 мг/мл.

Содержание РВ в ферментативных гидролизатах виноградных обрезков представлено в табл.3.

Таблица 3. Характеристика ферментативных гидролизатов обрезков виноградной лозы

РВ, %					
глюкоза	целлобиоза	ксилоза	арабиноза	раффиноза	уроновые кислоты
55,4	22,5	8	7	5,1	2,0

Методом хроматографии на бумаге выявлено, что в ферментативных гидролизатах виноградных обрезков из РВ образуются глюкоза, целлобиоза, ксилоза, а также арабиноза, раффиноза, уоновые кислоты, что создает благоприятную среду для выращивания ксилосо- и целлобиозоусваивающих дрожжей с целью получения кормового белка. Ферментативные гидролизаты можно использовать как источник углерода в питательной среде, а также как отдельную среду, так как в них содержится источник азота.

Обогащение микробным белком виноградных обрезков культурами дрожжей и *Tr.reesei* в условиях ТФ выявило, что в получаемом продукте происходит увеличение сырого протеина в 2-3 раза, по сравнению с исходным субстратом (табл.4).

Таблица 4. Увеличение количества общего азота и сырого протеина в стационарном слое виноградных обрезков после роста *Tr.reesei* и дрожжей *Candida* в условиях ТФ (условия: 30°; 20 суток; периодическое перемешивание)

Субстрат, количество, %	Сырой протеин, %	Ошибки, %
Контроль (обрезки)	10,6	1,7
2	35,25	5,64
5	30,31	4,85
10	20,25	3,24

Таким образом, обогащенные микробным белком виноградные обрезки могут быть использованы в качестве кормового продукта в животноводстве.

ЛИТЕРАТУРА

1. Великая Е.И., Суходол В.Ф. Лабораторный практикум по курсу общей технологии бродильных производств. 310, М., 1983.

2. Макарова Е.Н., Пожитнева Е.Н., Гаспарян А.В. Тез. докл. III науч. семинара "Превращения древесины при энзиматическом, микробиологическом воздействиях". Рига, 1988.
3. Проблемы биоконверсии растительного сырья (под ред. Скрябина Г.К. и др.). 296, М., 1986.
4. Гухлядсва А.П., Полюгина Г.В. Методы определения активности гидролитических ферментов. 287, М., 1981.
5. Соловьёва И.В., Окунев О.Н., Крюкова Е.Г., Попова Н.Н., Сеницин А.П., Черноглазов В.М. Прикл. биохим. и микроб., 33, 4, 388-392, 1997.
6. Трансформация продуктов фотосинтеза (под ред. Бекера М.Е.). Рига, 1984.
7. Туземисова К.А., Амирханова Л.М., Усланов А.К., Бекмаханова Н.Е. Тез. докл. III Всесоюз. конф. "Биосинтез ферментов микроорганизмами", 144, Пушкино, 1986.
8. Целлюлолитические ферменты: реальные возможности и перспективы их применения. ВНИИ СЭПТИ, обзор. инф., 5, 2, 1983.
9. Чхартушвили Д.А. Автореф. канд. дисс., 22, Тбилиси, 1986.
10. Biomass conversion technology: principles and practice (Ed. Moo-Young M.). 211, New-York, Pergamon Press, 1987.
11. Doppelbauer R., Esterbauer H., Steiner W., Lafferty R., Steinmuller H. Appl. Microbiol. Biotechnol., 26, 5, 485-494, 1987.
12. Mandels M., Hontz L., Nyström J. Biotechnol. Bioeng., 16, 11, 1471-1493, 1974.
13. Ropars M., Marchal R., Pourquie J., Vandecasteele J. P. Bioresour. Technol., 42, 3, 197-204, 1992.
14. Somogyi M. J. Biol. Chem., 195, 1, 19-22, 1952.

Получено 10.IX.1997

**БИОСИНТЕЗ АНТРАКИНОНОВ В КЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЕ
RUBIA TINCTORUM L.**

**М.К. МКРТУМЯН, Ю.Г. ПОПОВ, Е.Н. ЩЕРБАКОВА, А.Г. ПАНОСЯН,
И.П. КУЗОВКИНА**

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

Получена кллузная культура марены красильной (*Rubia tinctorum* L.). Подобрана среда, обеспечивающая хороший рост ткани и синтез вторичных метаболитов *in vitro*. Проведенный качественный анализ антрахинонов в экстрактах кллузной ткани марены с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) показал сопоставимость спектра вторичных метаболитов, синтезируемых *in vitro* кллузной тканью, с составом антрахинонов корней и корневищ целого растения.

Ստացված է տորոնի *Rubia tinctorum* L. կալլուսային կուլտուրան. Ընտրված է մեդիամիջավայր, որն ապահովում է հյուսվածքային կուլտուրայի համեմատաբար լավ աճ և երկրորդային մետաբոլիտների սինթեզ *in vitro* պայմաններում: Շարժը ֆեկրոլիզայանք հեղուկային բրոմատոգրաֆիայի օգնությամբ տորոնի կալլուսային հյուսվածքի էքստրակտներում որոշված անտրախինոնների որակական անալիզը ցույց տվեց, որ կալլուսային հյուսվածքի կողմից սինթեզված երկրորդային մետաբոլիտների սպեկտրը համընկնում է ամբողջական բույսի արմատների և արմատիկների անտրախինոնների կազմի հետ:

The callus culture of madder (*Rubia tinctorum* L.) was obtained. The nutrient medium for tissue growth and secondary metabolites synthesis *in vitro* was elaborated. The HPLC chromatograms of extracts obtained from the madder callus tissue possessed the similar peaks of anthraquinones with the same retention time as in the extracts from the roots and rhizomes of intact plant.

Rubia tinctorum - кллузная культура - антрахиноны

Необеспеченность фармацевтической промышленности естественным сырьем приводит к целесообразности производства последнего биотехнологическим способом. Способность изолированных культур растений сохранять биосинтетические особенности интактных растений дает основание считать их потенциальным источником для получения ценных натуральных соединений. Использование изолированных тканей и клеток растений в качестве источника сырья для производства ценных препаратов не всегда оказывается действительно рентабельным [2,7]. Это связано с некоторыми особенностями культивируемых клеток. Как правило, исходным материалом для получения культуры клеток являются активно пролиферирующие ткани [1], а источником биологически активных веществ *in vivo* - запасяющие органы; кроме того, деление клеток в культуре и вторичный метаболизм разделены по времени [1]. В большей части изученных штаммов изолированных клеток лекарственных растений содержание биологически активных веществ оказывается на порядок ниже, чем в интактных растениях [4]. Хотя некоторые культуры в условиях *in vitro* продуцируют повышенные количества вторичных соединений.

(например, аноскополамин содержится в больших количествах в экстрактах из культур некоторых *Datura spp.*), *in vivo* этот алкалоид присутствует лишь в следовых количествах [5]. И.П. Кузовкиной в Институте физиологии растений РАН также был получен штамм клеток руты душистой, содержащей в 20 раз больше алкалоида рутакридона, чем интактное растение [3].

Марена красильная (*Rubia tinctorum*) - многолетнее лекарственное растение (сем. *Rubiaceae*), корни и корневища которого содержат антрахиноны и их производные. Антрахиноны - обширная группа (более 200 представителей) встречающихся в природе хинонов [6]. Особенно широко они представлены в сем. *Rubiaceae* [10]. Корни марены красильной издревле используются в текстильной промышленности (как красители) и в фармации (как слабительное средство). Лечебные свойства корней обусловлены наличием ализарина (1) - 1,2-дигидрооксантрахинона, его гликозида-руберитриновой кислоты (2) и пурпурина (3), которые обладают диуретическими, спазмолитическими и слабительными свойствами (рис. 1).

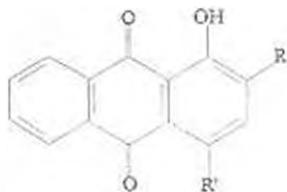


Рис. 1. (1) Ализарин R=OH, R'-H; (2) руберитриновая кислота R=O-primverose, R'-H; (3) пурпурин R=R'-OH.

Препараты марены красильной способствуют разрыхлению мочевых конкрементов, содержащих фосфаты кальция и магния. Руберитриновая кислота, закисляя мочу, способствует растворению также оксалатов. Ализарин, как основной компонент экстрактов из корней и корневищ марены красильной, может быть использован как индикатор для оценки продукции антрахиноновых метаболитов в культивируемых клетках марены красильной.

Материал и методика. Клеточную культуру марены получали из экзплантов листового и стеблевого происхождения на среде Мурашиге и Скуга (МС). Модификацией питательной среды удалось добиться относительно хорошего роста и повысить эффективность синтеза целевого продукта. Полученные культуры ярко-оранжевого цвета, иногда с красноватыми участками, на свету зелели и имели плотную консистенцию. Поддержание культуры в состоянии непрерывного роста обеспечивалось регулярным (каждые 4 недели) пассированием на среде МС, содержащей (мг/мл) БАН 1, кинезин 1, ГК 0,2, НУК 0,5 при температуре 26° в темноте. Поскольку некоторые вещества в данном случае окрашены, то пассирование сопровождалось набором наиболее интенсивно окрашенных участков. Культивирование культур марены ведется более года.

Экстракция антрахинонов из лиофилизированного материала проводилась метанолом (0,2 г материала-трехкратная экстракция 10 мл метанола на ультразвуковой ванне в течение 30 мин). Объединенный экстракт фильтровали и доводили метанолом до 100 мл. Концентрацию суммарного антрахинона в клеточной ткани, а также в корнях и корневищах интактного растения марены определяли по калибровочной кривой, построенной для обеспримятого стандарта антрахинонов-ализарина при длине волны 425 нм на регистрирующем спектрофотометре Spexord M40 (Carl Zeiss). Вычисленный по калибровочной кривой молярный коэффициент экстинкции составлял 4293, что сопоставимо с литературными данными [8]. Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на пластинках Silufol UV-254. Разделение в тонком слое осуществляли в системах растворителей хлороформ-уксусная кислота 9:1.

Хроматографический анализ (ВЭЖХ) метанольных экстрактов клеточной ткани марены проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе (Beckman), состоящем из двух насосов 110В, инжектора 210А, программатора градиента 406 и УФ-детектора. Условия хроматографирования: колонка 250x4мм с фазой Армсфер-С8, элюция антрахинонов

ацетонитрилом в присутствии 4%-ной уксусной кислоты (градиент от 10 до 40%, скорость элюции - 0,8 мл/мин, детекция антрахинонов при 250 нм, скорость бумаги на регистрирующем самописце - 5 мм/мин). В качестве стандарта был использован смесь ализарина и пурпурина (Sigma). В колонку вносили по 30 мкл метанольных экстрактов, разбавленных в 10 раз.

Результаты и обсуждение. Антрахиноны относятся к числу вторичных метаболитов, образование которых в растениях не связано с образованием специализированных тканевых структур. Они локализируются в основном в паренхимных клетках коры и корневищ, а также иногда и в стеблевой коре растений. Этим можно объяснить тот факт, что недифференцированно растущие клетки и ткани ряда растений, особенно растений сем. *Rubiaceae*, сохраняют способность к образованию антрахинонов при культивировании *in vitro* [9]. При пролонгированном культивировании (8 недель) каллусная ткань приобретала темно-вишневый оттенок вследствие накопления красителей, которые при более длительном культивировании диффундировали в питательную среду. Содержание суммарного антрахинона в 4 недельной каллусной культуре и в корнях интактного растения, определенное спектрофотометрически, составляло соответственно 49,80 и 39,05 мг/г сухого веса.

Тонкослойная хроматография (ТСХ) метанольных экстрактов и сравнении с чистым веществом показала идентичность их хроматографического поведения. Непосредственное сравнение значений R_f чистого вещества с R_f ализарина из экстрактов каллусной ткани, корней и корневищ целого растения подтвердило присутствие последнего в каллусной ткани марены (рис. 2).

Первые результаты хроматографического анализа экстрактов каллусной ткани марены на ВЭЖХ также показали наличие алицириглавного компонента антрахинонов корней и корневищ целого растения. Ализарин из экстрактов каллусной ткани имел такие же значения времени удерживания во всех трех пробах, что и ализарин в стандартном растворе (рис. 3).

Хроматограмма показывает сопоставимость качественного состава антрахинонов интактного растения с составом антрахинонов, выделенных из каллусной ткани марены. Остальные компоненты экстрактов за отсутствием метчиков не были идентифицированы.

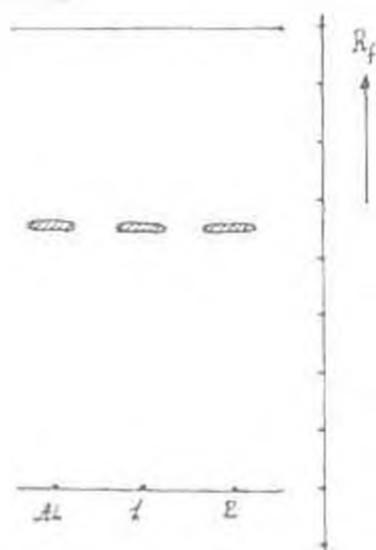


Рис. 2. Тонкослойная хроматография экстрактов из каллусной ткани, корней и корневищ интактного растения марены красильной АЛ-ализарина: 1 - экстракт каллусной ткани, 2 - экстракт из корней и корневищ интактного растения.

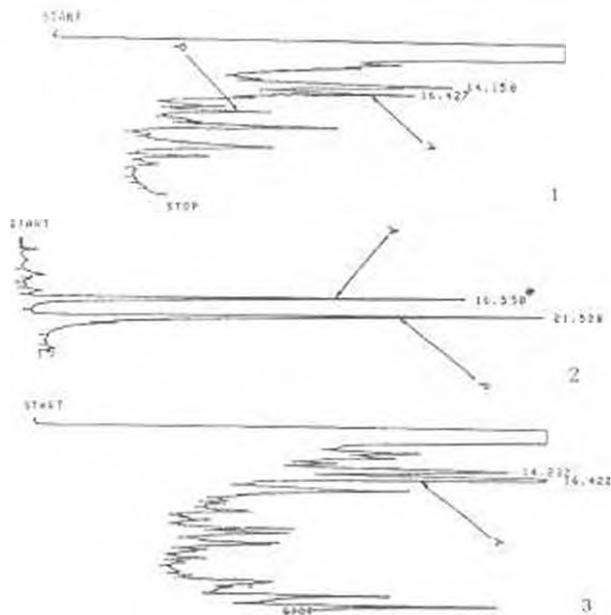


Рис. 3. ВЭЖХ суммарных экстрактов антрахинонов из каллусной ткани, корней и корневищ интактного растения марены красильной. 1 - каллусная культура марены, 2 - стандартный раствор-смесь ализарина и пурпурина, 3 - корни и корневища интактного растения, А - ализарин, Р - пурпурин, * - время удерживания.

Круглогодичное выращивание в контролируемых условиях каллусной ткани марены даст возможность получать экологически чистое лекарственное сырье. Работа частично финансировалась грантом ИИТАС ЕС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. 272, М, 1964.
2. Бутенко Р.Г. Культура клеток и биотехнология. 3, М., 1986.
3. Культура клеток растений (под. ред. Бутенко Р.Г.), 37, М, 1981.
4. Кузовкина И.Н., Сендрей К., Роса С., Райш И., Раст. ресурсы, 16, 1, 112-118, 1980.
5. Corduan G. Planta Medica Supplement, 22, 1975.
6. Francis F.J. Pigments and other colourants In Food Chemistry (Fenunera, O.R., ed.) Marcel Decker, New York, 571-580, 1985.
7. Kreis W., Reinhard E. Planta Medica, 55, 4, 409, 1986.
8. Shulte U., El-Shagi H., Zenk M.H. Plant Cell Reports, 3, 1, 51-54, 1984.
9. Strobel J., Hieke M., Gebauer E., Wind E., Groger D. Biochem. Physiol. Pflanzen, 2, 117-124, 1980.
10. Vickery B.L., Vickery B. Secondary Plant Metabolism. The Macmillan Press, Hong Kong, 1-17, 1981.
11. Yeoman M.M., Miedzybrodska M.B., Lindsey K., McLauchlan W.R. The Synthetic Potential of Cultured Plant Cell Cultures: Results and Perspectives/Eds Sala et al. Amsterdam etc.: elsevier, 327, 1980.

Поступила 3.IV.1991

О ПОЛУЧЕНИИ КУЛЬТУР *BACILLUS POPILLIAE* С ВЫСОКОЙ СПОРОГЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ

С. П. БАГДАСАРЯН

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

Показана возможность получения спорогенного штамма *Bacillus popilliae* с использованием метода селекции терморезистентных форм. Дана характеристика морфофизиологических и культуральных особенностей полученного варианта, отличающегося от исходного высокой спорогенностью и жизнеспособностью, на разработанной питательной среде.

Քույց 1 տրված *Bacillus popilliae* ի սպորոգեն շտամի ստացման հնարավորությունը քերական մեթոդի սելեկցիայի եղանակով: Մշակված սննդամիջավայրի վրա ներկայացված է ստացված շտամի մորֆո-ֆիզիոլոգիական և կուլտուրալ առանձնահատկությունների բնութագիրը:

The possibility to obtain a sporogenous strain of *Bacillus popilliae* by selection of thermoresistant forms has been shown. Morpho-physiological and cultural properties of obtained strain on the developed medium have been presented.

Этиопатогенные бактерии - *Bacillus popilliae* - спорообразование

Несмотря на успехи микробиологического метода борьбы с вредоносными насекомыми, до настоящего времени не получены эффективные и перспективные препараты для борьбы с жесткокрылыми, жуками и другими особо опасными вредителями. В этой связи большой интерес представляют культуры *Bacillus popilliae* (BP) — возбудителей молочных болезней японского жука и многих представителей семейства *Scarabaeidae* [6].

Бактерии BP начали применяться как средство микробиологической борьбы уже со времени их описания [7-9]. Однако до настоящего времени подобные препараты продолжают выпускаться трудоемким способом — культивированием в организме восприимчивых насекомых. На протяжении более 50 лет изучены многие вопросы этиопатогенеза болезней и биохимические изменения в ходе развития инфекционного процесса [10, 14, 15], а также культуральные, физиолого-биохимические особенности BP [2-5].

Нами разработана искусственная среда для эффективного выращивания вегетативного BP [1]. Вместе с тем основная задача — разработка условий споруляции на искусственных питательных средах — осталась нерешенной, что является главным препятствием для промышленной выработки инсектицидных препаратов на основе культур этого вида.

Данная работа ставила целью получение и характеристику культур — возбудителей молочных болезней японского жука с высокой спорогенной активностью в условиях разведения *in vitro*.

Материал и методика. Объектом исследования служили культуры *ВР* штаммы ИИМИА-1883, 1884, 1885, 1886, 1887 из коллекции Республиканского центра лептоспироза микробов.

Для выращивания культур использовали жидкую и агаризованную питательные среды СР-1а, разработанные и предложенные в лаборатории спорообразующих бактерий ИИМИА НАН Армении. В качестве исходной культуры использовали шт. ИИМИА 1884, выращенный на агаризованной среде СР-1а в течение 15 суток при 30°. Термообработке подвергли суспензию указанного штамма в жидкой среде СР-1а при 60° в течение 10 мин на водяной бане со слабым перемешиванием. В результате посева из суспензии на агаризованную среду и микроскопирования всех полученных колоний спустя 15 дней роста при 30° был выбран вариант с максимальным спорообразованием для последующей термообработки. Окончательный отбор спорообразующего варианта проводился после трехкратной обработки суспензии спорогенных вариантов при тех же условиях.

Титр клеток определяли на ФЭК 56 при 560 нм в кюветках с толщиной слоя 0,5 см. Учет спорообразования проводили микроскопированием колоний, выросших на агаризованной среде СР-1а из 15 суток инкуляции при 30°. Финальные биохимические свойства изучали в соответствии с ключом для идентификации бактерий.

Результаты и обсуждение. Литературные данные указывают, что в результате многочисленных работ по получению спорогенных культур *ВР* с использованием методов экспериментальной изменчивости, внесением в среду различных добавок, стимулирующих спорообразование (мочевина, барбитуровая кислота, вытяжка из старых культур *ВР*, активированный уголь и др.) была достигнута максимальная споруляция в пределах 20% [12, 14, 16, 17].

Представлены данные по получению спорогенного варианта *ВР* с использованием метода термообработки и селекции терморезистентных форм.

В результате микроскопирования всех колоний, полученных после посева суспензии клеток, подверженных термообработке, было выявлено, что большинство колоний были представлены вариантами, образующими 40% спор и 10-20% телес Кнетилоу (ТК), трактуемых как формы преспор или начальные этапы формирования спор. Частота получения спорогенных вариантов составляла 6-7%. Максимальное спорообразование терморезистентных вариантов, полученных после 3 термообработок по стадиям обработки составляло 40, 60 и 80%, соответственно.

Отмечена активация прорастания спор термообработкой, что согласуется с данными других авторов [13]. При использовании одинакового количества суспензии с титром 1×10^7 кл./мл после термообработки количество выросших колоний составляло 40% против 25-30% в контрольном варианте без термообработки.

В табл. 1 представлены данные о росте и спорообразовании культур *ВР* и полученного спорогенного варианта шт. 1884Т.

Полученный вариант отличается способностью накапливать максимальный титр вегетативных клеток - $68 \cdot 10^8$ мл/мл, что более чем в два раза превышает титр исходного и других штаммов *ВР*, имеющихся в нашей коллекции. Спустя 12 дней роста на агаризованной среде СР-1а выделенный штамм продуцировал 80-85% спор и 10-20% ТК. Микроскопия 12 суточных колоний всех исследованных штаммов выявила большое число лигнированных клеток и протопластов.

Таблица 1. Сравнительная характеристика роста и спорообразования различных культур *Bacillus popilliae*

(Питательная среда Ср-Пн; спорогенность - данные микроскопии спустя 12 дней)

Штамм	Титр клеток, млн/мл, спустя 22ч	Спорогенность, %	
		Споры	ГК
1883	32	30-40	20
1885	30	30	10-15
1886	29	30	20
1887	31	30	30
1884	33	40	10
1884Г (термомутант шт 1884)	68	80-85	10-20

Все штаммы сохраняли жизнеспособность в условиях хранения на агаризованной среде Ср-Пн при +5 - +8° до 25 суток. Штамм 1884Г, в отличие от исходного штамма, обеспечивает высокую жизнеспособность до 5 месяцев хранения в асцитических условиях. Предельный срок хранения указанного штамма 10 месяцев.

По культуральным, морфологическим и физиолого-биохимическим свойствам полученный вариант идентичен с исходным штаммом. Исключение составляет наличие каталазы - спорогенный вариант интенсивно продуцирует каталазу, что согласуется с сообщениями некоторых авторов о получении спорогенных вариантов с каталазной активностью [11].

Спорогенный вариант ВР шт 1884 Г хранится в коллекции РЦДМ в виде мазков спор на предметном стекле.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян З.Г., Багдасарян С.Н., Африкян Э.К. АС СССР N 922139, 1981.
2. Багдасарян С.Н., Африкян Э.К. Биол. журн. Армении 37, 4, 335-339, 1984.
3. Багдасарян С.Н. Автореф. канд. дисс., Киев, 1986.
4. Black S.H. J. Invert. Pathol., 12, 148-157, 1968.
5. Bulla L.A., Rhodes R.A., Oulian G.St. Ann. Rev. Microbiol., 29, 168-191, 1975.
6. Dutky S.R. J. Agr. Res., 61, 57-68, 1940.
7. Dutky S.R. US Patent N 2258319, 1941.
8. Dutky S.R., Fest W.C. US Patent N 2270804, 1942.
9. Dutky S.R. US Patent N 2293890, 1943.
10. Dutky S.R. J. Insect. Pathol., 2, 75-115, 1963.
11. Haynes W.C., Rhodes L.J. J. Bacteriol., 91, 6, 2270-2274, 1966.
12. Haynes W.C., Welch L.Y., Crowell C. Can. J. Appl. Microbiol., 19, 4, 515-518, 1970.
13. Jullan G.St., Hall H.H. J. Invert. Pathol., 15, 2, 240-246, 1970.
14. Lüthy P. Zentrbl. für Bact., 122, 671-711, 1968.
15. Rhodes R.A. Bacteriol. Rev., 29, 373-381, 1965.
16. Sharpe E.S., Jullan G.St., Crowell C. Can. J. Appl. Microbiol., 19, 4, 681-688, 1970.
17. Sharpe E.S., Bulla L.A. J. Invert. Pathol., 30, 2, 242-248, 1977.

Получена 15.VI.1997

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ У РАЗНЫХ ГРУПП НАСЕКОМЫХ И ИХ МОСКИТОЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ

Ж.Х. ОРМАНЯН, П.Е. ТАТЕВОСЯН, А.А. ХАЧАТУРЯН,
М.А. КИПОСЯН, Э.К. АФРИКЯН

Институт микробиологии ИАН Армении, 378510, г. Абовян

Изучена микрофлора 81 образца 10 отрядов насекомых, собранных в разных экологических зонах 15 стран. Наиболее богатыми патогенной микрофлорой оказались образцы насекомых, собранные в разных экологических нишах Армении. Из общего числа выделенных культур *Bacillus thuringiensis* (49 штаммов), *Bacillus sphaericus* (33 штамма), *Bacillus sp.* (103 штамма) на армянскую популяцию приходится 75,5, 78,8 и 66,0% соответственно. Наибольшее количество москитоцидных штаммов, выделенных из образцов представителей отрядов жесткокрылых (*Coleoptera*), чешуекрылых (*Lepidoptera*) и перелетчатокрылых (*Hymenoptera*), также относится к армянской популяции. Установлено, что из испытанных культур высокотоксичными к личинкам комаров родов *Anopheles*, *Culex* и *Uranotaenia* оказались восемь штаммов *B. thuringiensis*, образующих кристаллические эндотоксины шаровидной формы.

Ուսումնասիրվել է միջատների 10 կարգերի 81 նմուշների միկրոֆլորան, հավաքված 15 երկրների տարբեր էկոլոգիական գոտիներից: Առավել հարուստ պաթոգեն միկրոֆլորա դիտվել է Հայաստանի տարբեր էկոլոգիական բնագոտիներից հավաքված միջատների նմուշներում: Հայտնաբերված կուլտուրաների ընդհանուր քվարանալուծ *Bacillus thuringiensis* (49 շտամ), *Bacillus sphaericus* (33 շտամ) և *Bacillus sp.* (103 շտամ) կուլտուրաների 75,5, 78,8 և 66,0 %-ը համապատասխանաբար բաժին է ընկնում հայկական պոպուլյացիային: Մոծակուղան շտամների առավելագույն ցանակը, անջատված կարծրաքեղերի (*Coleoptera*), բեփուկաքեղերի (*Lepidoptera*) և քաղանքաքեղերի (*Hymenoptera*) կարգերի ներկայացուցիչների նմուշներից, նմանապես պատկանում է հայկական պոպուլյացիային: Պարզվել է, որ փորձարկված կուլտուրաներից *Anopheles*, *Culex* և *Uranotaenia* ցեղերի մոծակների թրթուրների նկատմամբ խիստ տոքսիկ եղել են *B. thuringiensis*-ի 8 շտամներ, որոնք առաջացնում են գնդաձև բյուրեղային էնդոտոքսիններ:

The microflora of 81 specimens from the 10 genera of insects collected in different ecological zones of 15 countries has been studied. The samples of insects, gathered in different ecological niches of Armenia, had the most rich pathogenic microflora. From the total number of isolated cultures the *Bacillus thuringiensis* (49 str.), *Bacillus sphaericus* (33 str.), *Bacillus sp.* (103 str.) concerned to the armenian population have composed 75,5, 78,8 and 66,0% respectively. The more of all strains with the mosquitocidal activity isolated from the insects of genera *Coleoptera*, *Lepidoptera* and *Hymenoptera*, were belonged to armenian population, too. From the all examined cultures the eight strains of *B. thuringiensis*, producing the spherical crystalline endotoxins, possessed the high toxic activity against larvae of mosquitoes from the genera *Anopheles*, *Culex* and *Uranotaenia*.

Энтомопатогенные бактерии - параспоральные кристаллы - эндотоксины - москитоциды - кровососущие комары

Несмотря на накопленный в мировой микробиологической литературе большой объем исследований по энтомопатогенным спорообразующим бактериям, интерес к ним не пропадает до наших дней [4,5,9,10,13,14,16,18].

Представители энтомоцидных бактерий видов *Bacillus thuringiensis* и *Bacillus sphaericus* широко используются для борьбы с вредителями растений

и гнусом (комары, москиты). Обнаружены штаммы *B. thuringiensis*, токсичные для чешуекрылых, двукрылых, жесткокрылых, прямокрылых и др. [16]. Наиболее перспективные из них явились основой для производства микробиологических средств борьбы с вредными насекомыми [1,4,11]. Основным токсикологическим компонентом бациллярных инсектицидов являются белковые токсины (дельта-эндотоксин) в виде внутриклеточных параспоральных кристаллов разных форм, образующиеся в процессе споруляции. Описаны кристаллы бипирамидальные (крупные и мелкие), овальные, квадратные, сферические, неравномерно округлые, прямоугольные с неровными краями [18]. Мутантные подвиды *subsp. Kurstaki* образуют вытянутые бипирамидальные кристаллы с заостренными концами, в которых электронномикроскопически выявляются включения сферической и кубондной формы [5]. Кристаллы подвида *tenebrionis* имеют тетрагональную форму различной величины и электронной плотности [10,17].

Основным источником получения продуцентов дельта-эндотоксина являются насекомые. Многие авторы отмечают определенную приуроченность тех или иных подвидов (серотипов) *B. thuringiensis* к различным эколого-географическим зонам и отдельным отрядам насекомых [3,7,8,9,12].

Целью нашей работы явилось изучение экологии энтомоцидных бацилл в разных отрядах насекомых из разных регионов мира с поиском новых перспективных штаммов, вирулентных против комаров, а также выявление корреляции между токсичностью штамма и формой образуемых им кристаллических эндотоксинов.

Материал и методика. Объектами исследования служили в основном погибшие насекомые, собранные в Армении (Абовян, Анкалан, Бюракан, Гегарт, Гохт, Лукасян, Джрвез, Иджеван, Ереван, Мегри, Саркисандж), а также из Вьетнама, Заира, Индонезии (острова Сулавеси и Бали), Италии, Канады, Китая, Колумбии, Мозамбика, Новой Гвинеи и Соломоновых островов, Сингапура, Средней Азии, Филиппин и Франции.

Всего было обследовано 81 образец различных видов насекомых, принадлежавших к отрядам стрекоз (*Odonoptera*), таракановых (*Blattoptera*), богомоловых (*Mantoptera*), палочников (*Phasmoptera*), прямокрылых (*Orthoptera*), полужесткокрылых (*Heteroptera*), жесткокрылых (*Coleoptera*), перепончатокрылых (*Hymenoptera*), двукрылых (*Diptera*), чешуекрылых (*Lepidoptera*).

Для выделения бактерий образцы насекомых после растирания в воде и их последующей пастеризации при температуре 70° в течение 20 мин высевали на поверхность среды в чашках Петри. Рост бактерий учитывали на 2-3 сутки инкубации при 30°. Культуры бактерий разных видов после микроскопии световым микроскопом с фазовым контрастом выделяли и очищали. Инсектицидные свойства новых культур изучали по методу Карпова [6] в отношении личинок комаров рода *Anopheles*, *Culex* и *Uranotaenia*, собранных в водоемах южных районов Армении. Москитоцидную активность новых бактериальных культур устанавливали путем инфинирования воды, предназначенной для подопытных личинок, помещенных в химические стаканы емкостью 100 мл. Изучаемую культуру микроорганизма, снятую с поверхности твердой питательной среды, сначала суспендировали в пробирке в 1 мл воды, затем вливали в стакан с 19 мл деклорированной воды, куда вносили 10 личинок комаров природной популяции. В контроле использовать стерильную воду. Температурный режим 26-27°. Учет погибших личинок проводили в первые часы после постановки опыта и через 24-48 ч.

Таблица 1. Распространение культур споробразующих бактерий в микрофлоре насекомых

Насекомос (отряд)	Место сбора спрашков	Количество в расщепе Число штаммов		<i>Bacillus thuringiensis</i> Форма кристаллов										<i>Bacillus sphaericus</i> <i>Bacillus sp.</i>				
				шаровидная, кадратная	ромбонидная	ромбонидная, двойная	ромбовидная, кадратная	ромбовидная, квадратная, многогранная	кадратная	кадратная, многогранная	многогранная	прямоугольная						
													шаровидная			шаровидная, кадратная	ромбонидная	ромбонидная, двойная
Стрекозы <i>Odonoptera</i>	Индонезия (остров Сулавеси)	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
	Филиппины	1	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
Гараклиновые <i>Blattoptera</i>	Армения	1	3	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
	Колумбия	1	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	
Богомолковые <i>Mantoptera</i>	Армения	1	6	1	-	1	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	1	
Палочники <i>Phasmoptera</i>	Нокья Гвинея	3	7	1	-	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	2	
Прямкрылые <i>Orthoptera</i>	Армения	1	3	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	
	Филиппины	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	
Полужесткокрылые <i>Pleuroptera</i>	Армения	9	18	-	-	3	2	-	-	-	-	1	-	-	-	2	10	
Жесткокрылые <i>Coleoptera</i>	Армения	29	77	6	1	4	1	3	1	-	-	-	1	-	-	19	41	
	Звир	1	5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3
	Иран	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Италия	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Канада	2	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
	Средняя Азия	1	4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
	Франция	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Перепончатокрылые <i>Hymenoptera</i>	Армения	4	7	-	-	1	-	-	-	-	-	1	1	-	-	1	3	
Двукрылые <i>Diptera</i>	Армения	1	3	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
Чешуекрылые <i>Lepidoptera</i>	Армения	7	14	-	1	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2	9
	Вьетнам	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	Индонезия (остров Сулавеси)	2	4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
	Индонезия (остров Бали)	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
	Китай	1	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
	Мозамбик	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
	Новая Гвинея (Соломоновы о-ва)	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	
	Сингапур	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
	Филиппины	4	19	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	11
Всего	15	81	195	12	2	15	4	4	3	2	1	2	3	1	1	43	103	

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Таблица 2. Москитоцидная активность новых штаммов *Bacillus thuringiensis* с разными формами кристаллов в отношении личинок комаров рода *Anopheles*, *Culex* и *Uranotaenia* (культуры выращены на РИ, титр бактериальных суспензии 150-250 тыс./мл спор)

Источники выделения (названия рода)	Место сбора насекомых	Количество штаммов	Рабочие номера активных штаммов	Форма кристаллов	Гибель личинок (%) спустя 30-45 мин
<i>Coloptera</i>	Армения, Абовян	1	71-1(эталон)	пирамидальная	100
<i>Coloptera</i>	Армения, Анкаван	1	321-1	"	100
<i>Coloptera</i>	Армения, Гукесян	1	320-1	"	100
<i>Mesoptera</i>	Армения, Мегри	1	313-2	"	100
<i>Coloptera</i>	Заир	1	331-5	"	100
<i>Lepidoptera</i>	Индонезия, остров Сулавеси	1	306-2	"	100
<i>Phasoptera</i>	Новая Гвинея	1	324-2	"	100
<i>Coloptera</i>	Средняя Азия	1	322-1	"	100
<i>Dolaniptera</i> , <i>Phasoptera</i> <i>Heteroptera</i> <i>Mesoptera</i> <i>Coloptera</i> <i>Euphyoptera</i>	Армения, Анкаван, Бюракан, Гох, Дзрвж, Ереван, Иджеван, Новая Гвинея, Филиппины	22		ромбовидная	0
<i>Mesoptera</i> <i>Coloptera</i> <i>Lepidoptera</i>	Армения, Анкаван, Сараландж, Новая Гвинея: Соломоновы о-ва	3		многогранный	0
<i>Mesoptera</i>	Новая Гвинея	1		квадратная	0
<i>Euphyoptera</i>	Новая Гвинея: Соломоновы о-ва	1		прямоугольная	0
<i>Coleoptera</i> <i>Heteroptera</i>	Армения, Абовян, Ереван	2		ромбовидная, шаровидная	0
<i>Phasoptera</i>	Новая Гвинея	1		ромбовидная, квадратная	0
<i>Lepidoptera</i>	Армения, Абовян	1		ромбовидная, многогранная	0
<i>Heteroptera</i>	Армения, Гегарк	1		многогранная, квадратная	0
<i>Coloptera</i>	Армения, Бюракан	1		квадратная, непрозрачная	0
<i>Mesoptera</i>	Армения, Дзрвж	1		квадратная, многогранный	0
<i>Coloptera</i>	Армения, Бюракан	1		квадратная, ромбовидная, многогранная	0
<i>Mesoptera</i>	Армения, Абовян	2		ромбовидная, многогранная, квадратная	0
Всего					0

Результаты и обсуждение. В результате исследований патогенной микрофлоры погибших насекомых - вредителей сельскохозяйственных культур, проведенных в 1996-97 гг., из 81 образца насекомых выделено 195 культур спорообразующих бактерий, отнесенных к видам *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus sphaericus* и *Bacillus sp.* В табл.1 обобщены данные по изучению микрофлоры образцов 10 отрядов насекомых, собранных в экологических зонах 15 стран.

В микрофлоре образцов представителей отрядов стрекоз, таракановых, прямокрылых, жесткокрылых и чешуекрылых из зарубежных стран в большинстве случаев культуры *Bacillus thuringiensis* и *Bacillus sphaericus* не были выделены.

Наиболее богатыми патогенной микрофлорой оказались образцы насекомых, собранные в разных экологических нишах Армении. Так, из общего числа выявленных культур *B. thuringiensis* (49 штаммов), *Bacillus sphaericus* (33 штамма) и *Bacillus sp.* (103 штамма) на армянскую популяцию приходится 75,5, 78,8 и 66,0% соответственно.

Следует отметить, что наибольшее количество штаммов, токсичных для личинок комаров, выделено из образцов представителей отрядов жесткокрылых (*Coleoptera*), чешуекрылых (*Lepidoptera*) и перепончатокрылых (*Hymenoptera*), а также из популяций Армении.

В процессе выделения чистых культур *B. thuringiensis* особое внимание обращалось на форму кристалловидных эндотоксинов (табл.1). В отобранных штаммах обнаружены шаровидные, ромбовидные, квадратные, многогранные, прямоугольные кристаллы, смешанные, с преобладанием какой-либо одной формы или однородные. Здесь особенно важно подчеркнуть, что все работы проводились с использованием одной и той же питательной агаризованной среды с 2% гидролизованной рыбной пасты.

В результате испытаний установлено, что из 45 штаммов с различными формами кристаллов в отношении 7 видов комаров (*Anopheles maculipennis*, *Culex pipiens*, *C. modestus*, *C. hortensis*, *C. territans*, *C. thieleri*, *Uranotaenia unguiculata*) москитоцидную активность проявили лишь штаммы с шаровидными кристаллами - гибель личинок уже спустя 30-45мин достигала 100%, тогда как остальные 37 штаммов не проявили активности и через 48ч наблюдения (табл.2).

Подобная корреляция формы кристаллов с москитоцидной активностью может служить важным дополнительным признаком при поиске энтомоцидных штаммов бацилл с высокими токсичными свойствами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Африкян Э.Г. Успехи микробиологии, 10, 142-172, М., Наука, 1975.
2. Африкян Э.К., Чил-Акопян Л.А. Биолог. журн. Армении, 33, 4, 355-365, 1980.

3. Барайцук Г.В., Кулатин В.С., Африкян Э.К. Биолог. журн. Армении, 39, 4, 275-284, 1986.
4. Егоров Н.С., Юдина Т.Г. Производство и применение продуктов микробиологических производств. 6, 50, М., ВНИИСНТИ Минмедбиопрома, 1989.
5. Калмыкова Г.В., Бурцева Л.И., Юдина Т.Г. Микробиология, 64, 4, 461-468, 1995.
6. Карпов Э.Г., Игнатъев В.И., Полов А.И. Методические рекомендации по изучению микроорганизмов - регуляторов численности опасных насекомых и клещей. М., 1984.
7. Ле Тьен Фюнг, Африкян Э.К. Биолог. журн. Армении, 39, 4, 332-333, 1986.
8. Меликсетян В.Ш. Автореф. канд. дисс., 18, Абовян, 1989.
9. Миненкова И.Б., Акимова М.И., Лин Фу и др. Биотехнология, 1, 17-22, 1996.
10. Солонцов И.Л., Юдин Т.Г. Микробиология, 65, 2, 235-240, 1996.
11. Чилингарян В.А., Орманян Ж.Х., Казарян Б.К. Биолог. журн. Армении, 33, 4, 403-415, 1980.
12. Чилингарян К.О. Биолог. журн. Армении, 33, 4, 398-402, 1980.
13. Энтомопатогенные бактерии и их роль в защите растений. Со. научн. тр. ВАСХНИЛ СО, 136, Новосибирск, 1987.
14. Юдина Т.Г., Бурцева Л.И. Микробиология, 66, 1, 25-31, 1997.
15. De Lucea A.J., Simonson J.L., Larson A.D. Can. J. Microbiol., 27, 865-870, 1981.
16. Hofte H., Whiteley H. Microb. Rev., 53, 2, 242-255, 1989.
17. Krieg A.Z. angew. Entomol., 96, 5, 500-508, 1983.
18. Meadows M.P., Ellis D.Y., Butt J., Jarret P., Burges H.D. Appl. Environm. Microbiol., 58, 4, 1344-1350, 1992.

Поступила 5.V.1997

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТОВ *BACILLUS THURINGIENSIS* МЕТОДОМ ФУЗИИ СФЕРОПЛАСТОВ

С.Н. БАГДАСАРЯН, Э.К. АФРИКЯН

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

Получены и охарактеризованы рекомбинанты энтомопатогенных бактерий *Bacillus thuringiensis* subsp. *galleriae* и subsp. *causcasicus* с использованием метода фузии сферопластов. Показана возможность получения рекомбинантных форм с новым спектром энтомоцидного действия. Рекомбинантные штаммы обладают инсектицидной активностью против тутаового шелкопряда, яблонной моли и бомбылинии.

Ստացվել է րեկոմբինանտներ ներտնտեսարոգեն բակտերիաների *Bacillus thuringiensis* subsp. *galleriae* և subsp. *causcasicus* ի, ռեկոմբինանտ մեկը սֆերոպլաստների ֆուզիայի եղանակով Յուլյե I տրոփել միջատապան ազդեցության նոր սպեկտրով հիբրիդ մեկերի ստացման ենարավորությունը Ռեկոմբինանտ շտամները օժտված են միջատապան ակտիվությամբ բրնձի չերամրդի խնձորենու, ցեցի և պղծսրիբեթի նկատմամբ

Using spheroplasts fusion method the recombinants of entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* subsp. *galleriae* and subsp. *causcasicus* have been obtained and characterized. The possibility of receiving the recombinant forms with new spectrum of entomopathogenic activity has been shown. Recombinant strains revealed insecticide action on larvae of *Bombyx mori*, *Hyponomeuta malinellus* Zell and *Apona Crataegi* L.

Энтомопатогенные бактерии - фузия сферопластов - рекомбинанты - *Bacillus thuringiensis*

Энтомопатогенные спорообразующие бактерии *Bacillus thuringiensis* (BT) продолжают оставаться основным источником производства инсектицидных препаратов для борьбы с насекомыми - вредителями сельского хозяйства [2,3,6].

Развитие микробиометода тесно связано с поиском и выделением новых активных штаммов - продуцентов энтомоцидных кристаллов, в основном из культур *Bacillus thuringiensis*. Выделены и охарактеризованы разновидности этих бактерий, активные против молей, непарного шелкопряда, колорадского жука, комаров, домашней мухи и паутиного клеща [1,5,7-9,14].

Успехи генетики и генетической инженерии открыли перспективные направления в области создания новых высокоэффективных штаммов энтомопато-генных бактерий. С открытием способности сферопластов поглощать чужеродную ДНК [11] появилась возможность их широкого использования в работах по получению гибридных и рекомбинантных форм микроорганизмов [13,15-17].

В данной работе представлены результаты использования фузии сферопластов для получения рекомбинантов BT.

Материал и методика. Объектом исследования служили противительные штаммы BT для выработки препаратов энтобактерии - subsp. *galleriae* и ГИИ - subsp. *causcasicus* (*darmstadtensis*). Истмользуемые культуры тешириваны в отсекции Республиканского центра

ленирования микробов (РЦДМ) как *Bacillus thuringiensis subsp. galleriae* ИИМИА-1000 и *Bacillus thuringiensis subsp. caucasicus* ИИМИА-844 [4].

Для выращивания и поддержания культур использовали питательную среду МПА с добавлением (%): дрожжевой автолизат - 1,0, глюкоза - 0,2, агар-агар - 2,0. Конечный pH среды 7,0-7,2.

Ауксотрофность культур проверяли на минимальной среде ОСА (%): K_2HPO_4 - 0,7, KH_2PO_4 - 0,3, $MgSO_4$ - 0,01, $(NH_4)_2SO_4$ - 0,1, $NaCl$ - 0,05, глюкоза - 0,02 с 0,5-1,0% Difco агара.

Для получения и стабилизации протопластов использовали следующие среды: среда ССМ (%) : сахараза - 34,23, яблочнокислый натрий - 0,71, $MgCl_2$ - 0,095, pH 6,5; среда ПС (%) : панкреатический пептолизат казеина - 1,5, K_2HPO_4 - 0,73, дрожжевой экстракт - 0,5, глюкоза - 0,2, pH 7,0-7,2; среда ССМП: ССМ - ПС в соотношении 1:2.

Фузию сфероластов *BT* и отбор рекомбинантных форм проводили по схеме, представленной на рис. 1.



Рис. 1. Фузия и отбор рекомбинантов

Сфероласты *BT* получали под воздействием лизоцима в конечной концентрации 10 мг/мл среды ССМП. Слияние сфероластов осуществляли в присутствии полиэтиленгликоля (ПЭГ) в конечной концентрации 28%. Для регенерации сфероластов использовали максимальную гипертоническую среду БГС (состав: растворы а, б и в). БГСх2 (а) Na_2CO_3 - 135,075, панкреатический гидролизат казеина - 15, K_2HPO_4 - 3,5, KH_2PO_4 - 1,5, $MgCl_2$ - 0,047, дрожжевой экстракт - 1,0, лизин - 0,02, pH 7,4, стерилизация 0,5 атм 20 мин; (б) растворить в 1 л дистиллированной воды 30 г агара Difco, стерилизация 1 атм 20 мин; (в) 40%-ный раствор глюкозы (холодная стерилизация) на расчете 0,2%

Физиолого-биохимические особенности и рыхтовые потребности изучали согласно методам по идентификации рода *Bacillus* [12]. Антигенные свойства определяли по методу Де Баржак и Бонфуа [10].

Для определения энтомоцидной активности исследовали следующие биотесты: гусеницы тутового шелкопряда *Bombix mori* L. III-IV возраста и личинки вошаной моли *Galleria mellonella* L. VI-VII возрастов. Испытания на личинках яблонной моли (*Hyponomeuta malinella* Zell.) и боярышницы (*Apylla crataegi* L.) проводили в Институте защиты растений МСХ Армении.

Биомассу испытуемых культур нарабатывали в жидкой среде МБП + 1% глюкозы. Культуры выращивали при 37° в течение 24-38ч, на качалке с 200 об/мин. Испытуемые штаммы в указанных условиях образовывали 95-100% спор и кристаллов.

Результаты и обсуждение. С использованием жидкой питательной среды БГС, благоприятной для регенерации сфероластов рекомбинантных форм *BT subsp. galleriae* и *subsp. caucasicus* и при последующем расसेве на

агаризованной среде БГС были получены 463 колонии (в 3 чашках в разведении 1×10^{-5} , всего 32 колонии, 1×10^{-7} - 3 чашки, всего 119 колоний и 312 колоний в разведении 1×10^{-6}). Все колонии методом отпечатков были пересеяны на селективные среды для отбора рекомбинантов по признаку измененной или утерянной ауксотрофности. Из общего числа колоний получено 27 штаммов, отличающихся от исходных форм ростом на минимальной среде ОСА. Все 27 штаммов при повторной проверке оказались стабильными прототрофами. 47 штаммов отличались способностью расти на селективной среде с добавленным биотином и никотиновой кислотой, в то время как родительские формы в случае хорошего роста на этой же среде не росли на среде ОСА-биотин - штамм ИНМИА-1000 и на среде ОСА+никотиновая кислота - штамм ИНМИА-844. Данные проверки витаминной зависимости полученных рекомбинантных форм подтвердили, что все 47 штаммов отличаются от исходных родительских форм одновременной зависимостью от биотина и никотиновой кислоты. Результаты подтвердились после трехкратной очистки отобранных шести рекомбинантов (R) и проверки ауксотрофности всех расщепившихся клонов.

Изучение культуральных, морфологических, серологических и физиолого-биохимических признаков выявило следующее (табл. 1).

Таблица 1. Дифференциальные признаки рекомбинантных штаммов, полученных фузией сферопластов культур *BT subsp.galleriae* и *subsp.caucasicus*

Штаммы	Серотип; антиген	Ферментация салицила	Образование				Зависимость от		
			лецитиназы	уреазы	глицерина	пиримена	никотина	никотиновой К-ТЦ	биотина + ник. К-ТЦ
Исходный ИНМИА-1000	5	+	-	+	-	-	-	+	-
Исходный ИНМИА-844	10	-	+	-	+	+	+	-	-
R-11	5+10	+	+	+	-	+	-	-	+
R-12	5+10	+	+	-	-	+	-	-	+
R-16	5+10	+	+	-	-	+	-	-	+
R-17	5+10	+	+	-	-	+	-	-	+
R-27	5+10	±	+	-	-	+	-	-	+
R-46	5+10	+	+	-	-	+	-	-	+

По морфологическим признакам полученные рекомбинанты сходны с родительскими формами: клетки палочковидные, грамположительные, с округлыми концами, содержимое молодых особей гомогенно, со временем становится зернистым, образуются овальные споры через 1,5-2 суток инкубации в МПБ при 32°, а процессе высевания спор завершается к 48-72ч. По ходу спорообразования в клетках образуются белковые параспоральные включения - дельта-токсины ромбовидной формы. Между полученными культурами имеются различия в количестве образования спор и токсинов, а также в величине кристаллов.

Серологические исследования выявили агглютинацию всех

рекомбинантов с Н-антисыворотками *BT* серотипов 5 и 10. Исходные штаммы серотипизировались - шт. ИИМИА-1000 серотипа Н5 и шт. ИИМИА-844 серотипа Н10.

По большинству физиолого-биохимических признаков отмечается идентичность рекомбинантов с родительскими штаммами: хороший рост при рН 5,7, 7% NaCl, гидролиз крахмала, образуют дигидроксоацетон, ацетилметилкарбинол. От родительского штамма ИИМИА-1000 рекомбинанты наследовали такие важные свойства, как ферментация салицина, наличие Н-антигена серотипа 5, зависимость от никотиновой кислоты и отсутствие образования пленки при росте в жидкой среде. По продуцированию лецитиназы и пигмента, отсутствию образования уреазы, зависимости от биотина, наличию Н-антигена серотипа 10 и синтезу параспоральных включений ромбовидной формы рекомбинанты сходны с другим донором - штаммом ИИМИА-844.

Рекомбинантные формы характеризуются одинаковыми с родительскими штаммами потребностями в сахарах: они усваивают рибозу, глюкозу, фруктозу, галактозу, целлобиозу, мальтозу, трегалозу, инулин, глицерин, лимонную, янтарную, олеиновую кислоты. Не усваивают ксилит, рамнозу, арабинозу, сорбозу, лактозу, сахарозу, раффинозу, дульцит, маннит, сорбит, щавелевую кислоту. Незначительные отличия отмечены у 4 штаммов, которые дополнительно усваивают салициловую, молочную, малеиновую, фумаровую кислоты, а из сахаров - арабинозу, рибозу, дульцит.

Все рекомбинанты характеризуются одинаковой подверженностью действию антибиотиков и идентичностью с исходными формами: рост родительских и рекомбинантных форм угнетался большинством использованных препаратов антибиотиков; устойчивость была отмечена к пенициллину, полимиксину, колестилину, гризеофульвину, амфомидину, субтилину и колимицину.

Сочетание вышеуказанных признаков, а также одновременная зависимость от биотина и никотиновой кислоты и наличие 2 Н-антигенов серотипов 5 и 10 дает нам основание заключить, что выделенные штаммы являются рекомбинантными и отличаются от родительских форм наследованием признаков исходных штаммов.

Результаты изучения энтомоцидной активности рекомбинантных форм выявили частичную вирулентность штаммов *R-17* и *R-27* к вошаной моли (20% гибель личинок на 7 день подкормки) и безвредность штаммов *R-46*, *R-4*, *R-16*, *R-12*. Все 6 рекомбинантных культур вызвали 100%-ную гибель гусениц тутового шелкопряда. На основании изучения комплекса физиолого-биохимических, серологических, морфологических и инсектицидных свойств полученных рекомбинантных форм был отобран штамм *R-27* и передан на испытание в Институт защиты растений. Указанный штамм вызвал 90%-ную гибель личинок яблонной моли на 4 день испытаний и 100%-ную смертность боярышницы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева И.В., Штерншис М.В. Защита растений, 11, 41-42, 1995.
2. Африкян Э.К. Энтомопатогенные бактерии и их значение. 420, Ереван, 1973.
3. Африкян Э.К. Успехи микробиологии, 10, 142-172, 1975.
4. Африкяна Э.Г., Хачатурян А.А. (ред.) Каталог культур микроорганизмов. Изд-во "Гитутюн" НАН Армении. 260, Ереван, 1996.
5. Григорьева Т.М., Кузнецова Н.И., Шагов Е.М., Азизбекян Р.Р. Биотехнология, 9-10, 7-10, 1994.
6. Гулий В.В., Теплякова Т.В., Иванов Г.М. Микроорганизмы, полезные для микробиометода. Новосибирск, 1981.
7. Кузнецова Н.И., Смирнова Т.А., Шамшина Т.Н., Ганушкина Л.А., Азизбекян Р.Р. Биотехнология, 3-4, 11-14, 1995.
8. Шаецов В.В., Щелкова Е.В., Жиглецов С.К. Патент РФ N2033721, 1995.
9. Afrikian E.G. In: Bioprocess Engineering. Ellis Horwood Ltd, Chichester, 276-290, 1989.
10. Barjac H., de Bonnefoi A.A. Entomophaga, 7, 1, 1962.
11. Fodor K., Demiri E., Alföldi L. J. Bacteriology, 135, 68-70, 1979.
12. Gordon R.E., Haynes W.C., Pang C.H.W. The Genus *Bacillus*. USDA, Washington, 283, 1972.
13. Harris H. Cell Fusion. 1970.
14. Lopez-Meza J.E., Federici B.N., Johnson J.J., Ibarra J.E. FEMS Microbiol. Lett., 134, 2-3, 195-201, 1995.
15. Mu Guojun, Dong Yukun, Huang Guanhui Weishengwu Xuebao-Acta Microbiol. Sin., 35, 5, 322-326, 1995.
16. Schaeffer P., Cami B., Hotchkiss R.D. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73, 2151-2155, 1976.
17. Zou Hua, Mi Tiejuan, Zhang Zhongze, Su Fengyan, Hao Dongmei, Wang Yuying, Qing Gine Weishengwuxue tongbao=Microbiology, 34, 4, 310-315, 1994.

Получила 18.V.1997

ПРИМЕНЕНИЕ НОВЫХ МАЛЬТАЗААКТИВНЫХ ДРОЖЖЕЙ В ХЛЕБОПЕЧЕНИИ

В.А. БАГИЯН

Институт микробиологии ИАН Армении, 378510, г. Абовян

Исследовали морфологические, биохимические и технологические свойства штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для использования наиболее активных из них в хлебопекарном производстве при приготовлении жидких дрожжей. Отобран штамм дрожжей ИММА-9788, по своей ферментативной активности (превосходящий производственный штамм Берлинская-14). Штамм имеет высокую мальтазную активность, осмо- и термоустойчив, что позволяет интенсифицировать процесс созревания теста, повысить качество жидких дрожжей и выпеченного хлеба.

Քստմնախիլվել են շաքարանկերի *Saccharomyces cerevisiae* շտամների մորֆոֆիզիոլոգիական, քիմիոֆիզիական և տեխնոլոգիական առանձնահատկությունները, նրանցից առավել ակտիվները հացաբլանե համար օգտագործվող հեղուկ շաքարանկեր առանձուր նպատակով: Շնորհիվ է շաքարանկերի ԻՄՄԱ-9788 շտամը որն իր ֆերմենտային ակտիվությամբ գերազանցում է արտադրական Բեռլինսկայա-14 շտամին: Շտամն ունի բարձր մալթազային ակտիվություն, օսմո- և ջերմակայուն է, որը թույլ է տալիս արագացնել խմորի հասունացման արագացր, բարձրացնել հեղուկ շաքարանկերի և քիչամ հացի որակը:

Morpho-physiological, biochemical and technological properties of yeasts *Saccharomyces cerevisiae* strains have been studied for production of liquid yeasts in bakery. The strain IMMA-9788 is selected due to its high fermentative activity than the industrial strain Bedinskaya-14. The strain has the high maltase activity, osmo- and thermotability which is permitted to intensify the dough maturation process, to arise the quality of liquid yeasts and bread.

Дрожжи хлебопекарные - ферментативная активность - хлебобулочное производство

Основу интенсификации процессов брожения и созревания теста в хлебопечении составляют биологические особенности используемых рас дрожжей [9,11]. Исследования, выполненные в НПО хлебопекарной промышленности, содержат убедительные доказательства важности значения α -глюкозидазной активности дрожжей для хлебопечения [9]. Дрожжи с высокой мальтазной активностью при значительно меньшей дозировке ускоряют процесс тестоведения и способствуют получению хлебобулочных изделий с хорошими качественными показателями [1,5,14].

Целью работы являлось выявление активных культур хлебопекарных дрожжей, изучение их биологических особенностей с последующим использованием производственно ценных штаммов в хлебопечении.

Материал и методика. Объектами исследования служили 498 культур дрожжей, выделенных из образцов хлебных заквасок спонтанного брожения. Отобранные 136 штаммов идентифицированы на основании комплекса культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств [12,13].

Оптимальную температуру брожения устанавливали по количеству выделившейся углекислоты при различных температурах весовым методом в колбах с сернокислотными затворами Мейселя. Определение аминокислотного состава белков дрожжей проводили на

автоматическом аминокислотном анализаторе фирмы "Микротехна" (Чехия) марки ААА-339. Подъемную силу дрожжей выявляли методом всплывающего шарика [3].

Мальтазную и зимазную активности определяли по времени выделения 10 мл CO_2 при сбраживании 20 мл 5%-ного раствора мальтозы или сахарозы дрожжами, взятыми в количестве 2,5% к объему среды, в микрогазметре системы Елецкого [9]. Осмочувствительности изучали по методике Уайта [3]. Бродительную активность полуфабрикатов определяли по методу Елецкого в газометрическом приборе его же системы [10]. Динамику газообразования в полуфабрикатах изучали volumетрическим методом на приборе Яго-Островского по методике, описанной в руководствах [7,8,10]. Подсчет количества дрожжевых клеток проводили в счетной камере Горяева на микрожеле фирмы "Карл Цейс" по описанной методике [10]. Пробу предварительно обрабатывали 2 мл 30%-ного раствора едкого натра и 3 мл 96%-ного спирта (для растворения частиц клейковины). Жидкие дрожжи готовили по "рациональной схеме" [6].

В качестве контрольной культуры была взята производственная раса Берлинская-14.

Результаты и обсуждение. Определение газообразующей способности дрожжей в солодовом сусле концентрацией 10% сухих веществ (СВ) в трубках Дунбара позволило из 498 культур отобрать 136 наиболее сильных газообразователей, с выделением 6мл CO_2 и более за 24 ч.

Основными критериями дальнейшего отбора активных штаммов хлебопекарных дрожжей были: подъемная сила, осмочувствительность, зимазная и мальтазная активности. Из 136 штаммов по указанным биохимическим признакам наиболее перспективными являются 13, которые имеют высокую зимазную (30-45 мин) и мальтазную (35-60 мин) активности. Отобранные штаммы характеризуются также стабильностью ферментного комплекса, обладая высокой осмоустойчивостью (1-5 мин). Они были отнесены к виду *Saccharomyces cerevisiae*. Микроскопирование показало, что наиболее крупными размерами (6-8 x 10-13 мкм), в сравнении с другими штаммами, отличаются клетки штамма 9788.

Исследование влияния температуры на энергию брожения дрожжей показало, что штаммы различаются оптимальными температурами брожения (30 - 34°). Наиболее термоустойчивым по сравнению с другими отобранными штаммами является штамм 9788 с максимальной температурой роста 43°.

Сравнение аминокислотного состава биомассы исследованных штаммов показало, что дрожжи синтезируют полноценный белок, в состав которого входят все незаменимые аминокислоты, определяющие биологическую ценность штаммов, что важно с точки зрения обогащения ими хлеба [4,15]. По суммарному количеству аминокислот отличаются штаммы 9788 и 9792, у которых незаменимые аминокислоты составляют 38,5 и 45,2%, а сумма ароматических аминокислот (фенилаланин - тирозин) - 5,1 и 5,3% соответственно.

Проведенные исследования выявили, что штамм 9788 по подъемной силе, ферментативной активности, термостойкости превосходит остальные исследованные дрожжи, а также контрольный штамм Б-14. Окончательную оценку технологических свойств штамма 9788 проводили на мучных средах при приготовлении жидких дрожжей и выпечке опытных образцов хлеба.

Из табл.1 видно, что в результате применения новой дрожжевой

культуры улучшается подъемная сила жидких дрожжей (18 мин вместо 52,5 мин у контрольного штамма) и их бродильная активность (20,5 мл CO_2 у штамма 9788 и 9,5 мл - у штамма Б-14). Опытные образцы хлеба отличались лучшей пористостью мякиша. При одинаковом с контрольным образцом весе объемный выход опытного хлеба был больше на 26%, а пористость - на 7%.

Таблица 1. Качественные показатели жидких дрожжей, теста и хлеба, полученных с применением опытного и контрольного штаммов

Показатели	Штаммы дрожжей	
	Б-14 (контроль)	ИИМИА-9788 (опыт)
Жидкие дрожжи		
Бродильная активность, мл $\text{CO}_2/20\text{л}$	9,5	20,5
Количество дрожжевых клеток, млн/г	125	155
Подъемная сила, мин	52,5	18
Тесто		
Бродильная активность, мл $\text{CO}_2/20\text{ г}$	9,0	20,1
Количество дрожжевых клеток, млн/г	115	160
Продолжительность брожения, мин	50	30
Продолжительность расстойки, мин	45	35
Хлеб		
Вес 1 буханки, г	700	700
Объемный выход, мл	422	532
Пористость, %	68	71
Влажность, %	43,6	43,4
Кислотность, °Н	2,8	2,0

Кроме того, применение штамма 9788 в хлебопечении способствует интенсификации процесса тестоведения за счет высокой мальтазной активности культуры: время созревания теста сокращается на 20 мин, расстойка - на 10 мин. Способность дрожжей штамма 9788 интенсифицировать процесс тестоведения и тем самым улучшать качество хлеба явилась предпосылкой для изучения возможности сокращения расхода жидких дрожжей на замес теста. В этих экспериментах при приготовлении теста безопарным способом расход дрожжей уменьшали на 20 и 40% от нормы, предусмотренной по рецептуре. Контрольное тесто готовили с внесением 25% жидких дрожжей расы Берлинская-14.

Изучение динамики газообразования в опытном тесте показало, что чем больше начальное содержание дрожжей в тесте, тем быстрее кривые скорости газообразования достигают максимума. Максимальная скорость газообразования при внесении 25% жидких дрожжей штамма 9788 отмечалась к 2 ч брожения и составляла 334 мл/ч. С уменьшением дозировки дрожжей на 20 и 40% максимум газообразования в опытном тесте наступал

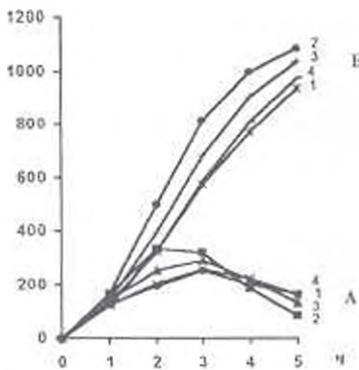


Рис. 1. Скорость газообразования полуфабриката (теста) с использованием дрожжей: 1 - контроль, раса Б-14 (дозировка к массе муки 25%); 2, 3, 4 - штаммы 9788 (дозировка к массе муки 25%, 20% и 15% соответственно). А - динамика CO_2 , Б - сумма образовавшегося CO_2 за 5 ч.

Таким образом, в результате проведенных сравнительных исследований биологических особенностей культур дрожжей, выделенных из спонтанных хлебных заквасок, нами установлено, что особо перспективным является штамм *S. cerevisiae* ИНМИА-9788, который имеет ряд преимуществ по сравнению с известными штаммами хлебопекарных дрожжей, используемыми в приготовлении жидких дрожжей (табл. 2) [2].

Таблица 2. Биохимическая и технологическая оценка дрожжей известных рас, используемых в хлебопекарном производстве, и штамма 9788

Штаммы	Полъемная сила, мин	Зимняя активность, мин	Мальтовая активность, мин	Бродильная активность, мл $CO_2/20г$	Дозировка дрожжей к весу муки, %	Время брожения теста, мин	Удельный объем хлеба, мл/л	Пористость, %
Московский-23	27	-	209	10	25	-	-	-
СА XIII	19	43	77	-	25	60	-	-
Берлинская-14	29	45	90	9,5	25	50	2,2	68
V-303	19,8	35	25	18,2	25	90	2,7	73
Гибрид-73	40,2	60	70	11,6	25	150	2,6	70
V-673	20-25	-	-	-	15-25	40-70	2,6	71
ИНМИА 9788	18	30	35	21,5	15	30	2,9	73

Кроме того, использование в хлебопечении штамма 9788, по сравнению со штаммами дрожжей, представленными в табл. 2, позволяет на 2-4 ч сократить продолжительность кислотообразования при приготовлении жидких дрожжей (8 и 10-16 ч соответственно), а также в 1,5-3 раза интенсифицировать режим отборов готовых жидких дрожжей на замес теста (соответственно 2 ч и 3-6 ч).

ЛИТЕРАТУРА

1. Багиян В.А., Ерзинкян Л.А., Балаян А.М. Биолог. журн. Армении, 45, 1, 72-74, 1992.
2. Багиян В.А., Саруханян Ф.Г., Ерзинкян Л.А. и др. Авт. свид. СССР N1531178, 1989.
3. Бакушинская О.А., Белова Л.Д., Вуканова В.И. и др. Контроль производства хлебопекарных дрожжей. 168, М., 1978.
4. Квасников Е.И., Васкивнюк В.Т., Суденко В.И. и др. Каротиносинтезирующие дрожжи. 171, Киев, 1980.
5. Кузьминский Р.В., Стребыкина А.И., Юкиш М.Г. и др. Хлебопродукты, 2, 35-37, 1989.
6. Островский А.И. Жидкие пекарские дрожжи. 95, М., 1955.
7. Пучкова Л.А. Лабораторный практикум по технологии хлебопекарного производства. 232, М., 1982.
8. Ройтер И.М. Справочник по хлебопекарному производству. 504, М., 1972.
9. Семихатова Н.М. Хлебопекарные дрожжи. 198, М., 1980.
10. Чижова К.И., Шкваркина Т.И., Запенина Н.В. и др. Технохимический контроль хлебопекарного производства. 479, М., 1975.
11. Johnson J.C. Food technology review, 45, 11, 54-56, 1977.
12. Kreger van Rij N.J.W. The Yeasts taxonomic study. 1082, Amsterdam, 1984.
13. Loddner J. The Yeasts. A taxonomic study. 1385, Amsterdam-London, 1970.
14. Lsvgren T., Hautera P. Eur. J. Appl. Microbiol., 4, 1, 37-43, 1977.
15. Stancovic M., Dorbevic S., Stancovic S. Prehramb.-Tehmol. i Biotehmol. Rev., 27, 229-233, 1989.

Поступила 20.VI.97

ГЛЮКОЗОИЗОМЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

А.А. ЭЛИАЗЯН, А.Х. ПАРОЦЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

Выявлена способность фототрофных бактерий превращать глюкозу во фруктозу. Подобраны оптимальные условия выращивания бактерий для биосинтеза фермента. Установлено, что активность глюкозоизомеразы зависит от возраста культуры, наличия и концентрации индуктора в питательной среде. Скорость изомеризации глюкозы зависит от ее концентрации в реакционной смеси, pH и температуры.

Բացահայտվել է ֆոտոտրոֆ բակտերիաների գլյուկոզ-ֆրոկտոզային ալտերիորյունը: Ունիտվել են գլյուկոզ-ֆրոկտոզ ֆերմենտի կենսասինթեզի օպտիմալ պայմանները: Հաստատվել է, որ ֆերմենտի ալտերիորյունը կախված է կուլտուրայի հասակից, սննդամիջավայրում ինդուկտորի առկայությունից և նրա քանակից: Գլյուկոզի ֆրոկտոզիզացիայի արագությունը կախված է սեպիցիոն լիանտուրյունի քանակից, pH-ից և քերմատիանից:

The glucose isomerase activity of phototrophic bacteria has been revealed. The optimal conditions for biosynthesis of enzyme were selected. The glucose-isomerase activity was depended on age of bacterial culture, on presence and concentration of inducer in cultivation medium. The rate of isomerization was depended on glucose concentration, pH and temperature of reaction mixture.

Фототрофные бактерии - глюкозоизомераза.

Фермент глюкозоизомераза используется в производстве сахаристых продуктов для превращения глюкозы во фруктозу. Глюкозоизомераза была обнаружена у ряда бактерий, относящихся к родам *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Aerobacter*, *Nocardia* и др. [1-3,4]. Сведения о представителях фототрофных бактерий в этом аспекте в литературе отсутствуют.

Целью данной работы являлось изучение глюкозоизомеразной активности у представителей несерных фототрофных бактерий.

Материал и методика. Объектом исследований были несерные пурпурные бактерии *Rhodospirillum rubrum* (3 шт.), *Rhodospirillum rubrum* (1 шт.), *Rhodospirillum rubrum* (1 шт.), *Rhodospirillum rubrum* (1 шт.), всего 12 культур из коллекции ИМИА и МГУ.

Культуры выращивали на среде Ормеруда [5] с добавлением ионов металлов кобальта - $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,05г/л) и магния - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5г/л) в течение двух-трех суток в анаэробных условиях в темноте при сепеении 2000 люкс и температуре 30°. Биомассу собирали центрифугированием, дважды промывали фосфатным буфером (0,05M, pH 7,0). В 2 мл реакционной смеси, содержащей 1M глюкозы, 0,001M $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и 0,01M $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, обычно вносили 20-25 мг сухой биомассы. Смесь инкубировали при 60° в течение 2 ч в водяной бане, перемеивая с помощью магнитной мешалки. После инкубации ее охлаждали, центрифугировали и в натралоночной жидкости определяли концентрацию фруктозы тюрбарбитурным методом [6]. Глюкозоизомеразную активность выражали в мкг фруктозы, образующейся в течение 1 ч на 1 мг сухой биомассы.

Результаты и обсуждение. Отмытые клетки всех изученных нами несерных пурпурных бактерий в той или иной степени способны к изомеризации глюкозы во фруктозу. Среди них отмечались некоторые штаммы *Rh. capsulata*, *Rh. sphaeroides* и *Rhodospirillum rubrum* (табл. 1).

Таблица 1. Глюкозоизомеразная активность фототрофных бактерий

Культура	Штаммы	мкг фруктозы/час/мл сухой биомассы
<i>Rhodospseudomonas capsulata</i>	3764	7,6
<i>Rh. capsulata</i>	B10	11,4
<i>Rh. capsulata</i>	1	15,0
<i>Rh. palustris</i>	1	6,2
<i>Rh. palustris</i>		7,1
<i>Rh. palustris</i>	Ф-255	9,3
<i>Rh. sphaeroides</i>	SN 9/3	25,0
<i>Rh. sphaeroides</i>	2K	17,5
<i>Rh. sphaeroides</i>	8259	10,0
<i>Rh. sphaeroides</i>	2R	16,0
<i>Rhodospirillum rubrum</i>		20,0
<i>Rhodanicrobium vannielii</i>		6,0

Сравнительно высокую активность проявил *Rhp. sphaeroides* SN 9/3. Дальнейшие исследования проводили с указанным штаммом. Изучали влияние возраста культуры на глюкозоизомеразную активность. Максимальная активность наблюдалась у 48-часовой культуры, что соответствует началу стационарной фазы роста (рис. 1). Прямой зависимости между образованием фермента и накоплением биомассы не замечено. Так, максимальное накопление биомассы происходит через трое суток, а наивысшая активность проявляется через двое суток, на третий сутки роста ферментативная активность значительно снижается.

Подобляющее большинство продуцентов глюкозоизомеразы для биосинтеза фермента нуждается в индукторах [3]. В табл. 2 приведены

Таблица 2. Влияние ксилиты на глюкозоизомеразную активность *Rh. sphaeroides*, шт. SN 9/3

Концентрация ксилиты, г/л	Накопление биомассы, мг/мл	Активность, мкг фруктозы/час/мл сухой биомассы
Контроль	5,2	24,5
3,0	4,9	29,7
7,0	4,2	31,2

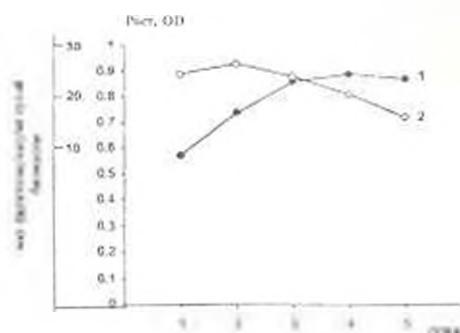


Рис. 1. Динамика накопления биомассы (1) и глюкозоизомеразной активности (2) в течение роста культуры.

данные о влиянии различных концентраций D-ксилозы в качестве индуктора на глюкозоизомеразную активность *Rh. sphaeroides*. Видно, что уровень активности глюкозоизомеразы повышается, когда в качестве индуктора в питательную среду вносится D-ксилоза в концентрации 7 г/л. Наличие ксилозы в питательной среде Ормеруда наряду с полноценным и легкоусвояемым источником углерода малатом не способствует увеличению роста фототрофных бактерий.

Скорость ферментативного превращения глюкозы во фруктозу зависит от начальной концентрации глюкозы в реакционной смеси. Нами были испытаны три концентрации - 1, 2 и 3М (рис. 2). При 2-часовой продолжительности инкубации оптимальной концентрацией глюкозы является 1 М.

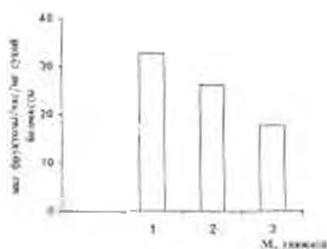


Рис. 2. Влияние концентрации глюкозы на глюкозоизомеразную активность *Rh. sphaeroides*, шт. SN 9/3: 1-1М, 2-2М, 3-3М.

заражения посторонней микрофлорой [1,2].

При проведении изомеризации выбрали три режима температуры - 40, 60 и 80°. Активность фермента при температуре 60 и 80° находилась почти на одном уровне - 31,0 и 32,3 мг фруктозы/час/мг сухой биомассы соответственно. При температуре 40° клетки были малоактивны. Таким образом, показано, что глюкозоизомераза фототрофной бактерии обладает относительной термостабильностью и в этом отношении не отличается от глюкозоизомераз других микроорганизмов.

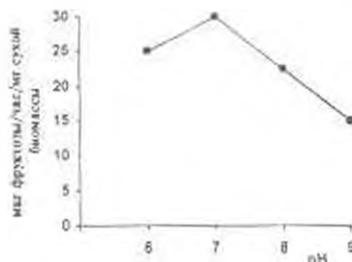


Рис. 3. Зависимость глюкозоизомеразной активности *Rh. sphaeroides*, шт. SN 9/3 от рН.

Влияние значения рН проверялось в зоне от 6,0 до 9,0 при оптимальной температуре. Клетки проявляли максимальную активность в фосфатном буфере при рН 7,0 (рис. 3).

Таким образом, в результате проведенных исследований у фототрофных бактерий была обнаружена глюкозоизомеразная активность. Среди изученных представителей наиболее активной является культура *Rh. sphaeroides* SN 9/3.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грачева И.М., Мосичев М.С., Гавристов А.В., Филиппов С.А. Глюкозонзомераза. Обзор. М., 1976.
2. Окунев О.Н., Аманян В.М., Головлев Е.А., Виноградова К.А., Скрыбин Т.К. Прикл. биохим. и микробиол., 14, 1, 44-48, 1978.
3. Улезло И.В., Тулеува Е.Т., Безбородов А.М. Прикл. биохим. и микробиол., 16, 4, 561-569, 1980.
4. Blasco R., Castillo F. Appl. and Environ. Microbiol., 58, 2, 690-695, 1992.
5. Ormerod I.G., Ormerod S.F., Gest H. Arch. Biochem. and Biophys., 94, 2, 449-463, 1961.
6. Percheron I. Comptes Rendues, Acad. Sci., 255, 19, 2521-2522, 1962.

Получена 21 V 1997

Биолог. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 582.281.212.043

ВЛИЯНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ОСВЕЩЕНИЯ НА РОСТ И ОБРАЗОВАНИЕ КАРОТИНОИДОВ *RHODOPSEUDOMONAS SPHAEROIDES* Д-10

А.Х. ПАРОНИАН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

Изучено влияние интенсивности освещения на рост и образование каротиноидных пигментов *Rh. sphaeroides* Д-10, выделенных из минеральных источников Джермука. Установлено благоприятное влияние невысоких интенсивностей освещения на каротиногенез, при этом максимальное накопление каротиноидов не коррелирует с максимальным выходом биомассы. Показано, что преобладающим каротиноидом при фотосинтетическом росте является сфероидин и его содержание составляет около 60% от общей суммы каротиноидов независимо от интенсивности освещения.

Ուսումնասիրվել է լույսի ինտենսիվությունը ազդեցությունը *Spheroidin*ի հանրային աղբյուրներից անջատված *Rh. sphaeroides* Д-10 շտամի աճի և կարոտինոիդային պիգմենտների առաքացման վրա: Հաստատվել է լույսի ոչ բարձր ինտենսիվությունների բարենպաստ ազդեցությունը կարոտինոիդների առաքացման վրա, ընդ որում կարոտինոիդների մաքսիմալ կուտակումը չի համընկնում կենսազանգվածի մաքսիմալ էլքի հետ: Յույց է տրվել, որ *Spheroidin*ը աճի պայմաններում գերակշռող կարոտինոիդը սֆերոիդենն է և նրա պարունակությունը կազմում է կարոտինոիդների ընդհանուր քանակի մոտ 60%-ը անկախ լույսի ինտենսիվությունից:

The influence of illumination intensity on the growth and carotenoid pigments formation of *Rh. sphaeroides* str. D-10, isolated from mineral sources of Dzhermuik has been investigated. The efficiency of low intensity illuminations on the carotenoides formation was revealed. The maximal accumulation of carotenoids was not correlated with maximal yield of

biomass. At photosynthetic growth conditions the prevalent carotenoid was spheroidene and its contents composed about 60% from the total quantity of carotenoids without depending on the intensity of illumination.

Фототрофные бактерии - интенсивность освещения - каротиноиды

В последнее время в биотехнологии интенсивно ведутся исследования по использованию несерных пурпурных бактерий в качестве кормовых препаратов [6,11,13]. Основанием для этого служит наличие в биомассе пурпурных бактерий высокого содержания белка с полноценным аминокислотным составом, ряда витаминов, органических кислот, а также пигментов-каротиноидов. Последние находят широкое применение в пищевой промышленности и в медицинской практике [5,6,7]. В связи с загрязнением окружающей среды значительно возросла потребность в каротиноидных пигментах, обладающих антимуtagenными, антиканцерогенными свойствами, антиоксидантной активностью.

В микробиологической промышленности в качестве продуцентов каротиноидов широко используются мицелиальные грибы. Однако по разнообразию они уступают фотосинтезирующим микроорганизмам, в том числе фототрофным бактериям. Поэтому поиски новых продуцентов среди фототрофных бактерий целесообразны и своевременны.

Целью настоящей работы было изучение условий роста и накопления каротиноидных пигментов *Rh.sphaeroides* шт. Д-10, выделенных из минеральных источников Джермука.

Материал и методика. Объектом исследований служила несерная пурпурная бактерия *Rh.sphaeroides* шт. Д-10 ИИМИА И-6508, выделенная из минеральных источников Джермука [3].

Культуру выращивали на среде Ормеруда [12] анаэробно в течение 7-8 суток в люминесценте при освещенности 250-3000 люкс и температуре 28-30°. Для освещения использовали лампы накаливания. Выращивание в анаэробных условиях проводили в темноте на качалке при 180 об/мин.

Рост культуры определяли измерением оптической плотности суспензии на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 660 нм, а также по сухому весу. Спектры поглощения клеток культуры в видимой области записывали на регистрирующем спектрофотометре "Спекор". Экстракцию каротиноидов проводили методом Кондратьевой и Малофеевой [2]. Общее содержание каротиноидов определяли спектрофотометрически в растворе легкого петролейного эфира (40-60°), принимая $E_{1\%}^{1\text{см}}$ равным 2630 при 478 нм, где обнаруживается основной максимум поглощения экстракта этих пигментов [9].

Состав каротиноидов определяли методом тонкослойной хроматографии, используя готовые пластинки "Silufol" (фирма Кавальер, ЧССР). Выделение пигментов проводили в восходящем токе растворителя бензол:петролейный эфир:ацетон (17:2:1) в темноте. Отдельные пигменты элюировали с пластинок петролейным эфиром и количественное содержание их определяли измерением оптической плотности при длине волны главного максимума поглощения (рис. 1).

Результаты и обсуждение. Изучаемая несерная пурпурная бактерия *Rh.sphaeroides* шт. Д-10 способна к росту в анаэробных условиях на свету и в аэробных условиях в темноте на средах, где донорами электронов служат органические субстраты. Однако в отличие от типового штамма в качестве донора электронов культура может использовать также тиосульфат. В связи с тем, что основные полосы поглощения света бактериохлорофилла лежат

в невоспринимаемой глазом инфракрасной области, видимая окраска фототрофных бактерий определяется в основном содержащимися в них каротиноидами. Цвет клеточной суспензии бактерии, выросшей анаэробно на свету, желто-коричневый. В присутствии в среде кислорода цвет культуры становится красным. В аэробных условиях в темноте культура не растет. В анаэробных же условиях в темноте цвет клеточной суспензии бледно-коричнево-красноватый, при перемешивании на качалке культура становится еще бледнее.

В условиях фотосинтетического роста клетки культуры содержат бактериохлорофилл *a* с максимумами поглощения при 590, 802 и 850 нм и каротиноидные пигменты сферонденового ряда с максимумами поглощения при 424, 478 и 510 нм (рис. 1).

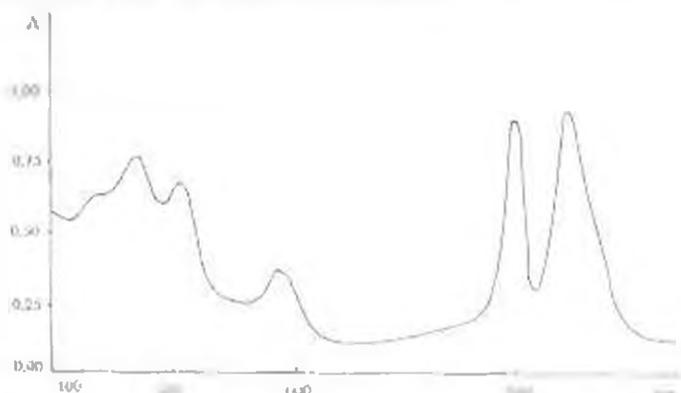


Рис. 1. Спектр поглощения целых клеток культуры *Rh. sphaeroides* шт. Д-10, выращенной анаэробно при освещении 750 люкс.

Большинство фототрофных бактерий хорошо растет при освещении 1500-2500 люкс, и изменение интенсивности света в этих пределах положительно влияет как на скорость роста, так и на накопление пигментов [1,10]. Однако изучение влияния света на рост и накопление биомассы *Rh. sphaeroides* шт. Д-10 показало, что интенсивное накопление биомассы имеет место при освещении 750-1000 люкс (рис. 2), а наибольшее количество каротиноидов обнаруживается при 500-750 люкс (табл. 1). При этом количество каротиноидов достигает максимума на шестые сутки, а биомасса - на четвертые.

Увеличение интенсивности освещения до 1500-3000 люкс приводит к значительному снижению общего содержания каротиноидов.

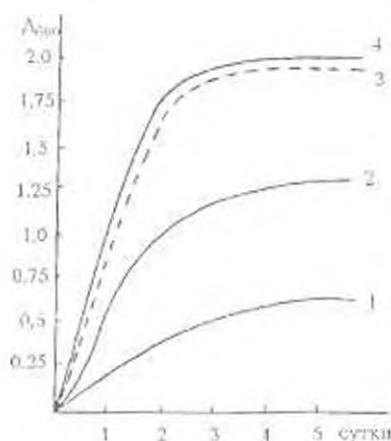


Рис. 2. Влияние интенсивности освещения на рост и накопление биомассы *Rh. sphaeroides* шт. Д-10 в анаэробных условиях. Интенсивность освещения 1 - 250 люкс; 2 - 500 люкс; 3 - 750 люкс; 4 - 1000 люкс.

Преобладающие каротиноиды были идентифицированы как сфероиден (Rf 0.53) и гидроксисфероиден (Rf 0.72). Основную роль в поглощении в видимой области спектра шт. Д-10 играет сфероиден.

Таблица 1. Прирост каротиноидов *Rh. sphaeroides* шт. Д-10 в процессе анаэробного роста при разной интенсивности освещения ($\lambda_{max}=478$ нм)

Время, сутки	Интенсивность освещения, люксы					
	250	500	750	1000	2000	3000
1	-	-	-	-	-	-
2	0,08	0,18	0,13	0,06	0,12	0,08
3	0,14	0,56	0,30	0,13	0,50	0,15
4	0,25	0,75	0,52	0,25	0,62	0,27
5	0,31	0,87	0,73	0,37	0,70	0,39
6	0,37	1,12	1,06	0,48	0,77	0,51
7	0,38	1,13	1,12	0,62	0,77	0,64
8	0,38	1,13	1,13	0,70	0,79	0,72
9	0,38	1,13	1,12	0,75	0,81	0,78

В аэробных условиях в темноте общее количество каротиноидов значительно ниже, и, судя по пятнам на хроматограмме (рис. 3), в этом случае в клетках содержится соответствующий кетокаротиноид сфероидена - сфероиденон (Rf 0.57). Общий выход каротиноидов на единицу прироста биомассы был самый высокий при интенсивности освещения 750 люкс (табл. 2). Следует отметить, что при выращивании шт. Д-10 в анаэробных условиях на свету, в отличие от других каротиноидов, содержание сфероидена составляет около 60% от общей суммы каротиноидов независимо от интенсивности освещения.

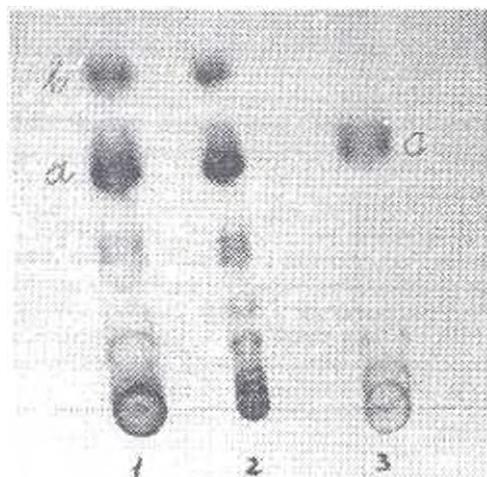


Рис. 3. Влияние интенсивности освещения на образование каротиноидов *Rh. sphaeroides* шт. Д-10 при разных условиях роста: 1 - 750 люкс, рост анаэробный; 2 - 1500 люкс, рост анаэробный; 3 - темнота, рост анаэробный. а - сфероиден (478 нм), в - гидроксисфероиден (510 нм), с - сфероиденон (460 нм).

Таким образом, полученные данные позволяют считать *Rh. sphaeroides* шт. Д-10 экономически выгодным объектом для получения каротиноидных пигментов, т.к. в условиях фотосинтетического роста

Таблица 2. Содержание каротиноидов *Rh. sphaeroides* шт. Д-10 в процессе анаэробного роста при разной интенсивности освещения

Интенсивность освещения, люкс	Общее содержание каротиноидов, мг/г сухой биомассы	Содержание сфероплена, мг/г сухой биомассы
500	1,9	1,1
750	2,4	1,4
1000	2,2	1,3
1500	0,6	0,4
2000	0,5	0,3

всего лишь при освещении 500-750 люкс можно усилить процесс пигментообразования и получить богатую каротиноидами биомассу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кондратьева Е.П. Фотосинтезирующие бактерии и бактериальный фотосинтез. М., 1972.
2. Кондратьева Е.П., Малофеева И.В. Микробиология, 33, 5, 758, 1964.
3. Малатян М.Н., Арутюнян Т.Г., Паронян А.Х., Кенчян О.И., Александрюшина Н.И. Микробиология, 51, 3, 517-519, 1982.
4. Феофилова Е.П. Пигменты микроорганизмов. М., 1974.
5. Феофилова Е.П. Прикл. биохим. и микробиол., 30, 2, 181-195, 1994.
6. Шестаков С.В. Биотехнология, 213-216, М., 1984.
7. Buitton G. Carotenoids Chemistry and Biology, Plenum Press, 167-184, 1990.
8. Hunter C.N., Hundle B.S., J.E. Hearst, Lang H.P., Gardiner A.T., Takaichi S., Cogdell R.J. Bacteriology, 176, 12, 3692-3697, 1994.
9. Jensen S.L. The constitution of some bacterial carotenoids and their bearing on biosynthetic problems. Trondheim, 1962.
10. Karin Schmidt Arch. Microbiol., 77, 1, 231-238, 1971.
11. Noparatnarporn N., Traculnaleumsali S., Silveria R., Niahisava V., Nagai S. Ferment. Technol., 65, 1, 11-16, 1987.
12. Ormerod J.C., Ormerod K.S., Gest H. Arch. Biochem. and Biophys., 94, 2, 449-463, 1961.
13. Sasaki K., Noparatnarporn N., Nagai S. Bioconversion of waste materials to industrial products. Elsevier, 223-261, 1991.

Поступила 10.VI.1997

ВЛИЯНИЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНОГО ВЕЩЕСТВА БА-420 НА ПРОЯВЛЕНИЕ АСПАРТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК *ERWINIA AROIDEA*

Г.П. АЛЕБЯН, П.В. ТОЗАЛАКЯН, Ф.К. ГАБРИЕЛЯН,
А.Б. МЕЛКОНЯН, А.В. БАБАХМЯН

Научно-исследовательский институт "Биотехнология", Ереван, 375056

Изучены кинетические закономерности влияния катионного поверхностно-активного вещества (ПАВ) децилоксикарбонил-метилдиметилбензил-аммония хлорида (БА-420) на проявление аспартазной активности свободных клеток *E.aroidea*. Показано, что кинетика взаимодействия ПАВ с системой клетка-фермент зависит от концентрации как ПАВ, так и клеток. При низких концентрациях данного ПАВ ускорение изучаемой ферментативной реакции протекает в две фазы. Высокие концентрации ПАВ ингибируют аспартазную активность. При оптимальных концентрациях ПАВ аспартазная реакция не ингибируется, а время проявления максимальной активности не больше минуты. Полученные данные интерпретированы в рамках адсорбционной модели взаимодействия ПАВ с микробными клетками.

Պատմամոխիզում են դեցիլօքսիմեթիլօքսիթրոնիլ-մեթիլդիմեթիլբենզիլ-ամոնիումի քլորիդ կատիոնային ՍՍ Ե-ի ազդեցության կինետիկական օրինաչափությունները *Erwinia aroidea* ի բջիջների ապարտազային ակտիվության դրսևորման վրա: Ցույց է տրված, որ ՍՍ-ի բջիջ-ֆերմենտ փոխազդեցության կինետիկան կախված է ինչպես ՍՍ-ի, այնպես էլ մանրէների կոնցենտրացիայից: ԱՍ-ի զանր կոնցենտրացիոն տիրույթում նկատվում է մակցիայի արագության մեծացումը տեղի 1 ունենում երկու փուլով: ՍՍ-ի զարժր կոնցենտրացիոն տիրույթում տեղի է ունենում ապարտազային ակտիվության արգելանք: ԱՍ-ի օպտիմալ կոնցենտրացիոն տիրույթում ապարտազային ակտիվության արգելանք չի նկատվում, իսկ ակտիվության դրսևորման ժամանակը չի գերազանցում մեկ րոպե: Մտադրված արդյունքները քննարկված են ՍՍ-մանրէ փոխազդեցության ադսորբցիոն մոդելի շրջանակներում:

The kinetic aspects of the influence of cationic detergent deciloxycarbonyl methyl dimethylbenzyl oxy ammonium chloride (BA-420) on aspartase activity of *Erwinia aroidea* cells are studied. Kinetics of the system detergent-cell-enzyme interaction depends both on detergent and cell concentrations. The low concentrations of detergent accelerate the aspartase reaction by two stages. The high concentrations of detergent inhibit the aspartase activity, but the optimal concentrations do not inhibit the enzyme and the highest cell activity achieves within one minute. The data obtained are discussed on the detergent-cell interaction adsorption model.

Поверхностно-активное вещество БА-420 - E. aroidea - аспартаза

Бактериальный штамм *Erwinia aroidea* (ИНМИА N 8724) является одним из наиболее перспективных для промышленного производства L-аспарагиновой кислоты. На основе этого штамма разработан ряд технологий, в которых в качестве биокатализатора использованы как иммобилизованные, так и свободные клетки [1-4,7,8]. При определении аспартазной активности биомассы в процессе культивирования клеток, а также при осуществлении биотрансформации фумарата аммония в L-аспарагиновую кислоту использование поверхностно-активных веществ имеет определенные преимущества [5]. Это позволяет исключить стадию

активации биомассы и освобождает от необходимости использования дезинтеграционного оборудования при анализах. Имеются также данные о положительном влиянии детергента на стабильность фермента [5]. Из ряда публикаций [10-12] известно, что характер взаимодействия ПАВ с микробными клетками зависит не только от типа ПАВ, но и от типа клетки и фермента. При разработке технологических процессов синтеза L-аспаргиновой кислоты из фумаровой и аммиака мы провели исследование влияния различных типов ПАВ на проявление аспартазной активности и стабильность фермента.

В настоящем сообщении приведены результаты исследования действия катионогенного ПАВ БА-420 на микробные клетки *E. arzoidea*.

Материал и методика. В работе использованы следующие реактивы и препараты: L-аспаргиновая кислота (L-Asp) марки "х.ч." производства НИИ "Биотехнология" РА, фумаровая кислота "х.ч.", 25%-ный водный аммиак "х.ч.", БА-420, синтезированный авторами. В качестве препарата аспартазы использована налосодержащая жидкость, полученная путем обработки ультразвуком клеточной суспензии *E. arzoidea* в 1М растворе фумарата аммония (рН 8,5) с дальнейшим удалением клеточного балласта центрифугированием. Культуры выращивали в жидкой питательной среде при 30° в течение 16-18 ч. согласно методике [9]. Биомассу считали пригодной для исследований, если селективность превращения фумарата в аспарат составляла не менее 95%.

Ферментативную реакцию синтеза L-Asp проводили при различных концентрациях биомассы или ферментного препарата в одномольном растворе фумарата аммония при рН 8,5 ± 0,05 и температуре 37°.

Концентрацию фумарата в реакционной среде определяли методом отбора проб, спектрофотометрически, при длине волны 240 нм после 2500-кратного разбавления в дистиллированной воде.

Количество биомассы приведено в пересчете на сухой вес.

Представленные в работе данные являются средними значениями не менее трех измерений в каждой точке, при этом среднее отклонение не превышало 2%.

Результаты и обсуждение. Влияние БА-420 на проявление аспартазной активности клеток. На рис. 1 приведены кривые расхода

фумаровой кислоты в присутствии различных концентраций БА-420. Как видно из рисунка, в первом контрольном опыте в отсутствие ПАВ в течение всего эксперимента (~120 мин) изменения концентрации фумарата не происходят (кр. 1). Второй контрольный опыт, где использована дезинтегрированная воздействием ультразвука биомасса, показывает линейное падение концентрации фумарата до 80%-ной конверсии (кр. 2). Исходя из этого, при обработке результатов опытов ограничивались указанной глубиной конверсии фумарата, т.е. сохраняли условие $[S] \gg K_m$. При воздействии оптимальных концентраций БА-420

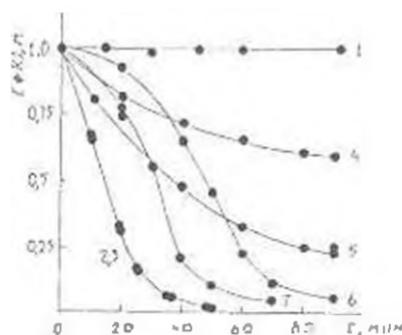


Рис. 1. Кинетика расхода фумарата под действием аспартазы *E. arzoidea* в присутствии различных концентраций БА-420 ($[S]=1M$; рН 8,5; $T=37^\circ$; [клетки]=4 мг/мл $[BA-420] \times 10^4 = 0, 1, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4$); 0, дезинтеграция ультразвуком (2); 5,4 (3); 10,8 (4); 13,5 (5); 3,2 (6); 4,3 (7).

на клетки кривая расхода фумарата (кр. 3) практически воспроизводит кривую второго контрольного опыта. Концентрации БА-420 выше оптимальных в начальный период способствуют потреблению фумарата, далее, в течение опыта, процесс постепенно замедляется и выходит на нулевую скорость (рис. 1., кр. 4). Воздействие концентраций БА-420 ниже оптимальных описывается кривыми типа 5. Как видно из рис. 1, эта кривая имеет S-образный характер. Таким образом, при воздействии БА-420 наблюдаются три типа кривых исчерпания фумарата.

На рис. 2 приведены кривые зависимости относительной скорости расхода фумарата от времени для указанных выше концентрационных

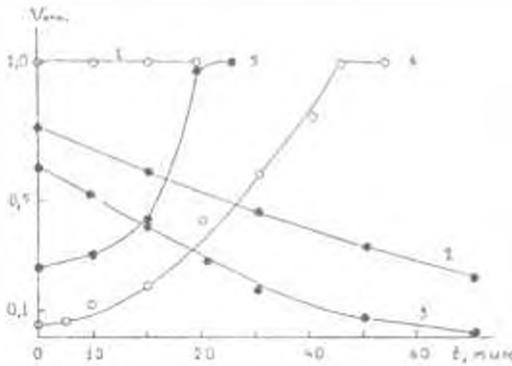


Рис. 2. Зависимость скорости расхода фумарата от времени под действием аспартазы *E. coli* в присутствии различных концентраций БА-420 ($[S]=1M$; pH 8,5; $T=37^\circ$; [клетки]=4 мг/мл; $[BA-420] \times 10^4 = 6,5$ (1); 10,8 (2); 13,5 (3); 3,2 (4); 4,3 (5)).

интервалов детергента. Анализ приведенных кривых показывает, что при оптимальных концентрациях БА-420 скорость реакции изначально имеет максимальное значение (присущее данной партии клеточной биомассы) и сохраняется до конца опыта (80%-ная конверсия). В области высоких концентраций детергента увеличение приводит к уменьшению начальной скорости расхода фумарата и сравнительно быстрой инактивации биокатализатора (кр. 2 и 3). При концентрациях детергента ниже оптимальных после установления начальной скорости наблюдается экспоненциальное ускорение реакции потребления фумарата (кр. 4 и 5) до максимального значения, характерного для данного образца биокатализатора.

На рис. 3. приведена зависимость начальной скорости расхода фумарата от концентрации БА-420. Как видно, зависимость $V=f([BA-420])$ имеет три ярко выраженных участка, а область оптимальных концентраций детергента находится в пределах $5-9,7 \times 10^{-4} M$ при концентрации клеток 4 мг/мл.

Рис. 3. Зависимость начальной скорости расхода фумарата под действием аспартазы *E. coli* от концентрации БА-420 ($[S]=1M$, pH 8,5; $T=37^\circ$).

Проявление департазной активности в присутствии ПАВ в зависимости от концентрации

клеток в реакционной среде. Вариацию концентрации клеток проводили при концентрации БА-420, равной $6,4 \times 10^{-4}$ М (область оптимальной концентрации). Как показывают данные, приведенные в таблице 1, с увеличением концентрации клеток в реакционной среде начальная скорость потребления фумарата увеличивается, за исключением последней концентрационной точки. Рассчитанные удельные (на единицу биомассы) скорости практически равны между собой, за исключением последней, значение которой на 30% ниже остальных. При самой низкой концентрации клеток в реакционной среде наблюдалось замедление потребления фумарата, начиная от ~40%-ной конверсии.

Обратимость воздействия БА-420 на клетки. Опыты по плаванию

Таблица 1. Зависимость проявляемой аспаргиназной активности от концентрации клеток *E. arzoidea* в реакционной среде в присутствии [БА-420] = $6,4 \times 10^{-4}$ М. ([S] = 1 М; рН 8,5; T = 37°)

Концентрация клеток, мг/мл	1	2	3	4
Унабл. (отн. ед.)	16,0	30,2	63,5	66,6
Ууд. (отн.)	16,0	15,1	15,8	11,1

обратимости воздействия БА-420 на микробные клетки *E. arzoidea* проводились по следующей схеме: после добавления в реакционную среду оптимальной концентрации ПАВ ($\sim 5 \times 10^{-4}$ М) половину реакционной среды центрифугировали и выделяли клеточную фракцию, которую ресуспендировали в таком же объеме раствора субстрата, а другую половину оставляли в качестве контроля. Результаты опыта показали, что транспортные ограничения, снятые воздействием ПАВ, не восстанавливаются при переводе биомассы в свежий раствор субстрата. Количественное сравнение начальных скоростей потребления фумарата в контрольном опыте и в опыте с ресуспендированными клетками показало отсутствие вымывания аспартазы из клеток в период проведения опыта.

Интерпретация полученных нами результатов основана на адсорбционной модели взаимодействия ПАВ с микробными клетками [6,11]. Основными моментами модели являются: сорбция ПАВ на поверхности клетки, сольubilизация структурных элементов клеточной оболочки, взаимодействие ПАВ с внутриклеточным материалом (в том числе с ферментами). В свете этой модели, учитывая, что сорбция ПАВ приводит к образованию каналов, пронизываемых для низкомолекулярных соединений (субстрат, продукт), зависимость $V_{\text{max}} = f([\text{БА-420}])$ (рис. 3.) можно охарактеризовать следующим образом. Повышение концентрации ПАВ в реакционной среде приводит к увеличению числа каналов в клеточной оболочке (рост наблюдаемой ферментативной активности). После формирования минимального числа каналов, снимающих транспортные ограничения, наблюдаемая ферментативная активность не зависит от концентрации ПАВ. Падение последней при более высоких

концентрациях ПАВ связано с непосредственным взаимодействием БА-420 с аспартазой в условиях полного отсутствия диффузионных барьеров.

Процесс солюбилизации структурных элементов клеточной оболочки отчетливо проявляется при исследовании низких концентраций БА-420 (рис.2., кр.4,5). После быстрого установления начальной скорости ферментативной реакции (сорбция ПАВ и образование каналов) идет более медленный процесс - процесс солюбилизации, что, в свою очередь, вызывает нарушения в структуре клеточной оболочки и вследствие этого приводит к дополнительному облегчению диффузии.

В пользу сорбционной модели говорят также данные зависимости проявляемой аспартазной активности от концентрации клеток при фиксированной концентрации ПАВ. Так, при уменьшении количества клеток в реакционной среде концентрация свободных молекул ПАВ становится достаточно высокой и с течением времени наблюдается торможение ферментативной активности. При увеличении количества клеток в реакционной среде данная концентрация ПАВ становится недостаточной для образования минимального числа каналов, полностью снимающих транспортные ограничения только путем адсорбции.

Результаты, полученные в опытах по изучению обратимости воздействия БА-420 на клетки *E. coli*, свидетельствуют, что при кратковременном воздействии ПАВ образующие каналы не утрачивают после удаления ПАВ, распределенного в жидкой фазе реакционной среды, а размеры каналов недостаточны для диффузии аспартазы во внешнюю среду.

Таким образом, кинетика взаимодействия БА-420 с клетками *E. coli* носит сложный характер. Наблюдаемые закономерности укладываются в рамки модели взаимодействия ПАВ с клетками микроорганизмов. Определены оптимальные условия для аналитического контроля аспартазной активности клеток *E. coli* с применением ПАВ БА-420.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Исследования в области биохимии и биологии. Ученые и их работы. 33 (1986)* 96132, 1996
2. Азбян В.А., Антонян А.П., Багдасарян С.Н., Хачатурян А.А., Африкян Э.Г. Авт. свид. СССР N 1441785, 1986.
3. Азбян В.А., Мхитарян А.В., Калашян О.А. Авт. свид. СССР N 1510361, 1987.
4. Азбян В.А. Получение и применение иммобилизованных ферментов клеток микроорганизмов. Ереван, 1989.
5. Азбян Г.П., Кочаров С.Л., Мелконян А.Б. Тез. докл. междунар. симп. "Аминокислоты и их производные", 16, Гродно, 1996.
6. Азбян Г.П., Толакалян П.В., Мкртчян М.В., Мелконян А.Б., Бибахиян А.В. Биотехнология, 12, 37, 1996.
7. Арцманов Е.Н., Азбян Г.П., Толакалян П.В., Лозинский В.И., Вайнерман Е.С., Рогожин С.В., Штильман М.И. Авт. свид. СССР N

1559716, 1989.

8. Арзуманов Е.Н., Тозалакян П.В., Антонян А.П., Давидян Т.С., Галачьян Р.М., Африкян Э.Г. Авт. свид. СССР № 1192366, 1985.
9. Арзуманов Е.Н., Тозалакян П.В., Мелконян А.Б., Гончегулян А.Е., Григорян А.К. Авт. свид. СССР № 1552650, 1989.
10. Бравова Г.Б., Ивинова Н.Г., Эль Регистан Г.И., Козлова А.Н., Бакалова Р.В., Конобрий В.Н. Обзорная информация: "Производство и применение продуктов микробиологических производств." вып.3., М., 1990.
11. Вербина Н.М. В сб. Итоги науки и техники, сер. Микробиология, 2, 46-108. М., 1973.
12. Felix H. Anal. biochem., 120, 2, 211-234, 1982.

Поступила 09.V.1997

Биолог. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 597.554

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЭКОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СЕВАНСКОГО УСАЧА *BARBUS GOKTSCHIANICUS* В УСЛОВИЯХ ГИДРОЭКОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ ОЗЕРА СЕВАН

О.О. ОГАНЕСЯН, Б.К. ГАБРИЕЛЯН

Институт гидроэкологии и ихтиологии НАН Армении, 375019, Ереван

Сравнительный анализ некоторых морфоэкологических показателей севанского усача в разные периоды эвтрофирования оз. Севан показал, что в 90-е годы по сравнению с 40-50 гг. заметно изменился ряд пластических признаков этого вида, что является следствием гидроэкологических преобразований водоема, связанных в основном с увеличением антропогенной нагрузки на его лимносистему.

Чառապել է Աւան լճի բերրւի մորֆոէկոլոգիական ցուցանիշերի կամեմատական վերլուծությունը լճի էվտրոֆացման տարբեր շրջաններում: Արդյունքների վերլուծությունը ցույց է տվել, որ 40-ական թվականների համեմատ, 90-ական թվականներին նկատվել են բնյութի պլաստիկ ցուցանիշների հավասարի փոփոխություններ, որոնք լիմնոհամակարգի վրա անտրոպոգեն ճանաչարևնվածություն աճի հետևանք են:

The comparative analysis of several morphoecological indices of Sevan's barbus was carried out in different periods of eutrophication processes in the lake Sevan. The real changes of some plastic characteristics of barbus as a result of hydroecological changes in reservoir, have been observed in the 90-s, in comparison with the 40-50s, which related with increase of anthropogenic load on lymnosystem.

Севанский усач - морфометрия - пластические признаки

Изменения в структуре рыбных сообществ происходят постоянно, причем необратимые сукцессионные изменения в пресноводных экосистемах могут происходить как под влиянием климатических, так и антропогенных факторов.

Экосистема оз. Севан подвергалась длительному воздействию искусственного понижения его уровня для сельскохозяйственных и энергетических целей. Особенно резко антропогенное воздействие проявилось в 90-е годы, когда начинавшийся новый виток дестабилизации экосистемы озера был связан не столько с увеличением биогенной нагрузки со стороны его водосборного бассейна, сколько с увеличением неконтролируемых пусков воды и браконьерского изъятия рыбы.

Неблагоприятные изменения экосистемы озера в первую очередь затронули те параметры рыб, которые лежат в основе формирования их популяций. Сократились площади нерестилищ, сместились сроки и места размножения рыб, изменились характер роста, возраст наступления половой зрелости, соотношение полов, пищевой спектр, распределение в водоеме, катастрофически снизилась численность отдельных видов, особенно эндемичных - форели, усача и храмули. Дальнейшее ухудшение гидроэкологических условий водоема может привести к необратимому подрыву запасов эндемичных видов рыб и к полному их исчезновению.

Уникальный эндемичный состав ихтиофауны оз. Севан всегда привлекал самое пристальное внимание исследователей, занимающихся проблемами экологии и сохранения редких и исчезающих видов. Севанский усач, как и форель-ишхан, внесен в Красную книгу Армении [4] как вид, находящийся на грани исчезновения, поэтому любые сведения, касающиеся современного состояния вида, представляют огромную ценность. К сожалению, этому эндемичному виду карповых уделялось очень мало внимания, как к промысловому, а с 50-х гг. севанский усач практически не изучался.

Целью данной работы являлось выявление изменений некоторых морфоэкологических показателей (пластических признаков) севанского усача (на примере его озерно-речной формы) в связи с изменением гидроэкологического режима оз. Севан в 90-е годы.

Материал и методика. Материал был собран в июне-июле 1996г. в устьевых участках рек Артичи и Варденик. Исследования проводили на озерно-речной форме севанского усача, который в этот период заходит в притоки озера для нереста. Реки Артичи и Варденик являются основными перестопами реками для озерно-речной формы усача. В устьевых участках этих рек устраивались плучие забойки для промысла нерестующей храмули, и вся поднывавшая в реку рыба вылавливается с помощью специальных ловушек - тарн и сеток (мест. назв. - татго). В них и попадают единичные экземпляры усача (в основном относительно более крупные самки, основная же часть мелких самцов (5-7см) проходит через ячей сеток и прутья тарн).

Всего было промерено 68 особей усача, из них 17 самцов и 51 самка.

Результаты вариационно-статистической обработки данных по 28 пластическим признакам сравнивали с данными 1948-51 гг. [10].

Измерения проводили с точностью до 1мм, а такие признаки, как диаметр глаза и длина первой и второй пары усиков, — с точностью до 0,5мм.

Вариационно-статистическую обработку всего материала проводили по общепринятым методикам [5,8] с использованием программируемого микрокалькулятора МК-61 и пакета программ для биологических исследований [1,7]. Достоверность различий полученных результатов оценивали по таблице стандартных значений критерия t Стьюдента для уровня значимости $P=0,05$ [5,8].

Значение критерия оценки достоверности различий t , вычисляли по формуле

$$t_{\psi} = \frac{\bar{M}_1 - \bar{M}_2}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)\sigma_1^2 + (n_2 - 1)\sigma_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \cdot \frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}}}$$

для n_1, n_2 и числа степеней свободы $k = v_1 + v_2 - 2$ [5].

Результаты и обсуждение. Севанский усач *Varbus goktschaicus* (Kessler, 1877) - эндемичный для озера вид. До спуска вод озера встречался по всей акватории и учетках с глубинами до 12 м, предпочитает скалистые, каменистые и каменисто-галечные грунты. Улоны усача составляли в среднем от 5 до 15 тонн в год, а в отдельные годы достигали 24 тонн [6,9]. Однако к 70-м годам они резко сократились, и с середины 70-х годов (с 1974 г.) севанский усач полностью утратил промышленное значение. В последние годы усач встречается в улонах в единичных экземплярах.

В зависимости от местообитания и нереста различают три биологические формы севанского усача - озерную, озерно-речную и речную [3,10].

Сравнительный анализ данных показал, что за указанный промежуток времени значительно изменился целый ряд морфометрических признаков севанского усача (озерно-речная форма) как у самцов, так и у самок. В таблице приведены значения признаков, по которым было получено достоверное различие.

К числу изменившихся признаков относится длина грудного плавника (IP) (относительно длины тела по Смитту (I)). При этом и у самцов, и у самок значение этого признака увеличилось, но у самок это увеличение более резко выражено. Подобные изменения размеров плавников рыб обычно наблюдаются при изменении плотности воды водоема, что имеет место в настоящее время на оз. Севан в связи с началом процесса вторичного эвтрофирования.

Значительно изменились как у самцов, так и у самок высота головы (hc) - увеличение, длина хвостового стебля (fd) - уменьшение (оба признака относительно длины тела по Смитту), а также длина рыла (r) - увеличение (относительно длины головы (C)).

Кроме того, у обоих полов изменились размеры постдорзального расстояния (pD) - уменьшение (относительно длины головы (C)), что также может указывать на изменение физико-химического состава воды озера.

Изменения остальных исследуемых признаков не совпадают у самцов и самок. Признаки, достоверно изменившиеся у самок, у самцов не достигли необходимого уровня значимости, и наоборот. Так, у самок достоверно отличались наименьшая высота тела (h), высота спинного плавника (hD), высота анального плавника (hA), длина брюшного плавника (IV) и заглавничной отдел головы (pO) (все эти признаки относительно длины тела по Смитту). У самцов же такими признаками

Таблица 1. Пластические признаки самцов и самок озерно-речной формы севанского усача в разные годы.

Пол	Годы		M	Колесания		n
самцы	1948-51 гг.		108.5	70-221		50
	1996		118.2	94-198		17
самки	1948-51 гг.		133.7	136-230		48
	1996		169.4	122-214		51
признаки	самцы		досто- верность различий	самки		досто- верность различий
	M±m, %			M±m, %		
	1984-51 гг.	1996 г.		1984-51 гг.	1996 г.	
	относительно длины тела по Смитту (I)					
Наименшая высота тела h	9.90±0.08	9.85±0.12	-	9.11±0.09	9.83±0.16	+
Длина хвостового стебля fd	20.81±0.01	18.86±0.22	+	20.30±0.20	18.67±0.22	+
Антердорсальное расстояние aD	51.06±0.20	52.19±0.30	+	50.97±0.26	51.53±0.26	-
Постдорсальное расстояние aD	38.71±0.18	37.65±0.43	+	39.76±0.38	38.63±0.32	*
Высота головы hc	13.29±0.12	16.69±0.19	+	13.06±0.12	16.55±0.16	*
Вентроанальное расстояние V-A	22.47±0.17	23.72±0.43	+	23.62±0.25	23.91±0.18	-
Высота спинного плавника hD	15.61±0.22	15.75±0.21	+	14.32±0.25	15.01±0.19	+
Длина основания анального плавника IA	7.51±0.12	8.38±0.20	+	9.00±0.10	9.30±0.15	-
Высота анального плавника hA	16.38±0.29	15.67±0.40	-	19.25±0.16	18.13±0.19	*
Длина грудного плавника IP	17.51±0.14	18.14±0.17	+	16.55±0.15	17.68±0.18	+
Длина брюшного плавника IV	16.32±0.15	16.21±0.20	+	14.35±0.17	15.32±0.17	*
Заглавный отдел головы ro	11.34±0.09	11.35±0.29	+	11.80±0.1	12.25±0.18	*
относительно длины головы (C)						
Горизонтальный диаметр глаза o	18.00±0.23	19.28±0.68	+	14.79±0.22	15.12±0.26	-
Длина рта l	38.63±0.31	41.13±0.44	+	39.40±0.15	43.77±0.62	*
Длина I пары усиков	14.53±0.33	16.88±0.4	+	16.02±0.35	17.86±0.35	+
Длина II пары усиков	20.18±0.32	23.39±0.88	+	21.93±0.39	23.07±0.553	-

являлись антердорсальное расстояние (aD), вентроанальное расстояние (V-A) и длина анального плавника (IA) (все относительно длины тела по Смитту), а также горизонтальный диаметр глаза (o) и длина второй пары усиков (оба относительно длины головы (C)).

Наблюдавшиеся изменения морфоэкологических признаков только у одного из полов связаны, по-видимому, с имеющимся половым диморфизмом у севанского усача, который выражается не только в физиологических и некоторых морфометрических признаках, но и в темпе роста и возрасте достижения половой зрелости. Отсюда и неадекватность реакций организма самок и самцов усача на изменения среды обитания.

По остальным исследуемым морфометрическим признакам не было выявлено достоверных различий.

Все наблюдаемые изменения морфоэкологических параметров севанского усача свидетельствуют о серьезных нарушениях в экосистеме водоемов, связанных с антропогенными преобразованиями озера Севан. Подобные изменения морфоэкологических параметров были отмечены ранее и у севанской храмули [2].

Таким образом, в условиях продолжающегося антропогенного воздействия на оз. Севан популяция севанского усача, так же как и все рыбное сообщество водоема, находится в крайне нестабильном состоянии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бальчаускас Л.П.* Математическое обеспечение микро ЭВМ "Электроника БЗ-34". Программы обработки биологических данных. 90, Вильнюс, 1984.
2. *Габриелян Б.К., Тряпицина Л.Н.* Тез. докл. I Всесоюзн. конф. по лимнологии горных водоемов. 48-49, Ереван, 1984.
3. *Дадикян М.Г.* Рыбы Армении. Ереван, 1984.
4. Красная книга Армянской ССР. Животные. 122-123, Ереван, 1987.
5. *Лакин Г.Ф.* Биометрия, М., 1973.
6. *Павлов П.И.* Тр. Севанск. гидробиол. ст., 5, Севан, 1983.
7. *Печников А.С., Ружин С.В.* Методические рекомендации по использованию микро ЭВМ "Электроника БЗ-34" и ее аналогов в рыбохозяйственных исследованиях. 92, Л., 1987.
8. *Плохинский Н.А.* Биометрия, Новосибирск, 1961.
9. *Чикова В.М.* Тр. Севанск. гидробиол. ст., 14, Севан, 1955.
10. *Чикова В.М.* Канд. дисс., Севан, 1953.

Получила 21 XI 1996

МЕДВЕДИЦЫ РОДА *ARCTIA* SCHRK. 1801 (*LEPIDOPTERA*,
ARCTIIDAE) АРМЕНИИ

И.Х. АКОПЯН

Институт зоологии НАН Армении, 375044, Ереван

Даны описание имаго и оригинальные рисунки гениталий трех видов медведиц из рода *Arctia* Schrk. (*Arctia caja* L., *Arctia hebe* L., *Arctia villica* L.), представленных в Армении

Տրված են արտաքին և ներքին անասունների *Arctia* Schrk. ցեղի 3 տեսակի (*Arctia caja* L., *Arctia hebe* L., *Arctia villica* L.) իմացունքի նկարագրությունը և, սովորաբար, օրգանների յուրահատուկ նկարները

The description of imago and original figures of genitals of tiger moth (genus *Arctia* Schrk.) 3 species (*Arctia caja* L., *Arctia hebe* L., *Arctia villica* L.) distributed in Armenia are presented

Фауна Армении - медведицы рода *Arctia*

В статье дана функциональная морфология гениталий самцов и самки 3 видов медведиц рода *Arctia*, на материале, фиксированном в 70%-ном спирте. В литературе имеются некоторые сведения о гениталиях самки медведицы [1,2]

Arctia caja Linnaeus, 1758.

Linnaeus, 1758. *Systema naturae*, ed. X:500

Основные размеры: размах крыльев от 60 до 80мм; длина передних крыльев 25-35, ширина 15-17, длина задних крыльев 21-25, ширина 16; длина тела 19-22; длина усиков 10-12.

Внешность бабочки. Переднее крыло темное, красновато-бурое, округленной вершиной и выпуклым внешним краем, с тремя перевязками. У переднего края два клиновидных, продолговатых белых пятен. Медиальные и умбральная перевязки соединены задним концом в фиолетовый и виде трехзубца. Задние крылья киноварно-красные, с пятью черными пятнами, из которых три, а иногда и четыре, больше пятого. Бахрома светлее основной окраски крыла. Усики белые, у самцов короткие гребенчатые, у самок - длинные, редко гребенчатые. Палатки и тело густо покрыты темными волосками, с карминно-красным краем. Брюшко такого же цвета, как задние крылья, с черными перемычками. Шупальца щетинистые, хоботок слабо выражен.

Бабочка летает с июня до августа. Встречается повсюду, в том числе в горах.

Гусеница последнего возраста длиной около 60мм, в молодом возрасте черноватая с красно-желтыми спинными и боковыми полосками и серыми поперечными полосками, взрослая - черная, с очень длинными черными, у вершины седыми волосками. Встречается в конце весны почти на всех травянистых растениях. Перезимовывает гусеница. Окукливается на земле, в толще

грязно-белом коконе, переплетенном с волосками. Куколка черная.

Гениталии самца. Широкий куполообразный тегумент со слегка заметным швом переходит в небольшой треугольный ункус (рис.1).

Вальвы постепенно суживающиеся к вершине, лопастевидные, со сближенными основаниями. Вентральный край вальвы неровный, с неглубокой выемкой. В основании костального края вальвы находится сильносклеротизированный, шишковидный вырост.

Эдеагус (рис.2) довольно широкий, длинный, проксимально изогнутый. Везика покрыта многочисленными корнутаками.

Гениталии самки. Анальные сосочки (рис.3) широкие, с тупыми вершинами. Задние апофизы короткие и широкие, сильносклеротизированные. Передние апофизы тонкие, слабосклеротизированные, концы их загнуты наружу. Остium маленький, ромбовидный. Склеротизированный антрум длинный, в виде широкого цилиндра, слегка сужается в месте соединения с дуктусом. Бурса в проксимальной части в грубых складках, с двумя сигналами в виде округлых бугорчатых пластинок.



Рис. 1



Рис. 2

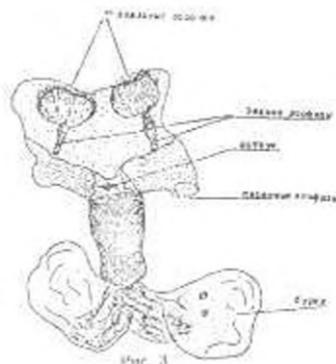


Рис. 3

Распространение: Европа, Россия, Кавказ, М.Азия, Сибирь, Япония, Армения.

Материал. Кировакан, 10.08.1939 (Атоян А.); окр. Гориса 15.08.1953 (Вардикян С.); Ереван, окр. Б.С. 07.05.1954 (Вардикян С.); Степанаван, 08.08.1963 (Тертерян А.); Кафанский р-н, с. Шишкерт, 03.07.1970, с. Цав, 28.08.1970 (Пустоваров В.); Разданский р-н, с. Азат, 09.07.1991 (Акопян Н.); Амасийский р-н, окр. оз. Арли, 05.08.1991 (Акопян Н.).

Arctia hebe Linnaeus, 1764.

Linnaeus, 1767. *Systema Naturae*, ed.XII:820

Основные размеры: размах крыльев 50-55мм; длина передних крыльев 20-24, ширина 8-9; длина задних крыльев 16-19, ширина 9-10; длина тела 18-20; длина усиков 12-14.

Внешность бабочки. Передние крылья черные, с широкими белыми поперечными перевязками, окаймленными ржаво-красными каемками. Эти полосы проходят от переднего края к заднему. Обе ближайшие к внешнему краю поперечные перевязки связаны посередине. Задние крылья светло-красные, с черной бахромкой, перед внешним краем с двумя

большими черными пятнами, у середины с черной перевязью. Голова и грудь черные, падагии с красной каймой. Брюшко светло-красное. Усики у обоих полов черные, гребенчатые.

Бабочка летает с мая до июля в теплых, солнечных, невозделанных (целинных) песчаных областях, предпочитает известковые почвы. Встречается нечасто.

Гусеница черная, с длинными серо-черными, на боках ржаво-красными волосками. Голова черная. Встречается с мая до июля на травянистых растениях: тысячелистник - *Achillea millefolium* L.; молочай - *Euforbia* L.; звездчатка - *Stellaria media* C.; лебеда - *Chenopodium* L. Перезимовывает гусеница. Куколка черно-бурая, в бело-сером коконе, перемешанном с волосками. Окукливается на земле.

Гениталии самца. Ункус (рис.4) укороченный, клювовидный, гнатос в форме мантии. Вальвы широкие, простые, без каких-либо выростов, прямоугольной формы.

Эдеагус (рис.5) широкий и длинный, равномерно склеротизированный, проксимально изогнутый. Везика без корнитусов.

Гениталии самки. Анкляные сосочки (рис.6) с широкими плавно округленными першинами. Задние и передние апофизы склеротизированные, задние в три раза длиннее передних. Остиум маленький. Дуктус широкий и длинный, со склеротизированной стенкой. Бурса нежноперепончатая, овальная, с двумя сигналами в виде округлых пластинок, покрытых мелкими шипиками.

Распространение: Европа, М.Азия, Армения.

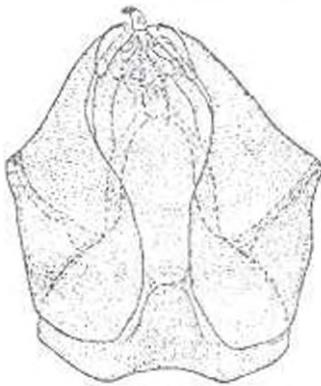


Рис. 4



Рис. 5



Рис. 6

Материал. Разданский р-н, Цахкадзор, 1911 (Малюженко А.); Красносельский р-н, с. Шоржа, 1920 (Шелковников А.); Амигский р-н, окр. оз. Ариш, 15.06.1949 (Акрамовская Э.); Аниинский р-н, Длитанков, 28.05.1951 (Тер-Григорян М.); Ереван, окр. Зоопарка, 29.04.1958 (Варданян С.); Ленин. селекти. станция, 03.06.1961 (Арутюнян Х.); Степанаван, 08.08.1963 (Тертерян А.); Кафанский р-н, с. Цав, 01.07.1970 (Пустоваров В.); Абовянский р-н, окр. Гарни, 12.05.1985 (Бадалян Л.); Абовянский р-

н, окр. Лусакерта, 10.05.1989 (Акопян Н.).

Arctia villica Linnaeus, 1758.

Linnaeus, 1758. *Systema Naturae* ed. X:501

Основные размеры: размах крыльев 50-60мм; длина передних крыльев 22-24; ширина 11-12; длина задних крыльев 12-19, ширина 10-13; длина тела 13-20; длина усиков 6-9.

Внешность бабочки. Передние крылья продолговатые, черные, с восемью крупными светлыми пятнами. Задние крылья оранжевые, с черными пятнами, лежащими преимущественно около внешнего края и у вершины, иногда сливающимися в большое черное пятно. Головы и грудь черные, тегулы с характерным белым пятном. Брюшко желтое, с налетом киноварного цвета, с тремя рядами черных пятен, снизу черное, с красной продольной полоской. Усики черные, у самцов гребенчатые, у самок - нитевидные. Время лета в июне-июле. Бабочка обитает в парках, на солнечных склонах, приусадебных участках. Вид обычен.

Гусеница толетая, черная, с густыми бурими волосками и темно-красной головой. Живет осенью и весной, питается листьями многих травянистых растений. Перезимовывает гусеница. Окукливается на земле в грязно-сером, тонком коконе.

Гениталии самца. Ункус (рис.7) массивный, длинный, сильно отогнут проксимально. В развернутом виде имеет сложный рельеф (рис.8)

Вальвы чрезвычайно хитинизированные, прямоугольные, со сближенными основаниями и удлиненными кукуллусами. Тегумен седловидный. Юкста колбовидная, с мелальной насечкой. Эдегус (рис.9) широкий, проксимально изогнутый. Везика с многочисленными корнутусами.

Гениталии самки. Анальные сосочки (рис.10) овальные, покрыты нежными волосками. Задние апофизы в три раза длиннее передних, сильно склеротизированные. Остиум овальное, с мелкими поствагинальными пластинками. Стернит 7-го сегмента брюшка густо покрыт теками чешуи, расположенных беспорядочно. Дуктус широкий. Бурса мешковидная, с тремя сигналами округлой формы.

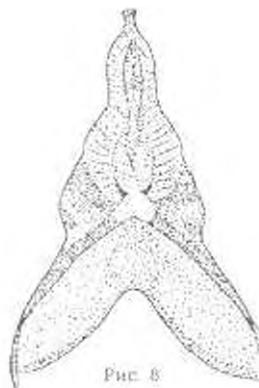
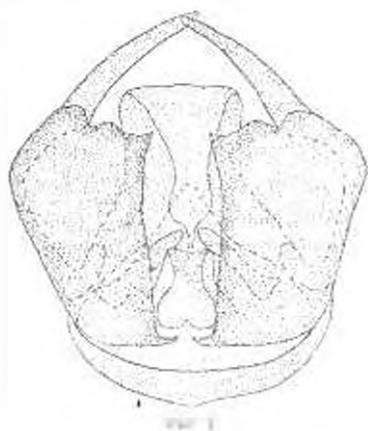


Рис. 8

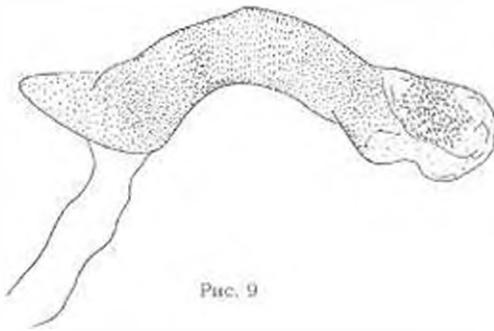


Рис. 9

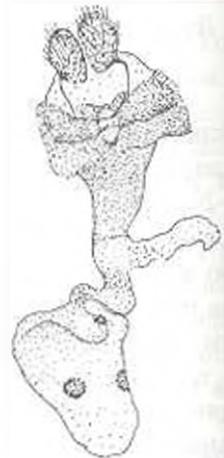


Рис. 10

Распространение: Европа, Кавказ, М.Азия, Армения.

Материал. Степанаван, 07.07.1920 (Малюженко А.); Алаверди, 07.07.1952 (Вардикян С.); Кафанский р-н, с. В.Хогана, 06.08.1982 (Бадалян Д.); Ноемберянский р-н, с. Кохб, 28.05.1987 (Бадалян Д.); Вайкский р-н, с. Гергер, 23.06.1988 (Акопян Н.); Масисский р-н, с. И.Харбек, 15.07.1990 (Акопян Н.); Ереван, сад, 21.06.1991 (Акопян Н.); Разданский р-н, с. Азат, 10.07.1991 (Акопян Н.); 10км восточнее г.Вайка, 29.05.1995 (Калашян М.); Горне, 31.05.1995 (Калашян М.); Аштаракский р-н, с. Антаруг, 27.06.1995 (Калашян М.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Стекольников Л.А. Энтомол. Обзор., 44, 2, 258-271, 1965.
2. Тихомиров А.М. Энтомол. Обзор., 58, 1, 116-127, 1979.

Поступила 10.XI.1999

ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ТЕСТА ПРОСТАТ-СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА В ДИАГНОСТИКЕ РАКА

А.А. МУРАДЯН, Ю.Г. ЗОГРАБЯН, А.Х. АВАКЯН

Урологическая клиника РМЦ "АРМЕНИЯ", Ереван 375073

Представлены данные исследования уровня простат-специфического антигена (PSA) в сыворотке крови больных из различных урологических клиник г. Еревана с дальнейшей патогистологической верификацией. Выявлена чувствительность PSA в различных возрастных группах и его высокая чувствительность на ранних этапах развития рака (75%).

Չեղազույլել են Երևան քաղաքի տարբեր ուռուցիկական կլինիկաների կիվանդների պրոստատ-սպեցիֆիկ անտիգենի (PSA) մակարդակը արյան շիճուկում որանց հետագա բարոհիստոլոգիական հաստատմամբ: Հայտնաբերվել է PSA-ի զգալու(ությունը տարբեր հասակային խմբերում, ինչպես նաև նրա ուրժր զգալունությունը բաղգկելի զարգացման սկզբնական փուլերում:

The prostate specific antigen (PSA) level in blood serum with the further pathohistological confirmation in patients from the different urological clinics of Yerevan has been investigated. The PSA sensitivity in different age groups and its high sensitivity in early stages of the cancer development has been revealed.

Диагностика рака простаты - простат-специфический антиген

Неуклонный рост заболеваемости раком предстательной железы (РПЖ) и отсутствие до настоящего времени надежных неинвазивных методов для определения распространенности заболевания побуждают исследователей разрабатывать новые подходы для решения этих задач. Многообещающим направлением в диагностике и мониторинге рака простаты является определение ассоциированных с опухолью маркеров в сыворотке крови [1].

После первого сообщения [6] о роли кислой фосфатазы в диагностике рака простаты в 1936г. исследовано около 40 возможных маркеров [5]. На сегодняшний день чувствительность PSA к раку простаты превышает таковую простатической кислой фосфатазы, что дает основание считать этот антиген лучшим из ныне существующих биологических маркеров рака предстательной железы [8,9].

Согласно данным Республиканского информационно-аналитического центра Министерства здравоохранения Республики Армения (РИАЦ МЗ РА), число больных за период 1988-1996г. увеличилось в 1,5-2 раза [3], что связано не только с действительным ростом заболеваемости, но и с улучшением диагностических методов. Однако, рассматривая статистику стадийности, можно заметить, что удельный вес больных в 1988г. из числа больных с впервые в жизни установленным диагнозом на начальных стадиях (I и II) составил 32,2% [3] от общего числа больных той же группы. В 1996 году удельный вес больных с I и II стадиями составил 22,2% [3] от

общего количества больных с впервые в жизни установленным диагнозом РПЖ. Уменьшение числа больных с диагностикой РПЖ на начальных этапах связано, по-видимому, с поздней обращаемостью и отчасти отсутствием профилактических осмотров. В Армении с 1997 г. в клиническую практику широко внедрен тест PSA, что позволило заметно увеличить выявляемость рака простаты. В данной статье нами ставилась задача провести корреляцию между чувствительностью PSA к раку простаты и возрастом.

Материал и методика. Нами изучены данные об уровне PSA в сыворотке крови 232 пациентов различных возрастных групп, обратившихся в связи с дизурией в урологические клиники г. Еревана (РМПЦ "Армения", Институт Хирургии им. Микаеляна, Мед. центр "Эребуни", Мед. центр "Малазия"). Исследования проведены в клинко-диагностическом отделении НИИ РА под руководством д.б.н. Авакяна А.Х. Метод определения - иммуноферментный. Возраст пациентов - от 48 до 85 лет. Возрастные группы распределены следующим образом: 40-50лет - 12человек (5,17%); 51-60лет - 60человек (25,8%); 61-70лет - 108человек (46,5%); 71-80лет - 44человека (18,96%) и 81 год и старше - 8 человек (3,4%). Стационарно обследовались 103 пациента, включая гистологическое исследование (операционный и биопсийный материал), из которых у 44 гистологически верифицирован рак простаты (в различных патоморфологических модификациях), в том числе и 8 пациентов (19%) на стадии с тяжелой дисплазией с неисключенным раком "in situ".

Результаты и обсуждение. Уровень PSA выше нормы (4 нг/мл) наблюдается у 84 пациентов (36,2%), из которых у сорока четырех (52%) проведено гистологическое исследование операционного и биопсийного материала. В результате у 30 (68,2%) из них выявлен рак. У остальных 59 (57,3%) из 103 гистологически проверенных пациентов с допустимым уровнем PSA (< 4 нг/мл) этот диагноз установлен у 14 пациентов (23,07%). Распределение по возрастным группам показано в таблице 1.

Таблица 1. Общее количество гистологически исследованных пациентов с высоким и допустимым уровнем PSA в сыворотке крови в различных возрастных группах

Возрастные группы	41-50	51-60	61-70	71-80	81 >	Всего в абс. числах
Всего пациентов, %	5,17	25,8	46,5	18,96	3,4	232
Уровень PSA выше 4 нг/мл, %	3,57	19,0	41,6	31,0	4,76	84
Гистологически проверено	0,97	29,4	53,4	20,4	4,85	103
А*	-	83,3	57,1	69,2	-	30
Б	-	6,7	23,5	17,5	-	14
Всего диагноз рака установлен, %	2,27	5,81	19,4	11,6	2,91	44

*Примечание: А - % пациентов с гистологически установленным диагнозом рак от группы с высоким уровнем PSA в сыворотке крови. Б - % пациентов с ложноотрицательными данными от группы с допустимым уровнем PSA в сыворотке крови. Ввиду малого количества пациентов данные возрастной группы 40-50 и 81 и старше в статистической обработке не учтены.

Как видно из таблицы, наибольшая чувствительность выявлена в возрастной группе 51-60 лет (83,3%), наименьшая - 61-70 лет (23,5%). Наибольшее количество ложноотрицательных результатов замечено в группе 71-80 лет (37,5%), наименьшее - в группе 51-60 (6,7%). Очевидно, это

связано с тем, что с возрастом допустимый уровень и чувствительность теста увеличиваются. Графически вышеизложенное представлено на рис. 1 и 2.

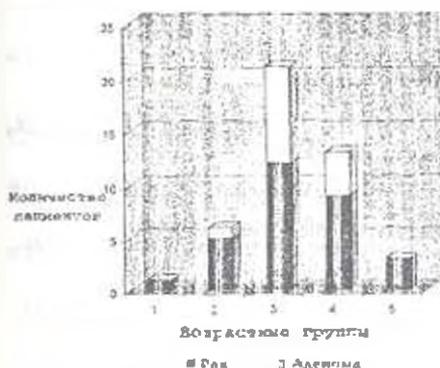


Рис. 1 Выявление рака при высоком уровне PSA (> 4 нг/мл).



Рис. 2 Выявление рака при допустимой норме PSA (< 4 нг/мл).

В результате у 44 больных (42,7%) из 103 стационарно обследованных и леченых (включая гистологические данные) установлен диагноз "рак простаты". Из 8 больных (18%) с установленным диагнозом "тяжелая дисплазия" не исключен рак "in situ", у шестерых (75%) наблюдался повышенный уровень PSA в сыворотке крови, что свидетельствует о ценности теста PSA в качестве стимулятора дальнейших шагов диагностического алгоритма в выявлении ранних стадий заболевания.

До сих пор вопрос о лечении больных раком простаты на этой стадии остается дискуссионным. Некоторые авторы придерживаются точки зрения так называемой отсроченной терапии [2]. Однако выявление этого контингента больных для дальнейшего мониторинга и лечения является несомненным достижением в диагностике и лечении РПЖ [10].

Необходимо отметить, что наши данные в отношении того, что тест PSA не может являться самостоятельным скрининг-тестом, коррелирует с данными Остерлинга и др. [7], он может применяться лишь в комплексе диагностических мероприятий. У 59 пациентов с допустимым уровнем PSA рак установлен в 13 случаях (22,03%), что подтверждает невозможность самостоятельного скринирования пациента посредством теста. Исследования, связанные с возрастом больных, лишней раз свидетельствуют о том, что рак простаты имеет возрастную зависимость. Мнение некоторых зарубежных авторов [4], согласно которому одним из факторов увеличения числа РПЖ является увеличение продолжительности жизни, не подтвердилось нашими исследованиями в условиях Армении. По данным РИАЦ МЗ РА, средняя продолжительность жизни мужчин в Армении - 71 год в 1986г. и 69 лет в 1996г. [3], существенно не изменилась, а заболеваемость возросла в 1,5-2 раза. Уменьшение количества больных РПЖ в старших возрастных группах (71-80 и 81 и выше) объясняется именно уменьшением средней продолжительности жизни мужчин в Армении.

Таким образом, можно утверждать, что прохождение теста PSA в качестве предварительного этапа диагностического поиска является необходимым для мужчин начиная с 45 лет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Матвеев Б.П., Соколов А.В., Бухаркин Б.В., Ледин К.М., Тилк А.Э., Макаров Г.В. Урология и нефрология, 4, 8-11, 1991.
2. Портной А.С. Хирургическое лечение аденомы и рака предстательной железы. 199, Медицина, М., 1989.
3. Статистический сборник. Информационно-аналитический центр здравоохранения. Республика Армения. Ереван, 1996.
4. Boring C., Squires T., Tong T. 1992 CA, Cancer J. Clin, 42, 19-38, 1991.
5. Cuinan P., Rubenstein M. Cancer (Philad), 60, 668-678, 1987.
6. Cutman E.B., Sproul E.E., Cutman A.B. Amer. J. Cancer, 28, 485, 1936.
7. Oesterling J.E. J. Urology, 145, 907, 1991.
8. Stamey A., Yang W., Hay A.R. New Engl. J. Med., 317, 909-916, 1987.
9. Tarle M. Anticancer Res., 8, 569-572, 1988.
10. Thompson J.M., Fair W.R. World J. Surg., 13, 65, 1989.

Поступила 5 IV 1997

ИЗМЕНЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТИ АТФ-азы В ОНТОГЕНЕЗЕ

Գ.Ա. БЕՂԱՐՅԱՆ, Զ.Ր. ՖՐԱՆՍՅԱՆ, Ջ.Տ. ԴԵՎՈՐԿՅԱՆ

*Институт биохимии НАН Армении. Университетский центр ИС и СЗ,
375044, Ереван*

Онтогенез - перекисное окисление липидов - АТФ-аза

Ранее нами было показано [2], что в слизистой оболочке желудка и тонкого кишечника белых крыс синтезируются и секретируются в кровь высокоактивные антиоксидантные соединения, которые резко подавляют процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мозговой, печеночной, почечной и сердечной тканях. Они термостабильны, водорастворимы, легко проходят через клеточную мембрану. С другой стороны, было установлено [3], что цитозольные фракции мозговой и печеночной тканей содержат вещество органической природы, которое обладает высокой прооксидантной активностью.

Учитывая вышесказанное и принимая во внимание важную роль мембраносвязанной АТФ-азы в функционировании клетки, мы предприняли исследования по изучению кинетики изменения активности выделенных нами антиоксидантных и прооксидантного факторов АТФ-азы в различных тканях в онтогенезе.

Материал и методика. Изменение активности антиоксидантных факторов желудка и тонкого кишечника изучали на срезах печеночной и мозговой тканей белых крыс. После декаптации животных извлекали мозг и печень и в холодных условиях готовили срезы (по 100 мг), которые инкубировали в трис-НСl буфере (2 мл, pH 7,4) в течение одного часа при 37° в атмосфере воздуха. Об интенсивности процессов ПОЛ судили по накоплению малонового диальдегида (МДА), количество которого определяли по Вальмирану и Арчакову [1]. Активность прооксидантного фактора мозговой ткани определяли по влиянию ее цитозольной фракции на интенсивность образования МДА в ядерной, митохондриальной и микросомальной фракциях этой же ткани.

С целью получения ядерной, митохондриальной, микросомальной и цитозольной фракций гомогенат слизистой оболочки желудка и тонкого кишечника подвергали дифференциальному центрифугированию при 800, 15000 и 105000 g. К инкубируемой пробе тканей добавляли фракции, соответствующие 100 мг сырой ткани. АТФ-азную активность определяли по Боптину и сопр. [4].

Результаты и обсуждение. Как видно из табл. 1, в ходе онтогенетического развития интенсивность ПОЛ в мозговой, печеночной, почечной и сердечной тканях зародышей крыс низкая. С возрастом эти процессы постепенно усиливаются и в возрасте 3 лет составляют величину, намного превышающую уровень ПОЛ, наблюдаемый у зародышей и новорожденных крыс. Следует отметить, что интенсивность этих процессов больше выражена в печеночной и особенно мозговой тканях, что, вероятно, связано с наличием в них высокоактивного прооксидантного фактора.

Таблица 1. Изменение интенсивности ПОЛ в онтогенезе (МДА, нмоль/0,1 г ткани/ч) $M \pm m$; $n=5$

Возраст животных	Ткани			
	мозговая	сердечная	печеночная	почечная
Зародыш до инкубации	3,5±0,5	2,8±0,3	2,8±0,2	2,8±0,1
после инкубации	6,8±0,7	4,6±0,5	8,0±0,6	4,8±0,5
Новорожденные (1-2 дн.)				
до инкубации	3,6±0,5	3,6±0,4	3,2±0,5	2,8±0,3
после инкубации	8,4±0,8	6,4±0,7	7,6±0,5	7,2±0,7
15-дневные до инкубации	3,0±0,3	3,2±0,4	3,5±0,4	3,2±0,2
после инкубации	26,4±2,5	14,8±1,0	18,4±2,5	11,2±1,1
3-месячные до инкубации	3,6±0,7	3,2±0,4	3,5±0,4	3,2±0,2
после инкубации	34,8±3,5	12,6±2,1	24,4±2,8	16,4±2,3
12-месячные до инкубации	4,4±0,4	3,4±0,1	3,6±0,2	3,6±0,1
после инкубации	34,0±3,5	14,9±1,1	24,3±1,8	16,0±1,2
24-месячные до инкубации	4,8±0,3	3,6±0,2	4,4±0,3	3,6±0,4
после инкубации	39,6±3,5	19,2±2,1	26,8±2,9	16,4±1,8
36-месячные до инкубации	5,4±0,4	3,8±0,3	4,8±0,4	3,8±0,3
после инкубации	40,0±4,1	25,5±2,1	29,2±2,5	19,4±2,3

Опыты, проведенные на срезах мозговой и печеночной тканей, показали (табл. 2), что у зародышей наблюдается подавление ПОЛ, что свидетельствует об антиоксидантной активности как желудочного, так и

Таблица 2. Изменение активности антиоксидантных факторов желудочно-кишечного тракта в онтогенезе (МДА, нмоль/0,1 г ткани/ч) $n=5$

Возраст животных	Мозговая ткань	% подавления	Печеночная ткань	% подавления
Ткань (контроль)	38,4±3,5		23,6±1,2	
+ гомогенат желуд. ткани зародыша	16,8±1,6	56,2	12,2±0,6	48,3
+ гомогенат кишеч. ткани зародыша	15,7±1,4	59,1	13,7±0,7	42,0
+ гомогенат желуд. ткани новорожд.	12,0±1,4	68,7	8,7±0,7	63,1
+ гомогенат кишеч. ткани новорожд.	10,5±0,9	72,7	8,9±0,7	62,3
+ гомогенат желуд. ткани 15-днев.	8,1±0,9	78,9	7,0±0,8	70,3
+ гомогенат кишеч. ткани 15-днев.	7,4±0,7	80,7	7,8±0,6	67,0
+ гомогенат желуд. ткани 3-месяч.	5,2±0,4	86,5	4,2±0,4	82,2
+ гомогенат кишеч. ткани 3-месяч.	4,5±0,5	88,3	4,4±0,3	81,4
+ гомогенат желуд. ткани 12-месяч.	6,2±0,4	83,9	4,8±0,3	79,7
+ гомогенат кишеч. ткани 12-месяч.	6,0±0,7	84,4	4,2±0,4	82,2
+ гомогенат желуд. ткани 18-месяч.	6,4±0,5	83,3	4,9±0,4	79,2
+ гомогенат кишеч. ткани 18-месяч.	6,0±0,8	84,4	4,1±0,6	82,6
+ гомогенат желуд. ткани 24-месяч.	10,4±0,7	72,9	5,1±0,5	78,4
+ гомогенат кишеч. ткани 24-месяч.	11,2±1,0	70,8	4,8±0,7	79,7
+ гомогенат желуд. ткани 36-месяч.	17,5±1,6	54,4	11,1±0,5	53,0
+ гомогенат кишеч. ткани 36-месяч.	16,0±2,1	58,3	10,5±1,0	55,5

кишечного факторов. Активность этих факторов достигает максимума в 3-месячном возрасте и сохраняется на этом уровне до 18-месячного возраста, затем постепенно снижается и к трем годам составляет примерно 65% от аналогичного показателя у 3-месячных крыс.

Активность прооксидантного фактора (табл. 3) в мозговой ткани претерпевает значительные изменения. У зародышей и новорожденных крыс она низкая. Начиная с 3-месячного возраста существенно возрастает и достигает максимума в возрасте 3 лет, что проявляется в усилении процессов ПОЛ. Установлено, что в ядерной, митохондриальной и микросомальной фракциях мозговой ткани процессы ПОЛ протекают с низкой интенсивностью. Между тем при добавлении к ним цитозольной фракции этой же ткани процессы ПОЛ усиливаются, что связано с наличием в этой фракции прооксидантного фактора.

Таблица 3. Изменение прооксидантного фактора мозговой ткани в онтогенезе (МДА, нмоль/0,1г ткани/ч) $M \pm m$; $n=5$

Клеточные фракции	Возраст животных						
	зародыш	новорожденные	15-дневные	3-месячные	12-месячные	24-месячные	36-месячные
Ткань (среды)							
до инкубации	4,2±0,4	4,4±0,5	3,8±0,3	4,4±0,3	4,1±0,2	4,0±0,3	4,8±0,2
после инкубации	8,4±0,8	9,0±0,8	12,2±1,0	35,2±3,2	38,2±3,7	41,4±3,9	41,2±1,5
Ткань + Цз фр	11,5±0,9	12,6±1,0	19,5±1,8	47,7±4,6	45,6±5,6	49,1±4,6	51,7±5,7
Я фр	7,5±0,8	6,2±0,9	8,0±1,0	19,0±1,2	8,0±0,9	19,4±1,2	17,4±1,5
Мх фр	6,0±0,9	7,2±0,8	7,2±0,7	6,0±0,5	5,6±0,4	8,4±0,8	10,4±1,0
Мкс фр	5,1±0,6	5,6±0,4	5,2±0,3	4,4±0,1	7,2±0,7	8,0±0,7	8,8±0,8
Цз фр	2,2±0,2	2,4±0,3	2,8±0,2	2,6±0,3	2,1±0,1	4,8±0,5	4,0±0,3
Я фр + Цз фр	16,0±1,7	16,2±1,5	11,5±1,7	36,6±3,7	42,5±4,8	45,4±3,9	49,5±5,1
Мх фр + Цз фр	18,8±2,1	18,5±2,4	15,6±1,6	32,5±3,7	35,7±3,5	41,9±4,7	39,0±3,7
Мкс фр + Цз фр	17,5±1,3	18,5±1,9	14,2±1,3	28,1±2,6	27,2±3,1	32,2±2,9	38,7±3,7
Я фр + Мх фр	8,6±0,7	8,1±0,9	8,8±1,6	11,6±1,4	12,0±1,6	12,0±1,5	14,0±1,2
Мх фр + Мкс фр	4,4±0,4	6,5±0,7	8,0±0,9	8,4±0,7	8,3±0,6	9,5±1,1	9,0±0,8
Я фр + Мкс фр	7,0±0,9	7,1±0,5	13,5±0,9	11,0±1,5	11,2±1,3	13,6±1,6	13,5±1,4
Я фр + Мх фр + Мкс фр	12,6±1,1	11,6±1,6	11,8±1,5	12,4±1,7	14,0±1,5	14,0±1,7	13,5±1,0
Я фр + Мх фр + Мкс фр + Цз фр	18,8±2,1	18,5±2,4	11,6±2,3	33,4±3,5	38,0±3,5	41,8±5,2	41,6±4,5

Примечание: фр - фракция, Я - ядерная, Мх - митохондриальная, Мкс - микросомальная, Цз -

Таблица 4. Изменение активности АТФ-азы в различных тканях в онтогенезе (P мг/г ткани/20 мин) $M \pm m$; $n=5$

Возраст животных	Ткань			
	мозговая	сердечная	печеночная	почечная
Зародыш	0,13±0,01	0,1±0,005	0,1±0,02	0,1±0,02
Новорожденные (1-2ли)	0,2±0,03	0,25±0,03	0,15±0,03	0,2±0,03
15-дневные	0,36±0,05	0,4±0,06	0,39±0,05	0,35±0,05
3-месячные	0,53±0,07	0,51±0,07	0,48±0,05	0,41±0,06
12-месячные	0,5±0,07	0,49±0,06	0,42±0,05	0,4±0,06
24-месячные	0,42±0,05	0,4±0,07	0,37±0,06	0,35±0,07
36-месячные	0,37±0,05	0,35±0,06	0,31±0,07	0,31±0,05

Из данных табл. 4 видно, что активность мембраносвязанной АТФ-азы с возрастом также претерпевает значительные изменения. У

зародышей она низкая, затем, повышаясь, достигает максимального уровня в 3-месячном возрасте, после чего постепенно снижается и в возрасте 3 лет составляет примерно 65-70% величины, отмечаемой у 3-месячных крыс.

Анализируя приведенные данные, можно прийти к заключению, что с возрастом усиливается интенсивность процессов ПОЛ, оказывающих подавляющее действие на активность АТФ-азы, которая играет важную роль в метаболизме клетки. Это связано со сниженной активностью антиоксидантной системы организма и интенсивной выработкой прооксидантного фактора мозговой и печеночной тканями. В результате имеет место деградация фосфолипидного состава клеточных мембран, фосфолипидного состава микроокружения АТФ-азы, что приводит к снижению ее активности. Очевидно, что в присутствии антиоксидантов сохраняется интеграция клеточных мембран, фосфолипиды не разрушаются, и активность фермента сохраняется на высоком уровне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972.
2. Оганесян А.С., Геворкян Ж.С., Минасян Г.М. Бюлл. эксп. биол. и мед., 109, 4, 348-349, 1990.
3. Оганесян А.С., Геворкян Ж.С., Оганесян Т.А., Минасян Г.М., Понесян Н.Г. Журн. эксп. и клин. мед., 31, 1, 96-97, 1991.
4. Bonting S.L., Simon K.A., Hawkins N.M., Arch. Biochem. Biophys., 95, 3, 416-423, 1961.

Поступила 5.07.1997

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА БИОСИНТЕЗ L-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Д.Г. АРУТЮНЯН, А.Е. АГАДЖАНИЯН, А.А. ВАРДАНИЯН

Научно-исследовательский институт "Биотехнологии", 375056, Ереван

Биосинтез глутаминовой кислоты - температура

Бактерии *Brevibacterium flavum* часто используют при микробиологическом синтезе различных аминокислот, в данном случае и синтезе L-глутаминовой кислоты. Одним из недостатков бактерий данного рода является низкая температура роста (30-32°). В процессе синтеза аминокислот в ферментерах повышается температура, в результате чего прекращаются рост бактериальных клеток и синтез соответствующей аминокислоты. Следовательно, необходимы дополнительные энергозатраты для снижения температуры процесса до 30-32° и поддержания ее в этих пределах.

В связи с этим очевидна практическая целесообразность изучения условий ферментационного процесса, при которых бактериальные клетки будут способны синтезировать L-глутаминовую кислоту при температуре 37°.

Цель настоящей работы заключалась в оптимизации условий ферментационного процесса и определении тех компонентов питательной среды, которые обеспечивают микробиологический синтез L-глутаминовой кислоты на высоком уровне при повышении температуры процесса до 37°.

Материал и методика. Использовали культуру *Brevibacterium flavum* НИТНА-39, выделенную в Армении [1], которая в условиях колбочной ферментации при 30° в течение 48ч синтезирует 49г/л глутаминовой кислоты, 1,2г/л аданина, 0,4г/л глицина. Культуру поддерживали на мясо-пептонном агаре (МПА).

Микробиологический синтез L-глутаминовой кислоты проводили в колбах Эрленмейера объемом 250мл с 10мл среды на качалке при 240-260 об/мин. Посевной материал выращивали в колбах Эрленмейера на среде следующего состава (%): сахара - 3,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 1,5; KH_2PO_4 - 0,1; MnSO_4 - 0,001; MgSO_4 - 0,1; FeSO_4 - 0,001; мел - 3,0

В процессе работы определяли глутаминовую кислоту методом бумажной хроматографии в фенольной системе [2].

Урожай бактерий определяли турбидиметрически на ФЭК М. Сухой вес биомассы устанавливали по стандартной кривой.

В предварительных опытах биосинтез глутаминовой кислоты проводили на ферментационной среде следующего состава (%): сахар - 10,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 5,0; KH_2PO_4 - 0,1; K_2HPO_4 - 0,1; MgSO_4 - 0,1; MnSO_4 - 0,001; FeSO_4 - 0,001; мел - 5,0; декстрина - 2мг/л; тиамин - 600мг/л; pH 8 [3].

Результаты и обсуждение. Для более эффективного ферментационного процесса важное значение имеет продолжительность культивирования посевного материала.

В табл.1 приведены результаты опытов, в которых исследовалось влияние возраста посевного материала на продолжительность ферментации и концентрацию глутаминовой кислоты в культуральной жидкости.

Таблица 1. Влияние возраста посевного материала на продолжительность ферментации и концентрацию глутаминовой кислоты

Возраст посевного материала, ч	Продолжительность ферментации, ч	Глутаминовая кислота, г/л
8	60	38-35
12	48	48-50
16	48	48-50
20	50	40-42
24	54	40-42

Как видно, при продолжительности культивирования посевного материала от 12 до 16ч время ферментации составляет 48ч с выходом глутаминовой кислоты 48-50г/л.

Температурный режим играет важную роль как в процессе роста бактериальных клеток, так и в процессе биосинтеза. В табл.2 приведены значения оптимальной температуры биосинтеза глутаминовой кислоты.

Из приведенных данных видно, что штамм НИТИА-39 при температуре 30-32° обладает наибольшей активностью и в наиболее короткий срок достигает стационарной фазы роста (16ч). При температуре 34-37° стационарная фаза роста достигается через 22-24ч. При 37° наблюдается снижение активности штамма, возможно, из-за увеличения продолжительности достижения стационарной фазы роста. Поэтому в дальнейшем ферментационные процессы проводили вначале при 30°, а через 16ч - при 37°.

Таблица 2. Физиологические показатели штамма-продуцента НИТИА-39 при различных температурных режимах

Температура, °С	Продолжительность ферментации, ч	Время достижения стационарной фазы роста, ч	Глутаминовая кислота, г/л
24	96	40	0
26	80	30	10
28	60	13	20
30	48	16	48
32	48	16	49
34	55	22	25
37	58	24	15

В ходе исследований было замечено, что в процессах, проходящих при 37°, при повышении концентрации сахара в ферментационной среде выход глутаминовой кислоты резко уменьшается. В табл.3 приведены данные о влиянии концентрации сахара на продолжительность ферментации и биосинтез глутаминовой кислоты.

Таблица 3. Влияние концентрации сахара на продолжительность ферментации и выход глутаминовой кислоты

Сахар, %	Продолжительность ферментации, ч	Глутаминовая кислота, г/л
6	40	30
8	44	44
10	47	35
12	50	33

Видно, что наиболее оптимальной концентрацией сахара является 8% как с точки зрения активности штамма, так и продолжительности ферментационного процесса.

Поскольку биотин играет важную роль как в процессах роста бактериальных клеток *B. flavus*, так и в синтезе глутаминовой кислоты, дальнейшую работу по оптимизации ферментационной среды для процессов, проходящих при 37°, проводили с использованием различных микродобавок дестиобиотина (табл.4).

Таблица 4. Влияние концентрации дестиобиотина на концентрацию глутаминовой кислоты в культуральной жидкости*

Дестиобiotин, мкг	Глутаминовая кислота, г/л
2	43
4	47
6	49
8	24
10	15

* Концентрация сахара в ферментационной среде 8%, продолжительность ферментации 40 ч.

Из табл.4, видно, что оптимальной концентрацией дестиобиотина является 6мкг/л.

Варьирование концентраций остальных компонентов ферментационной среды (азота, фосфора, магния, тиамин) не приводит к заметным изменениям параметров процессов, протекающих при 37°, по сравнению с таковыми при 30°.

На основании полученных результатов была составлена ферментационная среда биосинтеза глутаминовой кислоты при 37° (%): сахар - 8,0; $(NH_4)_2SO_4$ - 5,5; KH_2PO_4 - 0,1; K_2HPO_4 - 0,1; $MgSO_4$ - 0,1; $MnSO_4$ - 0,001; $FeSO_4$ - 0,001; мел - 5,0; дестиобiotин - 6мкг/л; тиамин - 6мкг/л.

Длительность процесса ферментации - 40ч при температуре 37°, выход глутаминовой кислоты - 49г/л, коэффициент конверсии по сахару - 61%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Д.Г., Кочарян Ш.М., Агаджанян А.Е., Вурданян А.А., Зурабян А.С. Авт. св. N 000587 26.01.96.

2. Успенская Ж., Кротович В. Методика комплексной бумажной хроматографии сахаров, органических кислот и аминокислот. 43, М.-Л., 1962.

Биолог. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 547.963.32:615.277

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ПЕЧЕНИ И ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ 5-ФТОРУРАЦИЛА, МЕТОТРЕКСАТА И ДЕКСАМЕТАЗОНА

Н.В. ХУДАВЕРДЯН

*Республиканский противоопухолевый диспансер МЗ Армении, 375001, Ереван
Ереванский государственный университет, 375049*

ДНК - РНК - противоопухолевые препараты

Терапевтический эффект большинства противоопухолевых препаратов связан с подавлением или различных этапов обмена нуклеиновых кислот (НК) и прежде всего в опухолевых клетках [1-3]. В отличие от алкилирующих препаратов, которые непосредственно взаимодействуют с НК [1,4], антиметаболиты (5-фторурацил, метотрексат) нарушают их функционирование, когда в результате воздействия препарата природный компонент цепи ДНК или РНК заменяется модифицированным [5,6].

Исходя из вышесказанного, в настоящей работе были изучены количественные сдвиги ДНК и РНК в печени здоровых и опухоленосящих животных и в самой опухоли саркомы 45 (С-45) до и после воздействия 5-фторурацила, метотрексата и гормона дексаметазона при отдельном и сочетанном применении.

Материал и методика. Опыты проведены на белых беспородных крысах - самках весом 100-120 г. Дексаметазон, 5-фторурацил и метотрексат как в отдельности, так и при сочетанном применении вводили внутривенно по методу, описанному в работах [2,3].

Результаты и обсуждение. Количественное содержание ДНК и РНК в опухолевой ткани, а также в печени здоровых крыс и крыс с С-45 до и после внутривенного применения исследуемых препаратов приведено в таблице.

Различия между образцами НК здоровых животных и с тринеоплазирующей С-45 обнаруживаются по их количественному содержанию в печени. У последних содержание НК несколько повышено. В самой же опухоли отмечено довольно высокое содержание как ДНК ($3,45 \pm 0,06$), так и РНК ($6,88 \pm 0,05$). Под влиянием изучаемых препаратов содержание НК в печени крыс с С-45 значительно уменьшается. Тот же эффект наблюдается и в опухолевой ткани, где под влиянием химиопрепаратов, особенно дексаметазона, значительно уменьшается содержание как ДНК, так и РНК.

При раздельном применении 5-фторурацила и метотрексата наблюдается даже некоторое увеличение содержания РНК, хотя при этом отношение РНК/ДНК выше, чем при сочетанном применении (табл.1). В опухоли С-45 под влиянием химиопрепаратов с дексаметазоном количественное содержание ДНК уменьшается на 72,4%, РНК - на 31%.

Таблица 1. Содержание нуклеиновых кислот в печени и опухолевой ткани при раздельном и сочетанном применении антимиетаболитов и гормона

Условия опыта	Источник НК	РНК	ДНК	РНК/ДНК
Норма	печень	3,78±0,02	7,39±0,01	0,51
Животные с С-45				
без препаратов	•	3,96±0,08	8,36±0,01	0,47
введена дексаметазон	•	3,74±0,08	5,40±0,04	0,69
5-фторурацил	•	1,95±0,07	3,10±0,05	0,63
метотрексат	•	1,98±0,09	3,21±0,02	0,62
5-фторурацил+дексамет.	•	2,21±0,01	1,71±0,05	1,29
метотрексат+дексамет.	•	1,97±0,07	1,47±0,01	1,34
Животные с С-45				
без препаратов	опухоль	3,32±0,05	6,90±0,06	0,48
введена дексаметазон	•	5,20±0,08	2,38±0,04	2,18
5-фторурацил	•	4,40±0,02	2,13±0,09	2,07
метотрексат	•	4,15±0,07	1,97±0,09	2,1
5-фторурацил+дексамет.	•	2,98±0,09	1,91±0,09	1,56
метотрексат+дексамет.	•	2,92±0,03	1,96±0,07	1,49

На основании полученных данных можно заключить, что 5-фторурацил, метотрексат и дексаметазон подавляют синтез нуклеиновых кислот как в печени, так и в опухолевой ткани; этот эффект выраженнее при сочетанном применении химиопрепаратов с дексаметазоном. Отношение РНК/ДНК, которое свидетельствует о терапевтической эффективности исследуемых препаратов и которое, по-видимому, связано с глубоким торможением синтеза ДНК и РНК, в случае с 5-фторурацилом увеличивается в 4,3 раза при раздельном применении и 3,2 раза при сочетанном применении. Поскольку известно, что между отношением РНК/ДНК и максимальной скоростью роста перевиваемых опухолей существует обратная линейная зависимость, данные, полученные нами в химиотерапевтических экспериментах, подтверждают это представление (43 и 85% торможения роста опухоли при применении 5-фторурацила и метотрексата соответственно).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаян Ю.С., Худавердян Н.В., Карапетян Л.Г., Гарибян Д.В., Даниелян И.С. Мед.наука Армении, 36, 3/4, 46, 1996.
2. Бабаян Ю.С., Худавердян Н.В., Сягрян А.Е., Гарибян Д.В., Даниелян И.С. Биофизика, 42, 1, 125, 1997
3. Гарибян Д.В., Даниелян И.С., Степнян Г.М., Гарибджяни Б.Т., Худавердян Н.В. Мед.наука Армении, 36, 1/2, 58, 1996.
4. Эмануэль П.М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. М., 1977.
5. Bertino J.L. Cancer Res., 25, 1614, 1965.
6. Jackson R.C., Harrap K.K. Arch. Biochem. Biophys., 155, 827, 1977.

Поступила 12.V.89

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НОВЫХ ШТАММОВ ОСМОФИЛЬНЫХ ДРОЖЖЕЙ В ДРОЖЖЕВОМ ПРОИЗВОДСТВЕ

В.А. БАГИЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, Абовян

Дрожжи хлебопекарные - осмочувствительность - ферментативная активность - дрожжевое производство

Культуральная среда, в которой выращиваются дрожжи, содержит ряд веществ, обуславливающих ее осмотическое давление. Следует учитывать свойство дрожжей снижать свою ферментативную активность в присутствии веществ, повышающих осмотическое давление, что отражается в показателе их осмочувствительности [3]. Значение этого показателя в характеристике производственных рас хлебопекарных дрожжей особенно важно в связи с тем, что основным направлением технического прогресса в дрожжевом производстве является использование ускоренных методов выращивания дрожжей в высококонцентрированной меласе (при КР=6+8). При этом скорость роста сахаромидетов повышается, в связи с чем увеличивается выход дрожжей [4,6]. Однако в высококонцентрированном меласе резко выявляется влияние вредных веществ сырья на дрожжевые клетки, а именно быстрее падает способность сахаромидетов к размножению в процессе пресевов [5].

В связи с этим целью работы являлось изыскание новых осмофильных культур дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и исследование их влияния на технологический процесс выращивания и качество пресеванных пекарских дрожжей.

Материал и методика. Объектами исследований служили 47 культур дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, музейных и выделенных из заквасок, хлебного теста и муки.

Устойчивость дрожжей к высоким осмотическим давлениям изучали на средах с 50 и 60% (по массе) глицерола. Инкубации 4 недели [1].

Подъемную силу дрожжей выявляли методом всплывающего шарика [5].

Мальтазную и зимазную активности определяли по времени выделения 10 мл CO₂ при сбраживании 20 мл 5% -ного раствора мальтозы или сахарозы дрожжами, взятыми в количестве 2,5% к объему среды, в микрогазомере системы Еленского [2]. Осмочувствительность изучали по модифицированной нами методике Уайта, по разнице во времени между подъемной силой дрожжей в тесте без соли и в тесте с повышенной концентрацией соли (до 4%, вместо 3,35% по Уайту) [5]. Устойчивость дрожжей к меласе определяли по методике, приведенной в рукописи [2]. Удельную скорость роста дрожжей вычисляли по методике, описанной в руководстве [5]. Влажность дрожжей определяли ускоренным методом, разработанным во ВНИИХП [2]. Наличие посторонней дрожжевой микрофлоры выявляли просеиванием исследуемой пробы под микроскопом и высевом в чашки Петри [2].

Результаты и обсуждение. Для определения степени осмотолерантности исследуемых дрожжей изучалась способность их к росту на средах с повышенным осмотическим давлением. Установлена однородность

исследуемых культур дрожжей по способности к росту на среде с 50% глюкозы. В то время как способностью развиваться на среде с 60% глюкозы обладали только 25 штаммов из 47 культур сахаромикетов.

Для характеристики штаммов хлебопекарных дрожжей как производственной расы немаловажное значение имеют показатели устойчивости их к мелассе.

Определение стойкости дрожжей к мелассе проводили в мелассовом растворе с содержанием 10% СВ вместо 5%, принятых по методике, так как современная технология получения биомассы хлебопекарных дрожжей ориентирована на использование ускоренных методов выращивания дрожжей в высококонцентрированной мелассовой среде.

В результате проведенного исследования было отобрано 18 культур, выдержавших по 12 пересевов. Дальнейшие пересевы не проводили, поскольку 6 пересевов достаточно, чтобы считать штамм на 100% устойчивым к мелассе. Неиспользуемая в эксперименте в качестве контроля производственная раса Одесская-14 выдержала только 8 пересевов.

Однако дрожжи, устойчивые к высоким осмотическим давлениям, создаваемым в среде сахарами, не всегда так же устойчивы к давлениям, создаваемым солями. В связи с этим изучено влияние повышенного содержания поваренной соли (до 4%) на подъемную силу дрожжей. Подтвердилась зависимость бродильной активности дрожжей от концентрации поваренной соли в среде. Тем не менее все испытанные 18 культур по показателю осмочувствительности от 0 до 10 мин отвечают требованиям, предъявляемым активным расам хлебопекарных дрожжей [1].

Исследование чувствительности дрожжей к соли показало, что в значительной мере степень чувствительности зависит как от самого штамма, так и от вида сбраживаемого сахара. Выявлено, что в наибольшей степени соль подавляет сбраживание мальтозы и в меньшей степени - глюкозы и сахарозы. Изучение влияния хлористого натрия на мальтазную активность 18 культур дрожжей показало, что менее чувствительными к соли являются 7 штаммов. Из таблицы 1 видно, что скорость сбраживания мальтозы этими штаммами хлористый натрий в концентрации 1,5% вообще не снижает.

Таблица 1. Влияние хлористого натрия на подъемную силу и мальтазную активность наиболее осмотостойких культур дрожжей

Штаммы	Мальтазная активность, мин		Подъемная сила, мин		Осмочувствительность, мин
	без NaCl	NaCl 1,5%	без NaCl	NaCl 4%	
623	25	25	8	8	0
628	30	30	6	10	4
625	30	30	8	11	3
629	24	24	9	13,5	4,5
633	26	26	9	10	1
604	25	25	9	12	3
605	30	30	12	13	1
раса 0-14 (контроль)	60	75	16	28	12

В процессе производственных испытаний отобранных штаммов в условиях Абхвианского завода пекарских дрожжей выявлен ряд преимуществ штамма *S.cerevisiae* 623 по сравнению с остальными, а также контрольным штаммом. Штамм 623 благодаря высокой осмотической устойчивости показал в процессе выращивания дрожжей в мелассовом растворе концентрацией 16% СВ повышенную удельную скорость роста ($0,354 \text{ ч}^{-1}$ вместо $0,249 \text{ ч}^{-1}$ у контрольного штамма), а также высокую урожайность (выход дрожжей на 7% больше, чем на расе 0-14). Прессованные дрожжи, полученные с использованием штамма 623, отличаются повышенным содержанием сухих веществ - 30,2%.

Кроме того, штамм 623, за счет способности развиваться в среде с повышенным осмотическим давлением, позволяет при культивировании в нестерильных условиях получать засевные дрожжи для товарной стадии с содержанием диких дрожжей в культуральной жидкости не более 0,5%, что в 2 раза ниже норм, установленных в дрожжевом производстве, в результате чего подъемная сила готовой продукции улучшается до 17,5-21 мин. Это полностью согласуется с литературными данными о том, что повышенное осмотическое давление среды является фактором, обуславливающим ее защитные свойства: посторонние дрожжевые грибы в высококонцентрированной мелассовой среде размножаются значительно медленнее, чем сахаромицеты ввиду того, что внутриклеточное осмотическое давление последних в 2 раза выше.

Таким образом, получен штамм *S.cerevisiae* 623, устойчивый к повышенному осмотическому давлению среды и вредным примесям мелассы, применение которого в дрожжевом производстве позволяет:

- культивировать дрожжи 12 и более производственных стадий в высококонцентрированной мелассовой среде (при критичности разбавления мелассы КР=6+8);

- вести процесс выращивания дрожжей в нестерильных условиях, тем самым значительно сокращать энергозатраты на производство пара;

- получать товарные дрожжи высокого качества с большим выходом.

При использовании прессованных дрожжей штамма 623 в хлебопечении установлена возможность снижения их расхода от нормативной дозировки в 2,0-2,5 раз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабьева И.П., Голубев В.И. Методы выделения и идентификации дрожжей. 120, М., 1979.
2. Бакушинская О.А. и др. Контроль производства хлебопекарных дрожжей. 168, М., 1978.
3. Коновалов С.А. Биохимия дрожжей. 271, М., 1980.
4. Плевако Е.А. Технология дрожжей. 298, М., 1970.
5. Семихатова Н.М. Хлебопекарные дрожжи. 199, М., 1980.
6. Ruzicke V. Zito-hleb, 15, 1, 19-25, 1988.

Поступила 20.VI.1997

ПОЛУЧЕНИЕ ЧЕРЕНКОВ РЕМОНТАНТНОЙ ГВОЗДИКИ, СВОБОДНЫХ ОТ ВИРУСА КРАПЧАТОСТИ ГВОЗДИКИ

Р.Г. ОГАНЕСЯН, М.Г. ОГАНЕСЯН, А.Г. АРУТЮНЯН

Биотехнологический центр НАН Армении, 375056, Ереван

Растение гвоздики - вирус крапчатости гвоздики - безвирусные черенки.

На гвоздике идентифицировано 13 различных вирусов, из которых в практическом цветоводстве наибольшее значение имеет вирус крапчатости гвоздики (ВКГ). Его присутствие на 20-50% снижает продуктивность насаждений, ухудшает качество цветов, существенно снижает укореняемость черенков, ослабляет рост маточных растений [1].

Высокоэффективным способом освобождения гвоздики от ВКГ является применение метода культивирования меристем *in vitro*. Поскольку концентрация вируса снижается по направлению к точке роста [5], растения-регенеранты, получаемые из меристематических верхушек, оказываются практически свободными от ВКГ [2,3]. В свою очередь, маточные растения, получаемые из таких растений-регенерантов, дают безвирусный посадочный материал [4].

В настоящей работе описывается метод размножения и укоренения безвирусных черенков гвоздики меристемного происхождения.

Материал и методика. Материалом для исследований служила гвоздика семи сортов - Вильям Сим, Лели Кримсен, Уайт Сим, Лейл, Ред Лейл, Саломе и Парел.

Микрочеренки-регенеранты пересаживали в субстрат, в качестве которого использовали верховой торф, перловку, землю и перлит (1:1:1). Растения высаживали по 20 штук на 1 м². По мере роста проводили прищипку над четвертым или пятым узлом. После формирования черенков первого порядка их выламывали и после укоренения использовали в качестве маточников.

С целью формирования маточного куска через 2-4 недели после прищипки над пятой парой листьев прищипывали верхушку. Когда на новообразованных побегах формировалось по 5-6 узлов, черенки второго порядка выламывали из узлов с почкой, оставляя по два узла на каждом стебле маточника. Таким же способом собирали черенки третьего и четвертого порядков.

Тестирование растений на наличие ВКГ проводили методом двойной радиальной диффузии в геле [6]. Антисыворотка к ВКГ была любезно предоставлена доктором А. Драмлянном.

Результаты и обсуждение. Для получения маточников на производственном участке Ереванского цветочного хозяйства "Флора" было высажено на стеллажи разводочной теплицы по 50 микрочеренков меристемных регенерантов семи сортов гвоздики. Микрочеренки отбирали здоровые, 4-5 см и с 3-4 парами листьев. Через месяц после посадки над шестой парой листьев делали прищипку и еще примерно через три месяца получали по 3-6 стандартных черенков первого порядка, которые после укоренения использовали в качестве маточников. Снятие черенков второго-четвертого порядков шло параллельно с формированием маточного листа.

Данные о черенковании гвоздики приведены в табл. 1.

Таблица 1. Влияние сортовых различий на получение черенков гвоздики 1-4 порядков

Сорт	Черенки 1-го порядка		Черенки 2-го порядка		Черенки 3-го порядка		Черенки 4-го порядка	
	коли- чес- тво	коэф- фици- ента	коли- чес- тво	коэф- фици- ента	коли- чес- тво	коэф- фици- ента	коли- чес- тво	коэф- фици- ента
Вильям Сим	191	3,8	686	3,6	1370	7,2	2640	13,8
Уайт Сим	188	3,8	600	3,2	1130	7,1	2170	12,6
Леди Кримсен	216	4,1	782	3,8	1590	7,7	2960	14,4
Лена	195	3,9	704	3,6	1490	7,6	2750	14,1
Ред Лена	182	3,6	620	3,4	1270	7,0	2370	13,0
Саломе	160	3,2	516	3,2	1090	6,8	1940	12,1
Парад	155	3,1	505	3,3	993	6,4	1950	11,9

За шесть месяцев, начиная с закладки маточников, было получено 30416 черенков. Среднее количество черенков, полученных с одного маточника - 23,7, из одного микрочеренка - 86,9. Лучше всего черенкованием размножалась гвоздика сорта Леди Кримсен, хуже всего - Парад (табл. 2).

Таблица 2. Сравнительные данные по черенкованию гвоздики

Сорт	Количество черенков, полученных с одного маточника	Количество черенков, полученных с одного микрочеренка	Общее количество полученных черенков
Вильям Сим	24,6	93,9	4690
Уайт Сим	22,9	86,0	4300
Леди Кримсен	25,9	106,1	5332
Лена	23,3	98,7	4934
Ред Лена	23,4	85,2	4260
Саломе	22,2	70,9	3546
Парад	21,6	67,0	3348

Полученные черенки подвергали выборочному тестированию на содержание в них ВКГ. Результаты проверки показали, что около 10% из них оказались заражены ВКГ. Можно предположить, что это является следствием вторичного заражения растений из почвы, поскольку тестирование маточников показало отсутствие в них ВКГ. В случае обнаружения зараженных растений выбраковке подлежал весь клон.

Черенки с одним-двумя междоузлиями образуют слабую корневую систему. Это происходит из-за недостатка веществ, необходимых для нормального роста корней, запасы которых сосредоточены в стебле. Только строгое соблюдение оптимальных условий во время укоренения таких черенков обеспечивает высокий процент укоренения.

У черенков, в вершучечной меристеме которых прекратилась

образование листьев и намстился переход в генеративную стадию, корнеобразование также выражено слабо. Более того, у части таких черенков корни вообще не появлялись. Это является следствием того, что физиологические процессы в растении направлены на развитие генеративного органа - верхушечного цветка, и перестройки на процесс корнеобразования не происходит.

Таким образом, получение безвирусного посадочного материала ремонтантной гвоздики возможно лишь при соблюдении ряда условий, из которых основополагающими являются: а) использование маточников меристемного происхождения, б) использование только стандартных черенков с тремя междоузлиями, находящихся в вегетативной стадии развития, в) проведение профилактических мероприятий.

На основании изложенного можно заключить, что сортовые различия оказывают влияние на размножение черенков ремонтантной гвоздики, полученных при помощи метода культивирования меристем *in vitro*.

ЛИТЕРАТУРА

1. И.А. Атабековой (ред.), Борьба с вирусными болезнями растений, 124-138, М., 1986.
2. Петерсон Л., Жола И., Доне Д. Тр. ЛСХА, 82, 53-57, 1974.
3. Рыбалко А.Е., Харута Л.Г. Физиол. и биохим. культ. раст., 10, 535-540, 1978.
4. Тибилев А.А., Гутиев О.Г., Дружинин В.И. Научн. тр. ВНИИЦиГС, 34, 58-66, 1987.
5. Kassenis B. Ann. Appl. Biol., 45, 422-427, 1957.
6. Duchterlony O. Ark. kemi., 1, 43-50, 1950.

Поступило 3.III.1994

РОЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ SH-ГРУПП В ПРОЯВЛЕНИИ АКТИВНОСТИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ ГОЛОВАСТИКОВ *RANA RIDIBUNDA*

Ц.А. АРЦРУНИ, Э.Х. БАРСЕГЯН, М.А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии и проблемная лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии, 375049

Аргиназа-функциональные SH-группы

В последние годы в лаборатории сравнительной и эволюционной биохимии ЕГУ получены прямые данные, подтверждающие индукцию урсотелической аргиназы печени лягушек при метаморфозе, в результате чего организм переходит от аммонотелизма к урсотелизму. Детально изучен ряд физико-химических свойств аргиназы до и после метаморфоза. При метаморфозе индуцировались два (особенно один) из трех выявленных ионообменной хроматографией высокомолекулярных изоферментов, которые по своим основным физико-химическим и кинетическим свойствам соответствовали урсотелическим аргиназам различного происхождения, тогда как другие изоферменты, выявленные на различных стадиях развития головастика и не индуцируемые при метаморфозе, по изучаемым показателям (высокие значения K_m , низкий молекулярный вес, нечувствительность в отношении ионов двухвалентных металлов и ингибиторов) близки к известным неурсотелическим аргиназам.

Показано, что в аргиназе печени лягушек отсутствуют SH-группы, ответственные за проявление активности фермента, что свидетельствует о его нетиполовой природе [1].

Предлагаемая серия экспериментов посвящена изучению роли функциональных SH-групп аргиназы печени лягушек *Rana ridibunda* до метаморфоза.

Материал и методика. Объектом исследований служили лягушки *Rana ridibunda* (пупушка озерная) массой 100-120 г. Активность аргиназы определяли по методу [2] и выражали в мкмоль образованной мочевины на 1 мг свежей ткани.

ПХМБ был использован в концентрациях 1, 3, 5 мкмоль на пробу. Указанный реагент добавляли как в буфер для гомогенизации печени, так и в инкубационные пробы.

Классификацию этапов развития головастика проводили по Герентьеву [3]. Классификация основана на внешних морфологических характеристиках головастика. Первую 19 стадий развития — эмбриональные. Номер стадии 30 соответствует началу истинного метаморфоза.

Результаты и обсуждение. Изучали влияние различных концентраций ПХМБ на активность аргиназы печени головастика *Rana ridibunda*. Результаты исследований представлены в таблице.

Как видно из таблицы, ПХМБ при всех испытанных концентрациях действовал на активность аргиназы печени головастика *Rana ridibunda*.

как и на фермент из бактерий *Rhodobacter capsulatus E1F1* [8], печени цыплят [7], чайки [4], речного рака [6], почек лягушки [5], грибов [7]. Более выраженное действие ПХМБ нами обнаружено в вариантах с использованием его концентрации 5 мкмоль. На начальных стадиях развития эта концентрация резко подавляет активность фермента, снижая ее с 3026,6 до 403,4 мкмоль/г. Это свидетельствует о наличии свободных SH - групп в аргиназе печени головастика на указанной стадии.

Таблица 1. Действие разных концентраций ПХМБ на активность аргиназы печени головастика *Rana ridibunda*, мкмоль/г

Проба	Стадия 21-24	Стадия 25-27	Стадия 28	Стадия 29	Стадия 30
Исходная активность в гомогенатах	2300	4050	5123	8800	7205
	2448	4060	5170	8965	9525
	3227	4593	5812	9200	10750
	3258	6000	7450	9850	11200
	3900	6520	7650	9900	11467
		8050			
		8500			
M ⁺ /-m	3026 ± 293	5044 ± 512	6822 ± 535	9343 ± 226	10529 ± 786
1 мкмоль ПХМБ	911	4039	3229	8592	5562
	1042	1360	1129	7991	8417
	1425	2171	2235	4460	9990
	1414	1348	4681	8776	9715
	1774	2594	5299	5056	10500
		4217		11977	
		5051			
M ⁺ /-m	1313 ± 153	2302 ± 496	3691 ± 346	6975 ± 919	9360 ± 694
3 мкмоль ПХМБ	244	2655	2707	3493	3362
	738	627	988	1690	6565
	336	1003	1425	2960	5892
	659	735	3279	7784	6720
	1132	1227	4953	4262	6355
		2795			
		4032			
M ⁺ /-m	621.8 ± 158	1249.4 ± 366	2883.1 ± 523	4037.8 ± 1026	6086 ± 592
5 мкмоль ПХМБ	120	1440	810	1854	1861
	470	588	950	1637	3165
	220	660	1050	1896	3620
	343	624	2880	4680	6600
	864	1770	2760	2990	5205
		1914		5430	
		2700			
M ⁺ /-m	403.4 ± 129	1016 ± 246	1866.3 ± 350	2611.4 ± 568	4313.5 ± 709

По мере приближения к стадии петлиного метаморфоза ингибирующее действие ПХМБ уменьшалось. Так, если на стадии 25-27 активность фермента снижалась в 5 раз, то на стадии 30 - уже в 2,4 раза. На ферменте взрослых лягушек *Rana ridibunda* ингибирующего действия ПХМБ не обнаружено [1].

Таким образом, в процессе развития лягушек *Rana ridibunda* изоферментный состав аргиназы печени подвергается существенным изменениям. По мере приближения к стадии истинного метаморфоза происходит постепенная репрессия изоферментов, чувствительных к ПХМБ, и индукция уреотелической изоформы аргиназы нетиоловой природы.

Результаты этой серии являются еще одним доказательством того, что после метаморфоза аргиназа печени лягушек *Rana ridibunda* существенно отличается от таковой пре-метаморфотического периода развития.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барсегян Э.Х., Арируни Н.А., Давтян М.А. Уч. зап. ЕГУ, 2, 75-78, 1995.
2. Барсегян Э.Х., Никогосян Ф.Ц., Давтян М.А. Биолог. журн. Армении, 30, 6, 1977.
3. Терентьева П.В. Лягушка, М., 1950.
4. Brown G.W. Arch Biochem. Biophys., 114, 1, 1966.
5. Carliski N.Y., Sadnik I.L. Comp. Biochem. Physiol., B 41, 4, 1972.
6. Hartenstein R. Comp. Biochem. physiol., 40 B, 3, 1971.
7. Moru Y., Tarrab R., Bojalil L.F. Biochim. Biophys. Acta, 118, 1, 1966.
8. Moreno Vivian C., Soler G., Castillo F. Eur. J. Biochem., 204, 2, 1992.

Поступила 24.1.1996

Биолог. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 616.128

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МИКРОГЕМОЦИРКУЛЯЦИИ СЕРДЦА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ МИОКАРДА

М.Г. СУСАПЯН

Ереванский государственный медицинский университет им. М.Герши,
кафедра мед биологии и генетики, 375025

Катехоламины - микроциркуляция - кардиомиопатия - капилляры

При стрессовых ситуациях, вследствие активации симпатoadрено-
вой системы, происходит выброс катехоламинов в нетоксических
концентрациях. Эти процессы часто наблюдаются в повседневной жизни,
поэтому крайне актуально изучение действия катехоламинов в дозах, не
оказывающих кардиотоксический эффект [2,5]. Между тем прямое некоро-
нарное действие малых доз катехоламинов, не вызывающих острые
микрокардиальные изменения, может привести в некоторых случаях при
адаптационной несостоятельности миокарда к развитию синдрома,
подобного кардиомиопатии.

Целью настоящей работы являлось изучение характера морфоциркуляторных перестроек капиллярного русла при кардиомиопатии, индуцированной длительным введением сублетальных доз катехоламинов.

Материал и методика. Опыты ставились на 59 белых крысах-самцах массой 160-180г, разделенных на 4 группы. Крысы I контрольной группы получали физиологический раствор. Крысам второй, третьей и четвертой групп в течение 3, 5 и 6 недель через день внутривенно вводили адреналин гидрохлорид в дозе 0,1 мг на кг веса (II, III и IV группы составили 12 крыс).

Крыс декапитировали на следующий день после последней инъекции. Для изучения морфофункционального состояния капиллярной системы миокарда применяли модифицированный метод Гомори по определению кислой фосфатазы [4].

Свидетельством наличия кардиомиопатии являлись морфологические изменения, характерные для этой патологии: диффузные регенеративно-некротические изменения кардиомиоцитов, участки гипертрофированных кардиомиоцитов, интерстициальный фиброз [3,4].

Количественные параметры, характеризующие функциональное состояние капиллярной системы, определяли на микроскопических препаратах животных контрольной и трех опытных групп, обработанных безысклещионным методом выявления капилляров [4].

Диаметры капилляров, а также расстояния между соседними капиллярами измеряли окулярным микрометром в среднем слое миокарда желудочков на уровне их средней трети. Определяли также количество капилляров, идущих параллельно друг другу в пределах 1 мм² мышечной ткани. Учитывая, что капилляры имеют форму цилиндра и зная их количество, равное их общей длине (L), и 1 мм² мышечной ткани и средний диаметр (D), по формуле πD^2 и πL определяли соответственно обменную поверхность и емкость капиллярного русла. Статистическая обработка полученных данных производилась по методу Стьюдента.

Результаты и обсуждение. На микроскопических препаратах миокарда левого желудочка, обработанных по модифицированному методу Гомори, через 3 недели после инъекции адреналина наблюдается увеличение диаметра капилляров, расширение просвета межкапиллярных анастомозов, местами ампуловидные расширения просвета капилляров, что, по-видимому, является приспособительным устройством для регуляции тока крови (рис.2).

При осмотре микроскопических препаратов (обработанных по вышеуказанному методу) интактных крыс выявляется непрерывная

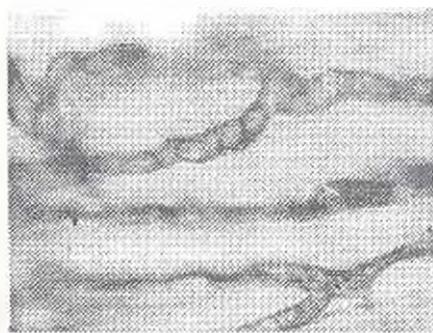


Рис. 1. Миокард крысы. Видны параллельно идущие капилляры. На стенках капилляров очертаются эндотелиальные клетки (Ох. 15, об. 20).



Рис. 2. Миокард крысы. Видны неравномерно наполненные капилляры, местами ампуловидные расширения (Ох. 10, об. 40).

капиллярная сеть, равномерные расположение и окраска капилляров

(рис.1).

Изменения, которым подвергалось капиллярное звено микроциркулярной системы сердца под влиянием хронического поражения миокарда низкими дозами катехоламинов в различные сроки развития экспериментальной кардиомиопатии, наглядно видны из количественных показателей, представленных в таблице.

Как видно из таблицы, у животных при 3-недельном введении низких концентраций адреналина происходит увеличение диаметра капилляров по сравнению с таковым у интактных крыс на 8,6%, обменной поверхности - на 14,8%.

У крыс IV группы (при 6-недельном введении адреналина) число капилляров уменьшалось.

При сравнении обменной поверхности и емкости капиллярного русла у крыс интактной группы и подвергнутых 5- и 6- недельному введению адреналина выявилась закономерность в сторону уменьшения обменной поверхности и емкости (табл.1). Эти изменения, по-видимому, обусловлены главным образом уменьшением количества функционирующих капилляров, поскольку диаметр капилляров у крыс IV группы был, напротив, достоверно увеличен по сравнению с таковым интактной группы.

Таблица 1. Морфометрические показатели капиллярной системы миокарда крыс в динамике развития экспериментальной кардиомиопатии.

Количественные показатели	Интактный миокард	Интекция адреналина через недели		
		3	5	6
Общая длина капилляров, мкм	2268±30,1	2409±26,11	1704±20,19*	1481±11,76*
Диаметр капилляров, мкм	6,12±0,07	6,61±0,06*	5,2±1,3	6,7±0,06*
Обменная поверхность, мм ² /г	43,41±2,38	49,62±2,34*	36,41±1,52	25,37±0,84*
Емкость капиллярного русла, мл/г	0,05±0,007	0,064±0,006*	0,058±0,005*	0,031±0,001*

Примечание: * - разница с контролем статистически достоверна (p<0,001).

Таким образом, количественные показатели изменений капиллярной системы показывают, что на ранних стадиях развития экспериментальной кардиомиопатии (3 нед.) капиллярное русло претерпевает изменения адаптивного характера, направленные на увеличение емкости и объема капиллярной системы в условиях развития патологического процесса.

Адаптивные реакции в последующие сроки развития патоморфологических изменений приобретают в конечном счете патологический характер, приводя к уменьшению числа капилляров миокарда и их кровополнения при кардиомиопатии. Следует отметить феномен расширения капилляров в поздние сроки развития кардиомиопатии. Подобные изменения были описаны и другими авторами [5,6]. Расширение капилляров, посткапиллярных венул объяснялось как приспособительные механизмы гемомикроциркуляторного русла. Глубокие изменения сосудов гемомикроциркуляции с превалированием дилатационных изменений, по мнению ряда исследователей [5,7], способствуют повышению сосудистой проницаемости, уменьшению диффузии кислорода через гемогематический барьер и могут рассматриваться как важное этиологическое звено в развитии дилатационной кардиомиопатии.

Отмеченные выше изменения сосудов капиллярного звена миокарда, по-видимому, являются одной из причин прогрессирования дистрофических и склеротических явлений миокарда при дилатационной кардиомиопатии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мухарлямов Н.М. Кардиомиопатия. М., 264., 1990.
2. Оганов Р.Г. Кардиология, 3, 10-16, 1979.
3. Сисакян С.А. Кровообращение, 6, 4, 1973.
4. Сисакян С.А., Матевосян Р.П. Мат-лы I Закавказ. конф. морфологов, Тбилиси, 1975.
5. Bernauer Walter. Eur. Pharmacol. 88, 9, 3, 161-168, 1983.
6. Jasmin G., Proschek I. Muscle Nerve, 5, 20-25, 1982.
7. Roberts W. S., Ferrans V.J, Human Pathol. 6, 282-322, 1975.
8. Schwarz F, Mall Get et al. Amer. J. cardiology, 51, 2, 501-506, 1983.

Поступила 10.III.1997

Биолог. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 618.14

АНОМАЛИИ РОДОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ У ЖЕНЩИН С РУБЦОМ НА МАТКЕ ПОСЛЕ КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ

С.И. АЗИЗЯН

АрмНИИ по охране здоровья матери и ребенка, 375002, Ереван

Родовая деятельность - кесарево сечение - послеоперационный рубец

Возросший интерес к ведению родов через естественные родовые пути у женщин, перенесших кесарево сечение, ставит перед акушерами-гинекологами ряд новых проблем.

По наблюдениям [4], у 11,7-30% женщин с рубцом на матке отмечается слабость родовой деятельности. Ряд авторов [2,5] придерживаются мнения, что слабость родовой деятельности является проявлением несостоятельности рубца на матке и требует завершения родов кесаревым сечением, другие считают нецелесообразным применение тономоторных препаратов при слабости родовой деятельности [1,3,7].

Нами были запланированы роды через естественные родовые пути у 110 женщин, перенесших операцию кесарева сечения. При антенатальной диагностике состояние послеоперационного рубца оценивалось с помощью пальпаторного исследования: определения ширины, длины, болезненности, спаянности с соседними тканями, наличия впадин. С целью выяснения состояния рубца использовалась эхокопия: оно опасений не вызывало.

Родоразрешение 23 женщин (20,9%) исследуемой группы осложнилось аномалией родовой деятельности: в 21 (91,3%) случае имела место слабость родовой деятельности, в 2 (8,7%) случаях - дискоординация родовой деятельности. Слабость родовой деятельности в 10 случаях

сочеталась с преждевременным излитием околоплодных вод, в 3 случаях — с внутриутробной гипоксией плода.

В исследуемой группе женщины слабость родовой деятельности имели место при первых родах у 17 женщин (15,4%) и повторилась при настоящих родах у 6 женщин (38,3%), что дает основание думать, что повторившаяся слабость родовой деятельности связана с морфофункциональными особенностями сократительной деятельности матки.

У 15 женщин (13,6%) исследуемой группы при повторных родах имели место слабость родовой деятельности, но связать это с морфофункциональными особенностями матки не представляется возможным в связи с тем, что первое кесарево сечение женщин у этой группы произведено по показаниям, требующим экстренного родоразрешения до наступления родовой деятельности.

У 87 женщин (79,1%) исследуемой группы родоразрешение через естественные родовые пути не осложнилось слабостью родовой деятельности, что подтверждает отсутствие связи слабости родовой деятельности с наличием рубца на матке.

Из 23 женщин, у которых развились аномалии родовой деятельности, в 17 случаях роды завершились кесаревым сечением, и во всех случаях послеоперационный рубец на матке был полноценным. Таким образом, слабость родовой деятельности является самостоятельной патологией и не всегда связана с рубцом на матке, тем более не говорит о его несостоятельности и может осложнить течение любых родов.

У 6 женщин с рубцом на матке, у которых имела место слабость родовой деятельности, произведена стимуляция и/в введенном окситоцине и проведено успешное родоразрешение. При после родовом осмотре области рубца он был полноценным.

Таким образом, применение окситоцина при родах у женщин с рубцом на матке с целью родостимуляции неизбежно считается недопустимым. Индивидуально подобранная доза экзогенного окситоцина лишь восполняет дефицит эндогенного гормона в организме женщины. Отсутствие же эффекта при родостимуляции в течение 1-2 ч у женщин с рубцом на матке может свидетельствовать об анатомо-функциональной неполноценности органа.

К аналогичному выводу пришли Силвер и Гиббе [6]: темп раскрытия шейки матки после начала родостимуляции окситоцином составил 1,82 см/ч у рожавших женщин и 0,18 см/ч у родоразрешенных кесаревым сечением, в связи со слабостью родовой деятельности, не поддающейся медикаментозной коррекции.

В заключение можно сказать, что у женщин с рубцом на матке, отобранных для консервативного родоразрешения, развитие слабости родовой деятельности не является показанием к операции и не является специфическим маркером несостоятельности рубца на матке.

Применение же тономоторных средств приведет к снижению процента кесаревых сечений, но должно быть строго индивидуальным, проводиться

в условиях развернутой операционной квалифицированными акушерами-гинекологами под постоянным контролем динамики раскрытия шейки матки, состояния послеоперационного рубца и сердцебиения плода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьев А.А. Кесарево сечение. Минск, 1993.
2. Басин Б.Л., Захарова Н.П. Рук. деп. во ВНИИМИ МЗ СССР, № 8089, 1984.
3. Позорелова А.Б. Кесарево сечение. Минск, 1993.
4. Стрижаков А.Н., Лебедев В.А. Акушерство и гинекология, 2, 8-12, 1991.
5. Narone J.N., Wadawan S. Internat. J. Gynecol. Obstet., 21, 6, 1-10, 1983.
6. Silver E., Gibbs R.S. Кесарево сечение. Минск, 1993.
7. Weistan et al. Кесарево сечение. Минск, 1993.

Поступила 10.11.1997

Биол. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 613.1(479.25)

ВЛИЯНИЕ МЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЧАСТОТУ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

А.О. КОТАНЯН

Ереванский государственный медицинский университет, 375025

Метеорологические факторы - метеопатические ситуации - сердечно-сосудистые заболевания

Несмотря на имеющиеся расхождения и оценке степени метеопатической активности отдельных метеорологических факторов, подавляющее большинство исследователей считают, что они могут оказывать существенное отрицательное влияние на организм, в частности, на течение сердечно-сосудистых заболеваний [1-3].

С целью определения связи отдельных погодоформирующих факторов с частотой обращения за скорой медицинской помощью по поводу острого инфаркта миокарда (ОИМ) в г. Ереване нами был применен метод полного корреляционного анализа. Использовали среднесуточные значения физических факторов внешней среды и данные посуточной обращаемости по поводу ОИМ в течение всего года. Рассчитывали следующие показатели:

r^2 - показатель прямой линейной связи в виде квадрата коэффициента корреляции;

F_{r^2} - критерий достоверности квадрата коэффициента корреляции;

η^2 - показатель криволнейной связи в виде квадрата корреляционного отношения;

F_{η^2} - критерий достоверности квадрата корреляционного отношения;

F_{st} - стандартное значение преобразованного критерия Фишера

Как видно из табл. 1, более значимыми оказались температура

воздуха, градиент межсуточной температуры, абсолютная влажность и градиент межсуточного весового содержания кислорода, при которых отмечалась достоверная нелинейная связь.

Таблица 1. Коэффициенты корреляции прямолинейной и криволинейной связи среднесуточных значений погодоформирующих факторов с посуточной обращаемостью по поводу ОИМ

Метеофакторы	r^2	r	η^2	η	F_{r^2}	F_{η^2}	Fst ($P < 0,05$, $P < 0,01$)
Температура воздуха, С	0,028	-0,17	0,064	0,252	1,05	2,4	1,9;2,4
Градиент межсуточной температуры, С	0,027	0,16	0,077	0,277	0,96	2,9	1,9;2,4
Атмосферное давление, гПа	0,002	0,044	0,029	0,171	0,08	1,19	1,9;2,5
Градиент межсуточного атмосферного давления, гПа	0,0065	-0,08	0,029	0,170	0,22	1,09	1,9;2,4
Относительная влажность, %	0,025	0,16	0,034	0,164	0,008	1,12	1,8;2,3
Абсолютная влажность, гПа	0,034	-0,185	0,074	0,272	1,36	3,1	1,9;2,5
Скорость ветра, М/С	0,037	-0,19	0,045	0,212	2,7	2,79	2,3;3,2
Весовое содержание кислорода, г/м ³	0,026	0,164	0,062	0,250	1,04	2,6	1,9;2,4
Градиент межсуточного весового содержания кислорода, г/м ³	0,027	-0,163	0,063	0,252	1,0	1,95	1,8;2,3

Полный корреляционный анализ дает возможность вычислить среднее количество вызовов по поводу ОИМ при различных градациях погодных факторов и проследить за изменением среднесуточной заболеваемости в течение года (рис.1). Увеличение частоты вызовов по сравнению со среднегодовым уровнем ($M=4,3 \pm 0,11$) при абсолютных величинах метеорологических факторов обычно отмечается в зимне-весенний период, отражая при этом сезонный ход этого заболевания. Однако отмечаются случаи, когда частота обращений отклоняется (повышается или понижается) от обычного сезонного хода. В эти дни значения метеорологических факторов в основном выходят за рамки типичных зон колебаний, присущих данному периоду.

Как видно из рис. 1, увеличение вызовов на 5% от среднегодового уровня (принятого за 100%) и на 25% от среднемесячного летнего периода ($M=3,2 \pm 0,16$) отмечается при температуре $+29^\circ$.

В общем годовом ходе с увеличением скорости ветра (от 1,5 до 6м/с) частота вызовов уменьшается, между тем как пик их отмечается при условиях со скоростью ветра от 0 до 1м/с (рис.1, в).

Повышение абсолютной влажности (рис.1,г) до величин более 20 гПа сопровождается резким увеличением среднесуточных обращений, в среднем на 50% выше среднегодового уровня.

Максимальное число вызовов совпадает с днями, когда весовое содержание кислорода составляет 265г/м³, при весовом содержании кислорода, равном 285г/м³, наблюдается уменьшение числа вызовов на 14% (рис.1, д).

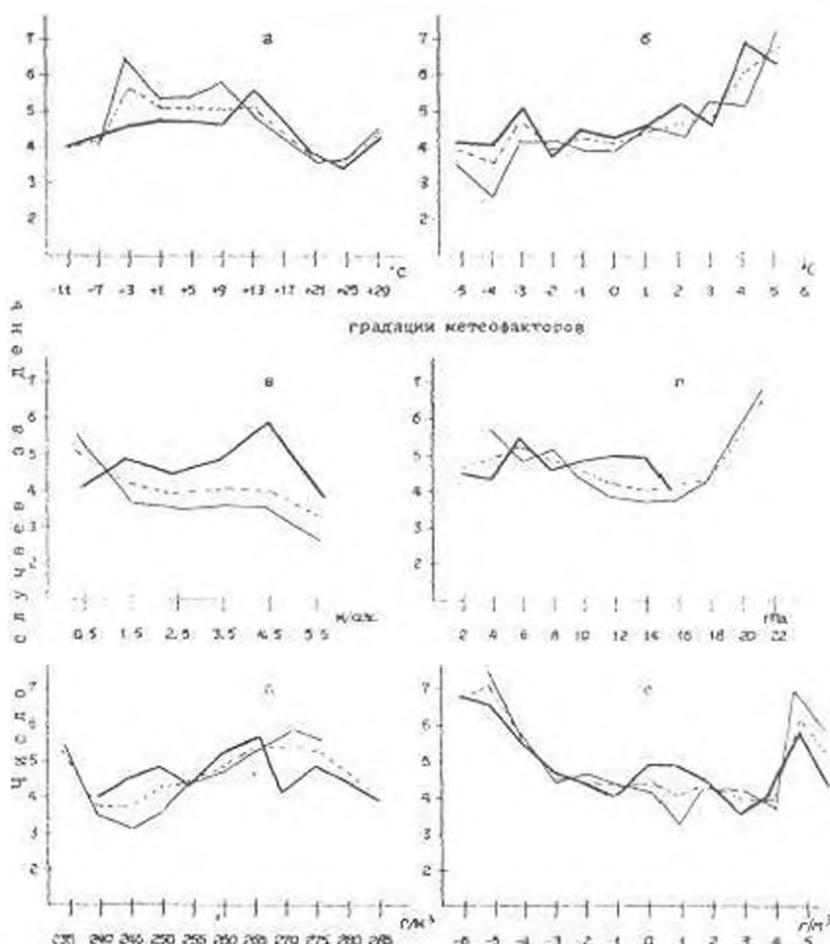


Рис. 1. Влияние на частоту ОИМ температуры наружного воздуха - а, градиента межсуточной температуры - б, скорости ветра - в, абсолютной влажности - г, весового содержания кислорода - д, градиента межсуточного весового содержания кислорода - е.
 ——— кривые 1-го полугодия; - - - кривые 2-го полугодия; — · — среднегодовые кривые

Увеличение вызовов по поводу ОИМ наблюдается также при резких межсуточных колебаниях метеорологических факторов. В дни с резким повышением межсуточной температуры на 4-5° число вызовов увеличивается на 58% (рис.1, б).

С увеличением колебаний межсуточного значения весового содержания кислорода (рис.1, е) увеличивается и обращаемость за помощью, особенно при понижении атмосферного кислорода до 4г/м³ и более. В эти дни среднесуточная заболеваемость в среднем на 61% выше среднего уровня.

В среднем число дней в году с выраженными метеопатическими ситуациями составляет от 1,6 до 6%. При этом относительный уровень среднесуточной заболеваемости, обусловленный выраженными отклонениями отдельных метеорологических факторов, как было указано выше, существенно возрастает.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андропова Т.И., Деряпа Н.Р., Соломатин А.Л. Гелиометеотропные реакции здорового и больного человека. 172-210, Л., 1982.
2. Климат и сердечно-сосудистая патология. Тр. 2-й научн. конф. Ин-та терапии АМН СССР, 326, Л., 1965.
3. Никберг И.Л., Ревуцкий Е.Л., Сакали Л.И. Гелиометеотропные реакции человека. 12, Киев, 1986.

Поступила 10.X.1986

*Ավանդադրված հոդվածների ակթերատներ**
*Рефераты депонированных статей***
*Abstracts of deponated articles****

Биолог. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 576.3.088

ТЕСТИРОВАНИЕ ЛИЗИНА, АРГИНИНА И НЕКОТОРЫХ ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ ИХ СИНТЕЗА В КУЛЬТУРЕ ЧЕЛОВЕКА / Киракосян А.Г., Аругюнян Р.М., Залинян Г.Г. - Ереванский государственный университет - Ереван, 1997 - 5 с. - Библиогр. 7 назв. - Рус. - Деп. 15.04.97 А29 - БЖА 97

Изучалась мутагенная активность лизина, аргинина и промежуточных продуктов их синтеза, полученных методами генной инженерии, в клетках человека.

При анализе цитогенетических повреждений в культуре лимфоцитов человека, индуцируемых лизином и промежуточными продуктами его синтеза, не выявлено цитогенетической активности ни одного из исследуемых соединений (кормовой концентрат лизина, кристаллический лизин, лизин гидрохлорид, синтезированный в НИИ "Биотехнология", и лизин гидрохлорид фирмы Reanal). Статистически достоверное различие уровня хромосомных aberrаций по сравнению с контролем обнаружено лишь при действии промежуточного продукта синтеза лизина - *аминобактерина* в концентрации 0,05%. При этом уровень хромосомных aberrаций возрастает до 6,0%, в то время как этот показатель в контроле составляет 1,5%. Следовательно, его можно отнести к соединениям, обладающим слабой мутагенной активностью в клетках человека.

Аналогичная картина наблюдается при анализе действия аргинина фирмы Serva и аргинина, синтезированного в НИИ "Биотехнология", порционного стока аргинина и изомочевины на культуру лимфоцитов человека. Ни одно из исследованных соединений не проявило цитогенетической активности в клетках человека. Наивысший уровень aberrаций хромосом в культуре лимфоцитов человека индуцируется

* Ավանդադրված հոդվածների լրիվ տեքստերը առկա են ձևով սկանավանդների վրա և կարող են անարժեք ըստ արժանիքի խթանարտրայն կողմից:

** Полные тексты депонированных статей имеются на дискетах и могут быть высланы редакцией по требованию.

*** Full texts of deponated articles are available on floppy disks.

Ի բազմաշրջան բաժիններով տիպի բազմացումը, որի հետևանքով բազմացման շրջանը երկարաձգվում է ծաղտի վերջից մինչև սեպտեմբեր Առաջին խոշոր անհատների սեռական զնդձերն ուղեկի շուտ են հասունանում և նրանք բազմացումն ավելի վաղ է սկսվում, քան ավելի վոցր անհատներինը:

The *Rhodeus sericeus amarus* (Bloch) of Ararat plain basins achieved puberty on the end of the first and during the second year of life. The reproduction period with polycyclic portion type continued from the end of March till September was proper to this fish. The bigger forms achieved the puberty earlier than the smaller ones.

Биолог. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 633.11:631.578

О НАСЛЕДОВАНИИ И ИЗМЕНЧИВОСТИ ПРИЗНАКА СКОРОСПЕЛОСТИ У ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ /

Саякян Г.А., - Институт земледелия МСХ РА - Эчмиадзин, 1997-Տс.-Библиогр. 7 назв. - Рус. - Деп. 15.04.97 N 31 - БЖА 97

Изучение генетической природы селекционно важных признаков, в том числе и вегетационного периода озимой мягкой пшеницы, в конкретных климатических условиях среды может способствовать составлению и осуществлению целенаправленных селекционных программ для выведения новых, более продуктивных сортов интенсивного типа.

Изучение наследования и изменчивости признака скороспелости пшеницы осложняется тем, что оно связано с многочисленными межфазными периодами, прохождение которых тесно взаимосвязано с условиями внешней среды.

Эксперименты проводились в полевых условиях, на Эчмиадзинской экспериментальной базе Института земледелия. В качестве исходного материала служили многочисленные межсортовые гибриды, полученные от скрещивания местных и инорайонных сортов с различной скороспелостью. Результаты многолетних экспериментов по изучению характера наследования признака скороспелости дают основание заключить, что у межсортовых гибридов первого поколения в зависимости от степени выраженности данного признака у компонентов скрещивания наблюдаются различные типы наследования, начиная от промежуточного до сверхдоминирования. Часто наблюдается промежуточный тип наследования с уклоном в сторону скороспелого компонента скрещивания. Полное доминирование и сверхдоминирование выявлены у гибридов, компоненты скрещивания которых по скороспелости мало различаются между собой.

Ուսումնասիրվել են աշխարհային փափուկ զորձնի բազմաբիվ միցսուրսային եկրրիդները և ժողովածուների հատկանիշի ժառանգման բնորոշ մի բազմաբնույթի զնդձերի վրա չափանիշները: Կախված

խաչանվող զույգերի վաղահասության հատկանիշի աստիճանից, F_1 սերունդներում դիտվել է մասնագման տարբեր տիպեր միջանկյալից մինչև գերդոմինանտ.

The several genetic parameters characterized the inheritance of early-ripeness feature in number of intervariety hybrids of winter wheat have been studied. Depending on degree of early-ripeness feature in crossed pairs the different types of inheritance have been detected in F_1 generations.

Биолог. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 633.11.631.578

НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКА ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ У ПЕРВОГО ГИБРИДНОГО ПОКОЛЕНИЯ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ / Саакян Г.А., Казарян М.Х., Эволян В.В. - Институт земледелия МСХ Армении. Эчмиадзин, 1997 - 4 с. - Библиогр. 3 назв. - Рус. - Деп. 15.04.97 № 32 - БЖА 97

В комплексе хозяйственно ценных признаков пшеницы засухоустойчивость имеет сравнительно более сложную природу. Она наиболее динамична, поскольку зависит от характера индивидуального развития растений в тех или иных условиях среды, и главным образом от гидродинамических факторов. Следует отметить, что направленная селекция на засухоустойчивость сдерживается слабой изученностью генетической природы этого признака.

Материалом для изучения параметров наследования признака засухоустойчивости служили гибриды F_1 , полученные при участии местных и инорайонных сортов озимой мягкой пшеницы. Опыты заложены на двух различающихся фонах: нормальная влажность почвы (контрольный вариант) и искусственная почвенная засуха в период налива и созревания зерна (опытный вариант). О засухоустойчивости образцов судили по степени продуктивности растений и его отдельных элементов. Установлено определенное отрицательное влияние почвенной засухи на продуктивность растений и на отдельные его элементы у гибридов и компонентов скрещивания. Выявлена обратная корреляция между продуктивностью растений и признаком засухоустойчивости. Вероятно, поэтому и существующие высокопродуктивные сорта интенсивного типа, как правило, менее засухоустойчивы. В основном изученные межсортовые гибриды F_1 по наследованию признака засухоустойчивости занимали промежуточное положение между компонентами скрещивания.

Ուսումնասիրվել է երաշտադիմացկունության հատկանիշի մասնագման բնույթը աչանվող ժառանգման տարբեր տիպերի միջատրասային իրջրիլյների առաջին սերունդներում Պարզվել է, որ այս հատկանիշով հիբրիդների սերունդները խաչանվող ծնողական ձևերի համեմատությամբ, գրավում են միջանկյալ տեղեր. Բացահայտվել է բույսի թրթրատվության է. երաշտադիմացկունության հատկանիշի

կախվածության հավադարձ կորրելյացիոն կապը:

The inheritance of drought-resistant feature in the first generations of the winter wheat intervariety hybrids has been studied. The generations of hybrides were intermediate forms in comparison with their parent forms. The reverse correlation between the plant productivity and the drought-resistant feature was revealed.

Биолог. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 582.632+638.878.32:577.1-581.19

ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ ДУБА И ТОПОЛЯ, ПОРАЖЕННЫХ НЕПАРНЫМ ШЕЛКОПРЯДОМ / Мирзоян В.С., Мирзоян А.В. - Ин-т защиты растений МСХ РА - Мерцаван, 1997 - 7с. - Библиогр. 14 назв. - Рус. - Деп. 15.04.97 № 33 - БЖА 97

Проводился биохимический анализ здоровых и поврежденных непарным шелкопрядом листьев дуба и тополя, произрастающих в лесах Центральной Армении.

Выявлено, что в здоровых листьях тополя содержится воды на 5,6 - 10,5%, растворимых углеводов - на 2,1-6,8% больше, чем в листьях дуба, однако углеводно-белковое соотношение листьев дуба (1.1) более благоприятно для развития непарного шелкопряда.

Анализ показал, что биохимический состав обследованных растений в зависимости от их физиологического состояния претерпевает заметные изменения: по мере повреждения деревьев происходит увеличение сухого вещества на 3,5-5,2% в листьях дуба, на 1,0-2,1% в листьях тополя, моносахаров в 1,04-1,17 раза в листьях дуба, 1,03 раза в листьях тополя. Содержание сахарозы при этом уменьшается на 7,7-28,6% в листьях дуба, на 20,8-31,1% в листьях тополя. Значительно меняется белковый состав: резко уменьшается доля водорастворимых (на 5,2-12,6% - дуб, 4,2-8,8% - тополь), а спирторастворимых и щелочерастворимых белков увеличивается (на 2,6-4,4, 2,7-9,6%-дуб; 3,4-4,1, 1,1-4,7%-тополь, соответственно).

Все эти изменения происходят, по всей вероятности, из-за интенсивного обезвоживания листовых пластинок.

На начальных стадиях повреждения (период развития гусениц младших и средних возрастов) наблюдаются также изменения в углеводно-белковом соотношении в сторону, благоприятную для развития непарного шелкопряда.

Ուսումնասիրվել են առողջ և տարածույց մեղաքսադորձով վնասված կաղնու և բարդու տերեւների կենսաքիմիական առանձնատկությունները՝ վնասված ծառերի տերևներում, ի տարբերություն առողջ ծառերի, հայտնաբերվել է չոր նյութերի և մոնոշաքարների կուտակում, որը ուղեկցված է սպիտակի բարձրմամբ 7.7-28.6% կաղնու և 20.8-31.1% բարդու մոտ 2գալի

բանակական և որակյալան ինտիդիտություն է կրում սպիտակուցային կազմը կտրուկ լլցնում է ցրատմ սպիտակուցների մասնատածինը (5,2-12,6% կաղնի և 4,2-8,8% բարդի), ավելանում է սպիրտայած և հիմնադած սպիրտակուցների պարունակությունը 2,6-4,4 և 2,7-9,6% կաղնի, 3,4-4,2 և 1,1-4,7% բարդի համապատասխանաբար, որը հավանաբար վնասված տերևների ինտենսիվ ցրազրկման հետևանք է:

The biochemical properties in the leaves of oak and poplar trees, damaged by the dispersed gypsy moth, have been studied. Accumulation of dry substances and monosaccharides in damaged leaves of oak and poplar was accompanied by saccharose decrease (7,7-28,6% oak and 20,8-31,1% poplar). The considerable quantitative and qualitative changes took place in protein fraction composition. The intensive decrease of water-soluble proteins (5,2-12,6% oak, 4,2-8,8% poplar) and increase of alcohol- and alkali-soluble proteins (2,6-4,4% and 2,7-9,6% oak, 3,4-4,4% and 1,1-4,7% poplar respectively) was observed.

Биолог. журн. «Армения», 3-4 (50), 1997

УДК 633.11:575.222.78

**ПРОЯВЛЕНИЕ ГЕТЕРОЗИСА У ГИБРИДОВ ПШЕНИЦЫ
ОТ СКРЕЩИВАНИЯ ОБРАЗЦОВ РАЗЛИЧНОГО
ПРОИСХОЖДЕНИЯ / Саакян Г.А., Саркисян А.А. - Институт
земледелия МСХ Армении, Эчмиадзин, 1997 - 6 с. - Библиогр.
7 назв. - Рус. - Деп. 15.04.97 № 34 - БЖА 97**

Характер наследования, особенно эффект проявления гетерозиса по отдельным количественным признакам у гибридов пшеницы, изучены многими исследователями. Однако, несмотря на имеющиеся различные генетические концепции, объясняющие природу гетерозиса, в настоящее время все еще не полностью выяснен механизм его проявления. В работе приводятся результаты изучения проявления эффекта гетерозиса по отдельным элементам продуктивности растений в зависимости от степени гетерозиготности гибридов F₂. Опыты проводились в полевых условиях на Эчмиадзинской экспериментальной базе Института земледелия МСХ РА. Материалом для исследования служили межеортовые, межмутантные и межлинейные гибриды F₂. Наиболее высокий эффект проявления гетерозиса по отдельным изученным признакам установлен у межмутантных гибридов F₂, компонентами скрещивания которых являлись сравнительно низкостебельные и депрессивные мутантные формы. Предполагается, что эффект проявления гетерозиса обусловлен действием определенных межallelельных доминантных генов, компонентов скрещивания, способствующих восстановлению слабых звеньев метаболизма гибридных растений.

Յորենի միջոցառանաային հիրդիդմւրում դիտվել է առանձին հատկանիշների հետերոզիսի դրսևորման բարձր էֆեկտ, որը պայմանավորված է իւսպանմելոդ գույզելիի որոշակի դոմինանտ գեների գործունեւորումը:

The high effect of heterosis by different features conditioned by the action of several dominant genes in crossed pairs in intermutant hybrids of wheat has been observed.

Биолог. журн. Армении. 3-4 (50), 1997

УДК 616.366-002+616.36-004

"P-ЯМР СПЕКТРОСКОПИЯ ЖЕЛЧИ ЧЕЛОВЕКА / Туманян М.А. - Ереванский государственный медицинский университет - Ереван, 1997 - 5 с. - Библиогр. 7 назв. - Рус. - Деп. 15.04.97 N 36 - БЖА 97

Проводилось комплексное исследование изменений состава желчи (желчных кислот, холестерина, фосфолипидов и ортофосфата) у 36 больных первичным билиарным циррозом печени (ПБЦ) биохимическими методами и методом ³¹P-ЯМР спектроскопии. Выявлено, что у больных ПБЦ наблюдается уменьшение количества желчных кислот, холестерина, фосфатидилхолина и ортофосфата в печеночной порции желчи и одновременное увеличение этих компонентов в гепатоцитах и сыворотке крови. Сделан вывод о важной роли нарушения энтерогапатической циркуляции желчных кислот в механизме развития внутрипеченочного холестаза у больных ПБЦ.

Проведенные исследования демонстрируют возможность быстрой сравнительной оценки содержания основных фосфатсодержащих соединений в желчи методом ³¹P-ЯМР спектроскопии в целях клинической диагностики заболеваний печени и желчевыводящих путей.

Կոմպլեքս կենսաքիմիական հետազոտություններից առաջվել է, որ լյարդի առաջնային լեռային ցիռոզով հիվանդների մոտ լեզու լյարդային բաժնում իր ուրույն տեղն ունի լեղաքթի, խոլեստերինի, ֆոսֆատիդիլխոլինի և օրտոֆոսֆատի քանակի նվազումը և միաժամանակ այդ բաղադրիչների ալելյացումը հեպատոցիտներում և արյան շիճուկում կարելի է եզրակացնել, որ մերլյարդային խոլեստազի զարգացման ընթացքում կարևոր է լեղաքթների էնտրոհեպատիկ ցիռուկյացիայի խանգարումը:

On the base of complex biochemical investigations the decrease of biliary acids, cholesterol, phospholipids and orthophosphate in the hepatic portion of bile and the simultaneous increase of these components in hepatocytes and blood serum was revealed in patients with primary biliary cirrhosis. The important role of the disturbances of enterohepatic circulation of biliary acids in the mechanism of intrahepatic cholestasis development was mentioned.

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ РУБЦА
НА МАТКЕ / Азизян С.И. - Армянский научно-
исследовательский центр по охране здоровья матери и ребенка
- Ереван, 1997 - 4с. - Библиогр. 6 назв. - Рус. - Деп. 15.04.97
N 37 - БЖА 97**

Проведены исследования рубца на матке после кесарева сечения при его клинической неполноценности. Гистологическая картина представляется следующим образом: на препаратах наблюдаются равномерная гипертрофия мышечных элементов с гомогенизированными пучками мышцы, ядра клеток гипертрофированы, вокруг ядер имеются полости, строма отекает, сосуды с расширенными полостями, полнокровные с переваскулярными кровеносными элементами, в мелких сосудах лимфолейкоцитарный стаз, в подэндотелиальном слое бурная лимфолейкоцитарная инфильтрация.

При клинической неполноценности рубца на матке обнаруживаются следующие изменения: гипертрофия мышечных клеток, нарушение упорядоченности расположения мышечных элементов, они располагаются в виде спиралей, зигзагов, мышечные пучки разволокнены резкоотечной соединительной тканью; имеются большие поля склерозированной соединительной ткани с одиночными мышечными клетками; лимфатические сосуды растянуты, эндотелий их уплощен; кровеносные сосуды полнокровные с утолщенной плотной стенкой; в отдельных участках эмболозные кровонизлияния.

На основании полученных результатов пришли к заключению о том, что при клинической полноценности рубца на матке при морфологическом исследовании подтверждается восстановление мышечного слоя, но вместе с тем наблюдается повышение сосудистой и тканевой проницаемости.

А при клинической неполноценности рубца на матке морфологическая картина выявляет глубокие нарушения архитектоники мышечных волокон с большими полями склерозированной соединительной ткани, выраженными сосудистыми нарушениями, приводящими к анатомо-функциональной неполноценности органа.

Մտուճնասիրվել է կեսարյան թաղանթից հետո արգանդի սպիի հիստոլոգիական պատկերը: Գտնվել է որ սպիի կլինիկական լիարժեքության դեպքում մկանային շերտը լրիվ զերականցելով է սպիի արտադաստված է հյուսվածքային բավանցելիությամբ, իսկ սպիի ոչ լիարժեքության դեպքում տեղի են ունենում ազելի խորը անոթային խախտումներ, կապված օրգանի անատոմա-ֆունկցիոնալ ոչ լիարժեքության հետ:

The histological examinations of the uterine scar after the cesarean section have been carried out. During clinically full valued state of scar the full regeneration of uterine muscular layer accompanied with increase of permeability of vessels and tissue has been observed. During clinically inferiority of scar the deep vascular changes took place connected with anatomic and functional inferiority of uterus.

СОСТОЯНИЕ ОБМЕНА ЛИПИДОВ, ДЕТОКСИЦИРУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ И ИММУННЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ С ХОЛЕСТАЗОМ / Туманян М.А. - Ереванский государственный медицинский университет - Ереван, 1997 - 7с. - Библиогр. 9 назв. - Рус. - Деп. 15.04.97 № 38 - БЖА 97

Проводилось комплексное биохимическое исследование некоторых показателей обмена липидов, детоксицирующей функции печени, а также состояния гуморального и клеточного иммунитета у 78 больных первичным билиарным циррозом печени, из коих 37 - с начальной стадией заболевания и 41 - со сформировавшимся циррозом. При этом проводилось сравнительное изучение указанных показателей при умеренной и выраженной степенях холестаза и ферментной активности, а также их динамики в процессе прогрессирования заболевания.

У больных первичным билиарным циррозом печени выявлены гиперлипид- и гиперхолацидемия, а также нарушения обмена меди (гиперкупремия и снижение экскреции меди с мочой) и детоксицирующей функции печени. Значительные изменения отмечаются также со стороны гуморального и клеточного иммунитета и показателей естественной резистентности. При этом выраженность указанных расстройств коррелирует с активностью процесса и степенью холестаза. Высказано предположение о наличии двух типов хронического холестаза: медленно прогрессирующего и быстро прогрессирующего, с ранними сроками формирования цирроза печени.

Կատարվել են որոշ ցուցանիշների ճարավերի փոխանակման, լյարդի ախտահանիչ ֆունկցիայի և իմունային համակարգի փճակի, կոմպլեքս հետազոտություններ լյարդի առաջնային (երային) ցիռոզով հիվանդների մոտ: Հաստատվել է, որ հիվանդության (խուլեոստազի) սկզբնական շրջանը խորնիկական լեղականդային լյարդաբորբը, կարող է լինել երկու ձևի լեղականդի միջին և արտախայտված ակտիվության աստիճանով: Այս ձևերը, բացի կլինիկական կենսացիինոկոսի և իմունաքանական ցուցանիշներից, տարբերվում են նաև հիվանդության զարգացման ընթացքով, որը հետազայում նպաստում է ցիռոզի ձևավորմանը:

The indices of fats metabolism, detoxication function of liver and the immune system state were studied on patients with primary biliary cirrhosis. The early stage of disease was characterized with two forms - the middle and the expressed active degree of cholestasis. These forms besides clinical, biochemical and immunological indices, were differed by dynamics of disease development which assisted to cirrhosis formation in further.

**МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ К ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОЙ
МОНОТОННОЙ РАБОТЕ НА КОМПЬЮТЕРЕ /Агабабян
А.Р., Григорян В.Г., Аракелян А.Н. - Ереванский
государственный университет - Ереван, 1997 - 13с. - Библиогр.
16 назв. - Рус. - Деп. 15.04.97 N 39 - БЖА 97**

На модели операторской деятельности на компьютере была проанализирована динамика функционального состояния фронтальной, центральной теменной и затылочной областей коры левого полушария головного мозга по показателям плотности мощности основных ритмов ЭЭГ в зависимости от исходного уровня активности коры, отражающей индивидуально-типологические особенности испытуемого. Выявлена межгрупповая разница в перестройке функционального состояния исследуемых областей коры головного мозга. В группе испытуемых с высоким уровнем корковой активности в последние часы работы наблюдается увеличение плотности высоких частот, указывающих на повышение уровня активности коры. Падение энергии дельта-ритма свидетельствует о подключении механизмов саморегуляции, позволяющих корректировать необходимый для данного вида деятельности уровень активации. У испытуемых с низкой корковой активацией повышение энергии "ритмов напряжения" в последние часы работы активизирует лобную кору, что указывает на подключение волевых механизмов через неспецифическую таламо-корковую систему активирующих влияний.

Յանակարգի օպերատորի գործունեության մոդելի վրա ուսումնասիրված է ծախ կիսագնդ կեղևի ճակատային, կենտրոնական, գաղաթային և ձորագային շրջանների գործառական վիճակ դինամիկան կեղևային ակտիվության բարձր մակարդակ ունեցող փորձարկվողների խմբում աշխատանքի վերջին ժամերին նկատվում է բարձր հաճախակաճաճությունների կարգության մեծացում, որը վկայում է կեղևի ակտիվության մակարդակի բարձրացման մասին: Դելտա-ռիթմի էներգիայի իջեցումը խոսում է ինքնակարգավորման մեխանիզմի առկայության մասին: Ցածր կեղևային ակտիվությանը վերաբերվողների մոտ «լարվածության ռիթմերի» էներգիայի բարձրացումը վերջին ժամերին ակտիվացնում է ճակատային կեղևը, որը վկայում է կամային մեխանիզմների միացման մասին:

On the model of operator's work on computer the dynamics of the functional state of frontal, central, parietal and occipital areas of cortex left hemisphere was analyzed. In groups of examinees with high level of cortex activity the increase of high frequency cortex activation was mentioned at the end of work. Decrease of delta-rhythm energy was testified the autoregulation mechanisms: In group of examinees with low level of cortex activity the increase of "strain rhythms" energy was activated the frontal cortex at the end of work, which testified the combination of volitional mechanisms through the thalamo-cortical system.

ВЛИЯНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ДНК И РНК В ПЕЧЕНИ И ОПУХОЛИ САРКОМЫ 45 ОПУХОЛЕНОСЯЩИХ КРЫС / Худавердян Н.В. - Республиканский противоопухолевый диспансер МЗ РА - Ереван, 1997 - 4с. - Библиогр. 7 назв. - Рус. - Деп. 15.04.97 N 35 - БЖА 97

Процессы, приводящие к нарушению синтеза нуклеиновых кислот, лежат в основе развития опухолей, и противоопухолевый эффект химиотерапевтических средств, вероятно, в значительной мере определяется интенсивностью и продолжительностью угнетения метаболизма нуклеиновых кислот опухолевых клеток. Развитие опухолевого процесса сопровождается нарушениями в регуляции синтеза ДНК и РНК как в самих опухолевых клетках, так и в органах и тканях опухоленосящих животных.

Исследовались возможные изменения содержания ДНК и РНК в печени и опухоли саркомы-45 опухоленосящих крыс до и после воздействия противоопухолевых препаратов ТиоТЭФ-а, циклофосфана и доксорубина при раздельном и сочетанном (с гормоном дексаметазоном) применении.

Как показали экспериментальные данные, содержание ДНК и РНК в печени опухоленосящих крыс выше по сравнению с нормой. При раздельном и сочетанном с дексаметазоном применении противоопухолевых препаратов в печени опухоленосящих крыс содержание ДНК уменьшается, а содержание РНК несколько увеличивается. На фоне общего подавления синтеза нуклеиновых кислот отмечается заметное повышение отношения РНК/ДНК по сравнению с незлеченными животными.

В опухолевой ткани саркомы-45 под влиянием исследуемых препаратов, особенно при сочетанном применении их с дексаметазоном, содержание ДНК и РНК значительно понижается, а отношение РНК/ДНК заметно повышается. Отношение РНК/ДНК и максимальная скорость роста перевиваемых опухолей обратно пропорциональны, поэтому достоверное повышение отношения РНК/ДНК в наших опытах говорит о терапевтической эффективности изучаемых противоопухолевых препаратов, которая, по-видимому, связана с торможением синтеза РНК и ДНК в опухолевых клетках.

Судя по нашим экспериментальным данным, применение противоопухолевого антибиотика доксорубина с дексаметазоном приводит к более выраженному увеличению отношения РНК/ДНК, чем применение противоопухолевых препаратов алкилирующего типа (ТиоТЭФ и циклофосфан) с дексаметазоном, что, по-видимому, свидетельствует о сравнительно большей терапевтической эффективности доксорубина.

Ռսումնասիրվել է ուռուցքակիր առնետների լյարդի և ուռուցքի հյուսվածքներում (սարկոմա 45) ՂՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի պարունակության փոփոխությունը՝ Թիոթիմեֆ, ցիկլոֆոսֆան և դեքսոմեթազոնի ազդեցության ներքո: Պարզվել է, որ ուռուցքակիր առնետների առանձին և ղեքսամեթազոն հորմոնի հետ համատեղ ազդեցության դեպքում: Պարզվել է, որ ուռուցքակիր առնետների առանձին և համատեղ ազդեցության դեպքում փոքրանում են ՂՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի պարունակությունները լյարդի և ուռուցքի հյուսվածքներում, միաժամանակ զգալի աճում է ՌՆԹ/ՂՆԹ հարաբերությունը, որը բնութագրում է պրոպագանդայի ակտիվությունը:

In liver and tumour sarcoma-45 tissues of rats the changes of DNA and RNA contents were studied under the influence of anticancer preparations ThioTEF, cyclophosphane and dexametazone applied separately and in combination with hormone dexametazone. By the effect of anticancer preparations the DNA and RNA contents were decreased and simultaneously the ratio of RNA/DNA was increased.

Տարբեր նյութեր • Разное • Miscellaneous

ԱՆՎԱՆԻ ԳԻՏԱԿԱՆ ՈՒ ՄԱՆԿԱԿԱՐԺՐ



պաշտպանում է թեկնածուական, իսկ 1966թ. դոկտորական քեզը ստանալով բժշկական գիտությունների դոկտորի աստիճան: 1974թ. ընտրվում է Հայաստանի գիտությունների ակադեմիայի քրթակից անդամ, իսկ 1986թ. ակադեմիկոս

Գ. Բակլավաջյանի լայնածավալ և բեղուն գործունեությունը սկսվում է 60-ական թվականներից: Այդ տարիներին նրա ընտրած գիտական կարևորագույն ուղղություններից մեկը ընդերային ֆունկցիաների կարգավ. բնան կենտրոնական: մեխանիզմների ուսումնասիրությունն էր: էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտությունների նորազույն մեթոդների ներդրմամբ նա հետազոտել է հիպոթալամուսի նեյրոնային կազմակերպումը: նրա վարընթաց հեշտացնող ազդեցությունը ողնուղեղի մարմնական ֆունկցիաների իրականացման և մեծ կիսազնդեղի կեղևի «ուզնած» նեյրոնների ակտիվացման մեխանիզմում: Այդ չրջանի փորձառական հետազոտությունների արդյունքներն ընդհանրացված են Գ. Բակլավաջյանի «Ռեզեղի էլեկտրապան ակտիվություն վեգետատիվ կարգավորումը»: մենագրության մեջ (Լենինգրադ, 1967) Առանձնահատուկ ուշադրության են արժանի Գ. Բակլավաջյանի և նրա աշխատակիցների կողմից հիպոթալամուսի ընդերազգայական նեյրոնների ակտիվության չարգավորման կեղևային մեխանիզմների թացահայտումը:

Պարզաբանվել է սիմպարիկ և պարասիմպարիկ նյարդերի աֆերենտ զգայական ռանակարգերի տեղակայումը հետին հիպոթալամուսում: Գիտական նորույթ ներկայացնող նշված հետազոտությունների արդյունքները ամփոփված են նրա «Հիպոթալամուսի ընդերամարմնական առբերիչ համակարգերը» մենագրության մեջ (Լենինգրադ, 1985)

Նշանավոր գիտնականի գիտական բեղմնավոր գործունեության մեջ առանձնահատուկ փուլ են կազմում գլխուղեղի երկարավուն ուղեղի և ողնուղեղի վեգետատիվ ֆունկցիաների ներառեսաթմբաչուն կարգավորման նեյրոնային մեխանիզմների ուսումնասիրությանը նվիրված հետազոտությունները: Գիտության համար արժանահիշատակ նորույթ է բազմալատակ գիտնականի կողմից առաջ քաշված ստեղծագործական միտքն. ըստ որի հիպոթալամուսում գոյություն ունի կոդեկային և ողնուղեղի վեգետատիվ նեյրոնների ու ընդերազգայական առբերող համակարգերի ներառեսաթմբային նեյրոնների առավելագույն ակտիվության շրջանների վեգետածվում: Նա ձևակերպել է լայն ճանաչում ստացած վարկած, ըստ որի հիպոթալամուսի նեյրոնները քազմագործարկիչ, համսմիտվող-տարամիտվող բնույթի են. որոնց շնորհիվ իրականանում են

օրգանիզմի վեգետատիվ և մի շարք հույզային գործընթացներ համապատասխան միջավայրի՝ փութոփովող պայմաններին: Նշված հիմնարար հետազոտություններն ամփոփված են նրա «Յիպոքսայամո-ընդերային աղեղի նեյրոնային կազմակերպումը» մենագրության մեջ (1988թ.), որը 1990թ. հոկտերային Միության գիտությունների ակադեմիայի կողմից արժանացել է Լ. Օրբելու անվան մրցանակի:

Սնվանի գիտնականի և նրա աշխատակիցների կողմից ուսումնասիրվել է նաև լիմֆայական ուղեղի սեկ այլ գոյացության, նշահամալիրի, դերը վեգետատիվ ֆունկցիաների կարգավորման մեխանիզմում: Մեծ հետաքրքրություն է ներկայացնում նշահամալիրի ընդերազգայական նեյրոնների տարբերակումը, երկարավուն ուղեղի և ողնուղեղի էինսպաթիկ ու պարասիմպաթիկ գոյացությունները, շնչառական նեյրոնների ակտիվության նշահամալիրային կարգավորման նեյրոնային մեխանիզմների արյան շրջանառության կարգավորման գործընթացում նշահամալիրի մասնակցության քաջահատումը: Չատկապիտ կարևորվում է գիտնականի կողմից ներկայացված նշահամալիրի ազդերող և արտատար համակարգերի կազմակերպման նեյրոնային սխեման: Նշված ուղղության հետազոտությունների արդյունքներն ամփոփված են գիտնականի կողմից 1996թ. հրատարակված «Նշահամալիր-ընդերային ռեֆլեքսային աղեղի կազմակերպումը» մենագրության մեջ:

1959 թ. սկսվում է նաև Գ. Բակլավաջյանի մասնավարժական գործունեությունը Երևանի Կենտրոնական համալսարանի մարդու և կենդանիների ֆիզիոլոգիայի ամբիոնում, ուր սկզբում ստանձնում է պրոֆեսորի, իսկ 1972թ.՝ 1986 թ.՝ նաև ամբիոնի վարիչի պաշտոնը: Գ. Բակլավաջյանը ակտիվ նախաձեռնությամբ ամբիոնում ներդրվում են միկրոէլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտությունները: Նորագույն մեթոդներ, որոնք հետազոտում հնարավորություն տվեցին ընդլայնել սամանակակից էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտությունների շրջանակները:

Գ. Բակլավաջյանը գիտության տաղանդավոր կազմակերպիչ է: Նրա ղեկավարությամբ ամբիոնի կոլեկտիվը 1972 թ. ծեղանման է լինում ընդհարձարմանական ֆունկցիաների կարգավորման կենտրոնական մեխանիզմների ուսումնասիրությանը միջավայրի արտակարգ գործոնների ազդեցության պայմաններում: Թթվածնաթաղցի վիրոսային, շառավղային արագացման պայմաններում ուսումնասիրվում են սիրտ անոթային, շնչառական, արտաբորոտային, արյան մակարդանի համակարգերի կարգավորման լիմֆայական մեխանիզմները: Գործնական կարևոր նշանակություն ունեն Գ. Բակլավաջյանի և ամբիոնի աշխատակիցների կողմից անդաստակային վերլուծիչ տարրեր օդակների նեյրոնային կազմակերպման ուսումնասիրության արդյունքները, որոնք հնարավորություն են ընձեռնում պարզաբանել շարժողական ախտահարումների նեյրոնային մեխանիզմները:

Մեծ է Գ. Բակլավաջյանի ազդեցությունը ամբիոնում կատարվող սեռական և գործնական ակնհայտ նշանակություն ունեցող գիտահետազոտական աշխատանքների մեկ այլ ուղղության բնագավառում՝ ուսումնասիրել Չայաստանի տարբեր ընակ. հմտակալի շրջաններում շնչառության պրոցեսի կարգավորման կենտրոնական մեխանիզմները թթվածնաթաղցի պայմաններում:

Նշանակալի աճում ունի Գ. Բակլավաջյանը նաև ամբիոնում հետազոտվող համակարգչային և աշխատող մատչելի մեթոդները գլխուղեղի մեծ կիսագնդերի տարբեր գոտիների գործառնական վիճակի, նյարդափոխանակման լատվածության, հոգնածության զարգացման նյարդաֆիզիոլոգիական և հոգեֆիզիոլոգիական մեխանիզմների ուսումնասիրության բնագավառում:

Գ. Բակլավաջյանը 300 գիտական աշխատությունների հեղինակ է, այդ թվում 4 մենագրություն, մի շարք գիտահանրամատչելի գրքակներ և ուսումնասիրողական ձեռնարկներ: Նրա ղեկավարությամբ պաշտպանվել են 27 թեկնածուական և 4 դոկտորական թեզեր:

Բազմավաստակ գիտնականի ակտիվ նախաձեռնությամբ և ղեկավարությամբ շուրջ երկու տասնյակ տարի Յիլիջանում պարբերաբար կրավիրվել են համամրութենական կոնֆերանսները նվիրված վեգետատիվ նյարդային համակարգի ֆիզիոլոգիայի իարցերին: Մեծարգո հոբելյալը բազմիցս զեկուցումներով հանդես է ելել Նախկին միութենական և միջազգային գիտաժողովներում միջազգային համազուգարմերում և կոնֆերանսներում և ազատաբարություններով հանդես է ելել Զուլլուսիայի, Գոնգարիայի, Ֆրանսիայի և մի շարք այլ երկրների համալսարաններում:

Մեծարժեք և արժանատի կոնֆերանսներում և համաժողովներում գործունեությամբ զուգընթաց մասնակցում է նաև հասարակական աշխատանքների կատարմանը և ա ՉԳ ԳԱՄ Բժշկական սաբանական պրոբլեմային խորհրդի անդամ է: Չայաստանի ֆիզիոլոգների ընկերության նախագահի տեղակալ, Ուղեղի ուսումնասիրությունների և նեյրոգիտությունների միջազգային կազմակերպությունների անդամ ԱՊԳ-ի ֆիզիոլոգների ընկերության կենտրոնական խորհրդի, մի շարք հանդեսների («Սեչենովի անվան ֆիզիոլոգիական հանդես», «Նեյրոֆիզիոլոգիա», «Չայաստանի կենսաբանական հանդես») խմբագրական խորհրդի մի շարք գլխավոր և խորհրդների անդամ:

Գիշարժան է նշել, որ Բուլղարիայում 1941-44թթ. ֆաշիզմի դեմ մղվող ընդհատակյա պայքարում ակտիվ մասնակցություն ցուցաբերելու համար Գ. Բակլավաջյանը ճանաչվել է որպես

Ֆաշիզմի դեմ մղվող պայքարի աննկուն մարտիկ: Գայրենական մեծ պատերազմի մասնակից է հայրենասիրված և Բուլղարիայի ժողովրդական իսկապետության շքանշաններով ու հորեյանական մեդալներով «Պատվո նշան» շքանշանով:

Թեկուզև բոլորել է Գ. Բակլավաջյանի բազմակատակ գիտնականի ու մեծ մանկավարժի, ինստիտուտի կյանքի 75-ամյակը, նա այսօր էլ լի է գիտական հետաքրքիր մտահղացումներով ու երևույթների անարդարական ավյուրով շարունակում է դասավանդել մայր ԲՈՒԳ-ի իր ամբիոնում, ղեկավարել աշակերտների և հայցորդների գիտական հետազոտություններ, ուսանողների դիպլոմային աշխատանքներ, գրել արժեքավոր գիտական աշխատանքներ: Նա վայելում է ֆակուլտետի և ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի աշխատակիցների, ուսանողության, իսկապետության գիտական հասարակության սերն ու համակրանքը: Այսօր նրա սաներից շատերը գիտահետազոտական ինստիտուտների, ամբիոնների և լաբորատորիաների ղեկավարներ են և հասարակության մեջ գրաված իրենց դիրքով ու արժանիքներով կրախտապարտ են սիրելի ուսուցչին:

ԳԳ ՊԱՍ Լ.Ա. Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտի կոլեկտիվի և ԵՊԳ-ի կենսաբանական ֆակուլտետի պրոֆեսոր-դասախոսական անձնակազմի անունից ջերմորեն կերտավորելով հարգարժան ակադեմիկոս Գովհաննես Գեղամի Բակլավաջյանին ծննդյան 75 և աշխատանքային գործունեության 50-ամյակի առթիվ, մաղթում ենք քաջ առողջություն և երջանակություն, երջանակություն ու ստեղծագործական նորանոր նվաճումներ:

Վ. Ֆանաբջյան

*ԳԳ ՊԱՍ Լ. Օրբելու անվան ֆիզիոլոգիայի
ինստիտուտի տնօրեն, ակադեմիկոս*

Ս. Աինասյան

*ԵՊԳ կենսաբանական ֆակուլտետի մարդու
և կենդանիների ֆիզիոլոգիայի ամբիոնի վարիչ, պրոֆեսոր*

АРМЕН ДЗОНОВИЧ ПАЛБАНДЯН



26 июля 1997г. скончался один из ведущих микробиологов республики, доктор биологических наук, профессор Армен Дзонович Палбандян.

А.Д. Палбандян родился 7 июня 1930 года в Сухуми, в семье служащих. В 1953г. он окончил Армянский сельскохозяйственный институт по специальности "агронимия" и в том же году поступил на работу в Сектор микробиологии АН Армении.

В 1957 году А.Д. Палбандян поступил по конкурсу в аспирантуру Всесоюзного Института сельскохозяйственной микробиологии (Ленинград), которую успешно закончил защитой диссертации на степень кандидата биологических наук по теме "Бактерии - антагонисты грибов из рода фузариум и возможности их использования против фузариоза пшеницы и льна".

После защиты диссертации в 1960г. поступил в Институт ботаники АН Арм. ССР, а с 1968г. до своей кончины работал в Институте микробиологии АН, сначала старшим научным сотрудником, а затем ведущим лабораторией актификсующих микроорганизмов.

В первые годы своей научной деятельности А.Д. Палбандян занимался вопросами применения антибиотиков против заболеваний сельскохозяйственных растений и микробиологической характеристики полупустынных почв.

Дальнейшая и основная деятельность А.Д. Палбандяна и была посвящена одной из важнейших проблем современной биологии - биологической фиксации атмосферного азота и изучению клубеньковых бактерий, распространенных в различных климатических зонах, в особенности вопросам их экологической адаптации.

Их выделены и отселекционированы высокопродуктивные штаммы клубеньковых бактерий гороха, фасоли, ячменя и сои, которые решением Межведомственной комиссии при ВПНЦСХМ (Ленинград) были рекомендованы для внедрения в производство нитрагина.

А.Д. Палбандяном впервые разработаны основы применения земледобрительного бактериального препарата торфяного нитрагина в Армении. Разработанная им технологическая документация получения торфяного и сухого нитрагина была реализована в нашей Республике.

Основной особенностью деятельности А.Д. Палбандяна являлась его постоянная связь с сельским хозяйством и стремление к внедрению полученных результатов.

Им разработаны и внедрены регламент и ТУ на получение соевого молока. Он принимал активное участие в выполнении правительственной программы "Соя".

Результаты многолетних исследований по биологии клубеньковых бактерий отражены в докторской диссертации "Биологические основы получения и применения эффективных штаммов клубеньковых бактерий", которую он защитил в 1989 году.

А.Д. Палбандян автор более чем 60 научных работ и авторских свидетельств, которые посвящены актуальным вопросам общей и почвенной микробиологии. Он руководил большим комплексом совместных работ с Институтами АН России, Украины и Венгрии. В 1968-71гг. А.Д. Палбандян вел курсы технической микробиологии на биологическом факультете ЕЦУ и в течение многих лет руководил дипломными и курсовыми работами студентов. В последние годы читал курсы лекций по общей и медицинской микробиологии в Институте "Айбусак". А.Д. Палбандян активно участвовал в работах Всесоюзного микробиологического общества, и с 1981 по 1986г. руководил Армянским отделением этого общества.

Он пользуется высоким авторитетом среди микробиологов республики и зарубежья. В широты коллег и всех, кто знал Армена Дзоновича Палбандяна, он навсегда останется трудолюбивым, честным, скромным и верным своему долгу ученым и гражданином.

Коллекция Института микробиологии

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Շղվածքներ

Դազարյան Վ Օ Դանիելյան Թ Ս Առուստամյան Ա Վ Տարբեր կենսական ձևերի յուլենիլ քույսերի տերենների աուքսին-ինհիբիտորային ակտիվությունը 3

Սիլաբանյան Ա Ս Լավաաարդյան Ե Ս Տոմատի հեռավոր հիբրիդների ճնղքավորման բնույթի կախվածությունը Օաղակախոշու ցանակից փոշոսման ժամանակ 8

Մուսասկի Ա Ս Կլադոգրամների օգտագործումը խաշոր խմբերի ցերկոմերոմոֆ սառնալակ որդերի տաքսոնոմիկ կարգավիճակի որոշման համար 18

Գրիգորյան Ե Գ Սարգսյան Ս Ս Դավթյան Լ Տ Դենդրոբացիլինի և նոմոլտի կամառեղ փորձարկումը կաղամբի, խնձորենու ցեցերի և պաղպաղեցի դեմ 25

Խուդավերդյան Ա Յու Պալեոդենոգրաֆիկ մոտեցումը անտրոպոլոգիական հետազոտություններում 29

Դազարյան Պ Ա Վարդանյան Ս Ս Շիրինյան Ի Ս Իսրաելյան Կ Ի Պոլիմուլկլետոլիդների ազդեցությունը մեծբրանների ֆոսֆոլիպիդային կառուցվածքի և յւ-ադենոսեցեպսոտների վրա իոնիզացնող ճառագայթման ժամանակ 35

Կարալովա Ե Ս, Դակոբյան Լ Ա, Գաբրիելյան և Ա Կանույան Ա Ս Սաղաթյան Յու Ա Դեպատոցիտների ֆունկցիոնալ փճակի վրա նատրիումի թիոսուլֆատի ազդեցության ցիտոլոգիական ուսումնասիրությունը առնետների մոտ ինդուկցված սուր պանկրեատիտի դեպքում 41

Սաղաթյան Յու Ա Կարալովա Ե Ս, Դակոբյան Լ Ա Գաբրիելյան Լ Ա Կանայան Ս Ս Դեպատոցիտների և էլզոկրին պանկրեացիտների պոպուլյացիաների փոխհարաբերությունը նատրիումի թիոսուլֆատի ազդեցության դեպքում առնետների մոտ էքսպերիմենտալ սուր պանկրեատիտի ժամանակ 46

Դարությունյան-Կոզակ Բ Ա, Դազարյան Ա Լ Գրիգորյան Գ Գ Դեքիւյան Ա Ա Դեց Կ Կոզակ Յու Ա Ընկալման դաշտերի անհամասեռ տարածական կառուցվածքով օժտված կողմնային ձկնաձև մարմնի նեյրոնների ֆունկցիոնալ նշանակությունը 53

Դարությունյան-Կոզակ Բ Ա, Դազարյան Ա Լ Գրիգորյան Գ Գ, Դեքիւյան Ա Ա Դեց Կ Կոզակ Յու Ա Կատուների կողմնային ձկնաձև մարմնի նեյրոնների ընկալման դաշտերի տարածական կառուցվածքը 59

Յրբույան Ա Ռ Զաքարյան Ռ Ա Դարությունյան Կ Գ, Սանուկյան Կ Լ Դազարյան Լ Փ Սարգոլ կալիդերմալ աճի գործոնի ընդունիչի պլաստոսկոզենի քրոմատինի կառուցվածքի մասին 65

Թովուսյան Գ Խ Դազարյան Բ Ա Կարսեղյան Ա Ս Վարդանյան Ս Ռ Գամոա-ամֆինակսուրագաթթվով մարդու արյան լեյկոցիտների և առնետներու ուղեղի թիրոզինիլոքսսիլազի ակտիվության արգելակման մասին 70

Դազարյան Պ Ա, Սարգսյան Ս Ս Գասպարյան Ա Ռ Աստարյան Ա Վ Մարտնյան Ա Վ Նատրիումի սուլֆիդատի ազդեցությունը հետաառեցված և յվացված էրիթրոցիտների մեծբրանների բաղադրիչների վրա 75

Սիլաբանյան Է Լ Զիրյան Ա Բ, Օգանեզովա Գ Գ Դովիաննիայան Է Ա Կամույան Ա Վ Ավետիսյան և Ա Բրեւիստերուտ lactofermentum-ի

Ֆտորալիիրովատի նկատմամբ զգայուն մուտանտների անջնատումը և ուսումնասիրումը	79
<i>Պոստոյան Ա.Ռ.</i> Խոշոր եղջերավոր անասունների տրիպանոսոմոզ հիվանդության հարուցիչների տարածողները Կուբայի հանրապետությունում	85
<i>Ալեխոյան Ի.Վ., Ջանփոլադյան Ե.Գ., Աղաբալյան Ա.Ա.</i> Երկպարույր Ռևմ-ի կալցիումական նստվածքի ազդեցությունը կենդանիների կենսակայունության վրա որոշ փորձառական պարզլոգիաների ժամանակ	91

Շամառոտ հաղորդումներ

<i>Չիրոյան Ա.Ն., Դավթյան Վ.Ա., Սիմոնյան Ռ.Կ., Երիցյան Ա.Կ., Առուստամյան Ա.Վ.</i> Արագածի բարձր լեռնային բույսերի վերերկրյա հատվածի որոշ տրոֆիկ նյութերի և մոլորային տարրերի պարունակությունը	94
<i>Կարապետյան Ջ.Ա., Մկրտչյան Ռ.Ա., Գալստյան Կ.Կ.</i> Հայաստանի Արարատյան հարթավայրի բանջարաբուստանային կուլտուրաների և կարտոֆիլի ֆիտոնեմատոդները	98
<i>Նիկողոսյան Վ.Գ.</i> Ցորենի ու զարու արմատային համակարգի ազատ ուպրոդ ազոտֆիքսատորների ազոտ ֆիքսման ակտիվությունը	101
<i>Մանուկյան Ռ.Ռ., Խաչիկյան Լ.Ա.</i> Աղուտ-աչկալի հողերի մելորատիվ վիճակը կախված փոխանակային հիմքերի կազմից և մանրաբանական ակտիվությունից նրանց գյուղատնտեսական օգտագործման ընթացքում	104
<i>Չիրոյան Ա.Բ., Կոստյան Ա.Վ., Օզանեզովա Գ.Գ., Աղաբալյան Է.Լ., Հովհաննիսյան Ն.Ս., Ալեխոյան Ն.Ս.</i> Ֆագակայուն մուտանտների անջնատումը և ուսումնասիրումը <i>Brevibacterium lactofermentum</i> ԼԻՏԻՍ-88 լիզին արտադրող շտամի մոտ	109
<i>Հովհաննիսյան Ռ.Գ., Սահակյան Գ.Լ., Դանթարյան Լ.Ռ.</i> Կենսածին էլեմենտների ոլերը հիդրոլիտիսամակարգերում ավտոտրոֆ շլոթայի ֆունկցիոնալ ակտիվության կարգավորման մեջ	114
<i>Այրումյան Կ.Ս., Այվազյան Ա.Ա.</i> Կասպիական հնդկահավի պահումը անազառ պայմաններում	117
<i>Այրումյան Կ.Ս., Այվազյան Ա.Ա.</i> Կասպիական հնդկահավի հետաաղմնային գարգաջուրը անազատ պայմաններում	121
<i>Մակարյան Ա.Ռ., Դադիկյան Կ.Ա., Կասաբյան Ս.Գ.</i> Որոշ գիշատիչ կաթնասունների ներկայացուցիչների մակերիկանների կառուցվածքի առանձնահատկությունները	124

Ավանդադրված հողվածների ուժեղատներ

<i>Ազրիկյան Ա.Վ., Շեկոյան Օ.Օ., Արաբեկյան Ռ.Ս.</i> Գետնախնձորի (տոպինամբուր) կուլտուրան և անցքման հեռանկարները	127
<i>Ազրիկյան Ա.Վ., Ազրիկյան Վ.Ա., Heracleum</i> ցեղի արմատային համակարգի կենսաբանա-էկոլոգիական առանձնահատկությունները Հայաստանում	128
<i>Մելիքյան Ա.Շ.</i> Համառոտ տվյալներ վայրի գազարի անատոմիայի մասին	129
<i>Հարությունյան Ա.Գ.</i> Վարդագույն կատարանուսի փոշանոթի պատի ծևավորումը և զարգացումը բաց հիդրոպոնիկայի պայմաններում	131
<i>Մելիքյան Ա.Շ., Beta L.</i> ցեղի վայրի տեսակների խաչասերման մասին	132

<i>Նիկողոսյան Ս.Ա., Դանիլովա Կ.Ս.</i> Սևանի լճի ջրլող թռչունների դիպլոստոմիդները	133
<i>Դազարյան Պ.Ա., Վարդանյան Ս.Ս., Սահարյան Ա.Կ.</i> Լիպիդների փոխանակության խանգարումները իոնիզացնող ճառագայթման ժամանակ և պոլինուկլեոտիդների օգտագործումից հետո	134
<i>Թաղևոսյան Վ.Բ., Միսակյան Ս.Գ.</i> Ազատ ապրող և պարզեցն նախակենդանիների ռեակցիան որոշ տոքսիկ նյութերի ազդեցության նկատմամբ	136
<i>Միսակյան Ս.Գ., Ավետիսյան Ա.Ա., Թաղևոսյան Վ.Բ., Մելիքյան Գ.Ս.</i> ԱՆՍԻՆ-85 և 3-ցիան-4-2-հիդրօքսիֆենիլ-5,5 դիմեթիլ Δ^1 -րուտենոլիդի ազդեցությունը նախակենդանիների կենսագործունեության և <i>Crepis capillans</i> -ի սերմերի վրա	137
<i>Մուսանյան Ա.Գ.</i> Արտի մազանոթային համակարգի լինճակը փորձառական կարդիոմիոպատիայի զարգացման ընթացքում	138
<i>Աղաջանյան Վ.Ա., Աղաջանյան Ա.Խ., Գալուան Ս.Ս.</i> Պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտների մաքրումը և նյանց ակտիվության կարգավորումը առնետի ուղեղիկում	140
<i>Աղաջանյան Ա.Խ., Աղաջանյան Վ.Ա., Դավթյան Ս.Ս.</i> Պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտները առնետի ուղեղիկում	141

БЖА, 1-2 (50), 1997

СОДЕРЖАНИЕ

Статьи

<i>Казарян В.О., Даниелян Т.С., Арустамян А.В.</i> Ауксин-ингибиторная активность листьев ювенильных растений различных жизненных форм ...	3
<i>Агаджанян А.М., Навасардян Е.М.</i> Характер расщепления у отдаленных гибридов томата в зависимости от количества пыльцы при опылении ...	8
<i>Спасский А.А.</i> Об использовании кладограмм при установлении таксономического ранга крупных групп церксомероморфных плоских червей	18
<i>Григорян Е.Г., Саркисян М.А., Давтян Л.Т.</i> Совместное испытание дендробациллина и номольта против капустной, яблонной и плодовой молей	25
<i>Худавердян А.Ю.</i> Палеодемографический подход в антропологических исследованиях	29
<i>Казарян П.А., Варданян М.С., Ширинян Э.А., Исраолян К.И.</i> Влияние полинуклеотидов на фосфолипидную структуру мембран и β -адренорецепторы при ионизирующем облучении	35
<i>Каралова Е.М., Акопян Л.А., Габриэлян Н.А., Каяян А.С., Магакян Ю.А.</i> Цитологическое исследование действия тиосульфата натрия на функциональное состояние гелатоцитов при индуцированном остром панкреатите у крыс	41
<i>Магакян Ю.А., Каралова Е.М., Акопян Л.А., Габриэлян Н.А., Каяян А.С.</i>	

О взаимоотношениях между популяциями гепатоцитов и экзокринных панкреатитов в процессе экспериментального острого панкреатита у крыс при воздействии на них тиосульфатом натрия	46
<i>Арутюнян-Козак Б.А., Казарян А.Л., Григорян Г.Г., Экимян А.А., Дец К., Козак Ю.А.</i> Функциональное значение нейронов латерального коленчатого тела, обладающих гетерогенной пространственной организацией рецептивных полей	53
<i>Арутюнян-Козак Б.А., Казарян А.Л., Григорян Г.Г., Экимян А.А., Дец К., Козак Ю.А.</i> Пространственная организация рецептивных полей нейронов латерального коленчатого тела кошки	59
<i>Джербашьян А.Р., Захарян Р.А., Арутюнян К.Г., Манукян К.Л., Казарян Н.П.</i> К структуре хроматина протоонкогена рецептора эпидермального фактора роста человека	65
<i>Товмасын А.Х., Казарян Б.А., Барсегян А.А., Вартамян М.Р.</i> О торможении активности тирозингидроксилазы из лейкоцитов крови человека и мозга крыс гамма-аминомасляной кислотой	70
<i>Казарян П.А., Саркисян М.А., Гаспарян С.Р., Саарян А.В., Антонян А.В.</i> Влияние сукцината натрия на компоненты мембран размороженных и отмытых эритроцитов	75
<i>Агабекян Э.Л., Читчян М.Б., Оганезова Г.Г., Оганесян Н.А., Кажоян С.В., Аветисян Н.С.</i> Получение и изучение фторпируватчувствительных мутантов у <i>Brevibacterium lactofermentum</i>	79
<i>Постоян С.Р.</i> Переносчики возбудителей трипаносомоза крупного рогатого скота в Республике Куба	85
<i>Алетисян И.В., Джанголадян Е.Г., Агабалян А.С.</i> Влияние кальциевого преципитата дсРНК на выживаемость животных при некоторых экспериментальных патологиях	91

Краткие сообщения

<i>Зироян А.Н., Далтян В.А., Симонян Р.К., Ерицян С.К., Арустамян А.В.</i> Содержание некоторых трофических веществ и зольных элементов в надземной части высокогорных растений г.Арагац	94
<i>Карапетян Дж.А., Мкртчян Р.С., Аюбян К.В.</i> Фитонематоды овоще-бахчевых культур и картофеля в Араратской равнине Армении	98
<i>Никогосян В.Г.</i> Азотфиксирующая активность свободноживущих азотфиксаторов корневой системы пшеницы и ячменя	101
<i>Манукян Р.Р., Хачикян Л.А.</i> Мелиоративное состояние солонцов-солончаков в зависимости от состава обменных оснований и микробиологической активности почв в период их сельскохозяйственного использования	104
<i>Читчян М.Б., Кажоян С.В., Оганезова Г.Г., Агабекян Э.Л., Оганесян Н.А., Аветисян Н.С.</i> Получение и изучение фторрезистентных мутантов штамма-продуцента лизина <i>Brevibacterium lactofermentum</i> НИТИА-88 ...	109
<i>Оганесян Р.Г., Саакян Д.Л., Амбарян Л.Р.</i> Роль биогенных элементов в регуляции функциональной активности автотрофной цепи в гидрозкосистемах	114
<i>Айрумян К.А., Айвазян С.А.</i> Содержание каспийского уларя (<i>Tetraogallus</i>	

<i>caspius</i> Gm.) в условиях неволи	117
Айрумян К.А., Айвазян С.А. Постэмбриональное развитие каспийского улара <i>Tetraogallus caspius</i> Gm. в условиях неволи	121
Макарян С.Р., Дадибян К.М., Касабян М.Г. Особенности структуры надпочечников у некоторых представителей хищных млекопитающих	124

Рефераты депонированных статей

Априкян С.В., Шекоян О.О., Атабекян Р.С. Культура топинамбура - интродукция - перспектива выращивания	127
Априкян С.В., Априкян В.С. Биолого-экологические особенности корневой системы борщевиков Армении	128
Меликян А.Ш. Краткие сведения об анатомии моркови дикой	129
Арутюнян А.Г. Формирование и развитие стенки пыльника катарантуса розового на открытой гидропонике	131
Меликян А.Ш. О скрещиваемости диких видов рода <i>Beta</i> L.	132
Никогосян М.А., Данилова К.М. Диплостомиды водных птиц озера Севан	133
Казарян П.А., Варданян М.С., Саврян А.В. Нарушения липидного обмена при ионизирующем облучении и после применения полинуклеотидов	134
Татевосян В.Б., Сисакян С.А. Реакция свободноживущих и патогенных простейших на воздействие некоторых токсических веществ	136
Сисакян С.А., Аветисян А.А., Татевосян В.Б., Меликян Г.С. Действие Антин-85 и 3-циан-4-2-гидроксифенилвинил-5,5-диметил Δ^1 -бутенолида на жизнедеятельность простейших и на семена <i>Crepis capillaris</i>	137
Сусанян М.Г. Состояние капиллярного русла сердца в динамике развития экспериментальной кардиомиопатии	138
Агаджанян В.А., Агаджанян А.Х., Галоян А.А. Очистка ферментов биосинтеза пролина мозжечка крыс и их регуляторные свойства	140
Агаджанян А.Х., Агаджанян В.А., Давтян М.А. Ферменты биосинтеза пролина в мозжечке крыс	141

ВЖА, 1-2 (50), 1997

CONTENTS

Articles

Kazarian V.O., Danielian T.S., Arustamian A.V. Auxin-inhibitory activity of leaves in different vital forms of juvenile plants	3
Aghajanian A.M., Navasardian E.M. Character of split in remote hybrids of tomato depending on the pollen quantity during pollination	8
Spassky A.A. On a use of cladograms for determination of taxonomic rank in large groups of cercomeromorphous flatworms	18
Grigorian E.G., Sarkisian M.A., Davtian L.T. Dendrobacillin and nomolt combined test against cabbage, codling and ermine moths	25

<i>Khudaverdian A. Yu.</i> Paleodemographic approach in anthropological studies	29
<i>Kazaryan P.A., Vardanyan M.S., Shirinyan E.A., Israelyan K.I.</i> Influence of polynucleotides on membranes phospholipidic structure and R-adrenoreceptors during ionizing irradiation	35
<i>Karalova E.M., Hakopian L.H., Gabrielyan N.A., Kanayan A.S., Maghakian Yu.A.</i> Cytological investigation of the sodium thiosulfate effect on functional state of hepatocytes at the induced acute pancreatitis of rats	41
<i>Maghakian Yu.A., Karalova E.M., Hakopian L.A., Gabrielyan N.A., Kanayan A.S.</i> Relations between populations of hepatocytes and exocrine pancreocytes on the effect of sodium thiosulfate during experimental acute pancreatitis of rats	46
<i>Harutyunian-Kozak B.A., Kazarian A.L., Grigorian G.G., Hekimian A.A., Dec K., Kozak Y.A.</i> Functional significance of lateral geniculate nucleus neurons with heterogeneous spatial organization of receptive fields	53
<i>Harutyunian-Kozak B.A., Kazarian A.L., Grigorian G.G., Hekimian A.A., Dec K., Kozak Y.A.</i> Spatial organization of receptive fields of lateral geniculate nucleus neurons of cats	59
<i>Irbashian A.R., Zakharian R.A., Harutyunian K.H., Manukian K.L., Kazarian H.P.</i> On a structure of protooncogene chromatin of human epidermal growth factor receptor	65
<i>Tovmasyan A.Kh., Kazaryan B.A., Barsegyan A.A., Vartanyan M.R.</i> On inhibition of tyrosine hydroxylase activity from human blood leucocytes and rats brain by gamma-aminobutyric acid	70
<i>Kazarian P.A., Sargsian M.A., Gasparian S.R., Saharian A.V., Antonian A.V.</i> Influence of sodium succinate on membrane components of defrosted and washed erythrocytes	75
<i>Agabekian E.L., Chitchyan M.B., Oganezova G.G., Hovhannessian N.A., Kajoyan S.V., Avelisian N.S.</i> Isolation and investigation of fluoropyruvate sensitive mutants of <i>Brevibacterium lactofermentum</i>	79
<i>Postoyan S.R.</i> Transmitters of cattle trypanosomosis in Republic of Cuba	85
<i>Avelisian I.V., Dzhanpokadyan E.G., Agabekian A.S.</i> Effect of two-helix RNA calcium precipitate on viability of animals curing some experimental pathologies	91

Short communications

<i>Ziryan A.N., Davtian V.A., Simonian R.K., Yeritsian S.K., Arustamian A.V.</i> Contents of some trophic substances and elements of ashes in the overground part of high mountainous plants of Aragats	94
<i>Karapetian J.A., Mkrtchian R.S., Hakopian K.V.</i> Phytonematodes from vegetable cultures and potato in Ararat plain of Armenia	98
<i>Nikoghosian V.G.</i> Nitrogen-fixing activity of free-living nitrogen-fixators from root system of wheat and barley	101
<i>Manukyan R.R., Khachikyan L.A.</i> Meliorative state of salted soils depending on composition of exchanged basic elements and microbiological activity during their agricultural utilization	104
<i>Chitchyan M.B., Kajoyan S.V., Oganezova G.G., Agabekian E.L.,</i>	

<i>Hovhannessian N.A., Avetisian N.S.</i> Isolation and investigation of phage-resistant mutants of lysine producer strain <i>Brevibacterium lactofermentum</i> NITIA-88	109
<i>Hovhannessian R.H., Sahakyan D.L., Hambaryan L.R.</i> Role of biogenic elements in regulation of functional activity of autotrophic chain in hydrosystems	114
<i>Ayrumian K.A., Ayvasian S.A.</i> Maintenance of <i>Tetraogalus caspius</i> in capture ...	117
<i>Ayrumian K.A., Ayvasian S.A.</i> Postembryonal development of <i>Tetraogalus caspius</i> in capture	121
<i>Makaryan S.R., Dadikyan K.M., Kasabyan M.G.</i> Structural peculiarities of the adrenal glands in predatory mammals some representatives	124

Abstracts of deponated articles

<i>Aprikian S.V., Shekoyan O.O., Atabekian R.S.</i> Topinambur culture - perspectives of cultivation	127
<i>Aprikian S.V., Aprikian V.S.</i> Biological and ecological peculiarities of root system of genus <i>Heracleum</i> in Armenia	128
<i>Melikian A.Sh.</i> Briefly on the anatomy of wild carrot (<i>Daucus L.</i>)	129
<i>Harutyunyan A.G.</i> Formation and development of the anther wall of <i>Catharanthus roseus</i> in open-air hydroponics	131
<i>Melikian A.Sh.</i> On a crossing of wild types of genus <i>Beta L.</i>	132
<i>Nikoghosian M.A., Danilova K.M.</i> Family <i>Diplostomidae</i> in waterfowls of the lake Sevan	133
<i>Kazaryan P.A., Vardanyan M.S., Saharyan A.V.</i> Disturbances of lipid metabolism at ionizing irradiation and alter use of polynucleotides	134
<i>Tatevosian V.B., Sisakian S.H.</i> Reaction of free-living and pathogenous <i>Protozoa</i> on effect of some toxic substances	136
<i>Sisakian S.H., Avetisian A.A., Tatevosian V.B., Melikian G.S.</i> Effects of Antin-85 and 3-cyan-4-2-hydroxyphenylvinyl-5,5-dimethyl γ -butenolide on the vitality of <i>Protozoa</i> and <i>Crepis capillaris</i> seeds	137
<i>Susanian M.G.</i> State of heart capillary system during the development of experimental cardiomyopathy	138
<i>Aghajanian V.A., Aghajanian A.Kh., Galoian A.A.</i> Purification of proline biosynthesis enzymes from rat cerebellum and their regulatory properties ...	140
<i>Aghajanian A.Kh., Aghajanian V.A., Davtian M.A.</i> Enzymes of proline biosynthesis in rat cerebellum	141

ԲՈՎԱՆՂԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Օրիգինալ հոդվածներ

Չաքարյան Գ.Վ. Սելքոնյան Ա.Ա., Կարազյոզյան Կ.Գ. Սոլիբոենի ազդեցությունը լլափոցների պերօքսիդացիոն պրոցեսի. հսկաօքսիդացիոն ֆերմենտների ակտիվության և ֆոսֆոլիպիդային մետաբոլիզմի վրա	161
Աբելյան Վ.Գ. Աֆյան Կ.Բ. Սանուկյան Լ.Ա. Աղալյան Ս.Օ <i>Bacillus halophilus</i> -ի ցիկլոմալտոզեստրին գլլուկանոտրանսֆերազի ակտիվ կենտրոնի ուսումնասիրությունը	166
Չովհաննիսյան Ն.Ա., Գևորգյան Ս.Գ., Չիտյան Ս.Բ., Սոլսբեկյան Գ.Լ. Օզանեզոլա Գ.Գ. Կաժոյան Ա.Վ. Ավետիսյան Ն.Ա. Լիսկանյան Վ.Ա. <i>E. coli</i> -ի ՖեՊ կարբոքսիլազի գենի տեղափոխումը և էքսպրեսիան կորիներակտ-րիաների բջիջներում	173.
Չովհաննիսյան Գ.Գ. Խաչատրյան Լ.Ս. Չովհաննիսյան Ս.Ս. <i>Escherichia coli</i> K-12-ի մոտ բազմաշաքար գերսինթեզող մուտանտների սելեկցիան բակտերիոֆագերի օգնությամբ	179
Շամցյան Մ.Ա. Սոլոզովնիկ Վ.Ա. Յակովլյեվ Վ.Ի. Աֆրիկյան Է.Գ. Չիդրոլիզացված օսլա սարունակող հումքից կաթնաքթի ստացման մեթոդ	183
Քալաչյան Ա.Ս. Սելքոնյան Ա.Գ. Աֆրիկյան Է.Գ. Խմորման արտադրությունների բափոցների օգտագործումը <i>B. p</i> վիտամինի կենսասինթեզում	187
Չուրաբյան Ա.Ս., Մարտանյան Գ.Գ. Կարաբեկով Բ.Պ., Սիմոնյան Ս.Ս. Սաթենատիլական մոդելավորման սկզբունքները ամինաթթուների կենսասինթեզում	190
Վարդանյան Ն.Ս. Fe^{2+} և Fe^{3+} իոնների ազդեցությունը <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> -ի աճի և օքսիդացնող ակտիվության վրա	195
Գասպարյան Ա.Վ. Կինոսյան Ա.Գ. Խալոդի վազի էոլված ճյուղերի սպիտակուցով հարստացումը <i>Trichoderma reesei</i> -ի և շաքարասնկերի կուլտուրաներով	198
Ակրտունյան Մ.Կ. Պոպով Յու.Գ. Ելերբակովա Ե.Ն., Փանոսյան Ա.Գ. Կուզովկինա Ի.Ն. Տորոնի <i>Flavis moniliorm</i> L կալուսային կուլտուրայում անսուրախինոնների կենսասինթեզը	203
Բաղդասարյան Ա.Ն. <i>Bacillus pumilus</i> -ի բարձր սպորոզեն ակտիվությամբ կուլտուրաների տուսցման մասին	207
Օրծանյան ժ.Խ. Թադևոսյան Պ.Ե. Խաչատրյան Ա.Ա. Կինոսյան Ա.Գ. Աֆրիկյան Է.Գ. Էնտոմոպարոզեն բակտերիաների տարածվածությունը միջատների տարբեր խմբերում և նրանց մոծակասպան ակտիվությունը	210
Բաղդասարյան Ա.Ն. Աֆրիկյան Է.Գ. <i>Bacillus thuringiensis</i> -ի ռեկոմբինանտների ստացումը սֆերուլաստների ֆուզիայի եղանակով	216
Բաղդյան Վ.Ա. Նոր օսլազային ակտիվությամբ շաքարասնկերի կիրառումը հացաթխման մեջ	221
Էլիսզյան Ա.Ա., Պարոնյան Ա.Խ. Ֆոտոտրոֆ բակտերիաների գլյուկոզ-իզոմերազային ակտիվությունը	226
Պարոնյան Ա.Խ. Լուսի ինտենսիվության ազդեցությունը <i>Rhodospseudomonas sphaeroides</i> D-10 շտամի աճի և կարոտինոյների առաջացման վրա	229
Չալեբյան Դ.Պ. Թոզալակյան Պ.Վ. Գաբրիելյան Ֆ.Կ., Սելքոնյան Ա.Բ.	

<i>Բարախանյան Ա.Վ.</i> ԵԱ-420 մակերեսային ակտիվ նյութի ազդեցությունը <i>Erwinia aroides</i> բջիջների ասպարտազային ակտիվության հայտացման վրա	234
<i>Չովհաննիսյան Օ.Օ., Գարրիեյան Բ.Կ.</i> Սևանա բեղլուի մորֆոէկոլոգիական ցուցանիշների փոփոխությունը Սևանա լճի հիդրոէկոլոգիական փոխակերպումների պայմաններում	239
<i>Չակոբյան Ե.Խ.</i> Հայաստանի <i>Arctia Schrk</i> 1801 (<i>Lepidoptera, Arctiidae</i>) ցեղի արջաթիթեռները	244
<i>Սուրադյան Ա.Ա., Չոհրաբյան Յու.Գ., Ալևազյան Գ.Խ.</i> Պրոստաու-սպեցիֆիկ անտիգեն տեստի օգտագործումը քաղցկեղի ախտորոշման համար	249

Համառոտ հաղորդումներ

<i>Բեգլարյան Գ.Ա., Ֆրանգուլյան Է.Ռ., Գևորգյան Ճ.Ս.</i> Լիպիդների պերօքսիդացման ինտենսիվության և ԱԵՖ-ազայի ակտիվության փոփոխությունները օնտոգենեզում	253
<i>Հարությունյան Դ.Գ., Աղաջանյան Ա.Ե., Վարդանյան Ա.Ա.</i> Ջերմաստիճանի ազդեցությունը Լ-գլյուտամինաթթվի կենսասինթեզի վրա	257
<i>Խուդավերդյան Ե.Կ.</i> Լուլլելինաթթուների քանակական փոփոխությունները լյարդի և ուռուցքային հյուսվածքներում 5-ֆտորուրացիլի, մետոթրեկաստի և դեկսամետազոնի ազդեցության տակ	260
<i>Բաղդյան Վ.Ա.</i> Օսմոֆիլ շաքարասնկերի նոր շտամների կիրառումը շաքարասնկային արտադրությունում	262
<i>Չովհաննիսյան Ռ.Գ., Չովհաննիսյան Ա.Գ., Հարությունյան Ա.Գ.</i> Բժավորության վիրուսից գերծեղման մեխանիզմների տնկաչիվերի ստացումը	265
<i>Արծրունի Ե.Ա., Բարսեղյան Է.Խ., Դավթյան Ս.Ս.</i> Ֆունկցիոնալ SH-խմբերի դերը <i>Rana ndibunda</i> շերեփուկների լյարդի արգինազի ակտիվության դրսևորման մեջ	268
<i>Սուսանյան Ս.Գ.</i> Արտի միկրոհեմոցիրկուլյացիայի մորֆոլոգիական ասպեկտները միոկարդի փորձարարական վնասման դեպքում	270
<i>Ազիզյան Ա.Ի.</i> Ծննդաբերական ակտիվության անոմալիաները կեսարյան հատումից արգանդի սպիռված կանանց մոտ	273
<i>Քոթանյան Ա.Օ.</i> Օդերևութաբանական գործոնների ազդեցությունը սիրտ-անոթային հիվանդությունների հաճախականության վրա	275

Ավանդադրված հոդվածների ռեֆերատներ

<i>Կիրակոսյան Ա.Գ., Հարությունյան Ռ.Ա., Չալիկյան Գ.Գ.</i> Մարդու կուլտուրայում լիզինի, արգինինի և դրանց սինթեզի միջանկյալ նյութերի սինթեզի ուսումնասիրումը	279
<i>Պիպոյան Ս.Խ.</i> Արարատյան հարթավայրի ջրամբարների դառնուկի <i>Rhodeus sericeus amarus (Bloch)</i> բեղունությունը	280
<i>Սահակյան Գ.Ա.</i> Աշնանացան փափուկ ցորենի վաղահասության հատկանիշի ժառանգման և փոփոխականության մասին	281
<i>Սահակյան Գ.Ա., Դազարյան Ս.Խ., Էփոյան Վ.Վ.</i> Երաշտադիմացկունության հատկանիշի ժառանգումը աշնանացան փափուկ ցորենի առաջին հիբրիդային սերնդում	282
<i>Սիրզոյան Վ.Ա., Սիրզոյան Ա.Վ.</i> Տարազույզ մետաքսագործի թոթորներով	

վարակված կաղնու և բարդու տերևներում կենսաքիմիական բաղադրատարրերի փոփոխությունները	283
<i>Սախակյան Գ Ս., Սարգսյան Ա Ա</i> Հետերոզիսի դրսևորումը գործնի հիբրիդներում կախված տարբեր ժազման մնուշների խաւածնումից	284
<i>Թումանյան Ա Գ</i> Սարդու լեղու P-ՍՍՈ-սպեկտրոսկոպիան	285
<i>Ազիզյան Ա Ի</i> Արզանդի սպիի կլինիկա-մորֆոլոգիական պատկերը	286
<i>Թումանյան Ա Գ</i> Լիպիդների փոխանակության փճակը, լյարդի ախտահանիչ ֆունկցիան և իմունային ստատուսը խուլեստազով հիվանդների մոտ	287
<i>Աղաբաւրյան Գ Ո., Գրիգորյան Կ Գ., Սոաքեյան Ա Ն.</i> Աղապտացիայի մեխանիզմ- ները համակարգչի վրա երկարատև միապաղաղ աշխատանքի ընթացքում	288
<i>Խուղապիրոյան Ն.Կ.</i> Հակաուռուցքային պրեպարատների ազդեցությունը ուռուցքակիր տոնետների լյարդի և սարկոմա-45 ուռուցքի ՂՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի պարունակության վրա	289

Տարբեր նյութեր

Անվանի գիտնականը և մանկավարժը	291
Լյուեն Չոնի Նալբանդյան	294

БЖА, 3-4 (50), 1997

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

<i>Захарян Г.В., Мелконян М.М., Карагөзյан К.Г.</i> Действие молибдена на процесс перекисного окисления липидов, активность антиокислительных ферментов и метаболизм фосфолипидов	161
<i>Абелян В.А., Афын К.Б., Манукян Л.С., Адамян М.О.</i> Изучение активного центра цикломальтодекстрин глюканотрансферазы <i>Bacillus halophilus</i> ...	166
<i>Օգանեսյան Ն.Ա., Գևորգյան Մ.Գ., Չիտչյան Մ.Բ., Աղաբեկյան Յ.Լ., Օգանեսյան Գ.Գ., Կառոյան Ս.Վ., Աւետիսյան Ն.Ս., Տականյան Վ.Ա.</i> Поронос и экспрессия ФЕП-карбоксилазы <i>Escherichia coli</i> в клетках коринеформных бактерий	173
<i>Օգանեսյան Գ.Գ., Խաչատրյան Լ.Ս., Օգանեսյան Ս.Ս.</i> Селекция полисахаридсверхсинтезирующих мутантов у <i>Escherichia coli</i> K-12 с помощью бактериофагов	179
<i>Շամցյան Մ.Մ., Տաղաթովիկ Կ.Ա., Կովալյան Վ.Ի., Աֆրիկյան Յ.Կ.</i> Получение мопочной кислоты из негидролизованного крахмалсодержащего сырья	183
<i>Բալայան Ա.Մ., Մալխումյան Ա.Գ., Աֆրիկյան Յ.Կ.</i> Использование отходов бродильной промышленности в биосинтезе витамина В ₁	187
<i>Յւրաբյան Ա.Ս., Մարձջանյան Գ.Գ., Կարաբեկով Բ.Լ., Տիմոնյան Մ.Մ.</i> Принципы математического моделирования в биосинтезе аминокислот	190
<i>Վարդանյան Ն.Ս.</i> Влияние ионов Fe ²⁺ и Fe ³⁺ на рост и окислительную активность <i>Sullobacillus thermosulfidooxidans</i>	195
<i>Դասարյան Ա.Վ., Կոնյան Մ.Ա.</i> Биоконверсия обрезков виноградной лозы	

в блок культурами <i>Trichoderma reesei</i> и дрожжей	198
Мкртумян М.К., Попов Ю.Г., Щербакова Е.Н., Ланосян А.Г., Кузовкина И.Н. Биосинтез антрахинонов в каллусной культуре <i>Rubia tinctorum</i> L.	203
Багдасарян С.Н. О получении культур <i>Bacillus popilliae</i> с высокой спорогенной активностью	207
Орманян Ж.Х., Татевосян П.Е., Хачатурян А.А., Киносян М.А., Африкян Э.К. Распространение энтомопатогенных бактерий у разных групп насекомых и их москитоцидная активность	210
Багдасарян С.Н., Африкян Э.К. Получение рекомбинантов <i>Bacillus thuringiensis</i> методом фузии сферопластов	216
Багиян В.А. Применение новых мальтазаактивных дрожжей в хлебопечении	221
Элизян А.А., Паронян А.Х. Глюкозоизомеразная активность фототрофных бактерий	226
Паронян А.Х. Влияние интенсивности освещения на рост и образование каротиноидов <i>Rhodospseudomonas sphaeroides</i> Д-10	229
Алебян Г.П., Тозалакян П.В., Габриелян Ф.К., Мелконян А.Б., Бабаханян А.В. Влияние поверхностно-активного вещества БА-420 на проявление аспартазной активности клеток <i>Erwinia aroridea</i>	234
Оганесян О.О., Габриелян Б.К. Изменение морфозкологических параметров саванского усача - <i>Varbus goktschaicus</i> в условиях гидроэкологических преобразований озера Севан	239
Акопян Н.Х. Медведицы рода <i>Arctia</i> Schrk. 1801 (Lepidoptera, Arctidae) в Армении	244
Мурадян А.А., Зограбян Ю.Г., Авакян А.Х. Об использовании геста простат - специфического антигена в диагностике рака	249

Краткие сообщения

Бегларян Г.А., Франгулян Э.Р., Геворкян Ж.С. Изменения интенсивности перекисного окисления липидов и активности АТФ-азы в онтогенезе	253
Арутюнян Д.Г., Агаджанян А.Е., Варданян А.А. Влияние температуры на биосинтез L-глутаминовой кислоты	257
Худавердян Н.В. Изменения содержания нуклеиновых кислот в печени и опухолевой ткани при воздействии 5-фторурацила, метотрексата и дексаметазона	260
Багиян В.А. Использование новых штаммов осмофильных дрожжей в дрожжевом производстве	262
Оганесян Р.Г., Оганесян М.Г., Арутюнян А.Г. Получение черенков ремонтантной гвоздики, свободных от вируса крапчатости гвоздики	265
Арцруни Н.А., Барсесян Э.Х., Давтян М.А. Роль функциональных SH-групп в проявлении активности аргиназы печени головастика <i>Rana ridibunda</i>	268
Сусанян М.Г. Морфологические аспекты микрогемодинамики сердца при экспериментальном повреждении миокарда	270
Азизян С.И. Аномалии родовой деятельности у женщин с рубцом на матке после кесарева сечения	273
Котаян А.О. Влияние метеорологических факторов на частоту	

Рефераты депонированных статей

Киракосян А.Г., Арутюнян Р.М., Залинян Г.Г. Тестирование лизина, аргинина и некоторых промежуточных продуктов их синтеза в культуре человека 279

Липоян С.Х., Айрапетян Н.Ж. Плодовитость горчака *Rhodeus sericeus atarus* (Bloch) водоемов Араратской равнины 280

Саакян Г.А. О наследовании и изменчивости признака скороспелости у озимой мягкой пшеницы 281

Саакян Г.А., Казарян М.Х., Эвоян В.В. Наследование признака засухоустойчивости у первого гибридного поколения озимой мягкой пшеницы 282

Мирзоян В.С., Мирзоян А.В. Изменение биохимических компонентов в листьях дуба и тополя, пораженных непарным шелкопрядом 283

Саакян Г.А., Саркисян А.А. Проявление гетерозиса у гибридов пшеницы от скрещивания образцов различного происхождения 284

Гуманян М.А. Р-ЯМР спектроскопия желчи человека 285

Азизян Г.И. Клинико-морфологические параллели рубца на матке 286

Гуманян М.А. Состояние обмена липидов, детоксицирующей функции печени и иммунный статус у больных с холестазом 287

Агабабян А.Р., Григорян В.Г., Аракелян А.Н. Механизмы адаптации к продолжительной монотонной работе на компьютере 288

Худавердян Н.В. Влияние противоопухолевых препаратов на содержание ДНК и РНК в печени и опухоли саркомы 45 опухоленосающих крыс 289

Разное

Известный ученым и педагог 291

Армен Давнович Налбандян 294

В.А. 3-4 (50), 1997

CONTENTS

(Original articles)

Zakharyan G.V., Melkonyan M.M., Karagulyan K.G. Effect of molybdenum on the process of lipid peroxidation, activity of antioxidant enzymes and metabolism of phospholipids 161

Abelian V.H., Alvan K.B., Manukian L.S., Adamian M.O. Study of the active site of *Bacillus halophilus* cyclomalto-dextrin glucanotransferase 166

Hovhannesyán N.A., Gevorgyan M.G., Chitchyan M.B., Agabekyan H.L., Oganezova G.G., Kajoyan S.V., Avetisyan N.S., Sakanyan V.A. Transfer and expression of *Escherichia coli* PEP-carboxylase gene in corineform bacteria 173

Hovhannisyán H.G., Khachatryan L.S., Hovhannisyán S.S. Selection of *Escherichia*

<i>coli</i> K-12 polysaccharide overproducing mutants by bacteriophages	179
Shamtsian M.M., Solodovnik K.A., Yakovlev V.I., Afrikan E.G. Method of lactic acid production from non-hydrolyzed starchy sources	183
Balayan A.M., Molkumyan A.G., Afrikan E.G. Use of fermentation wastes for biosynthesis of vitamin B ₁₂	187
Zurabyan A. S., Marjanyan G.G., Karabekov B.P., Simonyan M.M. Principles of mathematical modelling in biosynthesis of amino acids	190
Vartanian N.S. Effect of Fe ²⁺ and Fe ³⁺ ions on the growth and oxidative activity of <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i>	195
Gasparian A.V., Kinoshian M.H. Bioconversion of grape branches into protein by cultures of <i>Trichoderma reesei</i> and yeasts	198
Mkrtumyan M.K., Popov Yu.G., Shcherbakova E.N., Panosian A.G., Kuzovkina I.N. Anthraquinones biosynthesis in callus culture of madder (<i>Rubia tinctorum</i> L.)	203
Bagdasarian S.N. To obtaining of cultures <i>Bacillus popilliae</i> with high sporogenous activity	207
Ormanian Zh.Kh., Tatevosian P.E., Khachaturian A.A., Kinoshian M.H., Afrikan E.G. Distribution of entomopathogenous bacteria in different groups of insects and their mosquitocide activity	210
Bagdasarian S.N., Afrikan E.G. Obtaining of <i>Bacillus thuringiensis</i> recombinants by spheroplasts fusion method	216
Baghiyan V.A. Application of new maltase active yeasts in bakery	221
Ehizian A.A., Paronian A.Kh. Glucose-isomerase activity of phototrophic bacteria	226
Paronian A.Kh. Influence of illumination intensity on the growth and carotenoids formation of <i>Rhodospseudomonas sphaeroides</i> D-10	229
Halebyan G.P., Tozalakyan P.V., Gabrielyan F.K., Melkonyan A.B., Babakhanyan A.V. Influence of detergent BA-420 on detection of aspartase activity of <i>Erwinia arctica</i> cells	234
Hovhannesian O.O., Gabrielian B.K. Variation of morphoecological indices of Sevan's barbus - <i>Barbus Goktschaicus</i> under hydroecological changes of the lake Sevan	239
Hakopian N.Kh. Tiger moths of genus <i>Arctia</i> Schrk. 1801 (<i>Lepidoptera</i> , <i>Arctidae</i>) in Armenia	244
Muradian A.A., Zohrabian Ju.G., Avakian H.Kh. On using of the prostate-specific antigen in cancer diagnostics	249

Short communications

Beglarian G.A., Frangulian E.R., Gevorkian J.S. Changes of lipid peroxidation intensity and activity of ATP-ase in ontogenesis	253
Harutyunyan J.G., Aghajanyan A.E., Vardanyan A.A. Effect of temperature on biosynthesis of L-glutamic acid	257
Khudaverdian N.V. Changes of the nucleic acid contents in liver and tumour tissues by effect of 5-fluororacil, metotrexate and dexametasone	260
Baghiyan V.A. Application of osmophile yeasts new strains in production of yeasts	262

<i>Hovhannesian R.G., Hovhannesian M.G., Harutyunian A.G.</i> Obtaining of grafts of remontanant carnation free from virus of speckled	265
<i>Artzruni N.A., Barsegian E.A., Davtian M.A.</i> Role of functional SH-groups on detection of liver arginase activity of tadpoles <i>Rana ridibunda</i>	268
<i>Susanian M.G.</i> Morphologic aspects of heart microhemocirculation at experimental injury of myocardium	270
<i>Azizian S.I.</i> Anomales of genetic activity in women with cicatrix of uterine after cesarean section	273
<i>Kotanian A.O.</i> Effect of meteorological factors on frequency of cardiovascular diseases	275

Abstracts of deponated articles

<i>Kirakosian A.G., Harutyunian R.M., Zalinian G.G.</i> Analysis of tyzine, arginine and some intermediate products of their synthesis in human culture	279
<i>Pipoyan S.Kh., Hajrapetyan N.G.</i> The fecundity of <i>Rhodeus sericeus amarus</i> (Bloch) in the basins of Ararat plain	280
<i>Sahakian G.A.</i> On an inheritance and variability of early npeness of winter wheat	281
<i>Sanakian G.A., Ghazarian M.Kh., Evoyan V.V.</i> Inheritance of drought-resistnt feature in the first hybridous generation of winter wheat	282
<i>Mirzoyan V.S., Mirzoyan A.V.</i> Changes of the biochemical components in the leaves of oak and poplar trees damaged by the dispail gypsy moth	283
<i>Sahakian G.A., Sargisian A.A.</i> Detection of heterosis in wheat hybrids depending on crossing of different origine samples	284
<i>Tumanian M.H.</i> ³¹ P-NMR spectroscopy of human bile	285
<i>Azizian S.I.</i> Clinico-morphological characteristics of uterine scar	286
<i>Tumanian M.H.</i> The indices of fats metabolism, detoxication function of liver and immune system state in patients with biliary cirrosis	287
<i>Aghababian H.B., Grigorian V.H., Arakelian A.N.</i> Adaptation mechanisms at long-term monotonous work on computer	288
<i>Khudaverdian N.V.</i> Effect of anticancer preparations on the DNA and RNA contents in liver and tumour sarcoma-45 carrying rats	289

Miscellaneous

Famous scientist and pedagogue	291
Armen Dz. Naibandian	294