

ISSN 0366-5119

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

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆՐԵՍ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

Выходит с 1948 года на армянском, русском и английском языках

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

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

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

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

Խմբագրական կոլեգիա Է.Գ.Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Ծ.Ս.Ավագյան, Հ.Գ.Բակլավաջյան, Մ.Ա.Դավթյան, Ժ.Ի.Շակոբյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ), Ռ.Ս.Շարությունյան, Վ.Շ.Ղապարյան, Պ.Ա.Ղանդիլյան, Կ.Գ.Ղարապետյան, Ս.Խ.Մայրապետյան, Ս.Հ.Մովսիսյան, Ռ.Շ.Պապանյան (պալատականատու քարտուղար)

Խմբագրական խորհուրդ Է.Գ. Աֆրիկյան (նախագահ), Ա.Ս.Աղաբալյան, Յու.Թ.Ալեքսանյան, Է.Ց.Գաբրիելյան, Ա.Ա.Գալոյան, Ա.Լ.Թախթաճյան, Պ.Ա.Խորշոդյան, Բ.Ց.Ղարիբջանյան, Կ.Ս.Պողոսյան, Ա.Գ.Փանոսյան, Լ.Լ.Օսիպյան

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

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

Հանդեսի հովանավոր՝ Ա-Ս Զոլդինգ (ա/տ ԱմիՏուն), Մոսկվա, Ռուսաստան
Ս. Օկրոյան, Ա.Գրաբսկի

Спонсор Журнала: А-М Холдинг (т/д АмиТун), Москва, Россия
М. Окроян, А. Грабский

Օրիգինալ հոդվածներ • Оригинальные статьи • Original articles

Биолог. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 636:393.577.1

**УЧАСТИЕ БЕЛКОВ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ
МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ГЛУТАМИНАЗЫ МОЗГА**

**В.С. ОГАНЕСЯН, Е.Р. МИКАЕЛЯН, Л.Л. БАДАЛЯН, Ж.ДЖ. СААКЯН,
А.Г. ВАРДАНИЯН, Р.Г. КАМАЛЯН**

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН Армении, 375014, Ереван

Изучено влияние нативных и подвергнутых тепловой обработке белков различной природы на регуляторные свойства фосфатактивируемой глутаминазы (ФАГ) митохондрий мозга крысы. Показано, что нативный бычий сывороточный альбумин проявляет защитный эффект от активации фермента трийодо-L-тиронином (T_3), в отсутствие же последнего белок не влияет на эффективность анионных активаторов. Повышение концентрации T_3 не снимает, но заметно ослабляет защитный эффект альбумина, который еще менее выражен на фоне повышения концентрации T_3 и фосфата, а при определенном сочетании последних он полностью снимается. Термообработка приводит к незначительному изменению действия белков на ФАГ. Сделан вывод о возможном модифицирующем влиянии белкового микроокружения на регуляторные свойства митохондриальной ФАГ.

Ուսումնասիրվել է նատիվ և ջերմամշակման ենթարկված տարբեր բնույթի սպիտակուցների ազդեցությունը առնետի ուղեղի միտոքոնդրիումների ֆոսֆատով ակտիվացվող գլուտամինազայի (ՖԱԳ) կարգավորիչ հատկությունների վրա: Ցույց է տրվել, որ ցուլի շիճուկի նատիվ ալբումինը պաշտպանում է ֆերմենտը 3-յոդ-L-թիրոնինի ակտիվացնող ազդեցությունից, որի բացակայության դեպքում ալբումինը չի ազդում անիոնային ակտիվատորների էֆեկտիվության վրա: 3-յոդ-L-թիրոնինի բարձր քանակները չեն հանում, այլ նկատելիորեն թուլացնում են ալբումինի պաշտպանիչ ազդեցությունը, որը առավել թույլ է արտահայտվում 3-յոդ-L-թիրոնինի և ֆոսֆատի բարձր քանակների դեպքում, իսկ վերջիններիս որոշակի համադրության դեպքում լիովին վերանում է: Ջերմամշակումը էական փոփոխություններ չի առաջացնում ՖԱԳ-ի նկատմամբ սպիտակուցների ունեցած ազդեցության մեջ: Ստացված տվյալները վկայում են միտոքոնդրիալ ՖԱԳ-ի կարգավորիչ հատկությունների վրա սպիտակուցների հնարավոր ձևափոխող ազդեցության մասին:

The influence of different native and heat treated proteins on activity of the phosphate activated glutaminase (PAG) from rat brain mitochondria has been studied. The bovine serum native albumin protects PAG from activation by the triiodo-L-thyronine (T_3). At the same time the albumin doesn't affect on anionic effectors during absence of T_3 . The increase of T_3 concentrations considerably reduces the protective effect of albumin, which is less at high concentrations of T_3 and phosphate and is fully abolished during their definite combinations. The heat treatment causes insignificant modifications of proteins effect on PAG activity. The possible influence of the protein modification effect on regulatory properties of the mitochondrial PAG has been proposed.

Митохондрии - глутамин - глутаминаза - белки

В связи с приписываемой глутаминазе мозга роли поставщика медиаторов глутамата и ГАМК (4, 6, 10) интерес к ней не ослабевает. Он поддерживается также наличием множественной регуляции этого фермента, присутствием форм с разной клеточной локализацией, отличающихся физико-химическими, кинетическими и регуляторными свойствами, а также, скорее всего, и ролью в функционировании клетки.

Поскольку активация фосфатом связывается с ассоциацией субъединиц фермента [5, 7, 9] и предполагается, что наибольшая активность проявляется полиассоциированным белковым конгломератом, не исключается и наличие белок-белкового взаимодействия в качестве регуляторного фактора. Это выглядит достаточно правдоподобно и в свете взаимодействия фосфата с рядом факторов различной природы (ионы, нуклеотиды, гормоны, переносчики электронов и др.) в процессе регуляции ферментативной активности.

Исходя из вышеизложенного, мы попытались рассмотреть возможность участия различных белков (бычий сывороточный альбумин, γ -глобулин, печеночная алкогольдегидрогеназа лошади и бычья панкреатическая рибонуклеаза) в процессе кооперативной регуляции растворимой формы глутаминазы из митохондрий мозга крысы.

Материал и методика. В опытах использовали беспородных крыс массой 150-200 г. Митохондриальную фракцию получали из коры мозга по Палладину и Кирсенко [2]. Процедура выделения растворимой ФАГ описана ранее [1]. Полученный препарат фермента, содержащий 0.2-0.3 мг белка, инкубировали в 0.06 М Трис-НСI буфере (рН 8.0) с 20 мМ глутамина и различными концентрациями анионных активаторов (фосфат и

цитрат), T_3 и испытуемых белков в общем объеме в 1.5 мл. рН всех использованных добавок доводили до 8.0 0.01 М раствором NaOH. Реакционную смесь инкубировали в течение 30 мин при 37° и постоянном встряхивании. Реакцию запускали добавлением глутамина, останавливали внесением в среду 0.3 мл 10% ТХУ. Продукт реакции - аммиак - определяли микродиффузионным методом [3], белок - по методу Лоури и др. [8] Активность фермента выражали в мкмоль NH_3 /мг белка/мин. Использовали реактивы фирм "Sigma Chemical Company" (США) и "Reanal" (Венгрия). Полученные результаты подвергнуты статистической обработке с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение.

В первой серии опытов изучали влияние альбумина и глобулина на активность растворимой ФАГ в присутствии различных пар эф-фекторов, совместное применение которых значительно активизирует фермент.

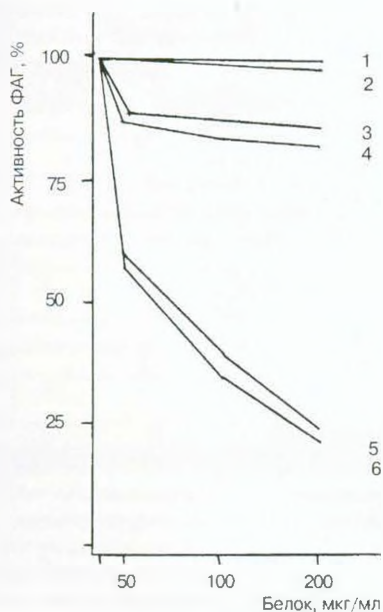


Рис. 1. Действие белков на активность ФАГ в присутствии эф-фекторов фермента, $n=10-12$: 1 - 10 мМ Р+50 мМ цитрата+ γ -глобулин; 2 - 20 мМ Р+50 мМ цитрата+ γ -глобулин; 3 - 50 мМ цитрата+0.05 мМ T_3 + γ -глобулин; 4 - 10 мМ Р+0.05 мМ T_3 + γ -глобулин; 5 - 50 мМ цитрата+0.05 мМ T_3 +альбумин; 6 - 10 мМ Р+ 0.05 мМ T_3 +альбумин

Данные, представленные на рис. 1, показывают, что степень ингибирования активности ФАГ зависит как от природы используемого белка, так и от комбинации эффикторов. Так, при одновременном применении 20 мМ фосфата и 50 мМ цитрата фермент индифферентен к белковым добавкам независимо от их концентрации. Вместе с тем при сочетании анионных активаторов с T_3 глобулин в концентрации 0.2 мг/мл ингибирует активность ФАГ на 18%. Добавление альбумина к инкубационной среде уже в концентрации 0.05 мг/мл вызывает подавление активности фермента на 40-45%. Повышение концентрации альбумина приводит к усилению ингибирования до 75-80% при сочетании T_3 как с фосфатом, так и с цитратом.

Учитывая возможность подавления ФАГ альбумином в результате связывания им T_3 , в следующей серии опытов мы исследовали влияние альбумина на активность фермента при варьировании концентрации гормона с постоянной концентрацией фосфата (10 мМ).

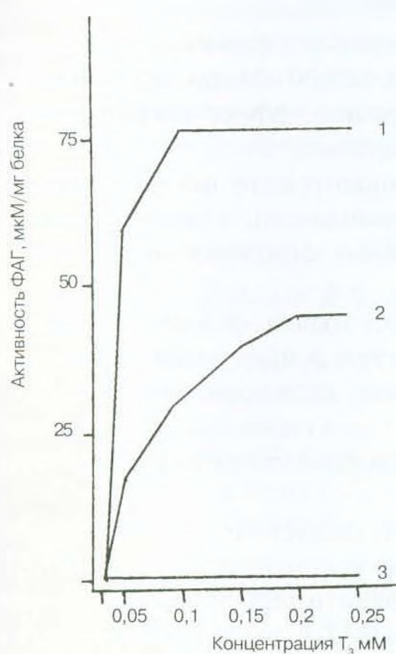


Рис. 2. Влияние концентрации T_3 на активность ФАГ и ингибирующий эффект альбумина: 1 - 10 мМ Р; 2 - 10 мМ Р + 150 мкг/мл альбумина; 3 - контроль.

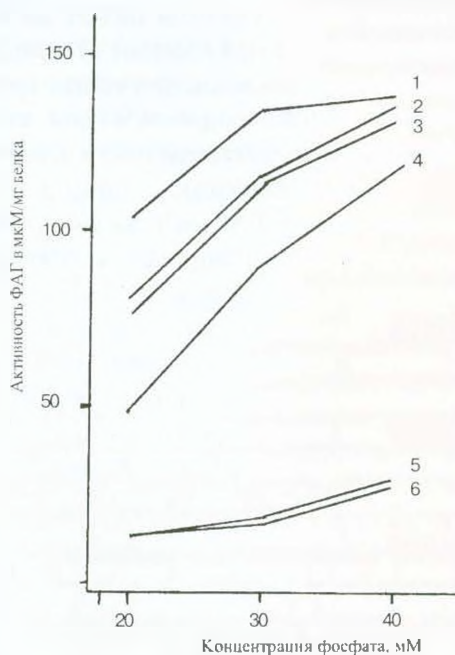


Рис. 3. Влияние концентрации фосфата на ФАГингибирующую активность альбумина: 1 - 0.03 мМ T_3 ; 2 - 0.02 мМ T_3 ; 3 - 0.03 мМ T_3 + альбумин; 4 - 0.02 мМ T_3 + альбумин; 5 - контроль; 6 - альбумин.

Из данных рис. 2 видно, что активность фермента выходит на плато при концентрации гормона 0.1 мМ. В присутствии альбумина понижается степень активации ФАГ гормоном, т.е. уменьшается сродство гормона к ферменту. Выход на плато активности фиксируется уже при концентрации гормона 0.20-0.25 мМ. Эти данные исключают возможность ингибирования активности ФАГ альбумином путем связывания молекул гормона, так как

увеличение концентрации последнего, хотя и ослабляет эффект альбумина, но полностью его не снимает. Кроме того, в присутствии альбумина сохраняется и нижний концентрационный предел активации гормоном (0.05 мМ).

Поскольку с повышением концентрации T_3 степень ингибирования активности фермента уменьшается, в следующей серии опытов влияние альбумина прослеживалось на фоне сочетания низких концентраций T_3 с относительно высокими концентрациями фосфата.

Полученные данные (рис. 3) показывают, что в условиях отсутствия альбумина наблюдается значительное возрастание активности фермента при сочетанном применении 0.02 мМ T_3 с различными концентрациями фосфата, степень которого, однако, снижается с повышением концентрации последнего. Так, при добавлении 0.02 мМ гормона активность ФАГ, стимулируемая 20 мМ фосфата, подавляется в присутствии альбумина примерно на 38%, а с повышением концентрации фосфата до 30 и 40 мМ степень ингибирования падает до 23 и 13% соответственно. В опытах с добавками 0.03 мМ гормона степень ингибирования фермента альбумином еще более понижается; при концентрации фосфата 20 мМ она составляет 26%, 30 мМ - 10%, а при 40%-ной концентрации эффект ингибирования активности глутаминазы почти полностью исчезает.

Таким образом, с повышением концентрации фосфата степень ингибирования ФАГ альбумином предельно уменьшается, и при определенном сочетании концентраций совместно применяемых эффекторов ингибирование может и не проявиться.

Приведенные выше результаты оставляют открытыми вопросы о способе действия альбумина, значении его структуры в проявлении эффекта и возможности участия других белков в регуляции активности фермента.

Для освещения этих вопросов в следующей серии опытов мы изучали влияние термообработки белков на их взаимодействие с растворимой ФАГ коры мозга.

Из данных, представленных в табл. 1, следует что у исследованных нами белков различной природы обнаруживаются сходные эффекты. И АДГ, и альбумин, и РНКаза снижают уровень активности фермента при сочетаниях фосфата с T_3 и не действуют на активность ФАГ в присутствии фосфата и сочетании его с цитратом.

Вместе с тем при термообработке белков их ингибирующая активность меняется. Если в присутствии нативной АДГ активность ФАГ, стимулируемая фосфатом+ T_3 , ингибируется на 39%, то при наличии термообработанного белка этот эффект достигает 54%. В опытах с альбумином наблюдается обратная картина, т.е. термообработанный альбумин ингибирует слабее нативного. Процент ингибирования снижается с 55 до 40. В то же время термообработка РНКазы совершенно не влияет на ее взаимоотношение с ферментом. Активность последнего в обоих случаях подавляется на 20%. Не меняется их отношение к ФАГ и при сочетанном применении активирующих анионов.

Таблица 1. Влияние термообработанных белков на активность митохондриальной ФАГ мозга крысы (мкмоль $\text{NH}_3/\text{мг}^{-1}$ белка)

Условия опыта	P10 мМ + T_3 0.05 мМ	P 20 мМ + Ц 50 мМ	P 20 мМ
Контроль	71±6.8	19±0.9	12±0.8
Альбумин 0.1 мг/мл	32±2.2 *	17±2.2	12±0.9
Альбумин 0.1 мг/мл термообработка	43±5.1 *	17±2.1	12±0.7
АДГ 0.2 мг/мл	44±3.4 *	17±1.1	12±0.6
АДГ 0.2 мг/мл термообработка	33±4.2 *	16±2.0	11±1.2
РНКаза 0.3 мг/мл	57±6.3	16±2.1	11±0.9
РНКаза 0.3 мг/мл термообработка	56±5.8	17±2.4	11±1.1

*Примечание: $p < 0.05$. P - фосфат, Ц - цитрат.

Полученные результаты говорят об ограниченной роли белок-белковых взаимодействий в регуляции гидролиза глутамина. Тем не менее они свидетельствуют о значении природы и структуры белков, контактирующих с ФАГ и ее низкомолекулярными активаторами, в проявлении ферментативной активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оганесян В.С., Бадалян Л.Л., Беджанян К.Д. Нейрохимия, 7, 4, 558-565, 1988.
2. Палладин А.В., Кирсенко О.Б. Биохимия, 26, 2, 385-390, 1961.
3. Силакова А.И., Труш Г.П., Являкова Л.А. Вopr. мед. хим., 8, 5, 538-542, 1962.
4. Bradford H.F., Ward H.K., Thomas A.J. J. Neurochem., 30, 1453-1459, 1978.
5. Godfrey S., Kuhlenschmidt T., Curtoys N.P. J. Biol. Chem., 252, 1927-1931, 1977.
6. Hamberger A.G., Chiang G.H., Nylen E.S., et al. Brain Res., 168, 513-530, 1988.
7. Kvamme E. In: Glutamine Metabolism in Mammalian Tissues (Ed. H. Sies and D. Haussinger), 32-47, 1984.
8. Lowry O.H., Rosebrough N.T., Farr A.L. et al. J. Biol. Chem., 193, 265-270, 1951.
9. Nimmo G.A., Tipton K.F. Eur. J. Biochem., 11, 57-64, 1981.
10. Reubi J.C., Van den Berg C.J., Cuenod M. Neurosci. Lett., 10, 171-174, 1978.

Поступила 18.VII.1997

ИНГИБИРОВАНИЕ ЭКОНАЗОЛОМ Ca^{2+} - И Pb^{2+} -ЗАВИСИМОГО ВЫХОДА K^+ ИЗ ЭРИТРОЦИТОВ

А.В. ГЮЛЬХАНДАНЯН*, А.К. БЛБУЛЯН**, Б.Г. САРКИСЯН*

*Институт биохимии им. Г.Х.Бунятына НАН Армении, 375014, Ереван

**Центр перинатологии, акушерства и гинекологии МЗ Армении, Ереван

Изучено действие имидазольного антимикотика эконазола на активность Ca^{2+} - и Pb^{2+} -зависимых K^+ -каналов в эритроцитах человека. В области исследованных концентраций (25-100 мкМ) эконазол дозозависимо ингибирует выход K^+ и вход H^+ , индуцированный как активаторами Ca^{2+} -зависимого K^+ -канала, пропранололом и ионофором A23187, так и ионами Pb^{2+} .

Մարդու էրիթրոցիտներում ուսումնասիրված է հալածիկոտիկ նյութի էկոնազոլի ազդեցությունը Ca^{2+} -ից և Pb^{2+} -ից կախված K^+ -ական կանալների ակտիվության վրա: Հետազոտված կոնցենտրացիաների տիրույթում (25-100 մկМ) էկոնազոլը, դոզայից կախված, ճնշում է K^+ -ի ելքը և H^+ -ի մուտքը, ինդուցված ինչպես Ca^{2+} -ից կախված K^+ -ական կանալի ակտիվատորներով իոնոֆոր A23187-ով և պրոպրանոլոլով, այնպես էլ Pb^{2+} -ի իոններով:

The action of econazole on activity of Ca^{2+} - and Pb^{2+} -dependent K^+ channels of human erythrocytes was studied. In the region of investigated concentrations (25-100 μM) the econazole depending on dose inhibited K^+ efflux and H^+ influx induced as both activators of Ca^{2+} -dependent K^+ channel, ionophore A23187 and propranolol, as well as by Pb^{2+} ions.

Эритроциты человека - эконазол - Ca^{2+} - и Pb^{2+} -зависимый K^+ -канал

Известно, что имидазольный антимикотический препарат эконазол (1-[2-(14-хлорфенил) метокси]-2-(2,4-дихлорфенил)этил]-1Н-имидазол) ингибирует Ca^{2+} -транспортные пути в лимфоцитах [10], причем этот процесс осуществляется при взаимодействии эконазола с внешней стороной клеточной мембраны [2]. Эконазол является также сильным ингибитором K^+ -токов через мембрану гладких мышц [1].

При увеличении концентрации Ca^{2+} в эритроцитах открывается Ca^{2+} -зависимый K^+ -канал [4-8, 14]. Выход K^+ из эритроцитов происходит также под действием ионов Pb^{2+} [12]. В литературе нет данных относительно влияния эконазола на транспорт ионов Ca^{2+} и K^+ в эритроцитах. В связи с этим нами изучено действие эконазола на активность Ca^{2+} - и Pb^{2+} -зависимых K^+ -каналов в эритроцитах человека.

Материал и методика. Эритроциты из крови доноров получали центрифугированием и затем дважды промывали в 0,15 М растворе NaCl. При проведении опытов 0,1 мл плотно отцентрифугированных эритроцитов добавляли в ячейку с 1,9 мл среды, содержащей 150 мМ холинхлорид и 0,1 мМ KCl, при интенсивном размешивании на магнитной мешалке. При определении Ca^{2+} -зависимого выхода K^+ в среде инкубации присутствовал также 1 мМ CaCl_2 . Различные соединения добавляли после 5-7 мин инкубации эритроцитов. Действие эконазола на Ca^{2+} - и Pb^{2+} -зависимую K^+ -проницаемость эритроцитов человека изучали в области концентраций антимикотика от 25 до 100 мкМ.

Концентрации ионов K^+ и H^+ в суспензии эритроцитов определяли K^+ - и H^+ -селективными электродами, подключенными к самописцам через милливольтметры. Калибровку электродов производили стандартными добавками KCl и HCl.

Эконазол, пропранолол, ионофор A23187, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ - фирмы "Sigma", холинхлорид - "Chemapol", остальные реактивы отечественного производства.

Результаты и обсуждение. Известно, что пропранолол является одним из активаторов Ca^{2+} -зависимого K^+ -канала в эритроцитах человека [3,14], причем выход K^+ сопровождается входом протонов внутрь [3].

На рис. 1. представлена типичная картина влияния эконазола на индуцированный пропранололом Ca^{2+} -зависимый выход K^+ из эритроцитов. Внесение пропранолола (0,2 мМ) в суспензию эритроцитов вызывает интенсивный выход K^+ из клеток и сравнительно небольшой противотранспорт H^+ (сплошные кривые). Скорость выхода K^+ под действием пропранолола в условиях, представленных на рис.1, составляет около 2,8 ммоль/мин. л клеток. (Ранее нами было показано, что отношение K^+/H^+ лежит в интервале 3-4 [3]). Предварительная инкубация эритроцитов с 75 мкМ эконазола практически полностью ингибирует выход K^+ и вход H^+ (штриховые кривые на рис.1). Как видно из рис.1, сам эконазол вызывает небольшой выход K^+ из клеток. В случае предварительной инкубации клеток с 30 мкМ эконазола выход K^+ подавлялся на 75%, в то время как вход H^+ полностью ингибировался (данные не представлены).

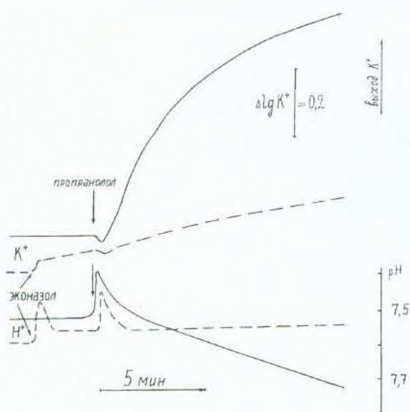


Рис.1. Влияние эконазола на Ca^{2+} -зависимый K^+ -канал эритроцитов, индуцируемый пропранололом. 0,1 мл клеток внесены в 1,9 мл среды, содержащей 150 мМ холинхлорид, 0,1 мМ KCl и 1 мМ CaCl_2 , $t = 25^\circ\text{C}$. Добавлены 0,2 мМ пропранолола и 75 мкМ эконазола.

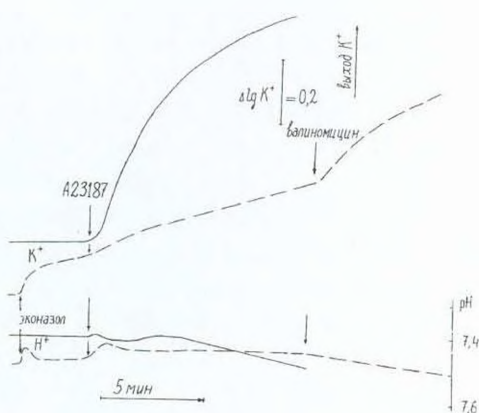


Рис.2. Ингибирование эконазолом Ca^{2+} -зависимого K^+ -канала эритроцитов, индуцируемого ионофором A23187. Условия инкубации как в подписи к рис.1. Добавлены 10 мкМ A23187, 50 мкМ эконазола и 1 мкМ валиномицина.

Мы изучили также действие эконазола на ионные потоки, индуцируемые другим активатором Ca^{2+} -зависимого K^+ -канала - ионофором двухвалентных катионов A23187 (рис.2). Как и в случае с пропранололом, эконазол ингибировал Ca^{2+} -зависимый выход K^+ . Из рис.2 видно, что при внесении 50 мкМ эконазола выход K^+ и вход H^+ практически полностью подавлялись (сплошные кривые - контроль, штриховые кривые - действие эконазола). Последующее внесение переносчика ионов K^+ валиномицина снова приводило

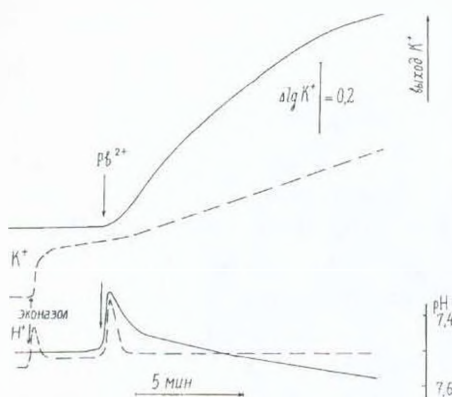


Рис.3. Действие эконазола на потоки ионов K^+ и H^+ , индуцируемые ионами Pb^{2+} . Условия инкубации как в подписи к рис. 1, однако в среде отсутствует $CaCl_2$. Добавлены 20 мкМ $Pb(NO_3)_2$ и 30 мкМ эконазола.

к выходу K^+ . Как и в опыте с пропранололом, при инкубации эритроцитов с 25 мкМ эконазола, A23187-индуцированная K^+ -проницаемость подавлялась на 65%, а вход H^+ ингибировался полностью (данные не представлены).

Выход K^+ из эритроцитов происходит также под действием микромолярных концентраций ионов Pb^{2+} , причем этот процесс не зависит от присутствия ионов Ca^{2+} в среде. Мы проверили действие эконазола и на Pb^{2+} -зависимый выход K^+ из эритроцитов. Из рис.3 видно, что и в этом случае эконазол (30 мкМ) ингибирует Pb^{2+} -индуцируемый выход K^+ и вход H^+ .

Мы отмечали, что эконазол может ингибировать в клетках различного типа как Ca^{2+} -транспортные пути, так и K^+ -токи [1,10]. И пропранолол, и A23187 активируют выход K^+ из эритроцитов, повышая внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} до определенной величины, хотя и механизм этого увеличения различен. Ионифор A23187 действует как переносчик, транспортирующий ионы Ca^{2+} по градиенту концентрации из внешнего пространства внутрь клетки (концентрация Ca^{2+} внутри эритроцитов порядка 10^{-7} М [9]). Механизм же индуцированного пропранололом входа Ca^{2+} внутрь клеток не вполне ясен. Есть данные об ингибировании пропранололом Ca^{2+} -АТФазы эритроцитов [11], что может привести к увеличению результирующего потока Ca^{2+} в клетку. Кроме того, пропранолол увеличивает чувствительность канальных белков к Ca^{2+} [13]. Ca^{2+} -зависимый K^+ -канал в эритроцитах - это сложный комплекс, состоящий из системы транспорта Ca^{2+} и непосредственно K^+ -канала. Наши опыты показали, что эконазол может ингибировать как Ca^{2+} -зависимый выход K^+ , так и вызываемое ионами Pb^{2+} увеличение K^+ -проницаемости, не зависящее от ионов Ca^{2+} . Поэтому мы можем с уверенностью утверждать, что в эритроцитах эконазол ингибирует непосредственно K^+ -канал. Однако нельзя исключить также возможность влияния эконазола на систему транспорта Ca^{2+} в эритроцитах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bowles D.K., Dick G.M., Sturek M. Biophys. J. 70, A402, 1996.
2. Christian E.P., Togo J.A., Spencer K.T., Dargis P.G. Biophys. J., 68, A207, 1995.
3. Davtyan T.K., Gylkhandanyan A.V., Gambarov S.S., Avanesian L.A., Alexanyan Yu.T. Biochim. Biophys. Acta, 1297, 182-190, 1996.
4. Garcia-Sancho J., Sanchez J., Herreros B. Biochim. Biophys. Acta, 559, 118-130, 1979.

5. Gardos G. Biochim. Biophys. Acta, 10, 653-654, 1959.
6. Gyulkhandanyan A.V. Biol. Membr., 6(8), 1101-1114, 1993.
7. Lake W., Rasmussen H., Goodman D.P.B. J. Membr. Biol., 32, 93-113, 1977.
8. Lew V.L., Ferreira H.J. Curr. Top. Membr. Transp., 10, 217-277, 1978.
9. Lew V.L., Tsien R.Y., Miner C., Bookchip R.M. Nature, 296, 478-481, 1982.
10. Mason M.J., Mayer B., Hymel L.J. Am. J. Physiol., 33, 654-662, 1993.
11. Meltzer H.I., Kassir S. Biochim. Biophys. Acta, 755, 452-456, 1983.
12. Schwarz W., Keim H., Fehlau R., Fuhrmann G.F. Biochim. Biophys. Acta, 987, 32-36, 1989.
13. Shields M., Grygorczyk R., Fuhrmann G.F., Schwarz W., Passow M. Biochim. Biophys. Acta, 815, 223-233, 1985.
14. Szasz I., Sarcadi B., Gardos G. J. Membr. Biol., 35, 75-93, 1977.

Поступила 18.VII.1999

Биолог. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 612.017.1

МЕМБРАНОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ АДРИАМИЦИНА И ЕГО КОМПЛЕКСОВ С Fe^{3+} , Cu^{2+} И Co^{2+}

Л.А. АВАНЕСЯН, Т.К. ДАВТЯН, Ю.Т. АЛЕКСАНИЯН

*Институт эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии им.
А.Б. Алексаняна, МЗ Армении, 375009, Ереван*

Установлено, что адриамицин (АДР) и его комплексы с Fe^{3+} , Cu^{2+} и Co^{2+} способны индуцировать агрегацию и агглютинацию эритроцитов человека, резистентность эритроцитов барана (ЭБ) к комплементзависимому гемолизу, дегрануляцию тучных клеток крыс и синтез свободных радикалов в лимфоцитах человека. Комплексобразование АДР с вышеуказанными ионами металлов приводит к модуляции мембранотропной активности АДР.

Ցույց է տրված, որ ադրիամիցինը և նրա Fe^{3+} , Cu^{2+} և Co^{2+} մետաղային միացությունները ընդունակ են խթանելու մարդու էրիթրոցիտների ագրեգացիան և ագլյուտինացիան, ոչխարի էրիթրոցիտների ռեզիստենտականությունը կոմպլեմենտ-կախյալ հեմոլիզի հանդեպ, առնետների գիրացած բջիջների դեգրանուլյացիան և ազատ ռադիկալների սինթեզը մարդու լիմֆոցիտներում: Ադրիամիցինի միացումը նշված մետաղային իոնների հետ բերում է նրա մեմբրանոտրոպ ակտիվության մոդուլյացիային:

It has been shown, that adriamycin and its metal complexes with Fe^{3+} , Cu^{2+} and Co^{2+} can induce human erythrocytes aggregation and agglutination, sheep erythrocytes resistance to complement-dependent hemolysis, rat mast cells degranulation and free radicals generation in human lymphocytes. Formation of adriamycin complexes with mentioned metal ions leads to the modulation of its membranotropic activity.

Адриамицин - металлокомплексы - агглютинация эритроцитов - дегрануляция тучных клеток - свободные радикалы

Изучение молекулярных механизмов действия различных лекарственных препаратов лежит в основе разработки эффективных и безопасных подходов к

лекарственной терапии. Начальным этапом воздействия лекарственных препаратов является их влияние на плазматическую мембрану, проницаемость, вязкость, сопряженный транспорт ионов. Исследуя влияние АДР и его комплексов на сопряженный транспорт ионов в эритроцитах человека, мы показали, что противоположные эффекты этих препаратов на Ca^{2+} -зависимые K^{+} -каналы зависят как от способности АДР и его комплексов влиять на пути транспорта Ca^{2+} в клетки, так и от их участия в окислительно-восстановительных реакциях [6].

Целью настоящей работы явилось изучение мембранотропного действия АДР и его комплексов с Fe^{3+} , Cu^{2+} и Co^{2+} на процессы агрегации и агглютинации эритроцитов человека, дегрануляции тучных клеток крыс, комплементзависимого гемолиза ЭБ, а также на синтез свободных радикалов в лимфоцитах человека.

Материал и методика. Для реакции гемагглютинации были использованы эритроциты человека группы 0. В качестве антикоагулянта использовали 2%-ный цитрат Na . Перед использованием эритроциты тщательно отмывали в фосфатном буфере (рН 7.2), после чего готовили 2%-ную суспензию эритроцитов. Реакцию гемагглютинации проводили в 96-луночных пластиковых планшетах для иммунологических реакций. В экспериментах также использовали конканавалин А (Кон А) фирмы Serpa в концентрации 0.0035-50 мкг/мл. Комплексы АДР с Fe^{3+} , Cu^{2+} и Co^{2+} готовили в молярном соотношении 3:1 [10]. Конечная концентрация АДР и его комплексов составляла 3.5-100 мкг/мл. В экспериментах также использовали 0.02 М растворы CuSO_4 , $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ и 0.2 М раствор FeCl_3 . Конечная концентрация ионов Fe^{3+} , Cu^{2+} и Co^{2+} в среде составляла 2.5×10^{-4} и 5×10^{-4} М соответственно. После 60 мин инкубации эритроцитов при 37° оценивали степень агглютинации.

При исследовании дегрануляции тучных клеток [4] использовали тучные клетки перитонеальной жидкости белых нелинейных крыс.

Для изучения синтеза свободных радикалов использовали тонзиллярные лимфоциты человека. Тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) и цитохрома С проводили по методу [13]. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) определяли по методу [5]. Оптическую плотность определяли при 540 нм.

Комплементзависимую реакцию гемолиза ЭБ проводили по описанной методике [3]. Перед проведением реакции ЭБ инкубировали с АДР и его металлокомплексами в течение 30 мин.

Агрегацию эритроцитов человека исследовали с помощью агрегометра "Payton" 300 BD-5 (Payton Scientific Inc.) по описанной методике [1]. Скорость перемешивания - 900 об/мин, концентрация эритроцитов - 0.1%, концентрация АДР и его комплексов - 250 мкг/мл.

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных экспериментов показали, что ЭБ, обработанные АДР и его металлокомплексами, более устойчивы к комплементзависимому гемолизу (рис. 1). Это свидетельствует о связывании АДР и его комплексов либо с белковыми компонентами мембран эритроцитов, препятствующем последующему взаимодействию последних с гемолизинами, либо с липидной фракцией мембран, что нарушает связывание с ней компонентов комплемента. Комплексообразование АДР с ионами металлов переходной валентности вызывает изменение способности молекулы АДР индуцировать резистентность ЭБ к комплементзависимому гемолизу (рис.1).

Как показали результаты проведенных экспериментов, АДР и его металлокомплексы способны вызывать сильно выраженную агглютинацию

эритроцитов человека. Гемагглютинирующая активность комплекса АДР- Co^{2+} была выражена слабее, чем соответствующий показатель АДР и остальных двух комплексов. Установлено также, что добавление ионов Fe^{3+} в концентрации 2.5×10^{-4} М приводит к значительной агглютинации эритроцитов. Кроме того, необходимо отметить, что при совместном действии Кона с АДР, АДР- Fe^{3+} , АДР- Cu^{2+} и в меньшей степени с АДР- Co^{2+} гемагглютинация увеличивалась, в то время

как Кона в использованной концентрации не вызывает агглютинации эритроцитов. Согласно данным литературы, изменение гемагглютинирующей активности Кона может происходить за счёт переноса ионов переходного металла с донора на лектин и изменения конформации последнего [2]. В наших исследованиях свободные ионы Cu^{2+} ингибировали, а ионы Co^{2+} и, в большей степени, Fe^{3+} стимулировали гемагглютинирующую активность Кона. Таким образом, наши результаты подтверждают данные литературы о том, что изменение содержания и(или) ориентации ионов металла в субъединицах Кона влияет на его способность связывать сахара [2].

Разрешающая способность реакции гемагглютинации оказалась недостаточной для выявления тонких различий в действии АДР и его металлокомплексов. В то же время установлено, что наибольшую агрегацию эритроцитов как по степени ее, так и по скорости индуцирует АДР- Fe^{3+} , несколько менее выражена агрегация в присутствии АДР- Cu^{2+} (рис. 2).

Комплекс АДР- Co^{2+} проявлял наименьшую агрегирующую активность, а АДР занимал промежуточное положение. Образование и стабильность эритроцитарных агрегатов зависят от ряда характеристик эритроцитарных мембран: способности к адсорбции макромолекул, липидно-белковой архитектоники, плотности поверхностного отрицательного заряда и др. [1]. АДР, связываясь с мембранами эритроцитов, может индуцировать изменения указанных свойств мембран, способствуя тем самым образованию агрегатов.

Увеличение внутриклеточного Ca^{2+} под влиянием АДР [11] и трансформация дискоцитов в эхиноциты [9] могут лежать в основе механизмов, индуцирующих

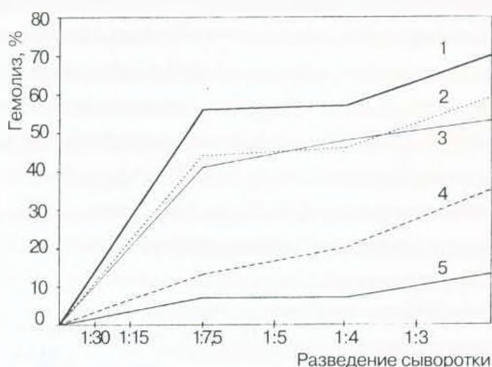


Рис. 1. Комплементзависимый гемолиз ЭБ, обработанных АДР и его металлокомплексами. 1 - контроль; 2 - АДР- Cu^{2+} ; 3 - АДР- Fe^{3+} ; 4 - АДР; 5 - АДР- Co^{2+} .

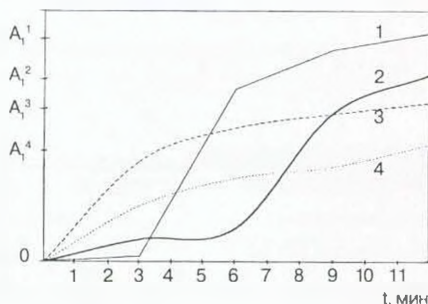


Рис. 2. Агрегатограмма индуцированной АДР и его металлокомплексами агрегации эритроцитов человека. По оси ординат - A_i степень агрегации, 0 - нулевая точка, соответствующая бедной эритроцитами суспензии (разведение 1:1000 рабочей суспензии). По оси абсцисс - время агрегации в мин. 1 - АДР- Fe^{3+} ; 2 - АДР- Cu^{2+} ; 3 - АДР; 4 - АДР- Co^{2+} .

агрегацию эритроцитов. Дезорганизация липидной фазы мембран при активации фосфолипаз [14] или изменения организации цитоскелета [8] также могут играть роль в мембранотропных эффектах АДР и его металлокомплексов.

В литературе есть данные о способности АДР вызывать дегрануляцию тучных клеток, однако точные механизмы этого эффекта остаются невыясненными [7]. В проведенных экспериментах как АДР, так и все три исследуемых комплекса в концентрации 2 мкг/мл вызывали значительную дегрануляцию тучных клеток (табл.1).

Таблица 1. Дегрануляция тучных клеток под действием АДР, АДР- Fe^{3+} , АДР- Cu^{2+} и АДР- Co^{2+}

Условия эксперимента	Дегрануляция, % от общего числа тучных клеток
Контроль	13.4% $\pm$ 3.4
АДР	61.2% $\pm$ 2.2
АДР- Fe^{3+}	42.5% $\pm$ 6.5
АДР- Cu^{2+}	44.5% $\pm$ 2.4
АДР- Co^{2+}	65.2% $\pm$ 4.2

Наибольший индуцирующий дегрануляцию эффект наблюдался в присутствии АДР- Co^{2+} ; наименьший - в присутствии АДР- Fe^{3+} . АДР индуцировал дегрануляцию тучных клеток на 47.8% больше, чем в контроле, в то время как АДР- Cu^{2+} - на 31.1%.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов позволяют заключить, что способность АДР индуцировать дегрануляцию тучных клеток изменяется при его комплексообразовании с металлами в сторону увеличения (АДР- Co^{2+}) или уменьшения (Fe^{3+} , Cu^{2+}). Следовательно, в механизмах действия АДР на дегрануляцию тучных клеток важную роль играет окислительно-восстановительное состояние его молекулы.

Результаты экспериментов по изучению влияния АДР и его комплексов с Fe^{3+} , Cu^{2+} и Co^{2+} на синтез свободных радикалов представлены в табл. 2.

Таблица 2. Влияние АДР, АДР- Fe^{3+} , АДР- Cu^{2+} и АДР- Co^{2+} на синтез свободных радикалов в лимфоцитах человека.

Условия эксперимента	НСТ	Восстановление цитохрома С	ПОЛ
Контроль	0.119	0.35	0.054
АДР	0.122	0.44	0.068
АДР- Fe^{3+}	0.173	0.54	0.062
АДР- Cu^{2+}	0.146	0.49	0.059
АДР- Co^{2+}	0.140	0.44	0.076

Результаты экспериментов по исследованию восстановления НСТ свидетельствуют о том, что наибольшей способностью генерировать супероксид анион обладает комплекс АДР- Fe^{3+} . АДР проявляет минимальную способность к индукции синтеза O_2^- по сравнению с изученными металлокомплексами.

Таким образом, ионы металлов переходной валентности способствуют образованию свободных радикалов при действии АДР, возможно, благодаря их способности выступать в качестве доноров или акцепторов в реакциях циклического окисления-восстановления молекул АДР.

Аналогичные результаты были получены при исследовании реакции восстановления цитохрома С под влиянием АДР и его металлокомплексов. Максимальной способностью к восстановлению цитохрома С обладал комплекс АДР- Fe^{3+} , затем АДР- Cu^{2+} . АДР и АДР- Co^{2+} индуцировали восстановление цитохрома С в одинаковой степени. Как показал сравнительный анализ, наибольшее ПОЛ обнаруживается в присутствии АДР- Co^{2+} , наименьшее - АДР- Cu^{2+} . АДР и АДР- Fe^{3+} по степени своего влияния на ПОЛ занимали промежуточное положение. Возможно, АДР- Cu^{2+} - и АДР- Fe^{3+} - индуцированный супероксид анион скорее дисмутирует в H_2O_2 супероксиддисмутазой и поэтому не вызывает ПОЛ.

Итак, как АДР, так и его комплексы с Fe^{3+} , Cu^{2+} и Co^{2+} способны индуцировать синтез свободных радикалов, причем эта способность варьирует в зависимости от металла, используемого для комплексообразования с АДР. Из изученных металлокомплексов наименьшей способностью к индукции синтеза свободных радикалов обладал АДР- Co^{2+} . Стимуляция АДР и его комплексами дегрануляции тучных клеток может быть опосредована свободными радикалами. Обнаружена корреляция между влиянием АДР и его комплексов на ПОЛ и на дегрануляцию тучных клеток. АДР- Co^{2+} , наиболее сильно индуцирующий ПОЛ, оказывал также наибольшее стимулирующее действие на дегрануляцию тучных клеток, в то же время АДР- Cu^{2+} и АДР- Fe^{3+} , слабо индуцирующие ПОЛ по сравнению с АДР, оказались и наименее эффективными в стимуляции дегрануляции клеток. Известно, что на начальных этапах высвобождения медиаторов из тучных клеток или базофилов происходит быстрый вход Ca^{2+} в клетки, активация сериновых протеаз и уменьшение внутриклеточного цАМФ. Увеличение внутриклеточного Ca^{2+} и уменьшение цАМФ обнаружены в клетках под влиянием АДР [8,11,14]. Нарушение метаболизма арахидоновой кислоты под влиянием АДР и его комплексов позволяет предполагать участие простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов в процессе влияния указанных препаратов на дегрануляцию тучных клеток [12].

Таким образом, на основании проведенных экспериментов можно сделать заключение о том, что АДР и его комплексы с Fe^{3+} , Cu^{2+} и Co^{2+} обладают мембранотропной активностью. Ионы металлов переменной валентности способны модулировать мембранотропную активность АДР, что указывает на ее зависимость от окислительно-восстановительного состояния молекулы АДР.

приспособляемости более приемлемы сорта DN-55 *Populus x euramericana*, NM-6CV Max-6 *Populus nigra x Populus maximowiczii*, I-262.

The data of 2 year observations on development of 12 varieties and clones of american hybrid quick-growing poplars in 5 soil-climatic zones of Armenia are given. The tested american hybrid poplars are thermophilic and the fall of their growth takes place by increase of altitude. The intensive growth is observed during the second year, with annual increase of 150-200 cm. The most adaptable are the varieties DN-55 *Populus x euramericana*, NM-6CV Max-6 *Populus nigra x Populus maximowiczii*, I-262.

Բարդի - ամերիկյան հիբրիդային սորտեր - հողակլիմայական պայմաններ

Հայաստանում փայտանյութի սեփական կայուն բազայի ստեղծումը խիստ կարևոր և արդիական խնդիր է: Անտառանյութի արագ աճեցումը սովորաբար իրականացվում է արդյունաբերական անտառալանտացիաների հիմնադրման ճանապարհով, որոնք տնտեսական արդյունավետությունից բացի ունեն կարևոր բնապահպանական նշանակություն [1]: Ընդ որում, պլանտացիոն եղանակով մշակվող ամենատարածված ծառատեսակը բարդին է, որն արագաճեցողությունից բացի օժտված է ածխաթթու գազի կլանման և թթվածնի արտազատման մեծ ակտիվությամբ: Այս տեսակետից այն գերազանցում է լորենուն 2,7, սոճուն 4,2 և եղևնուն 6,9 անգամ [4]: Բարդին աչքի է ընկնում նաև ֆիտոնցիդային նյութերի արտազատման մեծ ունակությամբ, որը բարձրացնում է նրա արժեքը, որպես կանաչապատման համար լավագույն ծառատեսակի: Ինչպես վկայում են գրականության տվյալները, Եվրոպայում բարդու բնափայտը լայնորեն օգտագործվել է տնտեսության մեջ [2, 3, 5]: Մինչև 1930-ական թվականներն անտառագուրկ կենտրոնական Հայաստանում որպես շինափայտ ու վառելափայտ օգտագործվել է բարդու բնափայտը [6]:

Ներկա հաղորդումը նվիրված է Հայաստանում բարդու ամերիկյան հիբրիդային արագաճ սորտերի աճեցման ուսումնասիրություններին:

1994-ի զարմանը Հայաստան բերվեցին բարդու ամերիկյան հիբրիդային արագաճ 12 սորտերի 2000 կտրոն, որոնք սորտափորձարկման զրվեցին հողակլիմայական հինգ տարբեր շրջաններում Երևանում, կիսաանապատային կուլտուր-ռոնգելի գոյ իողերում (Բուսաբանական այգու տարածք), Հրազդանում, ավազատիղմային ալուվիալ նստվածքներում (Ծաղկածորի անտառային տնկարանի տարածք), Սևանում, լեռնատափաստանային շագանակագույն հողերում (Բուսաբանական այգու տարածք), Մարտունու շրջանում (Ծովինար թերակղզու լճի ջրերից ազատված ավազային նստվածքներ), Վանաձորում, հետանտառային շագանակագույն հողերում (Բուսաբանական այգու տարածք): Դիտարկումները տարվել են 1994-95 թթ. ընթացքում:

Փորձարկումներում ընդգրկված բարդու հիբրիդային 12 սորտերի աճի առաջին տարվա ցուցանիշները բնականաբար չեն կարող բացահայտել այս կան այն հիբրիդի աճի և հարմարողականության հնարավորությունները, քանի որ վեգետացիոն շրջանի զգալի ժամանակահատված ծախսվում է կտրոնների արմատակալման և արմատատերևային համակարգի ձևավորման վրա: Չնայած դրան, փորձարկման առաջին տարվա տվյալներով հնարավոր է փաստագրել, որ բոլոր սորտերն առավելագույն աճ դրսևորեցին Երևանի պայմաններում (նախալեռնային գոտի), նվազագույն Սևանա լճի ջրերից ազատված ավազուտներում: Ինչ վերաբերվում է առանձին սորտերի աճին, ապա բոլոր փորձադաշտերում աճման առաջին տարում համեմատաբար մեծ էներգիա ցուցաբերել են NM-6 *Populus nigra x Populus maximowiczii* հիբրիդը, նվազագույն DN-55 *Populus x euramericana* սորտը:

Բարդու փորձարկվող սորտերի երկրորդ տարվա աճի դինամիկ ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ ինչպես և նախորդ տարի, առավելագույն աճ նրանք դրսևորում են Երևանի Բուսաբանական այգու հողակլիմայական պայմաններում, ընդ որում, ընթացիկ աճի ամենաբարձր միջին ցուցանիշ 248 սմ (նվազագույնը 121 սմ, առավելագույնը 285), արմատավզի մոտ 38 մմ տրամագծով դրսևորել է I-78 b Italian hybrid "Giacometti" *Populus x euramericana* (Dode) Guiner սորտը, առաջացնելով 21 կողային ճյուղեր, միջինը 73 սմ երկարությամբ: Աճի հիմնական մասը (45%) ձևավորվել է հունիս ամսին: Հուլիսին աճի տեմպը զգալի նվազել է, կազմելով տարեկան աճի 9,3%, ապա օգոստոս-սեպտեմբեր ամիսներին նորից աճն ուժեղացել է, ամսական ձևավորելով ընթացիկ աճի 20%-ը: Առանձնակի ուշադրության է արժանի NM-6 *Populus nigra* x *Populus maximowiczii* սորտը, որն անցյալ վեգետացիոն շրջանում, համեմատած մյուս սորտերի հետ, դրսևորել էր առավելագույն աճ 86 սմ:

Ֆենոլոգիական դիտարկումները ցույց են տվել, որ զարնանը NM-6 սորտի բողբոջները, համեմատած մյուս սորտերի հետ, բացվեցին 10 օր շուտ (մարտի 19-ին), որի պատճառով առաջին տերևները տուժեցին ցածր ջերմաստիճանից: Ընթացիկ տարում այս սորտը նորից աչքի ընկավ ինտենսիվ աճով, մի փոքր զիջելով նախորդ սորտին: Երկայնական միջին աճը 222 սմ (նվազագույնը՝ 145 սմ, առավելագույնը՝ 230 սմ) արմատավզի մոտ 28 մմ տրամագծով, որից 20 մմ ընթացիկ աճի հաշվին: Աճի զգալի մասը (42,3%) ձևավորվել է հունիսին: Հուլիս-սեպտեմբեր ամիսներին աճի տեմպն ընթացել է սահուն, կազմելով համապատասխանաբար 14,0, 16,2 և 19,8%: Այսինքն, հունիսի ինտենսիվ աճից հետո աճման տեմպը նվազում է շուրջ 50%-ով, ապա ողջ վեգետացիայի ընթացքում աճն ընթանում է սահուն, պահպանելով միևնույն տեմպը: Առանցքի վրա նախորդ տարվա աճի սահմանում ձևավորել է միջինում 25 կողային ճյուղ, 70 սմ երկարությամբ: Առանցքի և կողային ճյուղերի ընթացիկ աճի զումարը փորձարկվող սորտերի մեջ ամենամեծն է 1972 սմ, որը շուրջ 11%-ով ավելի է I-78 b սորտի նույն ցուցանիշից:

Աճման տեմպի տեսակետից երրորդ տեղում է DN-70 *Populus x euramericana* սորտը, որի երկայնական ընթացիկ աճի միջինը 161 սմ է (նվազագույնը՝ 91 սմ, առավելագույնը՝ 96 սմ), արմատավզիկի մոտ 22 մմ բնի տրամագծով, որից 16 մմ ընթացիկ աճի հաշվին: Այսինքն, աճը չորս անգամ գերազանցել է նախորդ տարվա նույն ցուցանիշը: Աճի առավելագույն տեմպ այս սորտը դրսևորել է հունիս և օգոստոս ամիսներին, համապատասխանաբար ընթացիկ աճի 29,8 և 26,7%: Հուլիսին և սեպտեմբերին այն կազմել է համապատասխանաբար 19,9 և 16,1%: Այսինքն, աճի գերակշռող մասը (76,4%) ձևավորվել է ամռան ընթացքում, կազմավորելով առանցքի վրա միջին հաշվով 11 կողային ճյուղ յուրաքանչյուրը ըստ միջինի 59 սմ երկարությամբ:

DN-1 *Allenstein populus x euramericana* սորտի ընթացիկ աճը երեք անգամ գերազանցել է նախորդ տարվա աճը, կազմելով միջինը 155 սմ (նվազագույնը 88 սմ, առավելագույնը 238 սմ), 21 մմ բնի տրամագծով, որից 15 մմ ընթացիկ աճի հաշվին: Աճն ընթացել է անընդմեջ, առավելագույն տեմպ դրսևորելով ամռանը (79,4%): Առանցքի վրա անցյալ տարվա աճի ընթացքում առաջացել է կողային 13 ճյուղ 54 սմ երկարությամբ:

Eugenci, *Populus x euramericana* սորտի երկրորդ տարվա աճը կազմել է

212 սմ (նվազագույնը 155 սմ, առավելագույնը 285 սմ), 33 մմ բնի տրամագծով, որից 27 մմ-ը ձևավորվել է ընթացիկ տարում, երեք անգամ գերազանցելով նախորդ տարվա երկայնական և ընդլայնական աճը: Վեգետացիայի ընթացքում աճը զնացել է սահուն, դրսևորելով առավելագույն տեմպ (տարեկան աճի 35,1%) հունիս և մասամբ (21,4%) հուլիս ամիսներին: Առանցքի վրա ձևավորվել է միջինը 12 կողային ճյուղ 42 սմ երկարությամբ:

DN-2 CV Badem 431 *Populus x euramericana* սորտի աճն ըստ բարձրության կազմել է միջինում 119 սմ (նվազագույնը 64 սմ, առավելագույնը 169 սմ), արմատավզի մոտ 30 մմ բնի տրամագծով, որից 24 մմ ձևավորվել է ընթացիկ տարում: Երկայնական աճի հիմնական մասը (տարեկան աճի 87,4%) ձևավորվել է ամռանը՝ ցուցաբերելով առավելագույն տեմպ (աճի 58%) հունիս ամսին: Առանցքի վրա ձևավորվել է 13 կողային ճյուղ, միջինում 43 սմ երկարությամբ:

Աճի նույնանման տեմպ ցուցաբերել է նաև DN-5 CV Gelrica, *Populus x euramericana* սորտը, որի երկայնական ընթացիկ աճը կազմել է 114 սմ (նվազագույնը 25 սմ, առավելագույնը 160 սմ), տրամագիծն արմատավզիկի մոտ 15 մմ, որից 11 մմ-ը ձևավորվել է ընթացիկ տարում, չորս անգամ գերազանցելով նախորդ տարվա աճը: Վեգետացիայի ընթացքում աճն ընթացել է զգալի տատանումներով՝ դրսևորելով առավելագույն տեմպ հունիս և օգոստոս ամիսներին (համապատասխանաբար 46,5 և 20,2%): Առաջացել է կողային 4 ճյուղ միջինում 60 սմ երկարությամբ:

Աման բավականին թույլ տեմպ է դրսևորել DN-55 *Populus x euramericana* սորտը, որի երկրորդ տարվա երկայնական միջին աճը կազմել է 102 սմ (նվազագույնը 55 սմ, առավելագույնը 121 սմ), տրամագիծն արմատավզի մոտ 18 մմ, որից 12 մմ ձևավորվել է ընթացիկ տարում: Հիմնական աճը (86%) տեղի է ունեցել ամռան ամիսներին, ցուցաբերելով առավելագույն տեմպ հունիսին (տարեկան աճի 40,2%): Առանցքի վրա առաջացել է 11 կողային ճյուղ միջինում 52 սմ երկարությամբ:

Raverdeau Populus x euramericana սորտը փորձարկման առաջին տարում աչքի է ընկել ինտենսիվ աճով (բարձրությունը 68 սմ, տրամագիծը 8 մմ), մշակման երկրորդ տարում ցուցաբերել է անհամեմատ փոքր աճ՝ ըստ բարձրության 84 սմ, (նվազագույնը 25 սմ, առավելագույնը 131 սմ) ըստ տրամագծի 15 մմ: Վեգետացիայի ընթացքում աճն ընթացել է սահուն, տալով մեկ պիկ հունիսին, ձևավորելով տարեկան աճի 34%, առաջացրել է կողային 8 ճյուղ միջինում 46 սմ երկարությամբ:

Populus tricoarpa Z-1 սորտը, ինչպես առաջին, այնպես էլ երկրորդ տարում ցուցաբերել է համեմատաբար նվազ աճ: Ըստ բարձրության այն կազմում է 91 սմ (նվազագույնը 46, առավելագույնը 107 սմ), 19 մմ տրամագծով, որից 14 մմ ձևավորվել է ընթացիկ տարում: Այսինքն նախորդ տարվա հետ համեմատած ընթացիկ աճը ավել է 2,5 անգամ: Աճի բացարձակ գերակշռող մասը (86,9%) ձևավորվել է ամռանը՝ առավելագույն աճ (35%) ցուցաբերելով հունիսին: Անցյալ տարվա աճի ընթացքում առաջացել է 6 ճյուղ 54 սմ երկարությամբ:

Մյուս երկու սորտերի I - 37/61 Italian hybrid "Tripolo" *Populus x euramericana* և I - 262 Italian hybrid *Populus x euramericana* ընթացիկ երկայնական աճը կազմել է ընդամենը 65 սմ, (համապատասխանաբար նվազագույնը 45 և 28 սմ, առավելագույնը 102 և 125 սմ, 20 և 16 մմ բնի տրամագծով, որի 14 և 11 մմ

ձևավորվել է ընթացիկ տարում: Նշված սորտերն առաջացրել են 6-7 կողային ճյուղեր, համապատասխանաբար 48 և 37 սմ երկարությամբ: "Tripolo" սորտի ընթացիկ աճի 52,3%-ը ձևավորվել է հունիսին: Մյուս ամիսներին աճը կազմել է 8-13%: Աճի ուրույն տեմպ է դրսևորվում նաև I-262 սորտի մոտ, որի աճման բարձր տեմպը սկսվում է մայիսին, տալով տարեկան աճի 21,5% և շարունակվում է մինչև հունիսի վերջը, ձևավորելով ընթացիկ աճի ևս 21,5%: Այնուհետև հուլիս և օգոստոս ամիսներին աճի տեմպը խիստ ընկնում է, կազմելով ամսական 7-9%, իսկ սեպտեմբերին նորից մի փոքր բարձրանում է (14%): Այսինքն, աճն ընթանում է ջերմային մեղմ ռեժիմի պայմաններում:

Այսպիսով, աճման միևնույն պայմաններում բարդու փորձարկվող սորտերից յուրաքանչյուրը դրսևորում է աճի յուրովի տեմպ, որի հիմքում տվյալ դեպքում ընկած է այս կամ այն սորտի պահանջը ջերմության, մասնավորապես դրական ջերմաստիճանների գումարը, և վեգետացիայի տևողության նկատմամբ: Դրանով կարելի է բացատրել այն, որ փորձարկվող սորտերի աճը լեռնի վեր նվազում է: Բարդու ամերիկյան հիբրիդների աճի տեմպի մասին ճիշտ պատկերացում կազմելու համար բավական է նշել, որ Յայաստանում լայնորեն մշակվող նրբագեղ բարդին (*Populus gracilis*) և սև բարդին (*Populus nigra*) Երևանի բուսաբանական այգու պայմաններում 5 տարեկան հասակում ձևավորում են 3,6-4,2 մ բարձրություն և 10-32 սմ բնի հաստություն [է]: Մինչդեռ ամերիկյան հիբրիդներից NM-6 CV Max-6 Eugensi և I 78 b "Giacometti" սորտերը այդպիսի չափեր ձևավորում են երկու տարեկան հասակում:

Հրազդանի փորձադաշտում (ծովի մակերևույթից 1850 մ), ավազատիղմային ալյուվիալ հողերի վրա, ինչպես և նախորդ տարի, ամենամեծ ընթացիկ աճ (միջինը 131 սմ) դրսևորել է DN-2 CV Badem 431 սորտը, որը 10,1% ավելի է, քան նույն սորտի աճը Երևանում: Մինչդեռ մյուս սորտերի աճն այստեղ զգալիորեն զիջում է Երևանում մշակվող նույն սորտի անհատներին: Օրինակ Raverdeau, Eugenci և DN-5 սորտերը զիջում են 10-13%, DN-1 Allenstein, DN-70 և NM-6-ը 14-17%, DN-55, I-37/61 և I-262-ը 21-29%, իսկ DN-70 և Tricocarpa Z-1-ը 37-40%:

Վեգետացիայի ընթացքում բոլոր սորտերի մոտ դիտվում է աճի մոտավորապես միևնույն ռիթմը: Հիմնական աճը 70-78% ձևավորվում է հունիս-հուլիս ամիսներին ցուցաբերելով առավելագույն տեմպ (տարեկան աճի 50-60%) հունիսին: Այդ տեսակետից որոշ բացառություն են կազմում NM-6, DN-70, Raverdeau, Eugenci և I - 262 սորտերը, որոնց մոտ ընթացիկ աճի 17-20% ձևավորվում է արդեն մայիս ամսից: Բոլոր սորտերի մոտ օգոստոս-սեպտեմբեր ամիսներին աճը կազմում է շուրջ 5-8%, այսինքն, հուլիսից հետո աճը գործնականում դադարում է: Սևանի շրջանում (ծովի մակերևույթից 1960 մ բարձրության լեռնատափաստանային գորշ հողերի վրա), որտեղ կլիման անհամեմատ սուր է, բարդու փորձարկվող սորտերը ցուցաբերում են ավելի փոքր աճ, քան Հրազդանում:

Այստեղ ամենամեծ ընթացիկ աճ (83 սմ) դրսևորում է NM-6 *Populus nigra* x *Populus maximowiczii* սորտը, նվազագույն աճ (22 սմ) Raverdeau: Բոլոր սորտերի մոտ աճի զգալի մասը (տարեկան աճի 27-59%) ձևավորվում է հունիս ամսին: Այդ տեսակետից որոշակի բացառություն է կազմում Raverdeau սորտը, որի մոտ տարեկան աճի 45% ձևավորվում է հուլիս ամսին: Ամռան երեք ամիսներին այս

սորտի աճը կազմում է ընթացիկ աճի 93,3%: Ի տարբերություն վերջիններիս, DN-5 CV Gelrica *Populus x euramericana* սորտի ինտենսիվ աճը սկսվում է գարնանը մայիսին (30,3%) և առավելագույն չափի է հասնում հունիսին (տարեկան աճի 63,6%):

Իտալական և եվրոամերիկյան հիբրիդների կոմբինացիաներից I-78b Italian hybrid "Giacometti" *Populus x euramericana* (Dode, Guiner) սորտը, որը երևանի պայմաններում երկրորդ տարում տվել է 248 սմ աճ, Սևանի պայմաններում նրա ընթացիկ աճը կազմում է ընդամենը 42 սմ, որի 81% ձևավորվել է մայիս-հունիս ամիսներին: Այս խմբին պատկանող մյուս սորտը I-37/61 Italian hybrid "Tripolo" *Populus x euramericana* ցուցաբերում է աճի մոտավորապես սահուն դիմ և մայիսին 25,5, հունիսին 33,3, հուլիսին 25,5, օգոստոսին 11,8%: Աճի նման դիմ ցուցաբերել է նաև DN-55 *Populus x euramericana* սորտը, որը մայիս-օգոստոս ամիսներին կազմավորել է համապատասխանաբար ընթացիկ աճի 17,8, 26,7, 17,8 և 17,8%: Աճը համեմատաբար շուտ (օգոստոսի երկրորդ կեսին) դադարեցնում են Allenstein, DN-5 Gelrica, DN-2 սորտերը: Սևանի բարձր լեռնային պայմաններում զգալիորեն նվազում է կողային ճյուղերի առաջացման ունակությունը, այն յուրաքանչյուր սորտի մոտ կազմում է միջինը 4-6 ճյուղ, 11-28 սմ միջին երկարությամբ:

Ծովինարում, Սևանա լճի ջրերից ազատված ավազուտների վրա ամենաբարձր աճ (45%) ցուցաբերում է DN-5 *Populus x euramericana* սորտը: Մյուս սորտերի (DN-1, DN-5, Eugenci, Raverdeau, DN-2 և I-37/61 "Tripolo" և I-262) աճը կազմում է DN-55 սորտի աճի 71-95%: Մինչդեռ, I-78 b "Giacometti" (Dode) Guiner, NM-6 և DN-70 սորտերի աճը չի գերազանցում DN-55 աճի 49%-ից: Չնայած չնչին աճին, վեգետացիայի ընթացքում այն բոլոր սորտերի մոտ գնացել է սահուն դիմով, առավելագույն աճ (28-68%), դիտվել է հունիս ամսին: Ուշագրավ է այն, որ ինչպես Սևանում, այնպես էլ այստեղ, փորձարկվող բարդու սորտերի մեծ մասն (DN-1, DN-55, DN-70, NM-6, DN-2, I-78b և I-37/61) ընթացիկ աճի 20-32 % ձևավորում են մայիս ամսին: Մյուս սորտերի DN-5, Eugenci և Reverdeau աճն այդ ժամանակաընթացքում կազմում է ընթացիկ աճի 12-18%: Սահուն դիմով աճով աչքի են ընկնում I-37/61 Italian hybrid "Tripolo" *Populus x euramericana*, DN-2 CV Badem 431 *Populus x euramericana*, Reverdeau *Populus x euramericana*, Eugenci, DN-5, DN-70 և DN-1 սորտերը, որոնք բացառությամբ հունիս ամսվա, մյուս ամիսներին (5-9) ձևավորել են ընթացիկ աճի 15-25%: Մինչդեռ I-78 Italian hybrid "Giacometti" *Populus x euramericana* (Dode) Guiner սորտը մայիսին ձևավորել է աճի 21, հունիսին 68, հուլիսին 11%: Եթե Ծովինարի բույսերի աճը համեմատելու լինենք Սևանի արմատական ափի հողերի վրա մշակվող նույն սորտի բույսերի աճի հետ, ապա պարզ է դառնում, որ բարդու փորձարկվող հիբրիդային սորտերը ջերմաստիճանից բացի պահանջկոտ են նաև հողի սննդարար տարերի նկատմամբ:

Չնայած անբավարար աճին, անհրաժեշտ է փաստագրել, որ այն երկրորդ տարում 3-4 անգամ գերազանցել է նախորդ տարվա աճի ցուցանիշները: Այստեղ ի տարբերություն մյուս փորձադաշտերի վեգետացիայի ընթացքում փորձարկվող սորտերի, աճի գերակշռող մասը ձևավորվել է մայիս-հունիս ամիսներին, ավարտելով աճը օգոստոսին: Մայիս-հունիս ամիսներին աճի համեմատաբար մեծ տեմպ (ընթացիկ աճի 85-97%) ցուցաբերել են DN-2 CV Badem-431, DN-70, NM-6 CV Max-6 և I-262 սորտերը: Աճի միջին տեմպ (ընթացիկ աճի 70-80%)

դրսկորել են DN-1 Allenstein, DN-5 CV Gelrica, Eugenci, Reverdeau և I-78b "Giacometti" (Dode) Guiner սորտերը: Մինչդեռ DN-5 *Populus x euramericana* սորտը դրսկորել է աճի նվազող սահուն տեմպ՝ նայիս-հունիս ամիսներին 54%, հուլիսին 30%, օգոստոսին՝ 14%, սեպտեմբերին 2%:

Ամփոփելով բարդու ամերիկյան հիբրիդների սորտափորձարկման երկամյա դիտարկումների արդյունքները կարելի է փաստագրել, որ բարդու փորձարկվող յուրաքանչյուր սորտն աճման տեմպի իր ներքին հնարավորությունները դրսկորում է մշակման երկրորդ տարում, որի ժամանակ բույսերի երկայնական աճը, կազմելով շուրջ 2-3 մ, մի քանի անգամ գերազանցում է առաջին տարվա աճի ցուցանիշները: Չնայած դրան, սորտերի մեծ մասն անգամ առաջին տարում ցուցաբերում են իրենց աճին բնորոշ տեմպի թույլ արտահայտվածություն: Բարդու փորձարկվող հիբրիդային սորտերն աչքի են ընկնում բարձր ջերմասիրությամբ, որն արտահայտվում է լեռնի վեր նրանց աճման տեմպի անկմամբ: Ընդ որում, յուրաքանչյուր սորտ, ելնելով ջերմասիրության աստիճանից, դրսկորում է աճման յուրովի տեմպ: Հարմարողականության համեմատաբար բարձր ունակությամբ բարդու փորձարկվող ամերիկյան 12 սորտերից կարելի է առանձնացնել DN-1 Allenstein *Populus x euramericana*, NM-6 CV Max-6 *populus nigra x Populus maximowiczii*, Raverdeau, Eugenci և DN-2 CV Badem 431 *Populus x euramericana* սորտերը: Երկու տարվա դիտարկումներից ելնելով, բարդու փորձարկվող 12 սորտերից առայժմ կարելի է հեռանկարային համարել. նախալեռնային գոտում՝ 6 սորտ, լեռնատափաստանային գոտում (Հրազդան)՝ 5 սորտ, Սևանի ավազանի արմատական հողերում՝ 4 սորտ, Սևանի ջրից ազատված ավազուտներում՝ 4 սորտ և Հայաստանի հյուսիսային անտառային գոտում (Վանաձոր)՝ 5 սորտ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Абрамян А.Г. Изв. АН АрмССР, биол. науки, 16, 11, 13-26, Ереван, 1963.
2. Морозов П. Газета "Лесная промышленность", М., 1964.
3. Чинчаладзе Т.Г. Тр. Ин-та леса АН Грузии, 10, 129-143, 1961.
4. Чодрашвили И.И. Разведение тополей и их значение в народном хозяйстве. 83, Тбилиси, 1966.
5. Яблоков А.С. Наука и жизнь, 3, 23-39, М., 1960.
6. Яценко-Хмелевский А.А. Древесины Кавказа. Ереван, 1954.

Ստացվել է 7.X.1996

ВИДОВОЙ СОСТАВ И ТОКСИГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ - КОНТАМИНАНТОВ СУХИХ СЕМЯН БОБОВЫХ КУЛЬТУР В АРМЕНИИ

К.М. ГРИГОРЯН, О.А. ЮСЕФ, Л.Л. ОСИПЯН

Ереванский государственный университет, кафедра ботаники, 375049

Из 55 образцов семян бобовых выделено и идентифицировано 40 видов микромицетов, относящихся к 9 родам из классов *Zygomycetes* и *Deuteromycetes*. Все образцы оказались заспоренными в большей или меньшей степени грибами, являющимися потенциальными продуцентами микотоксинов. Из испытанных 20 штаммов 10 обладали токсичными и слаботоксичными свойствами, у остальных токсичные свойства не выявлены. Отмечена сравнительно низкая частота встречаемости микотоксинов в пищевых семенах фасоли, нута, чечевицы, гороха и, наоборот, высокая частота встречаемости микотоксинов в сое и соевой муке.

Ունգաժոր սերմերի 55 նմուշներից անջատվել և որոշվել են 40 տեսակի միկրոմիցետներ, որոնք պատկանում են *Zygomycetes* և *Deuteromycetes* դասերի 9 ցեղերին: Բոլոր հետազոտված նմուշները ավել կամ պակաս չափով աղտոտված էին սնկերի սպորներով, որոնք հանդիսանում են միկոտոքսինների պոտենցիալ արտադրիչներ: Չետազոտված 20 շտամներից 10-ը օժտված էին տոքսիկ կամ թույլ տոքսիկ հատկություններով, մնացած շտամների մոտ տոքսիկ հատկություններ չեն հայտնաբերված: Միկոտոքսինների հանդիպման համեմատաբար ցածր հաճախականություն է դիտվել լոբու, սիսեռի, ոսպի, դոռի սերմերում և, ընդհակառակը, միկոտոքսինները առավել հաճախ նկատվել են սոյայի սերմերում և սոյայի ալրի մեջ:

From 55 samples of leguminous cultures seeds have been isolated and identified 40 species of micromycetes, belonging to 9 genera of classes *Zygomycetes* and *Deuteromycetes*. The all examined samples were more or less contaminated with spores of fungi which are the producers of mycotoxins. Among 20 tested strains 10 had toxic or slightly toxic properties, in the rest the toxic properties were not revealed. The comparatively low frequency of mycotoxins has been observed in seeds of bean, chick pea, lentil, pea, on the contrary, it was high in soya bean and soya flour.

Бобовые - микромицеты - контаминанты - микотоксины

Бобовые являются важнейшими компонентами пищевого рациона, а в некоторых регионах — основным пищевым продуктом.

Из бобовых культур наиболее часто контаминируются плесневыми грибами семена сои, фасоли, чечевицы [9]. Изучению микофлоры семян посвящены многочисленные исследования. В результате исследования 100 образцов семян фасоли в Египте [6] изолировано 73 вида из 32 родов. Наибольшая частота встречаемости отмечена у видов *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. alliaceus*. В 35% исследованных образцов семян обнаружены афлатоксины в количестве от 5 до 35 мкг/кг.

Японские исследователи [9] подвергли микологическому анализу 604 образца различных видов (импортированных в Японию и местного производства) сухих семян бобовых с целью изучения их контаминированности грибами и микотоксинами. Самый высокий уровень поражения грибами отмечался у фасоли (79% проб), а самый низкий показатель — у вигны (59%).

Ими выделены виды *Aspergillus nidulans*, *A. versicolor*, *A. ochraceus*, *Penicillium viridicatum*, продуцирующие в чистых культурах стеригматоцистин и охратоксин А. Вместе с тем при анализе 52 образцов фасоли, зараженных токсигенными штаммами, микотоксины не были обнаружены.

Из плесневелых семян фасоли Тсенгом и др. [15] выделены виды *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *F. solani*, а также обнаружены микотоксины диацетоскирпинол, дезоксиниваленол, Т-2 токсин и фуманизин. Маимус и др. [12] установили загрязнение семян кормовых бобов в полевых условиях афлатоксинами В₁, В₂, G₁, G₂ и охратоксином А.

При микологическом анализе 150 образцов нута, отобранных с рынков Тайваня [10], выделено 18 видов грибов. В числе наиболее характерных видов отмечены *Rhizopus stolonifer*, *A. candidus*, *A. fumigatus*.

Приведенный перечень фактов свидетельствует об актуальности микологических и микотоксикологических исследований, направленных на обеспечение безопасности бобовых продуктов.

Цель настоящей работы заключалась в выявлении видового состава грибов, контаминирующих сухие семена пищевых бобовых культур, в определении токсигенности наиболее часто встречаемых видов грибов-контаминантов, установлении степени загрязненности их афлатоксинами, зеараленоном, стеригматоцистином.

Материал и методика. Исследовали сухие семена фасоли, гороха, нута, сои, чечевицы местного производства и ввезенных в Армению из других стран в качестве гуманитарной помощи в 1996 - 1998 гг.

Выделение микромицетов из сухих семян бобовых проводили по методу серийных разведений, непосредственным посевом семян на питательные среды, использовали также влажные камеры [2]. Питательные среды - Чапек агар, глюкозо-дрожжевой агар с добавлением антибиотиков [11]. Для характеристики структуры комплексов микромицетов использовали показатели частоты встречаемости и степени заспоренности [7, 11].

Для идентификации изолированных культур пользовались руководствами [1, 13, 14].

Токсичность грибных штаммов определяли на следующих биотестах: *Paramecium caudatum*, личинках *Artemia salina*. фитотоксичность - на семенах гороха [2, 8]. Химический анализ грибных экстрактов и семян бобовых на содержание афлатоксинов, зеараленона, стеригматоцистина проводили методом ТСХ-флуориметрии [3, 4, 5].

Результаты и обсуждение. В результате анализа 55 образцов семян бобовых выделено и идентифицировано 40 видов микромицетов, относящихся к 9 родам из классов *Zygomycetes* и *Deuteromycetes*. Все образцы были контаминированы спорами плесневых грибов. Степень заспоренности находилась в пределах 10^2 - 7×10^4 КОЕ/г продукта. В некоторых странах (Венгрия, Франция, США, Австралия) допустимое содержание спор микромицетов в семенах зернобобовых культур лимитировано в пределах 5×10^2 - 10^3 КОЕ/г. В странах СНГ подобные регламентирующие нормативы отсутствуют.

В табл. 1 приводятся состав видов грибов, контаминирующих семена бобовых, и частота их встречаемости. Самыми специфичными контаминантами для сухих семян бобовых оказались представители родов *Peni-*

ВИДОВОЙ СОСТАВ И ТОКСИГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ

Таблица 1. Контаминирующая микобиота семян бобовых культур и частота встречаемости

Субстраты	Страна, кол-во образцов	Виды грибов	Частота встречаемости
Фасоль	Армения, США, Канада 15	<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehenb.) Vuill.	+
		<i>Botrytis fabae</i> Pers. et Fir.	+
		<i>Alternaria alternata</i> /Fr. Keissler	+
		<i>Cladosporium cladosporoides</i> (Fres.) de Vries	+
		<i>Aspergillus avenaceus</i> Smith	++
		<i>A. candidus</i> Link	++
		<i>A. flavus</i> Link	+++
		<i>A. niger</i> v. Tiegh.	+++
		<i>A. roseovelutinus</i> Kamyschko	+
		<i>Penicillium citrinum</i> Thom	+
		<i>P. hordei</i> Stolk	++
		<i>P. lanosum</i> Westling	+
		<i>P. palitans</i> Westling	++
		<i>P. purpurogenum</i> Stoll	++
Горох	Венгрия, США, Армения, Россия 9	<i>P. resticulosum</i> Berkinshaw	+
		<i>Mucor mucedo</i> Fres.	+
		<i>M. racemosus</i> Fres.	+
		<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link	+
		<i>Aspergillus flavus</i> Link	+++
		<i>A. niveus</i> Blochwitz	++
		<i>A. parasiticus</i> Speare	+++
		<i>Penicillium diversum</i> v. aureum Raper et Fenell	+
		<i>P. fuscum</i> (Soop) Raper et Thom	+
		<i>P. steckii</i> Zal.	+
Пут	Иран, Армения 11	<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill.	+
		<i>Fusarium avenaceum</i> Cheld	+
		<i>Aspergillus flavus</i> Link	+++
		<i>A. foetidus</i> (Naka.) Thom et Raper	+++
		<i>A. japonicum</i> Saito	+
		<i>A. niger</i> v. Tiegh.	++
		<i>A. ochraceus</i> Wilhelm.	+
		<i>A. sulphureus</i> (Fres.) Thom et Church	+++
		<i>A. terreus</i> Thom	+
		<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	+
Чечевича	Россия, Армения, США, Канада 10	<i>P. raciborekii</i> Zal.	+
		<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill.	+
		<i>Aspergillus alliaceus</i> Thom et Church	+
		<i>A. amstelodami</i> (Mangin) Thom et Church	+
		<i>A. candidus</i> Link	+++
		<i>A. flavus</i> Link	+++
		<i>A. foetidus</i> (Naka.) Thom et Raper	++
		<i>A. fumigatus</i> Fres.	++
		<i>A. nidulans</i> (Eidam) Wint.	+
		<i>A. niger</i> v. Tiegh.	+++
		<i>A. ochraceus</i> Wilhelm	+
		<i>A. sulphureus</i> (Fres.) Thom et Church	+
		<i>A. terreus</i> Thom	+
		<i>Penicillium citreo-viride</i> v. aeneum Abe	+
		<i>P. oxalicum</i> Currie et Thom	+
Соя, соевая мука	США, Канада, Испания 10	<i>P. roqueforti</i> Thom	+
		<i>P. steckii</i> Zal.	++
		<i>P. viridicatum</i> Westling	+
		<i>Fusarium moniliforme</i> Cheld	++
		<i>Stemphyllium botryosum</i> Wallr.	+
		<i>Aspergillus candidus</i> Link	++
		<i>A. flavus</i> Link	+++
		<i>A. fumigatus</i> Fres.	+
		<i>A. nidulans</i> (Eidam) Wint.	+++
		<i>A. niger</i> v. Tiegh.	++
		<i>A. oryzae</i> (Ahlb.) Cohn	++
		<i>A. parasiticus</i> Speare	++
		<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	+
		<i>P. lanosum</i> Westling	+

Примечание: +++ - высокая частота встречаемости, ++ - средняя частота встречаемости, + - низкая частота встречаемости

cillium, насчитывающие 17 видов, и *Aspergillus* - 16 видов. Единичными видами представлены роды *Rhizopus*, *Botrytis*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Stemphillium*.

В большинстве образцов отмечалась средняя и высокая степень заспоренности видами рода *Aspergillus* - *A. flavus*, *A. ochraceus*, *A. niger*. На нуте из Армении часто регистрировались виды *A. flavus*, *A. foetidus* и *A. sulphureus*, а для чечевицы из Канады характерны виды *A. candidus* и *A. niger*. Фасоль, завезенная из США, отличалась сравнительно высокой степенью заспоренности видами рода *Penicillium* - *P. purpurogenum*, *P. hordei*, *P. palitans*. В семенах сои и в соевой муке наблюдали преобладание видов *A. flavus*, *A. oryzae*, *A. nidulans*, *A. parasiticus*, *A. niger*. Горох сильнее всего поражен видами *A. flavus* и *A. ochraceus*.

Таким образом, все обследованные бобовые оказались заспоренными в большей или меньшей степени грибами, являющимися потенциальными продуцентами микотоксинов. Однако известно, что токсинообразование - неустойчивый процесс и зависит от многих факторов. Поэтому выделение из пищевых продуктов грибов, известных как продуценты микотоксинов, еще не является доказательством неопровержимого наличия в них микотоксинов, характерных для контаминирующих видов грибов. Это подтверждается результатами проведенных нами экспериментов по выявлению токсинообразующей способности штаммов микромицетов, выделенных из семян бобовых, содержащих микотоксины, а также из продуктов, не загрязненных ими.

Из 6 штаммов *Aspergillus*, выделенных из соевой муки, содержащей афлатоксин В₁, в экстрактах двух культивированных штаммов *A. flavus* С-15, С-23 и одного штамма *A. parasiticus* С-7 обнаружен афлатоксин В₁ в количестве 50, 75, 20 мкг/л. Два штамма *A. nidulans* С-9, Ф-120 продуцировали стеригматоцистин (150 и 20 мкг/л). Штамм *Fusarium moniliforme* С-53, изолированный из сои, содержащей зеараленон, синтезировал тот же токсин на уровне 3 мкг/л. Во всех перечисленных случаях грибы-контаминанты проявили токсинообразующую способность в культуре. Вместе с тем штаммы грибов *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. oryzae*, *F. moniliforme*, *F. avenaceum*, также возможные продуценты микотоксинов и обладающие высокой частотой встречаемости в сухих семенах бобовых, часто выделялись из продуктов, не содержащих микотоксины. При культивировании этих штаммов на питательных средах они также не продуцировали микотоксины и не проявляли токсичности.

Полученные экспериментальные данные позволяют заключить, что в подавляющем большинстве случаев из продуктов, содержащих микотоксины, выделяются микотоксигенные штаммы.

В табл. 2 представлены результаты биотестирования грибных штаммов, выделенных из семян бобовых, на токсичность и токсинообразование. Культуральные жидкости потенциального токсигенного гриба *A. flavus* (Г-22, Г-17, Ч-14, Ф-125, Г-25), не содержащие афлатоксины, не оказывают влияния на всхожесть семян гороха, т.е. не обладают фитотоксичностью. Иногда у некоторых штаммов *A. niger* Ф-57, С-17 наблюдается очень слабая

Таблица 2. Характеристика фито- и зоотоксичности штаммов грибов, изолированных из семян культур, и продуцирование ими токсинов

Виды и штаммы грибов	Степень токсичности на тест-объектах			Продуцированные микотоксины, мкг/л
	<i>Pisum L.</i>	<i>P. caudatum</i>	<i>A. salina</i>	
<i>Aspergillus flavus</i> Г-22	-	+	-	-
<i>A. flavus</i> Г-17	-	-	-	-
<i>A. flavus</i> Ч-14	-	-	-	-
<i>A. flavus</i> С-15	++	+++	+++	Афлатоксин В ₁ 50
<i>A. flavus</i> Ф-125	-	-	-	-
<i>A. flavus</i> С-23	+++	++	++	Афлатоксин В ₁ 75
<i>A. flavus</i> Г-25	-	-	-	-
<i>A. nidulans</i> С-9	++	++	++	Стеригматоцистин 150
<i>A. nidulans</i> Ф-120	-	+	+	Стеригматоцистин 20
<i>A. niger</i> С-25	-	-	-	-
<i>A. niger</i> Ф-57	+	-	-	-
<i>A. niger</i> С-17	-	-	-	-
<i>A. parasiticus</i> С-7	+++	+++	+++	Афлатоксин В ₁ 20
<i>A. oryzae</i> С-45	-	+	-	-
<i>A. terreus</i> Н-1	-	-	-	-
<i>Fusarium moniliforme</i> С-53	+++	+++	+++	Зеараленон 3
<i>Penicillium funiculosum</i> Н-2	-	-	-	-
<i>P. palitans</i> Ф-3	-	-	-	-
<i>P. purpurogenum</i> Ф-5	+++	+++	+++	-
<i>P. steckii</i> Г-6	-	-	-	-

Примечание: +++ - остроотоксичен, ++ - токсичен, + - слаботоксичен, - - нетоксичен.

фитотоксичность, по-видимому, обусловленная присутствием в культуральной жидкости грибов других метаболитов.

Острой фитотоксичностью обладали штаммы *P. purpurogenum* Ф-5, *A. nidulans* С-9, *F. moniliforme* С-53, которые одновременно обладали острой токсичностью в отношении *Paramecium caudatum* и *Artemia salina*. Из испытанных 20 штаммов 6 шт. (30%) обладали токсичностью, 4 шт. (20%) — слабой токсичностью, у 10 шт. (50%) - токсичные свойства не были выявлены.

Проведен микотоксикологический анализ 500 образцов сухих семян бобовых (нут, чечевица, горох, фасоль), подлежащих обязательной сертификации при поступлении в Армению, на предмет присутствия афлатоксина В₁, зеараленона и стеригматоцистина. В одном образце фасоли из США обнаружен афлатоксин G₁ в количестве 3 мкг/л. В остальных образцах указанные микотоксины не были обнаружены.

Из 10 проанализированных образцов сои микотоксины выявлены в двух: афлатоксин В₁ - 10 мкг/кг (при ПДК 5 мкг/кг) и зеараленон - 2 мкг/кг (при ПДК 1 мкг/кг). Афлатоксин В₁ в количестве 30 и 50 мкг/кг и стеригматоцистин, 150 мкг/кг, зарегистрированы в трех образцах соевой муки, поступившей из Испании.

Результаты проведенных исследований позволяют заключить следующее: встречаемость микотоксинов сравнительно низкая в пищевых семенах фасоли, нута, чечевицы, гороха, и, наоборот, высокая - в сое и соевой муке. Не установлено четкой зависимости между степенью заспоренности исследуемых семян бобовых мицелиальными грибами и содержанием в них микотоксинов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Билай В.И., Коваль Э.З.* Аспергиллы. Киев, Наукова думка, 1988.
2. Методы экспериментальной микологии. Киев, Наукова думка, 1982.
3. Методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания дезоксиниваленола и зеараленона в зерне и зернопродуктах. М., 1990.
4. Методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания афлатоксинов в зерне и зернопродуктах. М., 1986.
5. *Эллер К.М., Григорян К.М., Осипян Л.Л., Максименко Л.В., Тютелян В.А.* Микол. и фитопатол., 18, 6, 467-470, 1984.
6. *El-Kady I.A., Yousser M.S. J.* Basic Microbiol., 33, 6, 371-378, 1993.
7. *El-Kady I.A., J.H. Abdel-Hafez S.I.I., El-Maraghy S.S.* Mycopathologia, 77, 103-109, 1982.
8. *Harwing P.M.* Appl. Microbiol., 21, 6, 1011-1016, 1971.
9. *Hitokoto M., Morozumi S.* Mycopathologia, 73, 1, 33-38, 1981.
10. *Hitokoto M.* IUPAC 88, 103-105, Tokyo, 1988.
11. Norme Francaise NF ISO 7698-91 Cereales, legumneuses et produits derives. Denobreme des bacteries, levures, et moisissures.
12. *Mahmouss A.L.E., Ahd-Alla M.H.* Soil. Biol. And Biochem., 26, 8, 1081-1085, 1994.
13. *Pitt J.I.* The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talavomyces*. London: Acad. Press, 634, 1979.
14. *Samson R.A., Pitt J.I.* Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* systematics. London: Plenum Press, 410, 1985.
15. *Tseng T.C., Tu J.C., Soo L.C.* Microbios, 84, 338, 21-28, 1995.

Поступила 10.IX.1998

Биолог. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 579.6:620.193.8

ОСОБЕННОСТИ ГРИБНОГО ОБРАСТАНИЯ ФТОРОПЛАСТОВЫХ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ

Р.А. ПЕТРОСЯН*, С.А. ДАВТЯН**, Н.С. ХАЧАТУРЯН**, Н.Л. КАЗАНЧЯН**,
Э.К. АФРИКЯН**

*Министерство охраны природы Армении, 375002, Ереван

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

Изучены особенности грибного обрастания фторопластовых композиционных материалов. Установлена роль технологических условий, компонентного состава и способов дополнительной обработки в инициировании-ингибировании процессов биообрастания композитов.

Ուսումնասիրվել են ֆտորպոլիմերային կոմպոզիցիոն նյութերի սնկապատման յուրահատկությունները: Բացահայտվել է տեխնոլոգիական պայմանների,

կոմպոնենտների կազմի և լրացուցիչ մշակման միջոցների դերը այդ երևույթի խթանման - արգելակման պրոցեսներում:

The peculiarities of microbial growth, mainly of fungal origin, on fluorine polymeric composites have been studied. The role of technological conditions, components composition and measures for additional treatment in stimulation-inhibition processes of microbial overgrowth on composites has been revealed.

Фторопластовые композиционные материалы - грибы - биодеструкторы - модификация свойств

Фторопластовые композиционные материалы относятся к числу наиболее перспективных классов конструкционных материалов, обладающих широким спектром эксплуатационно-технической пригодности [1]. Разнообразие областей применения обуславливает и разнопрофильность исследований, в которых наименее изученным является вопрос биостойкости композиций на основе фторполимеров гомо- и сополимерного строения [2, 4]. Известно, в частности, что несмотря на стабильность макромолекулярной структуры, некоторые фторполимеры обладают склонностью к биообрастанию микроорганизмами-биодеструкторами [6]. Однако остаются неясными некоторые причины и особенности механизма этого процесса, что существенно осложняет разработку высокостабильных композиций на основе фторопластов.

Цель настоящей работы - изучение влияния химической природы полимерных составляющих, композиционного состава и способов дополнительной обработки на грибоустойкость фторопластовых композиционных материалов.

Материал и методика. Объектами исследования служили образцы композиционных материалов ФКМ-1 и ФКМ-2, составленные на основе фторопластов Ф4Д, Ф-4 (ФКМ-1), фторкаучуков СКФ-26, СКФ-26НМ и фторопласта Ф-2М (ФКМ-2).

Биостойкость материалов и их составляющих определяли: по методу А ГОСТ 9.049-75 с последующей оценкой грибоустойчивости по шестибальной шкале ГОСТ 9.048-75 [6]; в динамике - посредством выдерживания образцов в 0,01М растворах фумаровой, щавелевой, яблочной, янтарной, винной и лимонной кислот (марки чда) и в дистиллированной воде при $20(\pm 2)^\circ$ согласно методу [8]. Период выдержки - 30 сут с промежуточными съемами и фиксацией веса образцов через каждые 5 сут.

Водные вытяжки подвергали анализу с целью установления технологической загрязненности материалов перманганатным методом [6], кондуктометрического определения продуктов метаболизма грибов и биодеструкции, а также концентрации фтор-ионов [3]. Водопоглощаемость определяли известным методом по потере массы образцов [6], а дифференциально-термический и термогравиметрический анализы проводили на дериватографе системы Паулик-Эрдеи (модель 1500) в воздушной среде (скорость нагрева - $10^\circ/\text{мин}$, навеска образцов - 65 мг).

Результаты и обсуждение. В табл. 1 представлены данные анализа водных вытяжек композиционных материалов в состоянии поставки и после

Таблица 1. Результаты анализа водных вытяжек композиционных материалов (до/после воздействия грибов)

Материал	Перманганатная окисляемость, мг/л	Альдегиды, %	Кетоны, %	Фтор-ионы, %
ФКМ-1	31,20/11,20	1,20/1,70	1,74/1,54	0,88/0,87
ФКМ-2	15,20/6,40	1,54/1,98	2,34/1,74	0,95/0,95

грибного воздействия.

Из таблицы следует, что уже в состоянии поставки материалы обладают достаточно высокой загрязненностью, изменяющейся по показателю перманганатной окисляемости в пределах от 15,2 мг/л (ФКМ-2) до 31,2 мг/л (ФКМ-1). Воздействие грибов сопровождается изменением суммарной концентрации органических загрязнителей (в т.ч. кетосоединений) и образованием продуктов метаболизма альдегидного строения. Следовательно, их присутствие в материалах в состоянии поставки обусловлено преимущественно условиями синтеза фторполимеров и формированием композиций на их основе. Эти процессы приводят к сохранению в матрицах остатков полимерно-мономерных частиц примесного характера, а также технологических загрязнений, способных ингибировать либо инициировать процессы биообращения и биоповреждения.

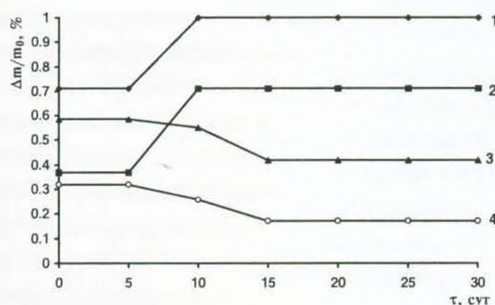


Рис. 1. Изменения массы ($\Delta m/m_0$, %) материала ФКМ-2 от времени выдержки (τ , сут) в 0,01 М растворе лимонной (кр. 1, 4) и щавелевой (кр. 2, 3) кислот: исходное состояние - 3, 4; после грибного воздействия - 1, 2.

Надо полагать, что в нашем случае эффект ингибирования биообращения превалирует над эффектом инициирования, так как фтор-ионы в силу токсических свойств являются физиологически неблагоприятным питательным субстратом и подавляют клеточный метаболизм микроорганизмов-биодеструкторов [3].

В растворах органических кислот потери массы для материала ФКМ-1 не зафиксированы, а для ФКМ-2 они наблюдаются только в растворах щавелевой и лимонной кислот (рис. 1). Они связаны в основном с вымыванием в агрессивную среду некоторых компонентов композиции, что практически не отражается на целостности макромолекулярной структуры фторполимеров.

Результаты оценки грибоустойчивости полимерных составляющих композиционных материалов, приведенных в табл. 2, свидетельствуют об их индивидуальной устойчивости к действию грибов-биодеструкторов. Это свойство они сохраняют, находясь в составе композиции.

Таблица 2. Грибоустойчивость полимерных составляющих композиционных материалов

Материалы и полимерные составляющие	Грибоустойчивость, баллы
ФКМ-1	2
-фторопласт Ф-4Д	2
-фторопласт Ф-4	2
ФКМ-2	1
-фторкаучук СКФ-26	2
-фторкаучук СКФ-26НМ	2
-фторопласт Ф-2М	1

Из компонентов, склонных к биоповреждению, следует отметить сажу марки ТГ-10, используемую в качестве наполнителя в ФКМ-2. Грибоустойчивость сажи составляет по ГОСТу 3балла, а в отдельных случаях - 4 балла. Она легко поражается грибами и служит инициатором процесса биообрастания. Остальные компоненты - окись цинка и окись магния - не обрастают микробами (0 баллов), т.к. они проявляют выраженное фунгицидное действие. В процессе исследований было установлено, что иницирующее действие сажи может быть снижено, если ее содержание будет составлять 15% в композиции. При этом основные эксплуатационные свойства композита сохраняются. Следовательно, не всегда склонность к биообрастанию является фактором, исключающим использование того или иного компонента в композиционном материале.

Исследования показали также, что значительный облагораживающий эффект может оказывать дополнительная обработка материалов. В частности, для материала ФКМ-2 этот эффект обеспечивает препарат ПЭС-5 (ГОСТ 13004-75) - жидкость на основе силиконового масла. ПЭС-5 грибоустойчив и придает поверхности материала ФКМ-2 хорошие гидрофобные свойства (водопоглощаемость не превышает 0,5%). В отличие от него материал ФКМ-1 и его составляющие - фторопласты Ф-4Д и Ф-4, обработанные замасливателем, содержащим 60-70% вазелинового масла, легко обсеменяются микробами (3-4 балла). Это обстоятельство вынуждает снижать рабочие концентрации замасливателей до эффективно действующих доз, которые, согласно нашим исследованиям, составляют 0,5-1,0%. Сравнение эффективности препаратов на основе силиконового и вазелинового масел показало, что предпочтение следует отдать первому (ПЭС-5), ибо гидрофобизация поверхности материала приводит одновременно к уменьшению ее технологической загрязненности. Так, концентрация органических загрязнителей на материале ФКМ-1 составляет 31,2 мг/л, на ФКМ-2 - 15,2 мг/л, а грибоустойчивость 2 и 1 балл соответственно. Несмотря на то, что оба материала оценены как грибоустойкие, склонность к биообрастанию больше выражена у ФКМ-1.

Данные дифференциально-термического анализа и термогравиметрии материалов по показателям деструкции - максимальной потере веса (T_m , К) и температуре экзоэффектов ($T_{экз}$, К) - приведены в табл. 3.

Таблица 3. Результаты термоаналитических исследований фторопластовых композиционных материалов (до/после грибного воздействия)

Материал	T_m , К	$T_{1экз}$, К	$T_{2экз}$, К	$T_{3экз}$, К	$T_{4экз}$, К
ФКМ-1	733/731	818/815	833/833	-	-
ФКМ-2	753/745	786/763	838/803	968/-	1008/933

Данные таблицы свидетельствуют о том, что число пиков в экзотермической области для материалов ФКМ-1 (818 и 833К) и ФКМ-2 (786, 838, 968 и 1008К) коррелирует с содержанием и гомо-, сополимерной

природой фторполимерных составляющих композиций, а температурные смещения ($T_{\text{экз}}$, К) - с устойчивостью к воздействию грибов-биодеструкторов. И в данной серии испытаний более устойчивым оказался материал ФКМ-1. Из результатов анализа термограмм следует, что динамический нагрев образцов материалов происходил без существенных изменений геометрического профиля и интенсивности экзотермических пиков. Надо полагать, что незначительные температурные сдвиги экзотермических пиков ($T_{\text{экз}}$, К) связаны в основном с молекулярными перегруппировками в полимерных матрицах с участием структурно-морфологических элементов фторполимеров. Они приводят к частичной аморфизации их кристаллической фазы без развития окислительных процессов.

Таким образом, результаты исследований позволяют заключить, что даже в пределах стабильных фторполимерных композиций склонность к биообрастанию обусловлена в первую очередь фактором технологической загрязненности. Именно на таких видах материалов чаще всего наблюдается процесс "пассивной" адгезии микробов, не приводящий к развитию окислительных превращений самого полимерного субстрата. Поэтому для таких материалов важнее предотвратить процесс биозагрязнения, ибо фторопласты в подавляющем большинстве представляют собой неблагоприятный питательный субстрат для микробов. Именно этим и объясняется узкий спектр ферментных систем, способных вызвать деструктивные превращения макромолекулярной структуры фторполимеров [7]. На основании этого можно предположить, что при отборе культур для тестирования биостойкости фторсодержащих полимерных материалов более приемлемы показатели, отражающие адгезионные свойства микробов в системе "микроорганизм - полимерный субстрат". Как известно, адгезия микроорганизмов на поверхности материалов является стартовым, исходным этапом последующей их колонизации и развития процессов повреждения и разрушения.

Обобщение результатов ранее проведенных исследований [5] и данных настоящей работы свидетельствует о том, что в формировании Базы данных микроорганизмов-биоразрушителей особое место должно быть отведено созданию матрицы признаков, отражающих адгезию микробов и пусковой механизм биообрастания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаев Г.А., Логинова Н.Н., Грачева Л.И., Андреева А.И., Пугачев А.К., Чернышева М.Н., Чернова Н.П., Миронова В.С. Пласт. массы, 4, 7-8, 1988.
2. Елинская Н.А., Кошелева О.В., Сквиренко А.Б., Юргелайтис Н.Г. Микол. и фитопатол., 18, 6, 506-515, 1984.
3. Инструментальные методы анализа функциональных групп органических соединений. М., 1974.
4. Лабутин А.Л. Антикоррозионные и герметизирующие материалы. Л., 1982.
5. Мирзоян М.А., Саакян К.А., Пивазян Л.А., Давтян С.А., Петросян Р.А. В сб.: Микробное повреждение материалов. 135-144, Ереван, 1985.

6. Петросян Р.А., Газарян Е.А., Неделин Н.П. Гигиена и санитария, 4, 73-74, 1989.
7. Пивазян Л.А., Давтян С.А., Хачатурян Н.С., Арутюнян А.Е., Петросян С.М., Африкян Э.К. Биолог. журн. Армении, 51, 1-2, 48-55, 1998.
8. Строганов В.Ф., Михальчук В.М., Зайцев Ю.С., Бичурина Н.А., Бобров О.Г. Пласт. массы, 10, 19-20, 1987.

Поступила 20.VII.1998

Биолог. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 567.866.4

ВЫРАЩИВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ РОДА *SPIRULINA* НА МИНЕРАЛЬНЫХ И ГРУНТОВЫХ ВОДАХ АРМЕНИИ

А.Х. ПАРОНИЯН, Э.К. АФРИКЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

Для выращивания микроводорослей рода *Spirulina* в качестве основы питательных сред впервые были использованы различные углекислые минеральные воды Армении, а также грунтовые воды содовых солончаков Араратской равнины. Показано, что после добавления небольших количеств неорганических источников углерода и азота многие из этих вод пригодны для выращивания микроводорослей *Spirulina platensis* и *Spirulina maxima*. Установлено, что полученная биомасса морфологически и по физическому состоянию соответствует биомассе, выращенной на богатой по минеральному составу общепринятой среде Заррука.

Առաջին անգամ *Spirulina* ցեղի միկրոօրգանիզմների աճեցման համար որպես հիմք օգտագործվել են Հայաստանի տարբեր ածխաթթվային համքային, ինչպես նաև Արարատյան հարթավայրի սոդային աղուտների ստորգետնյա ջրերը: Ցույց է տրվել, որ նշված ջրերից շատերը պիտանի են *Spirulina platensis* և *Spirulina maxima* միկրոօրգանիզմների աճեցման համար ածխածնի և ազոտի անօրգանական աղբյուրների ոչ մեծ քանակներ ավելացնելուց հետո: Հաստատվել է, որ ստացված կենսազանգվածը իր մորֆոլոգիական և ֆիզիոլոգիական վիճակով լրիվ համապատասխանում է համքային կազմով հարուստ, սովորաբար օգտագործվող Ջարրուկայի միջավայրի վրա աճեցված կենսազանգվածին:

For the first time the different carbonate mineral springs of Armenia, as well as the underground waters of the Ararat plain sode-saline soils have been used as a base for nutrient media and cultivation of *Spirulina* genus microalgae. Many of all mentioned waters are suitable for growth of microalgae after addition of carbon and nitrogen sources. The obtained biomass by its morphological and physiological state corresponds to biomass obtained on Zarruka's medium with high mineral composition.

Спирулина - биомасса - минеральные и грунтовые воды - стоки солончаков

Проблемы пищевых и кормовых ресурсов всегда были и остаются весьма актуальными для человечества. Известно, что основным первоисточником пищи является процесс фотосинтеза фотоавтотрофных организмов. Среди них немаловажное место занимают микроводоросли [8,9,14]. Однако многие из одноклеточных микроводорослей обладают некоторыми недостатками,

наиболее существенным из которых является наличие у них прочной клеточной оболочки, ухудшающей переваривание биомассы. В то же время микроводоросли рода *Spirulina*, богатые белком (60-65%), жиром, пигментами, легко перевариваются [5,11].

Биомасса спироулины может быть использована не только в качестве корма для с/х животных, но и как пища для человека [14]. В фотобиотехнологии биомасса спироулины может быть использована также в качестве дешевого источника для получения различных ценных биологически активных соединений [6,10,12].

Развитие работ в области изучения и применения фотосинтезирующих микроорганизмов имеет важное значение для Армении, отличающейся большим количеством солнечных дней в году и богатством углекислых минеральных источников, разных грунтовых вод, которые могут быть использованы в качестве дешевой основы питательной среды для выращивания этих организмов [1,2]. Цель данной работы - изучение возможности выращивания микроводорослей рода *Spirulina* на стоках солончаков и углекислых минеральных водах Армении.

Материал и методика. Объектом исследования служили альгологически чистые культуры микроводорослей *Sp.platensis* и *Sp.maxima* из коллекции РИДМ.

Культуры поддерживали на минеральной среде Заррука следующего состава (г/л): Na_2CO_3 - 4,03; NaHCO_3 - 16,8; K_2HPO_4 - 0,5; NaNO_3 - 2,5; K_2SO_4 - 1,0; NaCl - 1,0; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,2; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ - 0,04; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,01; ЭДТА - 0,08; pH - 9,0-9,2. Среда содержала 1 мл/л раствора микроэлементов (г/л): H_3BO_3 - 2,85; $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ - 1,81; $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,22; $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,08; MoO_3 - 0,015; MnVO_3 - 0,023; $\text{F}_3\text{Cn}_3(\text{SO}_4)_4 \times 24\text{H}_2\text{O}$ - 0,096; $\text{NiSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,048; $\text{Na}_2\text{WO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ - 0,018; $\text{Ti}_2(\text{SO}_4)_3$ - 0,04; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,044.

Так как некоторые микроводоросли обладают способностью использовать атмосферный азот и углекислый газ [7, 13], для объективной оценки влияния источников углерода и азота на рост изучаемых культур на минеральных водах и стоках солончаков в наших опытах выращивание проводили не при постоянной аэрации, а в стационарных условиях. В качестве контроля прежде всего была изучена динамика роста и накопления биомассы спироулины на среде Заррука в тех же условиях.

В качестве основы питательных сред для культивирования спироулины использовали различные природные минеральные воды Армении и Карабаха, а также промывные и грунтовые воды содовых солончаков Араратской долины. Указанные воды использовали как в нативном виде, так и с добавлением источников углерода и азота. Перед употреблением воды отфильтровывали через ватный фильтр.

Количества вносимых добавок соответствовали таковым этих веществ в контрольной среде Заррука. Выращивание проводили в 250 мл колбах Эрленмейера с ватными пробками (объем питательной среды - 100 мл) в стационарных условиях в люминестате при круглосуточном освещении лампами накаливания. Температура роста 22-25°, интенсивность освещения 1500-2000 люкс.

В качестве посевного материала использовали 8-суточные культуры спироулины, выращенные на среде Заррука. Посевной материал вносили в количестве 2% от объема среды. За ростом следили в течение 15 сут. Контроль за культурами осуществляли на фазово-контрастном микроскопе. Рост культур контролировали визуально и определением сухого веса. Биомассу собирали пропусканием культуральной жидкости через фильтр Зейтца с использованием мембранных фильтров (размер пор 0,17 микрон). Впоследствии клетки промывали дистиллированной водой и высушивали до постоянного веса [11]. О физиологическом состоянии культур судили по цвету культуральной жидкости и по спектрам поглощения клеток, которые снимались на регистрирующем спектрофотометре "Specord UV-Vis".

Результаты и обсуждение. Минеральные воды Армении образуют мощную гидроминеральную базу, и по газовому составу большинство из них относится к углекислым водам. Ограниченно представлены углекисло-сероводородные воды и воды с большим содержанием азота [1, 2]. Состав и большой дебит этих вод дает возможность, кроме лечебных целей, использовать их также в качестве основы питательных сред для выращивания фотосинтезирующих микроорганизмов, в том числе микроводорослей.

Изучение динамики роста культур в условиях автотрофного выращивания показывает, что рост и накопление биомассы у *Sp.platensis* и *Sp.maxima* идут почти на одном уровне. Незаметное различие наблюдается в начальной фазе роста культур. У *Sp.maxima* лаг-фаза более продолжительна, выход биомассы немного превышает у *Sp.platensis* (рис.1).

Цвет биомассы ярко-сине-зеленый и в течение длительного периода роста обесцвечивания культур не происходит. Об этом свидетельствует спектр поглощения суспензии клеток двухнедельной культуры, выращенных при освещении 2000 люкс (рис.2), где максимумы поглощения при 443 и 684 нм свидетельствуют о наличии хлорофилла *a*, а при 623 нм - о наличии фикоцианина. Плечо около 500 нм обусловлено поглощением каротиноидов [3, 4, 12]. Следует отметить, что при низкой интенсивности освещения (500 люкс) в спектре поглощения качественных изменений не обнаружено. Здесь отмечается резкий спад биосинтеза пигментов, что сопровождается снижением выхода биомассы почти вдвое (рис.2).

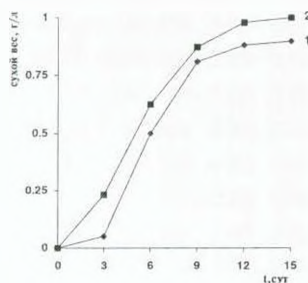


Рис. 1. Динамика роста и накопления биомассы *Sp. maxima* (1) и *Sp. platensis* (2), выращенных на среде Заррука в стационарных условиях.

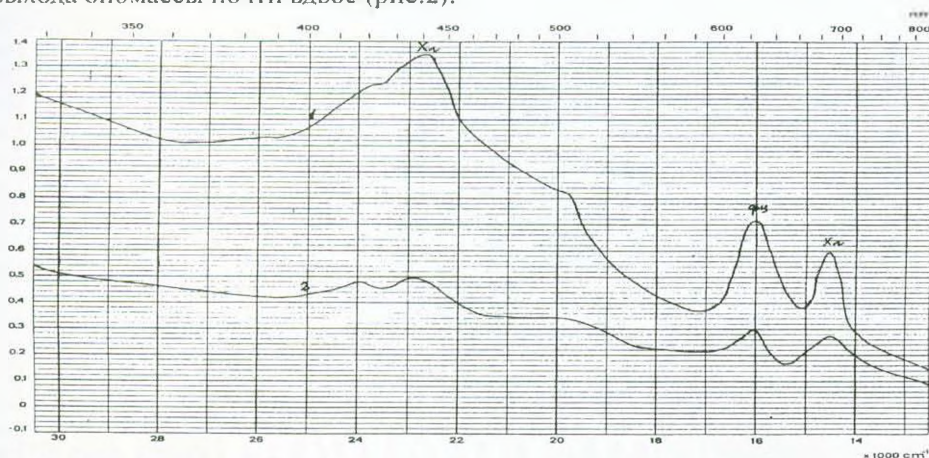


Рис. 2. Спектры поглощения клеток *Sp. platensis*, выращенных на срезе Заррука, при разной интенсивности освещения: 1 - освещение 2000 люкс; 2 - освещение 500 люкс.

Для культивирования спирулины в одной серии опытов изучались рост и накопление биомассы на средах, разработанных на основе различных

Таблица 1. Рост *Sp.platensis* на минеральных водах Армении (биомасса, сухой вес, г/л)

Место- рождение	Тип воды	Общая минера- лизация, г/л	Содержание CO ₂	Начальный pH	Температура источника, °С	pH после добавок	Рост без добавок	Рост с дополнительными источниками			Цвет биомассы
								NaHCO ₃	NaNO ₃	NaHCO ₃ +NaNO ₃	
Арзни	Углекислая натриевая-хлоридно-гидрокарбонатная	5,8	1,8	6,6	23	8,75	-	0,32	0,30	0,39	зеленовато-желтый
Арабат	Углекислая гидрокарбонатная-кальциевая-магнелиумовая	1,5	1,2	6,8	22	8,9	-	0,37	0,33	0,41	зеленовато-желтый
Арзакан	Углекислая гидрокарбонатная-хлоридно-натриевая	4,6	2,5	7,0	40	8,95	0,065	0,39	0,34	0,61	ярко-синие-зеленый
Анкаван	Углекислая гидрокарбонатная-хлоридно-натриевая-кальциевая-магнелиумовая	4,8	2,5	6,8	28	8,85	0,06	0,35	0,32	0,47	светло-зеленый
Бжни	Углекислая гидрокарбонатная-хлоридно-натриевая-кальциевая	4,6	2,5	6,9	25	8,9	0,078	0,36	0,35	0,63	ярко-синие-зеленый
Джермук	Углекислая гидрокарбонатная-сульфатно-хлоридная-натриевая-кальциевая-магнелиумовая	5,0	2,7	7,1	32	8,85	0,05	0,33	0,30	0,48	светло-зеленый
Лисагор (Шуши)		нет данных	нет данных	6,3	нет данных	8,8	0,05	0,35	0,32	0,46	светло-зеленый
Контроль	Среда Заррука			9,0			0,81				ярко-синие-зеленый

Примечание: приведены результаты от трех до пяти повторностей опытов.

минеральных вод. Обобщенные результаты проведенных экспериментов представлены в табл. 1.

В тех случаях, когда в среде отсутствовал дополнительный источник углерода (бикарбонат), pH до нужного значения доводили 0,1 N раствором NaOH.

Результаты наших исследований показали, что на всех испытанных водах без каких-либо добавок рост культуры незначительный или вовсе отсутствует.

Внесение в изучаемые среды источника углерода или азота ощутимо стимулирует рост *Sp. platensis*. К значительному усилению образования биомассы приводило одновременное добавление бикарбоната и нитрата натрия.

Следует отметить, что заметный рост наблюдается на средах, разработанных на основе минеральных вод в районах Бжни и Арзакана. При этом физиологическое состояние культуры вполне соответствовало норме. Об этом свидетельствует ярко-сине-зеленый цвет биомассы и спектр поглощения суспензии клеток культуры, выращенной на основе минеральной воды Бжни (рис.3). Одновременно биомасса, выращенная на среде с минеральной водой Арзни, имела бледно-зеленый цвет с желтоватым оттенком, что говорит о неполноценном биосинтезе всех необходимых пигментов, особенно фикобилинов (рис.3). Другие закономерности роста и развития культуры на указанных средах те же, что и при росте на контрольной среде Заррука. Почти идентичные данные были зафиксированы при выращивании *Sp.maxima*.

В другой серии опытов изучались рост и накопление биомассы спироулины на средах, разработанных на основе грунтовых и промывных вод

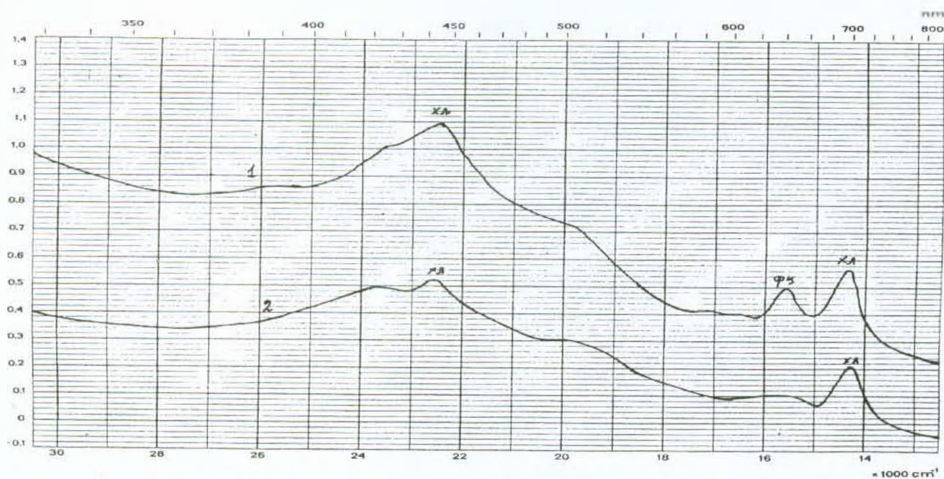


Рис. 3. Спектры поглощения клеток *Sp.platensis*, выращенных на основе минеральных вод: 1 - минеральная вода Бжни; 2 - минеральная вода Арзни.

содовых солончаков Араратской равнины.

Несмотря на то, что первоначальные значения pH этих вод были сравнительно выше, чем у минеральных вод, однако эти воды также без дополнительных добавок источников углерода и азота оказались непригодными

Таблица 2. Рост спирулины на грунтовых и промывных водах содовых солончаков Араратской равнины (биомасса, сухой вес, г/л)

Месторождение	Начальный pH	pH после добавок	<i>Sp.maxxima</i>					<i>Sp.plantensis</i>				
			Без добавок	NaHCO ₃	NaNO ₃	NaHCO ₃ + NaNO ₃	Цвет биомассы	Без добавок	NaHCO ₃	NaNO ₃	NaHCO ₃ + NaNO ₃	Цвет биомассы
Арарат (грунтовая вода)	7,9	8,9	-	0,33	0,18	0,41	зеленовато-желтый	-	0,36	0,25	0,47	зеленовато-желтый
Егегнут (грунтовая вода)	6,8	8,75	0,065	0,45	0,31	0,56	ярко-синезеленый	0,06	0,45	0,36	0,58	ярко-синезеленый
Ерасхаун (грунтовая вода)	7,1	9,05	0,05	0,35	0,18	0,52	ярко-синезеленый	0,05	0,38	0,21	0,55	ярко-синезеленый
Воскетап (грунтовая вода)	7,15	9,0	0,06	0,36	0,3	0,57	ярко-синезеленый	0,055	0,43	0,36	0,61	ярко-синезеленый
Воскетап (водосборный канал)	8,1	9,05	0,055	0,38	0,32	0,58	ярко-синезеленый	0,061	0,4	0,37	0,6	ярко-синезеленый
Суренаван (водосборный канал)	7,7	9,0	0,05	0,2	0,18	0,34	светло-зеленый	0,035	0,25	0,14	0,34	светло-зеленый
Суренаван (артезианская вода)	6,6	8,6	-	0,19	0,12	0,27	зеленовато-желтый	-	0,25	0,16	0,29	зеленовато-желтый
Контроль (ср. Заррука)	9,0		0,84				ярко-синезеленый	0,81				ярко-синезеленый

Примечание: приведены результаты от трех до пяти повторностей опытов.

для роста изучаемых организмов. На росте культур больше сказывалось добавление источника углерода, чем азота. В этом случае одновременное добавление источников углерода и азота значительно стимулировало рост обеих культур.

Существенных различий в росте и содержании пигментов при выращивании на исследованных водах не было обнаружено. Из испытанных наиболее пригодными оказались среды, разработанные на основе грунтовых и промывных вод из местностей Воскетап и Егегнут (табл. 2).

Интересно отметить, что в процессе интенсивного роста культур во всех вариантах опытов отмечалось увеличение значения рН до 10,0-11,0.

В период выращивания постоянно велись морфологические наблюдения на фазово-контрастном микроскопе. Исследования показали, что независимо от среды выращивания культура была морфологически неоднородная. В поле зрения всегда были почти в равных количествах прямые и более или менее закрученные в спираль клетки. Однако это обстоятельство не влияет на состояние клеток и соответственно на биологическую ценность биомассы. Сухая биомасса в течение нескольких месяцев даже на свету не теряет зеленый цвет. Приведенные выше результаты показывают, что в стационарных условиях выращивания выход биомассы невысокий. По-видимому, это результат воздействия нескольких факторов, наиболее важными из которых являются отсутствие аэрации и прерывность культивирования. Кроме того, при транспортировке вод происходит значительная потеря углекислого газа.

Таким образом, полученные результаты подтверждают, что некоторые из испытанных минеральных вод и стоков солончаков можно использовать в качестве основы дешевых питательных сред при массовом культивировании микроводорослей рода *Spirulina*. В периодической культуре при аэрации обогащенным CO₂ воздухом можно намного увеличить выход биомассы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Г.И., Топчян Ж.С. Курортная зона Арзакан-Агверан. Ереван, 9-13, 1973.
2. Геология Армянской ССР, том IX. Минеральные воды. Ереван, 140-471, 1969.
3. Гусев М.В. Цианобактерии (физиология и метаболизм). 228, М., 1979.
4. Определитель бактерий Берджи, 9-ое издание, 1, 375-392, М., 1997.
5. Criferri O. Microbiol. Rev., 47, 4, 551-578, 1983.
6. Filali M.R., Cornet J.F., Fontane T., Fournete B., Dubertret G. Biotechnol. Lett., 15, 3, 1993.
7. Lehtimäki J., Moisander P., Sivonen K., Kononen K. Appl. Environ. Microbiol., 63, 5, 1647-1656, 1997.
8. Mitsui A. Biosaline research: The Use of Photosynthetic Marine Organisms in Food and Feed Production. Plenum Press, New York, 192-194, 1979.
9. Mitsui A., Murray R., Entenmann B., Miyazawa K., Polk E. Environ. Science Research, 23, 1, 215-225, 1981.
10. Philippis R., Margheri M.C., Materassi R., Vincenzini M. Appl. Environ.

- Microbiol., 64, 3, 1130-1132, 1998.
11. Soeder C.J. Hydrobiologia, 72, 1, 197-209, 1980.
12. Tel - OR E. Beussiba S., Richmond A.E. Algae Biomass Elsevier. North-Holland Biomedical Press, 611-618, 1980.
13. Van Rijn J., Shilo M. Appl. Environ. Microbiol., 52, 2, 340-344. 1986.
14. Venkataraman L.V. Blue-green Algae Spirulina. CFTRY Press. Mysore, India, 1983.

Поступила 10.11.1999

Биолог. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 579.253.4:579.842.11

МЕХАНИЗМ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ОБЛУЧЕННОГО УФ-СВЕТОМ *LON* МУТАНТА NM9 *ESCHERICHIA COLI* K-12 ПАНТОИЛЛАКТОНОМ

Г.Г. ОГАНЕСЯН, Л.С. ХАЧАТРЯН, С.С. ОГАНЕСЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян

Добавление пантоиллактона (ПЛ) в ростовую среду до или после облучения УФ-светом приводит к резкому (до 500 раз) увеличению выживаемости *lon* мутантов *Escherichia coli* K-12. С повышением концентрации ПЛ увеличивается время генерации, удлиняется лаг-фаза, снижается уровень накопления биомассы, уменьшаются размеры колоний и филаментов. Обнаружена прямая корреляция между скоростью роста культуры и ее чувствительностью к УФ облучению.

ՈւՄ ճառագայթումից առաջ կամ հետո պանտոիլլակտոնի (ՊԼ) ավելացումը ածի միջավայրին բերում է *Escherichia coli* K-12-ի *lon* մուտանտի կենսունակության (մինչև 500 անգամ) կտրուկ բարձրացման: ՊԼ-ի քանակության ավելացումից կախված, մեծանում է կուլտուրայի կրկնապատկման ժամանակը, երկարում է լագ-ֆազը, ընկնում է կենսազանգվածի կուտակման մակարդակը, նվազում են գաղութների և ֆիլամենտների չափերը: Հայտնաբերված է կուլտուրայի ածի արագության և ՈւՄ ճառագայթման հանդեպ նրա զգայունության ուղիղ կախվածությունը:

The addition of pantooyllactone to growth medium before or after UV-irradiation causes the sharp increase (about 500-fold) of survivability in *lon* mutants of *Escherichia coli* K-12. Rise of pantooyllactone concentration brings to elongation of generation time and lag-phase, to decrease of biomass accumulation and to reduction of colonies and filaments sizes. Direct correlation between culture growth rate and sensitivity to UV-irradiation has been revealed.

Lon мутанты *Escherichia coli* - УФ-облучение - пантоиллактон - репарация

Одним из проявлений SOS-ответа на УФ-облучение является индукция *sulA* гена, контролирующего биосинтез ингибитора клеточного деления (ИКД) [6, 7, 9, 10]. У диких штаммов *Escherichia coli* после завершения репарации ДНК ИКД разрушается генопродуктом *lon* гена АТФ-зависимой протеазой (АТФЗП), и деление клеток возобновляется. Но у *lon* мутантов из-за резкого снижения АТФЗП активности ингибирование клеточного деления становится

необратимым, и клетки, как следствие, образуют мультитядерные несептированные филаменты [1-8]. Неспособность филаментов образовывать макроколонии на твердых питательных средах является основным фактором высокой чувствительности *lon* мутантов к УФ-облучению.

Показано, что добавление пантоиллактона (ПЛ) в пострadiационную среду роста способствует повышению выживаемости *lon* мутантов и делению филаментов [3-5, 8]. Несмотря на многочисленность работ, проведенных в этом направлении, механизм восстановления клеточного деления ПЛ остается невыясненным. В большинстве работ ПЛ использовался лишь как тест-агент для идентификации мутантов, дефицитных по клеточному делению. Была обнаружена способность ПЛ связываться с клеточной мембраной [5, 9], но каков вклад комплексов ПЛ с клеточной мембраной в инициацию ингибированного облучением септообразования, остается невыясненным.

Предрадиационное влияние ПЛ на выживаемость и деление *lon* мутантов ранее не изучалось.

Настоящая работа предпринята с целью изучения предрадиационного действия ПЛ на жизнеспособность *lon* мутантов и выяснения механизма предотвращения необратимого ингибирования клеточного деления до и после облучения.

Материал и методика. В работе использовали неслизистый *lon* мутант NM9 *E. coli* K-12, полученный Оганесяном [2].

Для выращивания бактерий использовали питательный бульон "стандарт II" фирмы Serva, ФРГ; в качестве твердой среды использовали триптоз-агар фирмы Ferak, ФРГ; для разведения культур и облучения - фосфатный буфер (рН-6,8), D,L-пантоиллактон фирмы Sigma, США.

Для изучения чувствительности к УФ облучению экспоненциально растущие культуры подвергали центрифугированию при 3000 об/мин., осадки ресуспендировали в фосфатном буфере до титра 10^8 кл/мл. По 2 мл клеточной суспензии заливали в чашки Петри диаметром 5 см и облучали при постоянном перемешивании под спаренными бактерицидными лампами БУВ-15 на расстоянии 50 см. После облучения культуры высевали на триптоз-агар с ПЛ или без него. С целью изучения предрадиационного влияния ПЛ добавляли к культурам через час после начала освежения, и рост продолжался при интенсивной аэрации еще 1 час. Затем клетки отмывали от ПЛ центрифугированием, подвергали УФ облучению и высевали на триптоз-агар.

Рост культур определяли по оптической плотности (фотоэлектроколориметр КФК-2МП, $\lambda=670$ нм, кюветы - 3 мм). Константу скорости роста культур определяли по формуле $K=0.693/t$, где t - время удвоения.

Для микроскопического изучения морфологии клеток облученные культуры из соответствующих разведений высевали на поверхность триптоз-агара и инкубировали при 37°. Через определенные промежутки времени делали отпечатки с агаровых блоков на предметные стекла и после добавления одной капли стерильной воды прижимали покровным стеклом и обследовали в световом микроскопе МБИ-11 с использованием фазоконтрастного устройства КФК-4. Относительную длину филаментных клеток изучали на микрофотографиях больших увеличений [8].

Результаты и обсуждение. Была определена выживаемость клеток *lon* культуры NM9, выращенной до УФ облучения в присутствии различных концентраций ПЛ (рис.1).

Как видно из рисунка, предрадиационный контакт с ПЛ в зависимости от его концентрации способствовал повышению выживаемости клеток в 3-10 раз. Существовала прямая корреляция между концентрацией ПЛ (дозы ПЛ до

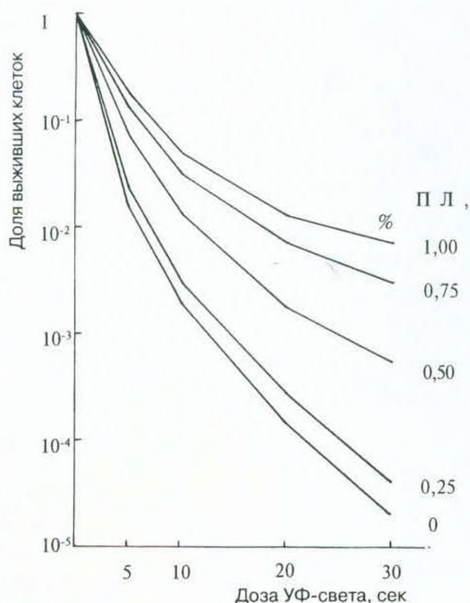


Рис. 1. Предрадиационное действие ПЛ на выживаемость *lpp* штамма NM9.

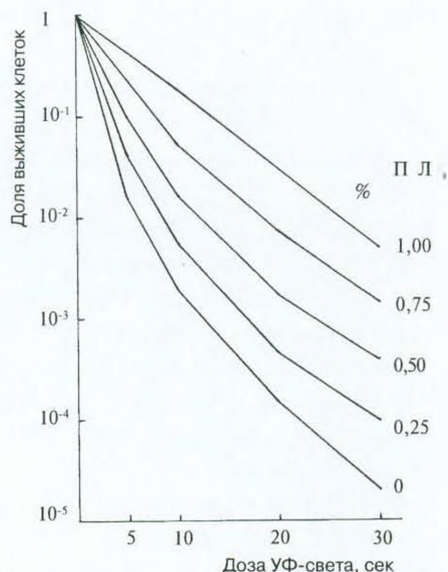


Рис. 2. Пострадиационное действие ПЛ на выживаемость *lpp* штамма NM9.

0,75%) и выживаемостью клеток. Более высокие концентрации ПЛ ухудшали рост культур и в условиях данного эксперимента не способствовали дальнейшему повышению выживаемости.

Влияние ПЛ на выживаемость культур значительно сильнее проявлялось при его пострадиационном добавлении в питательный агар (рис. 2). С увеличением концентраций ПЛ пропорционально росла выживаемость культуры. На средах, содержащих ПЛ, количество клеток, способных образовывать колонии после УФ облучения, было в 100-500 раз больше, чем на контрольных чашках. Особенно сильно протекторное действие ПЛ проявлялось при высоких дозах УФ.

Было отмечено, что на агаризованных средах с высоким содержанием ПЛ размеры колоний значительно меньше (табл. 1). В связи с этим

Таблица 1. Влияние ПЛ на морфофизиологические свойства *lpp* мутанта NM9 *E.coli*

Концентрация ПЛ, %	Размер колоний, мм	Константа скорости роста $ч^{-1}$	Эффективность посева	Относительная длина* филаментов через 6ч	
				ПЛ до облучения	ПЛ после облучения
0	3,5	1,39	1,00	40-50	40-50
0,25	3,0	1,05	1,15	— " —	30-40
0,50	2,5	0,83	1,06	— " —	20-30
0,75	2,0	0,69	1,00	30-40	10-20
1,0	1,5	0,60	1,02	— " —	5-10

*Примечание: кратность длины филаментов к длине нормальной клетки

наблюдением было решено проверить влияние ПЛ на динамику накопления биомассы у изучаемых культур (рис. 3).

Как видно из кривых роста, с повышением концентрации ПЛ замедляется рост культуры, удлиняется лаг-фаза, укорачивается экспоненциальная фаза. При концентрации ПЛ 1% на несколько часов раньше наступает стационарная фаза и заметно снижается выход биомассы. Удельная скорость роста находится в обратной зависимости от концентрации ПЛ в питательной среде (табл. 1).

Нами было обнаружено, что ПЛ, начиная с концентрации 0,1%, обладает бактериостатическим действием, замедляя или полностью останавливая рост культуры. В пределах концентраций от нуля до одного процента эффективность посева не меняется (табл. 1). В отличие от обычных антибиотиков бактериостатическое действие ПЛ проявляется при очень высоких концентрациях.

Каков механизм подавления роста культур ПЛ, остается невыясненным. Во всяком случае, будучи предшественником витамина пантотеновой кислоты, он вряд ли действует в качестве ее антиметаболита. Обычно для подавления роста на полноценной среде антиметаболитов требуется в сотни раз больше, чем на минимальной среде. Но бактериостатическое действие ПЛ на минимальной среде незначительно отличалось от такового на полноценной. Более того, показано, что антиметаболит самого ПЛ - омега-метилпантоиллактон - тоже является стимулятором деления филаментов [5].

В действии эндогенного и экзогенного ПЛ, по-видимому, существуют резкие отличия. Причиной замедления роста экзогенным ПЛ может быть его способность связываться с наружной мембраной клетки [4]. При высоких концентрациях он может блокировать транспорт компонентов питательной среды или дыхание через мембрану. Замедление роста, скорее всего, не связано с транспортом органических веществ, так как активность ПЛ на полноценной и минимальной средах примерно одинаковая. Не исключается, что именно затруднение дыхания через мембрану, вызванное связыванием с ней ПЛ, является причиной падения скорости роста клеток.

Необходимо отметить, что сама *lon* мутация не приводит к увеличению скорости роста культуры. Поэтому естественно предположить, что действие ПЛ непосредственно не затрагивает *lon* ген.

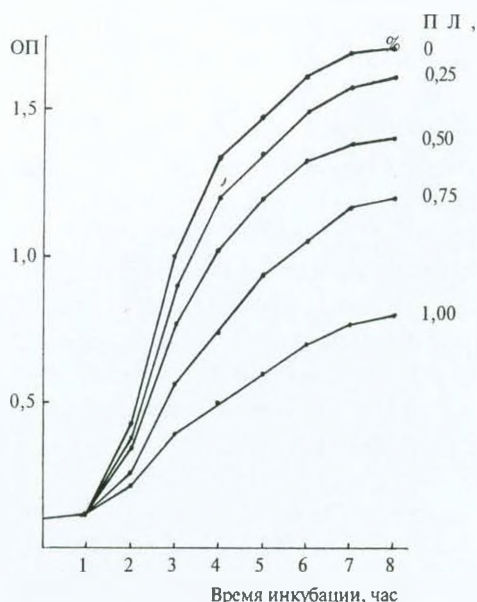


Рис. 3. Влияние ПЛ на скорость роста культуры MM9.

Независимо от места приложения ПЛ, прослеживается четкая корреляция между снижением скорости роста культур и стимуляцией деления клеток, как при предрадиационном, так и пострадиационном добавлении ПЛ. Но по механизму восстановления они, возможно, отличаются друг от друга. При предрадиационном добавлении ПЛ уменьшается доля филаментов в культуре, но не их длина (табл. 1), тогда как предрадиационный рост с ПЛ влияет не на количество филаментов, а на их длину. Существует понятие “критическая длина филаментов”, равная примерно 20-кратной длине нормальной клетки, после достижения которой возобновление клеточного деления становится невозможным [3, 8]. Замедление роста филаментов способствует возобновлению их деления.

Известно, что время полужизни ИКД, синтез которого индуцируется после УФ облучения, в *lon⁺* клетке составляет 2 минуты, а в *lon* мутанте - до 19 минут [7]. Синтез SOS белков, в том числе Sula, очень короткий промежуток времени происходит с большой скоростью, затем прекращается с затуханием SOS-сигнала. Сила последнего зависит от количества репликативных вилок (РВ) в ДНК [10, 12]. У быстрорастущих клеток число РВ достигает максимума. С замедлением скорости роста и уменьшением количества РВ ослабляется сигнал, индуцирующий SOS-ответ [9]. При слабом сигнале белки SOS-ответа индуцируются не в полном составе и элиминируются быстрее.

При предрадиационном добавлении ПЛ у медленно растущих клеток в момент УФ-облучения количество РВ меньше, и при слабом сигнале SOS-ответ индуцируется не в полном составе. И несмотря на дальнейший рост без ПЛ, во многих клетках SOS-ответ реализуется без индукции синтеза Sula-белка и образования филаментов. Интересно отметить, что полное и частичное отсутствие Sula-белка не отражается на жизнеспособности облученных или интактных клеток [7].

При изучении пострадиационного влияния ПЛ культуры в момент облучения находятся в экспоненциальной фазе роста, поэтому индукция SOS-ответа полная. Но реализация SOS-ответа происходит при заторможенном росте клеток, вызванном наличием ПЛ в среде. При медленном росте скорость синтеза белка уменьшается, но скорость репликации и репарации ДНК остается неизменной [11]. В этих условиях ИКД синтезируется меньше и из-за удлинения времени генерации успевает разрушиться до достижения филаментной клеткой критической длины. Поэтому добавление ПЛ после облучения влияет не на количество, а на длину филаментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барсегян А.А., Оганесян Г.Г., Оганесян М.Г. Биолог. журн. Армении, 36, 6, 479-484, 1983.
2. Оганесян Г.Г. Биолог. журн. Армении, 48, 2, 55-58, 1995.
3. Adler H.I., Hardigree A.A. Radiation Res., 25, 92-102, 1965.
4. Adler H.I., Hardigree A.A. J Bacteriol. 90, 1, 223-226 1965.

5. Grula E.A., Grula M.M. J Bacteriol. 83, 3, 981-988, 1962.
6. Huisman O., d'Ari R. Nature(London), 290, 3, 797-799, 1981.
7. Huisman O., d'Ari R., Gottesman S. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 4490-4494, 1984.
8. Kantor G.J., Deering R.A. J. Bacteriol., 95, 2, 520-530, 1968.
9. Kato Y., Shiraki S., Hamada Y., Iyehara-Ogawa H., Nakayama H. Can. J. Microbiol., 26, 12, 1518-1522, 1980.
10. Walker G.C. Microbiol. Rev., 48, 1, 60-93, 1984.
11. Witkin E. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 57, 1275-1279, 1967.
12. Zittle J.W., Mount D.W. Cell, 29, 1, 11-12, 1982.

Поступила 9.XI.1998

Биолог. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 619:615(679)

ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКИЕ И ПАТОЛОГОГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНОВ ПАВШЕГО ОТ ТРИПАНОСОМОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

С.Р. ПОСТОЯН

НИИ ветеринарной медицины МСХ Армении, 375005, Ереван

Проводились патологоанатомические и патологогистологические исследования органов павшего от трипаносомоза крупного рогатого скота. Показано, что наиболее часто деструктивные изменения возникают в печени, почках, селезенке и лимфатических узлах. Активизируется деятельность мононуклеарной фагоцитарной системы.

Կատարվել են տրիպանոսոմոզի ընկած խոշոր եղջերավոր անասունների օրգանների պաթոանատոմիական և պաթոհիստոլոգիական ուսումնասիրություններ: Ցույց է տրված, որ առավել հաճախ կառուցվածքային փոփոխություններ առաջանում են լյարդում, երիկամներում, փայծաղում և ավշային հանգույցներում: Ակտիվանում է մոնոնուկլեար ֆագոցիտային սիստեմի գործունեությունը:

The pathoanatomical and pathohistologic researches of organs in cattle perished from trypanosomosis have been done. The destructive changes more frequently appear in liver, kidneys, spleen and lymph nodes. The mononuclear phagocytic system is activated.

Трипаносомоз крупного рогатого скота - патологические изменения органов

Литературные сведения, касающиеся изменений органов павшего от трипаносомоза крупного рогатого скота, скудны и чаще освещают патологоанатомические, нежели патологогистологические изменения [1, 3, 4, 5].

Материал и методика. В неблагоприятных по трипаносомозу крупного рогатого скота хозяйствах района Мансанильо провинции Орьенте Республики Куба патологоанатомическим исследованиям подверглись трупы восьми естественно больных и четырех искусственно зараженных трипаносомозом зебу и их помесей в возрасте 6-8 месяцев.

Перед вскрытием исследовали мазки крови, взятой из кончика уха на предмет исключения возбудителей сибирской язвы. Определяли вид, пол, возраст и приметы павшего животного, выясняли на основании анамнеза условия содержания, время появления симптомов заболевания, клинические признаки, время гибели.

При вскрытии придерживались следующего порядка: наружный осмотр трупа, снятие кожи и обследование подкожной клетчатки, мускулатуры, лимфатических узлов, костей и суставов; вскрытие полостей тела и извлечение органов; вскрытие головы, спинномозгового канала, обследование извлеченных органов.

Для гистологических исследований необходимый материал был собран с 12 голов павшего от трипаносомоза крупного рогатого скота. Материал консервировали в 10 %-ном растворе нейтрального формалина и в таком виде доставляли из Кубы в СССР, в бывший Всесоюзный институт экспериментальной ветеринарии (ВИЭВ), где и проводились гистологические исследования под непосредственным руководством ныне покойного доктора ветеринарных наук А.А.Акулова.

Приготовление гистологических препаратов, их обезвоживание, заливка в парафин, получение тонких, до 5 мкм, срезов и окраска гематоксилин-эозином проводились по принятому в ВИЭВ методу и по Вайлу [2].

Результаты и обсуждение. Во всех случаях павшие животные были истощены, кровь плохо сворачивалась; слизистые оболочки конъюнктивы анемичны и желтушны, имеются точечные кровоизлияния; подкожная клетчатка желтушна; мышцы бледны; жировая ткань отсутствует или же имеются ее следы; в брюшной полости содержится желтоватая, а иногда мутная жидкость; желудок и кишечник наполнены кормовой массой, слизистые оболочки с катаральным геморрагическим воспалением; селезенка рыхлая, пульпа мягкая, наполнена кровью, с некротическими участками; предлопаточные и паховые лимфатические узлы набухшие, увеличены, с точечными кровоизлияниями; бронхиальные лимфатические узлы увеличены, отечны, с точечными кровоизлияниями; печень темно-красного цвета, паренхима уплотнена, чаще ломкая, хрупкой консистенции с признаками жировой дегенерации, поверхность иногда покрыта пучками фибрина; почки анемичны, дряблы, рыхлы, легко разрываются, с серозной инфильтрацией, подпочечной капсулой, точечные кровоизлияния; стенки мочевого пузыря утолщены, с точечными кровоизлияниями; желчный пузырь увеличен, наполнен густой желчью, стенки утолщены, с полосчатыми кровоизлияниями; в грудной полости содержится до 10 литров серозного экссудата, иногда с примесью крови; сердце дряблое, хорошо выражены сердечные борозды, на разрезе студенистые, точечные кровоизлияния на эндокарде, миокард темноватый, цвета жареного мяса, консистенция хрупкая, ломкая; легкие анемичны, иногда с петехиями; сосуды головного мозга наполнены кровью, под мозговой оболочкой точечные кровоизлияния, ликвор увеличен в объеме; костный мозг красного цвета студенистой консистенции.

Подытоживая результаты патологоанатомических исследований павших от трипаносомоза животных, установили, что макроскопически наиболее часто деструктивные изменения возникают в печени, почках, селезенке и лимфатических узлах. По-видимому, эти органы являются непосредственными объектами патогенного действия трипаносом и в первую очередь вовлекаются в постинфекционный процесс.

Как известно, в основе патологических изменений органов и тканей

организма лежат глубокие микроструктурные нарушения. Поэтому дальнейшие исследования были посвящены гистологическому изучению внутренних органов и тканей павших от трипаносомоза животных.

Выявленная картина характерна почти для всех павших животных.

В печени отмечались слабо выраженные застойные явления, гиперемия преимущественно в центре долек. Набухание эндотелия синусов и скопление в них лимфоцитов. В просвете синусов множество гистиоцитов-макрофагов, содержащих в цитоплазме мелкозернистый желтовато-бурый пигмент, дающий положительную реакцию на железо, указывающий на наличие пигмента гемосидерина. В междольковой соединительной ткани вокруг сосудов и желчных протоков повышенное содержание лимфоцитов с примесью мелких гистиоцитов (рис. 1). В красной пульпе селезенки констатировались эозинофилы. Сильная гиперплазия лимфофолликулов эндотелия синусов. Ретикулярные клетки набухшие, в небольшом количестве обнаруживался гемосидерин. Регистрировалось значительное количество гистиоцитов и фибробластов (рис. 2).

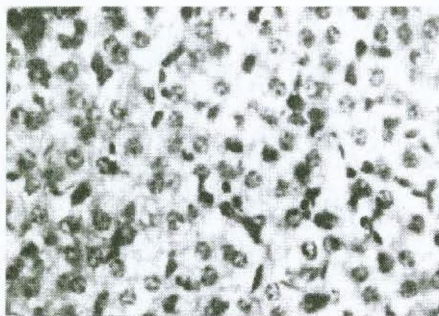


Рис. 1. Печень павшего от трипаносомоза животного. Застойные явления между печеночными балками (x800).

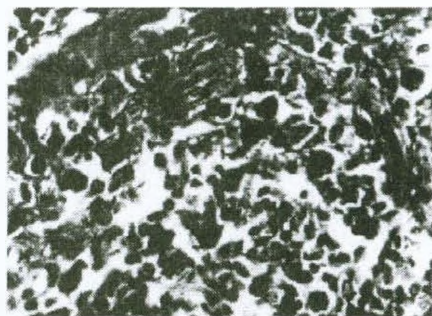


Рис. 2. Селезенка павшего от трипаносомоза животного. Слабая гиперплазия отдельных фолликулов (x800).

В лимфатических узлах мягкотные шнуры содержали повышенное количество лимфоцитов, среди которых было много плазматических клеток. Синусы, в основном центральные, расширены и заполнены серозным выпотом, с наличием в них полиморфных лейкоцитов. Ретикулярные и эндотелиальные клетки набухшие. Трабекулы в состоянии отека. Выраженная гиперплазия лимфофоликулов (рис. 3).

В почках эндотелий извитых канальцев сильно набухший. Просветы многих канальцев неразличимы. Цитоплазма клеток гомогенна. Встречались ядра с развивающимся пикнозом в начальной стадии. В цитоплазме клеток Генлеевских петель и в верхних отделах прямых канальцев много капель жира. Жировые капли встречались и в отдельных нейронах. Часть клубочков уменьшена в объеме и содержит значительное количество ядер. В отдельных участках коркового слоя обнаруживалась и терстициальная ткань. Между канальцами скопление лимфоцитов. В отдельных нейронах почечная перенхима подверглась фиброзу. Среди разросшейся соединительной ткани

местами различимы находящиеся в состоянии частичной атрофии канальцы, а местами они полностью атрофированы (рис. 4).



Рис. 3. Лимфатический узел павшего от трипаносомоза животного. Расширены центральные синусы, заполненные серозным выпотом, с наличием в них лейкоцитов (x800).



Рис. 4. Почка павшего от трипаносомоза животного. Резко выражены застойные явления в почечных клубочках и между канальцами (x800).

В сердце мышечные пучки миокарда слегка набухшие с явлениями гомогенизации. Слабый серозный отек межмышечной соединительной ткани.

В желчном пузыре покровный эпителий набухший. Подслизистый слой в состоянии серозного отека. В отдельных участках наблюдается небольшое скопление лимфоидных клеток, преимущественно вокруг сосудов.

Таким образом, возбудитель трипаносомоза крупного рогатого скота (*Trypanosoma vivax*) в печени, почках, селезенке и в лимфатических узлах больных животных вызывает дистрофический воспалительный процесс. Описанные патологоанатомические изменения внутренних органов павших животных, несмотря на их четкую выраженность, не всегда являются характерными, и тем более специфическими для данного заболевания, поскольку аналогичные изменения подчас наблюдаются и при других заболеваниях, особенно пироплазмозах, анаплазмозах, лептоспирозе и других заболеваниях животных. Только в комплексе с эпизоотологическими и клинико-гематологическими исследованиями они могут представлять диагностическую ценность. В гистологических исследованиях выявлена активизация деятельности клеток мононуклеарной фагоцитарной системы, богато представленных в тканях печени, почек, селезенки и лимфатических узлов трипаносомозных животных. На это обстоятельство обращается особое внимание, поскольку оно свидетельствует о том, что болезнетворные трипаномы способны вызывать не только патологию, но и специфически возбуждать защитно-физиологические силы целостного организма, направленные на обезвреживание агента и восстановление относительного постоянства внутренней среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боль К.Г., Боль Б.К. Основы патологической анатомии сельскохозяйственных животных. М., Сельхозгик, 1961.
2. Вайл С.С. Руководство по патолого-анатомической технике. Л., 1947.
3. Вертинский К.И., Налетов Н.А., Шишков В.И. Патологическая анатомия сельскохозяйственных животных. М., Колос, 1973.
4. Гутира Ф., Марек И., Маннингер Р. Частная патология и терапия домашних животных. 1, М., Гос. изд. с.-х. литературы, 1961 (перевод с немецкого).
5. Перчинский О., Струпулис А. Патологическая гистология сельскохозяйственных животных. Елгава, Изд-во Латв. с/х академии, 1968.
6. Graig C.K. Laboratory diagnosis of protozoan diseases. 9 (Ed. lea, Fabiger) Filadelfia, 1942.
7. Kubes V.El. III Conferencia Interamericana de Agrecultura, Caracas, 1, 1-124, 1944.

Поступила 6.IV.1998

Биолог. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 631.465:541.127

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА КИНЕТИКУ ФОСФАТАЗНОЙ РЕАКЦИИ В КАРБОНАТНОМ ЧЕРНОЗЕМЕ

М.Г. ГЕВОРКЯН, К.В. САРКИСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра физической и коллоидной химии,
375049

В широком интервале концентраций субстрата изучено влияние навески почвы, температуры, ЭДТА на скорость гидролитического расщепления фенолфталеинфосфата натрия в карбонатном черноземе. Показано, что действие щелочной фосфатазы почвы подчиняется механизму субстратного ингибирования. Рассчитаны кинетические параметры реакции.

Սուբստրատի լայն կոնցենտրացիոն տիրույթում ուսումնասիրված է հողի կշռվածքի, ջերմաստիճանի, էԴՏԱ-ի ազդեցությունը կարբոնատային սևահողում նատրիումի ֆենոլֆտալեինֆոսֆատի հիդրոլիտիկ ճեղքման վրա: Ցույց է տրված, որ հողի հիմնային ֆոսֆատազի ակտիվությունը ենթարկվում է սուբստրատային արգելակման մեխանիզմին: Որոշված են ռեակցիայի կինետիկ պարամետրերը:

In wide concentration range of substrate the influence of soils samples, temperature, EDTA on hydrolytic decomposition rate of sodium phenolphthalein phosphate in carbonate chernozem has been studied. The mechanism of substrate inhibition for soil phosphatase activity has been revealed. The kinetic parameters of reaction have been determined.

Карбонатный чернозем - кинетика фосфатазной реакции - субстратное ингибирование

Ранее было показано, что механизм субстратного ингибирования при действии щелочной фосфатазы в гомогенных условиях [4] сохраняется также в почвах [6, 8]. В обеих системах происходит инактивация фермента избытком субстрата в результате присоединения дополнительных молекул его к кинетически активному комплексу Михаэлиса с образованием кинетически неактивного комплекса [3]. При переходе от гомогенных условий к гетерогенным меняются состав кинетически неактивного комплекса, оптимальная концентрация субстрата и другие параметры реакции.

Для выяснения влияния различных факторов (навеска почвы, тип буфера, температура, добавки ЭДТА) на закономерности фосфатазной реакции изучена кинетика гидролитического расщепления карбонатным черноземом фенолфталеинфосфата натрия, растворенного в аммиачном буфере.

Материал и методика. Кинетику действия фосфатазы почвы изучали, определяя во времени ее фосфатазную активность методом Галстяна [5]. Навеску воздушно-сухой почвы термостатировали при $t \pm 0,05^\circ$, приливали раствор субстрата определенной концентрации, доводили pH реакционной среды до 8,6 10%-ным раствором NH_4OH . В фиксированные моменты времени к реакционной смеси добавляли дистиллированную воду, проводили фильтрацию и в фильтрате колориметрически определяли концентрацию фенолфталеина (рН 10, $\lambda = 540$ нм). На основании кинетических кривых оптической плотности реакционных смесей (D), а также калибровочных кривых D -С фенолфталеина в воде и суспензиях почвы рассчитывали стационарные скорости ферментативной реакции без учета и с учетом адсорбции продуктов реакции почвой. Контролем служили почвы без субстрата и субстрат без почвы. Повторность измерений двукратная. Усреднены данные, отличающиеся друг от друга не более чем на 5%.

Результаты и обсуждение. Кинетические кривые изучаемого процесса S-образны, что объясняется последовательным дефосфорилированием субстрата, содержащего в молекуле две фосфатные группы [6].

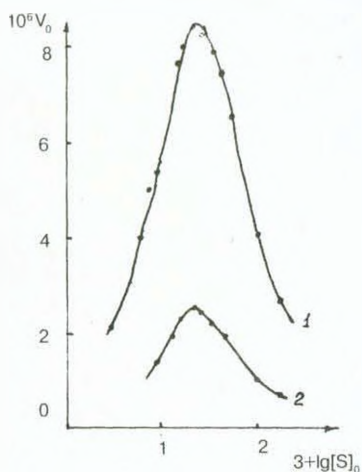
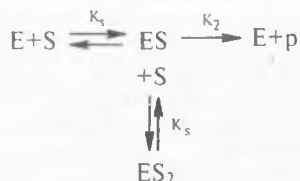


Рис. 1 Зависимость стационарной скорости дефосфорилирования карбонатным черноземом фенолфталеинфосфата натрия от $\lg [S]_0$: 1 при 0,5 г почвы+1,5 мл водной фазы, $t=30^\circ$, pH 8,6 (аммиачный буфер); 2 - 0,1 г почвы+ 0,3 мл водной фазы.

Оказалось, что кинетические кривые фосфатазной реакции при одинаковом значении pH 8,6, созданном трисHCl и аммиачным буферами, при соотношении 0,5 г почвы и 3 мл жидкой фазы совпадают.

На рис. 1 представлены кинетические данные фосфатазной реакции карбонатного чернозема при навесках почвы 0,5 и 0,1 г и жидкой фазе 1,5 и 0,5 мл соответственно в полулогарифмических координатах. Как видно, кинетика фосфатазной реакции карбонатного чернозема и в условиях данного исследования подчиняется механизму субстратного ингибирования. Значение оптимальной концентрации субстрата, независимо от абсолютных количеств реагентов, равно $[S]_{\text{опт}} = 0,0245$ М.

Симметричность кривой относительно $S_{\text{опт}}$ свидетельствует о том, что реакция ингибируется за счет образования кинетически неактивного комплекса состава ES_2 , т.е. процесс осуществляется по схеме [3]:



Зависимость начальной скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата выразится уравнением [3]:

$$V = \frac{V_m S_0}{K_m + S_0 + \frac{S_0^2}{K_s}} \quad , \quad \text{а} \quad [S]_{\text{опт}}^2 = K_s^1 K_m$$

Для нахождения постоянных этого трехпараметрового уравнения оно линейризуется при условиях $S_0 \geq S_{\text{опт}}$. При $[S]_0 < [S]_{\text{опт}}$ строится график в координатах двойных обратных величин (рис. 2а), что позволяет рассчитать постоянные V_{max} и K_m . При $S_0 > S_{\text{опт}}$ это уравнение анализируется в координатах $1/V - S_0$ (рис. 2б), что позволяет найти K'_s и V_m . Аналогичные расчеты проведены и при навеске почвы 0,1 г (табл. 1).

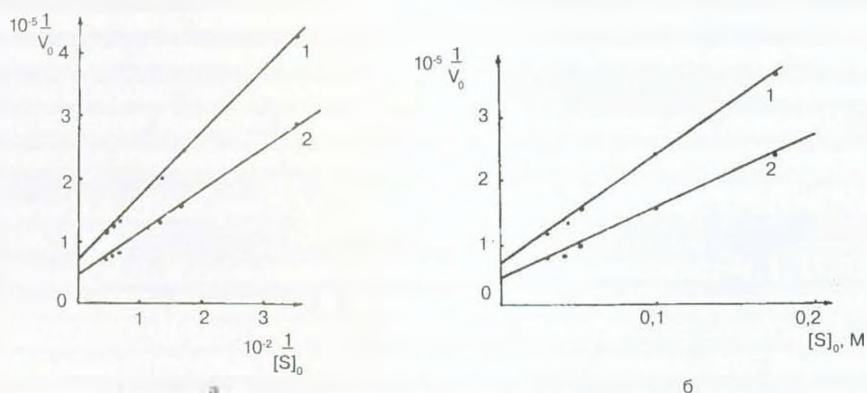


Рис. 2. Линейризация кинетических данных при $[S]_0 < [S]_{\text{опт}}$ (а) и $[S]_0 > [S]_{\text{опт}}$ (б) - без учета адсорбции (кр. 1) и с учетом адсорбции (кр.2) для 0,5 г почвы+ 1,5 мл водной фазы.

Реакции, протекающие в почвах, осложняются адсорбцией компонентов реагирующей системы частицами почвы, что, естественно, приводит к изменению параметров почвенных ферментативных реакций [2, 9]. Роль адсорбции мы учитывали использованием калибровочных кривых D-C фенолфталеина, построенных в присутствии почвы (0,5 г почвы+1,5 мл раствора или 0,1 г почвы+0,3 мл раствора соответствующей концентрации, термостатирование при 30° в течение 2 ч и затем колориметрирование по методике эксперимента [5]). На основании данных, полученных при наличии почвы и в условиях ее отсутствия, построены изотермы адсорбции продукта

исследуемой реакции (фенолфталеина) 0,5 и 0,1 г карбонатного чернозема. В условиях данного исследования до концентрации фенолфталеина $\in 1,6 \cdot 10^{-5}$

Таблица 1. Кинетико-термодинамические параметры фосфатазной реакции карбонатного чернозема в аммиачном буфере

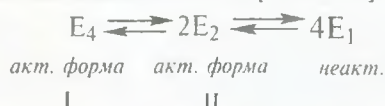
Условия	Параметры	0,5 г почвы+1,5 мл водн. фазы		0,1 г почвы+0,3 мл водн. фазы	
		без учета адс.	с учетом адс.	без учета адс.	с учетом адс.
$[S]_0 < [S]_{\text{опт}}$	$10^6 V_m$, моль/л мин	15,4	22,4	5	6,4
	K_m , М	0,016	0,016	0,024	0,028
$[S]_0 > [S]_{\text{опт}}$	$10^6 V_m$, моль/л мин	14,3	22	4,8	6,2
	K_m , М	0,015	0,015	0,023	0,026
	K_s , М	0,04	0,041	0,026	0,3

¹М изотермы адсорбции для обеих навесок почвы (0,5 и 0,1 г) были линейными.

Вышеописанным способом рассчитаны кинетико-термодинамические параметры изучаемого процесса с учетом и без учета адсорбции. Полученные данные представлены в табл. 1.

Из приведенных данных видно, что значения постоянных V_m и K_m , независимо от концентраций субстрата, т.е. в условиях выполнения и невыполнения уравнения Михаэлиса-Ментен, совпадают. Это подтверждает справедливость принятой схемы реакции. Видно также, что при учете адсорбции продукта реакции почвой значение V_m увеличивается, а K_m - почти не меняется.

Известно, что щелочная фосфатаза обладает сложной четвертичной структурой. Идентичные субъединицы ее способны образовывать ассоциаты с различной каталитической активностью [1, 11, 12]:



Константы диссоциации олигомеров зависят от pH, присутствия активаторов - ионов двухвалентных металлов [13]. Для выявления роли ионов двухвалентных металлов в фосфатазной реакции карбонатного чернозема изучали влияние добавок ЭДТА на ее скорость.

Как видно из рис. 3, в присутствии ЭДТА скорость процесса уменьшается, причем по мере увеличения концентрации добавки она уменьшается все в большей мере. Замечено, что при добавлении ЭДТА к суспензии карбонатного чернозема происходит интенсивное выделение CO_2 (из 1 г почвы+10 мл 0,2М ЭДТА при комнатной температуре в течение 10 мин выделяется 12 мл CO_2). По-видимому, ЭДТА связывает в хелатные комплексы ионы двухвалентных металлов, которые в исследуемой почве находятся в виде карбонатов, с разрушением последних (в аналогичных условиях в суспензиях выщелоченного чернозема выделение газа не наблюдается). Замедляющее реакцию влияние ЭДТА свидетельствует об активирующем щелочную фосфатазу почвы влиянии ионов двухвалентных

металлов.

В широкой области концентраций субстрата (от $3 \cdot 10^{-3}$ до 0,165 М) при соотношении 0,5 г почвы на 1,5 мл водной фазы изучено влияние температуры на скорость гидролиза фенолфталейн-фосфата натрия в карбонатном черноземе. Оказалось, что при указанных концентрациях субстрата в интервале температур от 20° до 35° скорость процесса практически не зависит от температуры. Таким образом, в данном случае, как и в случае с фосфатазной реакцией выщелоченного чернозема [8], лимитирующей стадией процесса является диффузия субстрата к активному центру иммобилизованного почвой фермента. В водных растворах щелочной фосфатазы скорость гидролиза п-нитрофенил-фосфата натрия при $[S]_0 < [S]_{\text{опт}}$ с повышением температуры в интервале pH от 8,5 до 9,5 растет, причем эффективная энергия активации реакции больше теплоты диссоциации фермент-субстратного комплекса [10].

Можно полагать, что обнаруженный в гомогенных условиях диссоциативный механизм регуляции активности щелочной фосфатазы сохраняется в почвах, причем в гетерогенных условиях диффузионные процессы играют значительную роль.

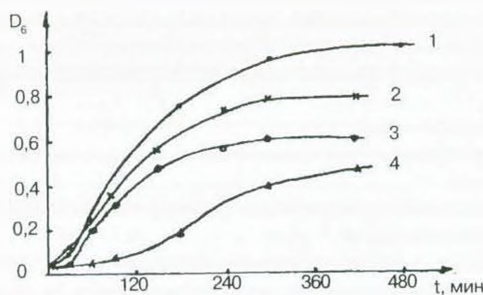


Рис. 3. Влияние добавок ЭДТА на скорость фосфатазной реакции карбонатного чернозема. $[S]_0 = 8,8 \cdot 10^{-3}$ М, $t = 30^\circ$, ЭДТА, М: 1-0; 2-0,001; 3-0,01; 4-0,1; навеска почвы 0,5 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аренс Э.А., Полтораки О.М., Прякин А.Н. Вестн. МГУ, сер. 2, химия, 24, 5, 458, 1983.
2. Березин И.В., Клибанов А.М., Мартинек К. Успехи химии, 44, 1, 17, 1975.
3. Березин И.В., Мартинек К. Основы физической химии ферментативного катализа. 280, М., 1977.
4. Бресткин А.П., Новиков Н.В., Прокофьева Е.Г., Ржехина Н.И. Биохимия, 26, 226, 1961.
5. Галстян А.Ш. Почвоведение, 2, 107, 1978.
6. Геворкян М.Г., Вартамян В.Т., Галстян А.Ш., Бейлерян Н.М. Почвоведение, 5, 85, 1987.
7. Геворкян М.Г., Вартамян В.Т., Галстян А.Ш., Бейлерян Н.М. Биолог. журн. Армении, 38, 9, 757, 1985.
8. Паников Н.С., Кзесенко С.М. Почвоведение, 11, 43, 1983.
9. Полтораки О.М., Чухрай Е.С., Прякин А.Н. В кн.: Успехи биоорганического катализа. 286, М., 1979.
10. Путилин Ф.Н., Веселова М.Н. Вестн. МГУ, сер. 2, химия, 24, 3, 259, 1983.
11. Applebury M., Coleman F.J., Biol. Chem., 244, 308, 1969.
12. Linden G., Alais C. Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys., 18, 749, 1978.
13. Reynolds J.A., Schlesinger M.J. Biochemistry, 8, 4278, 1969.

Поступила 22.X.1996

ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ СИСТЕМ, ГЕНЕРИРУЮЩИХ ПАССИВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ I. КАБЕЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ПРИ СОГЛАСОВАННОЙ НАГРУЗКЕ

А.Р. САРКИСЯН, О.А. МКРТЧЯН, А.А. МЕЛКОНЯН

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

Представлен метод идентификации параметров системы с распределенными параметрами, описываемой кабельным уравнением с согласованной нагрузкой. Метод основан на решении кабельного уравнения в частотной области. Комбинированием аналитических и численных методов выявлены функциональные взаимосвязи между параметрами модели и некоторыми специфическими значениями ее частотных характеристик. Метод позволяет определять параметры системы по ее ответу на произвольный известный входной сигнал.

Ներկայացված է տարաբախշված պարամետրեր ունեցող համաձայնեցված բեռնվածքով կաբելային հավասարումով նկարագրվող համակարգի պարամետրերի իդենտիֆիկացիայի մեթոդ: Մեթոդը հիմնված է հաճախականության տիրույթում կաբելային հավասարման լուծման վրա: Ձուգակցելով անալիտիկ և թվային մեթոդները, բացահայտված են մոդելի պարամետրերի և նրա հաճախական բնութագրերի որոշ յուրահատուկ արժեքների ֆունկցիոնալ փոխկապակցությունները: Մեթոդը հնարավորություն է տալիս որոշել համակարգի պարամետրերը համաձայն նրանց պատասխանին կամայական հայտնի մուտքային ազդակին:

It is presented a method of parameters identification for systems with distributed parameters described by cable equation with matched load. This method is based on solution of the cable equation in frequency range. By combining the analytical and numerical methods the functional intercommunications between parameters of the model and the several specific values of its frequency responses are revealed. The method permits to define the system parameters by their response to arbitrary known input signal.

Модель нейрона - кабельное уравнение - идентификация параметров

В модельных исследованиях нейронов центральной проблемой является идентификация параметров кабельного уравнения [11]. Предложены различные методы оценки кабельных параметров [7,8,12]. Ролл [12] предложил аналитическое решение кабельного уравнения для ступеньки тока, приложенной к соме, в виде бесконечной суммы экспонент и ввел метод графической обработки для определения постоянной времени и амплитуд экспонент по экспериментальным записям. На основе этого решения были развиты различные методы оценки параметров. В методе, предложенном Джонсоном [7], электротоническая длина и отношение дендритных и соматических входных проводимостей определялись последовательно, путем численного решения ряда трансцендентных уравнений. Кавато [8] доказал, что существует особое обратное отображение в отношении постоянных времени и амплитуд первых двух экспонент в записи потенциала, вызванного действием ступеньки тока на электротонические параметры кабеля. Соответственно параметры могут быть определены одновременно по отношениям постоянных времени и амплитуд.

Однако эти методы применимы лишь для специфичных входных токов. Для произвольного входного тока решение кабельного уравнения во временной области не определено. Более того, оценка модельных параметров, основанная на постоянных времени и коэффициентах потенциалов, которая требует нахождения корней трансцендентного уравнения, громоздка и склонна к ошибкам даже при использовании оптимизационной техники для получения этих коэффициентов и постоянных времени [4].

В некоторых исследованиях оценка модельных параметров выполнялась прямой подгонкой модельных ответов с экспериментальными как во временной области [3,10],

так и в частотной [6]. Оценка электротонических параметров в частотной области не требует решения трансцендентных уравнений. С целью оценки модельных параметров экспериментальные данные преобразуются и сравниваются с модельным выходом в частотной области. Во избежание преобразования зашумленных экспериментальных данных Али-Хасан и др. [2] комбинировали решение модели в частотной области с подгонкой во временной области, используя быстрое преобразование Фурье (БПФ) для получения выхода модели во временной области. Эти методы прямой подгонки требуют огромного количества вычислений и в некоторых случаях не могут привести к единственности значений параметров [10]. Следовательно, даже учитывая необъятные способности современных компьютеров, представляется важной задача поиска более простых путей определения параметров кабельной модели непосредственно по экспериментальным выходным данным.

Мы предлагаем простой метод оценки параметров кабельной модели по частотным характеристикам записей потенциалов в ответ на произвольный, известный входной ток. Метод основывается на решении кабельного уравнения в частотной области для полубесконечной или кабельной модели с согласованной нагрузкой.

Рассмотрим модель нейрона в виде пассивной электрической линии длиной l , на конце которой подключена некоторая произвольная нагрузка, имеющая комплексное сопротивление Z_L (рис.1, А). Элементарный участок такой линии представлен на рис. 1, Б.

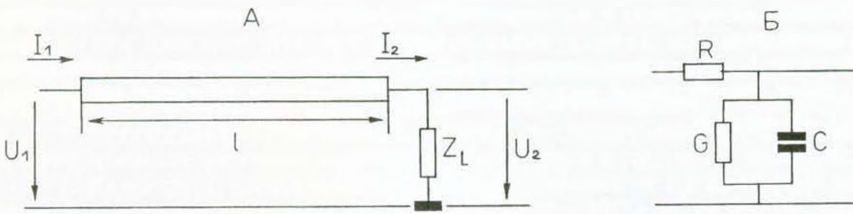


Рис. 1. А - схема замещения нейрона в виде длинной линии (кабеля) длиной l с сосредоточенной нагрузкой, имеющей комплексное сопротивление Z_L . I_1 , U_1 - ток и напряжение в начале линии, I_2 , U_2 - ток и напряжение в конце линии. Б - электрическая схема элементарного участка кабеля. R , G и C - продольное сопротивление, проводимость и емкость кабеля, соответственно.

В терминах описываемой модели входное воздействие на нейрон (субсинаптический ток) представляется током I_1 , подаваемым на начало кабеля (дендрит), а ПСП - напряжением U_2 на нагрузке кабеля (сома).

Исходя из этого, в качестве уравнения модели берется выражение для передаточного сопротивления линии, связывающее ток I_1 и напряжение U_2 .

$$Z = \frac{U_2}{I_1} = \frac{2Z_L Z_C}{(Z_L + Z_C)e^{\gamma l} - (Z_L - Z_C)e^{-\gamma l}}, \quad (1)$$

где $Z_C = \sqrt{\frac{R}{G + j\omega C}} = \frac{R_0}{\sqrt{1 + j\omega\tau}}$ - волновое сопротивление линии,

$\gamma = \sqrt{R(G + j\omega C)} = \frac{1}{\lambda} \sqrt{1 + j\omega\tau}$ - коэффициент распространения, R , G и C -

соответственно продольные сопротивление, проводимость и емкость линии,

$\tau = G / C$ - постоянная времени линии,

$\lambda = \sqrt{\frac{l}{RG}}$ - постоянная длины линии,

$R_0 = \sqrt{R / G}$ - характеристическое сопротивление линии (волновое сопротивление линии при нулевой частоте).

Рассмотрим частный случай модели, когда сопротивление нагрузки равно волновому сопротивлению кабеля (случай согласованной нагрузки): $Z_L = Z_C$. В этом случае

$$Z = Z_C e^{-\gamma l} = \frac{R_0}{\sqrt{1+j\omega\tau}} e^{-L\sqrt{1+j\omega\tau}} \quad (2)$$

где $L=l/\lambda$ - относительная (электротоническая) длина линии.

В этом уравнении фигурируют три параметра: R_0 , L и τ .

Уравнение (2) намного проще уравнения (1), что позволило выявить взаимосвязь между параметрами модели и графиками ее частотных характеристик, а следовательно, и получить метод для "прямого определения" параметров по частотным характеристикам экспериментального потенциала.

Выражение для Z с разделенной действительной и мнимой частью будет иметь вид:

$$Z = \operatorname{Re}(Z) + j \operatorname{Im}(Z) = \frac{R_0}{e^{La} \sqrt{a^2 + b^2}} \cos(Lb + \varphi) - j \frac{R_0}{e^{La} \sqrt{a^2 + b^2}} \sin(Lb + \varphi) \quad (3)$$

где

$$a = \sqrt{1/2 \left(\sqrt{1 + \omega^2 \tau^2} + 1 \right)}, \quad b = \sqrt{1/2 \left(\sqrt{1 + \omega^2 \tau^2} - 1 \right)}, \quad \varphi = \arctan(b/a).$$

Отметим здесь, что a , b и, следовательно, j являются функциями от величины $\omega\tau$ (а не просто от ω).

Параметр L . Рассмотрим условие, при котором действительная часть (3) обращается в 0 (т.е. график действительной частотной характеристики модели пересекает ось абсцисс, рис. 2, А). Поскольку

$$\frac{R_0}{e^{La} \sqrt{a^2 + b^2}} > 0$$

для любых ω (т.к. $R_0 > 0$ и $\tau > 0$), то $\operatorname{Re}(Z) = 0$ только когда $\cos(Lb + \varphi) = 0$, откуда $Lb + \varphi = \pi/2 + k\pi \quad (k=0, 1, 2, \dots) \quad (4)$

Здесь b и j - функции от величины $\omega\tau$. Обозначим $n = \omega\tau$. Пусть n_1 - это значение переменной n , удовлетворяющее уравнению (4) для $k=0$, а n_2 - значение переменной n , удовлетворяющее уравнению (4) для $k=1$:

$$Lb(n_1) + \varphi(n_1) = \pi/2, \quad (5)$$

$$Lb(n_2) + \varphi(n_2) = 3\pi/2, \quad (6)$$

Из этих уравнений можно было бы определить L как некоторую функцию от n_1 или от n_2 , однако сами величины n_1 и n_2 зависят от τ . Отношение же $n_2/n_1 = \omega_2/\omega_1$, $\tau = \omega_2/\omega_1$ от τ не зависит, поэтому можно попытаться определить параметр L как некоторую функцию от ω_2/ω_1 . Сделать это можно численным способом. Примем $\tau = \text{const}$ (например, 1). Определим вначале возможный допустимый диапазон изменения параметра L . Меняя L в этом диапазоне с некоторым шагом, будем рассчитывать каждый раз функцию $y = Lb + \varphi$ и находить ω_1 и ω_2 , решая соответственно уравнения (5) и (6) любым численным способом. В результате мы получим табличную заданную зависимость отношения ω_2/ω_1 от L , или наоборот (рис. 2, Б).

Параметр τ . Так как (2) фактически есть функция от $\omega\tau$, и τ фигурирует только как множитель ω , то роль этого параметра заключается (при прочих фиксированных

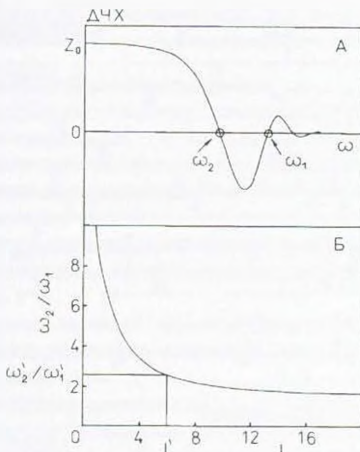


Рис. 2. А - ДЧХ передаточного сопротивления кабеля с согласованной нагрузкой (логарифмическая шкала). ω_1 и ω_2 - значения частоты, в которых ДЧХ пересекает ось частоты. Z_0 определяется как значение первого отсчета ДЧХ. Б - численно рассчитанная зависимость параметра L от ω_2/ω_1 . Имея конкретное значение ω_2/ω_1 , можно легко получить соответствующее значение L .

параметрах) только в растягивании или сжатии графика функции (2) по оси абсцисс.

Примем, что $y_1=f(w)$ - это действительная частотная характеристика (ДЧХ) модели при $t=1$ и $y_2=f(wt)$ - это ДЧХ модели при $t \neq 1$. При этом, если определенная точка на графике y_1 имеет абсциссу w_1 и соответствующая точка на растянутом (или сжатом) графике y_2 имеет абсциссу w_2' , то t вычисляется как

$$t=w/w_2'. \quad (7)$$

В качестве w_1 и w_2' можно принять те значения частоты, при которых y_1 и y_2 первый раз обращаются в 0 (см.(5)).

Пусть зависимость L от w/w_1 рассчитывается при $t=1$ и при этом в таблице хранятся также значения w_1 . Тогда, если определить значение частоты w_2' , при котором ДЧХ модели (при $t \neq 1$) первый раз обращается в 0, то t можно определить по (7).

Параметр R_0 . Подставив в (2) $w=0$, получим:

$$Z(0)=Z_0=R_0 e^{-L},$$

$$\text{откуда } R_0=Z_0 e^L, \quad (8)$$

Величина Z_0 определяется по графику ДЧХ передаточного сопротивления как значение первого отсчета (т.е. при $w=0$).

Таким образом, для кабеля с согласованной нагрузкой все три параметра, фигурирующие в уравнении (2), можно непосредственно получить по известным частотным характеристикам (вернее, по трем точкам ДЧХ - Z_0 , w_1 и w_2) передаточного сопротивления модели. Это означает, что при использовании данной модели для описания экспериментальных данных параметры могут быть непосредственно определены по частотным характеристикам экспериментального передаточного сопротивления.

Идентификация параметров модели с согласованной нагрузкой по экспериментальным частотным характеристикам сводится к следующей процедуре.

1. Параметру L последовательно придаются значения от 0,1 до 50 (этот диапазон достаточно широк для моделирования различных ПСП и ВП) с шагом 0,1. Для каждого L находятся корни уравнений (5) и (6) w_1 и w_2 соответственно. При этом принимается $t=1$. Поскольку функция $y(w)=Lb(w)+j(w)$ монотонно возрастающая, w_1 и w_2 можно найти с помощью простого алгоритма дихотомического поиска с любой заданной точностью. Отношение w_2/w_1 , w_1 и соответствующее значение L записываются в специальный файл на диске. Зависимость w_2/w_1 от L обратная (наибольшему значению L соответствует наименьшее значение w_2/w_1). В результате получается таблица зависимости между параметром L и величинами w_2/w_1 и w_1 ($t=1$).

2. Рассчитываются ДЧХ и мнимая частотная характеристика (МЧХ) экспериментального потенциала.

3. По ДЧХ экспериментального передаточного сопротивления определяются первые два значения частоты w_1' и w_2' , при которых ДЧХ обращается в 0. Так как модель довольно чувствительна к параметру L , то его, а следовательно и w_1' и w_2' , нужно определять точно. Пусть частотные характеристики рассчитаны в дискретных точках w_i ($i=0,1,...,m$). Проверяя значения ДЧХ во всех точках, находим первую пару соседних отсчетов w_k и w_{k+1} , значения ДЧХ в которых (обозначим их соответственно f_k и f_{k+1}) имеют разные знаки. На отрезке $[w_k, w_{k+1}]$ производится кусочно-линейная аппроксимация ДЧХ и w_2' определяется как место пересечения прямой, соединяющей точки (w_k, f_k) и (w_{k+1}, f_{k+1}) с осью частот:

$$w_2'=(f_{k+1}w_k-f_kw_{k+1})/(f_{k+1}-f_k).$$

Аналогично находится и w_1' .

4. В рассчитанной таблице зависимости L от w_2/w_1 находится пара значений $(w_2/w_1)_k$, $(w_2/w_1)_{k+1}$, удовлетворяющая $(w_2/w_1)_k \in w_2/w_1 \in (w_2/w_1)_{k+1}$.

По соответствующим значениям L_k и L_{k+1} определяется точное значение параметра L (также путем кусочно-линейной аппроксимации).

5. Аналогично L по той же таблице определяется соответствующее значение w_1 , после чего по формуле (7) вычисляется параметр t .

6. По ДЧХ экспериментального потенциала определяется Z_0 , затем, зная L , по (8) вычисляется параметр R_0 .

7. Вычисляется модельный ответ во временной области с помощью оригинального эффективного алгоритма обратного преобразования Фурье [17].

Таким образом, приведено решение (в частотной области) уравнения пассивной

электрической модели нейрона в виде кабеля конечной длины (дендрит) с согласованной нагрузкой (сoma). Как оказалось, для этого случая можно выявить функциональную взаимосвязь между параметрами модели и определенными специфическими значениями ее частотных характеристик. Определение этой взаимосвязи позволило разработать численный метод оценки этих параметров непосредственно по модельным частотным характеристикам и построить сравнительно простую и эффективную процедуру расчета параметров модели по частотным характеристикам экспериментально регистрируемого потенциала.

Представленный метод не использует громоздких рекуррентных вычислений, благодаря чему может быть использован для on-line оценки электротонических параметров непосредственно в виде электрофизиологического эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Саркисян А.Р., Мелконян Д.С., ГосФАП СССР, N50890000341, 1989.
2. Ali-Hassan W.A., Saidel G.M., Durand D. IEEE Trans. Biomed. Eng., 39, 493-501, 1992.
3. Clements J.D., Redman S.J.J. Physiol., 409, 63-87, 1989.
4. D'Aguanno A., Bardakjian B.L., Carlen P.L. IEEE Trans. Biomed. Eng., 33, 1188-1196, 1986.
5. Deutsch S. IEEE Trans. Syst. Man. Cybern., 13, 1007-1010, 1983.
6. Fu P., D'Aguanno, Bardakjian B.L., Carlen P.L. IEEE Trans. Biomed. Eng., 36, 55-64, 1989.
7. Johnston D. Cel. Mol. Neurobiol., 1, 41-55, 1981.
8. Kawato M.J. Theor. Biol., 111, 149-169, 1984.
9. Koch C. Biol. Cybern., 50, 15-33, 1984.
10. Major G., Larkman A.U., Jonas P., Sakmann B., Jack J.J.B. J. Neurosci., 12, 4613-4638, 1994.
11. Rall W. In: Methods in Neuronal Modeling: From Synapses to Networks (Koch C., Segev I., eds), 9-62, MIT Press, Cambridge, MA and London, England, 1989.
12. Rall W. Biophys. J., 9, 1168-1483, 1969.

Поступила 11.V.1998

Հաճախորդ հաղորդագրումներ • Краткие сообщения • Short communications

Биол. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 612.173.1.015.1:577.152.273./06:612.173.1.015.3:547.953

**ВЛИЯНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА АКТИВНОСТЬ
ММ КРЕАТИНКИНАЗЫ МИОКАРДА ЧЕЛОВЕКА**

Г.О. МЕЛИКСЕТАН, З.С. МКРТЧЯН, Ж.И. АКОПЯН, К.Г. КАРАГЕЗЯН

Институт молекулярной биологии, 375014, Ереван

Креатинкиназа миокарда - фосфолипиды - жирные кислоты

Исследование влияния фосфолипидов на активность ММ креатинкиназы миокарда человека показало, что некоторые из них являются сильными активаторами фермента, а другие - ингибиторами [4]. Согласно литературным данным, жирные кислоты, являясь составной частью фосфолипидов, влияют на активность различных ферментов [2].

Целью настоящей работы являлось выяснение эффекторных способностей некоторых жирных кислот на активность ММ креатинкиназы миокарда человека и возможных механизмов их действия.

Материал и методика. Выделение и очистку фермента проводили по методу [3]. Активность фермента определяли колориметрическим методом [5]. Реакционная смесь объемом 0,15 мл включала: 1,3 мМ АДФ, 2,6 мМ креатинфосфат, 5мМ магний-ацетат и 0,15 мМ трис-ацетатный буфер (рН 6,7). Реакцию проводили при 37°. Запуск реакции осуществляли добавлением креатинфосфата. Через 1,5 мин реакцию останавливали добавлением 0,2 мл 1%-ного щелочного раствора альфа-нафтола, а затем 0,1 мл 0,25%-ного раствора диацетила, после чего добавляли 2 мл воды и через 20 мин измеряли интенсивность окраски на спектрофотометре при 520 нм. О скорости реакции судили по количеству образовавшегося креатина. За единицу активности принимали количество фермента, катализировавшего образование 1 мкмоль креатина за 1 минуту.

Результаты и обсуждение. Из ряда исследованных жирных кислот эффективными оказались линолевая и гамма-линолиновая кислоты, которые явились ингибиторами фермента (рис. 1). Из рис. 1 видно, что ферментативная активность в присутствии этих кислот снижается на 70-90%. Этот факт подтверждают имеющиеся литературные данные о влиянии ненасыщенных жирных кислот на сократительную способность миокарда [1], которая во многом зависит от нормального функционирования креатинкиназной системы, играющей важную роль в энергетическом метаболизме кардиомиоцитов.

Исследование механизма ингибирующего действия показало, что она

является ингибитором бесконкурентного типа по отношению к АДФ и неконкурентного - по отношению к креатинфосфату (рис. 2 А, Б). Это свидетельствует о присоединении жирной кислоты либо к Е-S комплексу, либо к определенному участку на поверхности фермента вблизи активного центра.

Однако вопрос о том, какая часть фосфолипидной молекулы ответственна за активирование или ингибирование креатинкиназы, остается нерешенным, так как указанные жирные кислоты могут являться одной из составных частей как фосфолипидов-активаторов, так и фосфолипидов-ингибиторов, то есть данные жирные кислоты не играют принципиальной роли в механизме действия

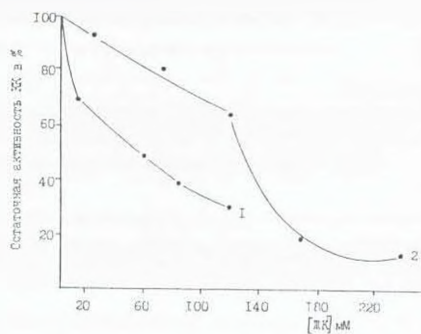


Рис. 1. Концентрационная зависимость ингибирующего действия жирных кислот на креатинкиназную реакцию
1 - линолевая кислота; 2 - гамма-линолиновая кислота

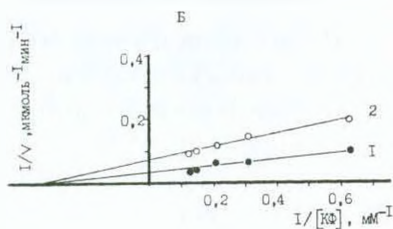
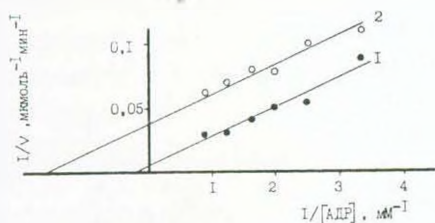


Рис. 2. А - График двойных обратных величин зависимости начальных скоростей реакции от концентрации АДФ в отсутствие (1) и в присутствии (2) линолевой кислоты, 60 мМ. Б - График двойных обратных величин зависимости начальных скоростей реакции от концентрации креатинфосфата в отсутствие (1) и в присутствии (2) линолевой кислоты, 60 мМ.

фосфолипидов на ферментативную активность. С другой стороны, нами было показано [4], что фосфатидилхолин (дипальмитол) является активатором ММ креатинкиназы, а фосфатидилхолин и лизофосфатидилхолин - ее ингибиторами, что позволяет допустить, что эффект действия определяется жирнокислотным составом. Поскольку жирнокислотный состав фосфолипидов во многом зависит от источника выделения последних, то однозначный ответ можно будет получить в том случае, если в нашем распоряжении будет набор направленно синтезированных фосфолипидов с определенным известным жирнокислотным составом [2].

ЛИТЕРАТУРА

1. Булгакова В.Г., Моргунов А.А., Биленко М.Б. Бюлл. exper. биол. и мед., 12, 643-646, 1987.
2. Грибанов Г.А. Вopr. мед. химии, 37, 4, 2-10, 1991.
3. Меликсетян Г.О., Мкртчян З.С., Акопян Ж.И. Вopr. мед. химии, 2, 112-116, 1987.

4. Меликсетян Г.О., Мкртчян З.С., Акопян Ж.И., Карагезян К.Г. *Вопр. мед. химии*, 5, 68-70, 1991.
5. Ennor A.H., Rosenberg H. *Biochem. J.*, 51, 606-610, 1952.

Поступила 9. IX.1998

Биолог. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 639.3.032

ДИПЛОИДНЫЙ ГИНОГЕНЕЗ У СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ (*CARASSIUS AURATUS GIBELIO (BLOCH.)*) ОЗ. СЕВАН

Р.Г. РУХКЯН, К.А. ГРИГОРЯН

Институт зоологии НАН Армении, 375014, Ереван

Карась серебряный – диплоидные самки – гиногенез

Серебряный карась широко распространен в водоемах Европы, Сибири, Дальнего Востока и в бассейне Тихого океана. Литературные данные свидетельствуют о том, что в популяциях Восточной Азии и Дальнего Востока существуют две формы серебряного карася – бисексуальная диплоидная и однополая триплоидная, что по мере продвижения на запад доля самцов в популяциях постепенно падает, и в европейской части ареала этот вид повсеместно представлен только триплоидными самками с гиногенетическим размножением [1, 2, 8, 10, 11]. Недавно стало известно, что в Днепровском лимане существует популяция карасей, представленная самками и самцами в соотношении полов 1:1, что обеспечивает нормальное осеменение икры [3]. Фактически это первый случай обнаружения бисексуальной диплоидной формы серебряного карася в Европе, который, по всей вероятности, был случайно завезен с Дальнего Востока при акклиматизации растительноядных рыб.

Появление серебряного карася в водоемах Армении связано с эксплуатацией карповых рыбоводных хозяйств Араратской равнины, куда этот вид попал вместе с разводимыми в прудах ценными рыбами (каarp, толстолобик, белый амур). Затем по широкой сети каналов и притоков р. Аракс карась расселился почти по всей Армении, а в 1983г. проник и в оз. Севан. Будучи неприхотливым, легко адаптируемым к внешним условиям среды и весьма плодовитым, карась за несколько лет стал одним из доминирующих видов озера, и многие исследователи высказывали опасение, что это явление чревато серьезными экологическими последствиями для аборигенов озера [4, 5]. В настоящее время карась большими стаями заходит во все нерестовые реки бассейна оз. Севан, образуя многочисленные нерестовые стада [6].

В связи с вышеизложенным, мы поставили цель выяснить, какая из упомянутых форм карася, диплоидная бисексуальная или триплоидная однополая, обитает в оз. Севан.

Материал и методика. Кариологически изучены 67 особей серебряного карася, отловленные в нерестовый период в середине июня у самого устья реки Личк - притока оз. Севан (Мартунинский район). Хромосомные препараты готовили воздушно-сухим способом, по ранее применявшейся методике [7], используя клетки почек предварительно колхицинированных рыб.

Результаты и обсуждение. Все исследованные караси из нерестового стада р. Личк оказались самками со зрелыми гонадами. В первом сообщении о появлении серебряного карася в оз. Севан [4], материалом для которого послужило стадо карасей этой же реки, также не отмечались самцы, хотя наличие единичных самцов в стаде полностью исключить нельзя. Согласно данным ихтиологов Института гидроэкологии и ихтиологии НАН РА А.Р. Рубеняна и В.Г. Маркаряна (устное сообщение), число самцов в озере ничтожно мало, 1 к 200 самкам. По последним данным [6], самцы карася в Севане в среднем составляют 4,4%. Так или иначе из-за малого количества самцов трудно предположить возможность нормального осеменения икры. Поскольку сроки и места нереста серебряного карася, храмули и усача совпадают, то совместный нерест самок карася с самцами карповых аборигенов озера, по-видимому, не исключается, в таком случае весьма вероятно, что карась в оз. Севан размножается путем гиногенеза. Суть этого явления заключается в том, что сперма "чужого" самца стимулирует развитие икры, слияния ядер половых клеток не происходит, ядром зиготы становится ядро яйцеклетки, и поэтому гиногенетическое потомство состоит исключительно из самок.

В литературе до настоящего времени был описан только гиногенез триплоидных форм [8, 10, 12], более того, нет сведений об однополо-диплоидной форме карася [1]. Лишь в работе Лидера (цит. по Черфас [8]) высказывается предположение о возможности диплоидного гиногенеза у однополых карасей западно-европейских популяций. Это сообщение вызвало критику Черфас [8], считавшей, что имевшихся у автора данных недостаточно для доказательства диплоидного гиногенеза. Проведенное нами кариологическое исследование карасей р. Личк показало, что нерестовое стадо состоит исключительно из диплоидных самок. Этот достоверный факт доказывает существование однополо-диплоидной формы карася, очевидно, размножающегося гиногенезом. Следовательно, независимо от пloidности самки карася при нехватке "своих" самцов могут перейти к гиногенетическому размножению.

Таким образом, вырисовывается следующая картина. Основателем популяции карасей оз. Севан была случайная выборка рыб, попавшая в озеро из водоемов Араратской равнины, где самцы составляют в среднем 23% [6]. Рыбы исходной выборки, распространившись по акватории озера, за короткий срок сформировали в его притоках локальные стада с различным соотношением полов. По данным Пипояна [6], половозрелые самцы серебряного карася

составляют от 3,0% (в прибрежных районах г. Мартуни) до 10,5% (в р. Карчахпюр, Варденисский район). В последнем случае возможно размножение самок карася с участием "своих" самцов, стадо же р. Личк при отсутствии самцов карася перешло к гиногенетическому размножению. Следовательно, в настоящее время в оз. Севан обитают как однополо-диплоидная, так и диплоидно-бисексуальная формы карася. Изложенное выше позволяет согласиться с мнением Черфас [9], что в смешанных популяциях гиногенетические самки размножаются с участием самцов своего вида, а в однополых - с участием самцов близких видов.

Таким образом, гиногенез присущ не только однополой триплоидной форме карася, по крайней мере определенная часть диплоидных самок при нехватке "своих" самцов может также перейти к гиногенетическому размножению. В таком случае гиногенез следует рассматривать как одну из приспособительных реакций, расширяющих адаптивные возможности воспроизводства популяций и способствующих повышению общей численности и свободному расселению вида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. М., Наука, 1985.
2. Головинская К.А. Рыбоводство и рыболовство, 6, 16-17, 1960.
3. Нгуен Тхи Нга. Автореф. канд. дисс., М., 1989.
4. Оганесян Р.О., Смолей А.И. Биолог. журн. Армении, 38, 8, 725-726, 1985.
5. Пивазян С.А., Маркарян В.Г., Габриелян Б.К. Биолог. журн. Армении, 41, 9, 779-781, 1988.
6. Пипоян С.Х. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1993.
7. Рухкян Р.Г., Аракелян Г.Л. Тр. Севанск. гидробиол. ст., 17, 143-152, 1979.
8. Черфас Н.Б. Генетика, 1, 5, 16-24, 1966.
9. Черфас Н.Б. В кн.: Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб, 309-335, Л., Наука, 1987.
10. Kobayashi H. Zool. Mag., 80, 9, 316-322, 1971.
11. Pelz G.R. Natur. Und Mus., 117, 4, 118-129, 1987.
12. Penaz M., Rab P., Prokeš M. Acta Sci. Natur. Acad. Brno, 13, 7, 3-36, 1979.

Поступила 30.1.1997

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПРИ УЗЛОВОМ ПОРАЖЕНИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.Э. ПАРСЯН

Институт эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии им А. Б. Александяна МЗ Армении, 375009, Ереван

Щитовидная железа - узловой эутиреоидный зоб - иммунологические показатели - иммунокомпетентные клетки

Одной из актуальных проблем современной биологии является выяснение механизмов функционирования иммунной системы. Исследованиями последних лет доказан факт тесной взаимосвязи между функциями иммунной системы и щитовидной железы [10, 14], показана роль нарушений иммунологической реактивности в развитии многих тиреоидных патологий [2, 12, 13]. Особое место занимает вопрос участия иммунологических механизмов в процессе узлообразования в щитовидной железе при эутиреоидном зобе. Однако исследования в этой области немногочисленны, а результаты порой противоречивы.

В задачу настоящего исследования входило определение иммунологических показателей периферической крови, а также функциональной активности лимфоцитов и активности фагоцитов в ткани щитовидной железы при узловых формах эутиреоидного зоба.

Материал и методика. Обследовали 93 больных узловыми формами эутиреоидного зоба (общая группа) и 32 практически здоровых волонтера (контрольная группа). По методике Глана, Алексеева [4] определяли показатели реакции бластной трансформации лимфоцитов периферической крови в культуре клеток без митогена (РБТЛ контроль), с фитогемагглютинином (РБТЛ ФГА), экстрактом щитовидной железы (РБТЛ ЭЩЖ).

Турбидиметрическим методом с помощью тест-наборов А/О НПО Синтеко, Россия) определяли концентрации сывороточных иммуноглобулинов классов А, М и G (IgA, IgM, IgG). Концентрацию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови определяли фотокалориметрическим методом, используя тест-наборы А/О НПО Синтеко (Россия).

В реакции потребления комплемента по 50%-ному гемолизу судили об активности комплемента и уровне антител к щитовидной железе (антитела к ЩЖ) [1].

Методом Е-РОК исследовали относительное содержание в периферической крови Т-клеток [8]. Относительное содержание в периферической крови В-клеток определяли методом ЕАС-РОК в нашей модификации [5]. Определение фагоцитарной активности фагоцитирующих клеток периферической крови (АФ) проводили методом, описанным в литературе, в нашей модификации [9].

На 71-м больном были изучены также показатели реакции бластной трансформации полученных из узлового и внеузлового участков ткани щитовидной железы лимфоцитов в культуре клеток без митогена (РБТЛт контроль) и с фитогемагглютинином (РБТЛт ФГА), а также показатели активности фагоцитов (АФт). При постановке данных реакций использовали разработанные нами методики.

Статистическую обработку полученных показателей проводили методами вариационной статистики с использованием критерия достоверности (Стьюдента).

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что при узловых формах эутиреоидного зоба происходит достоверное ($p<0.05$) по сравнению с контролем повышение уровней РБТЛ ЭЩЖ, антител к ЩЖ, концентрации IgG; снижается ($p<0.05$) показатель РБТЛ ФГА. В показателях РБТЛ контроль, активности комплемента, АФ, Е-РОК, ЕАС-РОК, концентрациях ЦИК, IgM и IgA достоверных различий между сравниваемыми группами не было выявлено ($p>0.05$) (табл. 1).

Таблица 1. Иммунологические показатели периферической крови при узловых формах эутиреоидного зоба.

Иммунологические показатели	Контрольная группа (n=32)	Общая группа (n=93)
	M±m	M±m
Е-РОК, %	43.7±1.1	42.8±0.52
ЕАС-РОК, %	20.8±0.71	21.1±0.4
АФ, %	78.7±1.06	77.7±0.45
РБТЛ контроль, %	19.3±0.84	20.3±0.47
РБТЛ ФГА, %	49.6±1	*43.9±0.79
РБТЛ ЭЩЖ, %	22.3±0.76	*27.6±0.7
IgG, г/л	15.1±0.82	*18.5±0.49
IgM, г/л	1.73±0.12	1.76±0.07
IgA, г/л	1.81±0.16	1.71±0.06
ЦИК, у. е.	28.2±2.9	30±1.43
Комплемент, CH_{50}	49±1.15	48.3±0.49
Антитела к ЩЖ, CH_{50}	3.38±0.78	*9.53±0.83

Примечания: М - средняя арифметическая; m - средняя ошибка средней арифметической;

* - достоверное отличие от нормы ($p<0.05$).

Полученные нами данные указывают на то, что при узловых формах эутиреоидного зоба появляются признаки аутоенсибилизации лимфоцитов периферической крови к антигенам ткани щитовидной железы, аутоантитела против антигенов ткани щитовидной железы; отмечается также снижение функциональной активности лимфоцитов периферической крови и повышение концентрации сывороточных иммуноглобулинов класса G. В литературе также имеются указания на наличие аутоенсибилизации лимфоцитов к антигенам ткани щитовидной железы [6, 7] и антител к щитовидной железе [3, 6, 11], на снижение функциональной активности лимфоцитов [6] и повышение концентраций IgG [3] при этой патологии.

Таблица 2. Показатели активности иммунокомпетентных клеток, полученных из ткани щитовидной железы, при узловых формах эутиреоидного зоба.

Иммунологические показатели	Узловая ткань	Внеузловая ткань
	M±m	M±m
РБТЛт контроль, %	14.5±0.53	15±0.47
РБТЛт ФГА, %	*36.3±0.77	*31.3±0.81
АФт, %	72.9±0.91	73.5±0.97

Примечания: М - средняя арифметическая; m - средняя ошибка средней арифметической;

* - достоверность разницы между показателями активности иммунокомпетентных клеток, полученных из узлового и внеузлового участков щитовидной железы ($p<0.05$).

Щитовидные железы исследовались на предмет определения уровня бластной трансформации полученных из узлового и внеузлового участков ткани щитовидной железы лимфоцитов в культуре клеток без митогена и с фитогемагглютинином и уровня фагоцитарной активности фагоцитирующих клеток из этих участков. Результаты статистической обработки показали, что в уровнях фагоцитарной активности клеток и показателях реакции бластной трансформации в культуре клеток без митогена существенных различий между указанными участками щитовидной железы нет ($p > 0.05$).

Функциональная активность лимфоцитов (РБТЛт ФГА), полученных из узлового участка ткани щитовидной желез, достоверно превышала ($p < 0.05$) аналогичный показатель внеузлового участка (табл. 2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Барановский П. В., Лобко И. В. Лаб. дело, 3, 14-16, М., 1983.
2. Бубнов А. Н., Бомаш Н. Ю., Моисеева Л. М. Проблемы эндокринологии, 36, 6, 15-17, М., 1990.
3. Епишин А. В. Врач. дело, 4, 63-64, Киев., 1981.
4. Зарецкая Ю. М., Алексеев Л. П., Львицына Г. М., Шкурко В. И. Иммунологические аспекты аллотрансплантации. 230, М., 1974.
5. Крузе Х., Эггерс Г. Иммунологические методы (под ред. Г. Фримеля). 272-278, М., 1987.
6. Привалов В. А., Васильев С. А. Проблемы эндокринологии, 35, 4, 22-27, М., 1989.
7. Саарма В. А., Конт М. М. Вопросы эндокринологии. 75-79, Тарту, 1974.
8. Фримель Г. Иммунологические методы (под ред. Г. Фримеля). 269-272, М., 1987.
9. Штельцнер А. Иммунологические методы (под ред. Г. Фримеля). 378-390, М., 1987.
10. Corssmit E. P., Heyligenberg R., Endert E., Sauerwein H. P., Romijn J. A. J. Clin. Endocrinol. Metab., 80, 11, 3140-3144, 1995.
11. Hasse-Lazar K., Jarzab B., Podwinski A., Waler J., Sprzaczkowska K., Bula G., Skrzypek J. Pol. Arch. Med. Wewn., 97, 3, 239-251, 1997.
12. McIntosh R. S., Watson P. F., Weetman A. P. J. Clin. Endocrinol. Metab., 82, 4, 1140-1146, 1997.
13. Morgenthaler N. G., Kim M. R., Tremble J., Huang G. C., Richter W., Gupta M., Scherbaum W. A., McGregor A. M., Banga J. P. J. Clin. Endocrinol. Metab., 81, 9, 3155-3161, 1996.
14. Werner M. C., Costa-Rosa L. F., Romaldini J. H., Curi R. Cell. Biochem. Funct., 14, 2, 97-104, 1996.

Поступила 27.II.1998

О МЕХАНИЗМЕ ВКЛЮЧЕНИЯ КАЛЬЦИЕВОГО ПРЕЦИПИТАТА ДВУСПИРАЛЬНОЙ РНК В СИСТЕМУ РЕГУЛЯЦИИ ЭРИТРОПОЭЗА ПРИ ОСТРОЙ АНЕМИИ У КРЫС

Л.О. АБРОЯН, Е.М. КАРАЛОВА, Р.А. ЗАХАРЯН, С.А. КАРАПЕТАН,
Ю.А. МАГАКЯН

Институт молекулярной биологии НАН Армении, 375014, Ереван

Анемия - эритропоэз - механизмы регуляции - двуспиральная РНК

Ранее на модели экспериментальной острой анемии у крыс, индуцированной введением фенилгидразина (ФГ), было показано (1), что в присутствии Са-дс-РНК в 1,5 раза возрастает в сравнении с “чистой” анемией число делящихся про- и эритробластов и в связи с этим резко сокращается доля микроцитов, играющих важную роль в восполнении численности клеток и содержания гемоглобина в крови после криза анемии. Менее выраженным оказалось влияние Са-дс-РНК на макроцитоз, сохраняющий свое значение несмотря на повышение скорости развития и численности нормальных эритроцитов в результате введения препарата. В итоге под воздействием препарата более чем на сутки сокращается период восстановления эритрона. Полученные нами данные свидетельствуют о стимулирующем влиянии Са-дс-РНК, проявляющемся на всех этапах этого процесса. Однако оставался открытым вопрос о механизме включения Са-дс-РНК в систему регуляции эритропоэза при анемии. В данной статье предпринимается попытка дать ответ на этот вопрос.

Материал и методика. Подробное описание экспериментов и методов анализа было приведено ранее [1,4,5,6], поэтому мы ограничимся кратким их изложением. Взрослым белым крысам в течение 3 сут вводили ФГ, в результате чего достигалась острая форма анемии.

Через сутки после завершения инъекций ФГ, т.е. при кризе анемии [1], крысам однократно вводили дс-РНК, выделенную из тотальной РНК дрожжей [11,9] и растворенную в 1%-ном CaCl_2 , или вводили только CaCl_2 . Контролем служили интактные животные и крысы, подвергшиеся воздействию ФГ.

Клетки костного мозга и периферической крови извлекали на 5-8 сут после первой инъекции ФГ. Препараты анализировали с помощью сканирующего цитофотометра SMP 05 с управляющим компьютером IBM PC 386.

Результаты и обсуждение. Конкретные результаты эксперимента были представлены в предшествующем сообщении [1], что позволяет нам в данной статье ограничиться лишь кратким их изложением. Наиболее важным, по нашему мнению, является тот факт, что даже однократное введение Са-дс-РНК при кризе анемии существенно влияет на пролиферативную активность и скорость развития костномозговых клеток. Как было показано, доля делящихся клеток у подопытных крыс в 4 раза больше, чем у интактных, и в 1,5 раза выше, чем у крыс с “чистой” анемией. В связи с этим в костном мозге подопытных крыс в большем числе представлены про- и базофильные

эритробласты. Численность же клеток, находящихся на поздних стадиях развития, ниже, чем при "чистой" анемии. Это свидетельствует об ускорении темпов их развития под влиянием Са-дс-РНК. При этом наблюдается резкое снижение доли микроцитов, играющих важную роль в восполнении численности клеток и титра гемоглобина в крови в начале периода восстановления. Интересно, что распределение эритробластов крови по содержанию ДНК в течение всего этого периода характерно для пролиферирующих популяций. Лишь среди полихроматофильных и ортохромных эритробластов, не размножающихся, как и в норме, и в подавляющем большинстве диплоидных, выявляются вышедшие из цикла в фазе синтеза ДНК гипердиплоидные клетки, как и при "чистой" анемии, образующие фракцию макроцитов, доля которой, из-за резкого снижения числа микроцитов, оказывается даже несколько большей, чем при "чистой" анемии. Следовательно, механизмы гиперрепликации ДНК, обуславливающие формирование макроцитов, и в присутствии Са-дс-РНК сохраняют активность. Значение же микроцитоза становится значительно менее существенным. Естественно, что это обусловлено снижением острой "необходимости" образования большого числа микроцитов на фоне возрастания под влиянием Са-дс-РНК числа делящихся клеток, ускорения созревания и значительного увеличения доли нормальных клеток в костном мозге и периферической крови, а также суммарного содержания в ней гемоглобина [1,5,6]. Между тем у крыс с индуцированной ФГ анемией, которым вводили лишь СаCl₂, достоверных различий в эритропоэзе, по сравнению с крысами при "чистой" анемии, не выявлено. Так каков же механизм включения Са-дс-РНК в систему регуляции эритропоэза при анемии?

Однозначно ответить на этот вопрос пока достаточно сложно прежде всего потому, что в литературе не обнаружено ни одного исследования, подобного нашему. Однако анализ литературных данных об использовании дс-РНК и их аналогов в качестве активаторов метаболических процессов в клетках различных популяций (большей частью в клетках иммунной системы), результатов попыток некоторых авторов объяснить молекулярные механизмы стимулирующей активности дс-РНК и данных нашего исследования позволяет прежде всего прийти к заключению, что введение дс-РНК вообще и, в частности, Са-дс-РНК не вносит принципиальных изменений в характер внутриклеточного обмена, а лишь стимулирует (или ингибирует) присущие данным клеткам в конкретных ситуациях процессы метаболизма и функциональной активности. В наших экспериментах, как было показано, влияние Са-дс-РНК отражалось на деятельности тех механизмов регуляции, изменения в активности которых происходили и без его воздействия и определялись условиями острой анемии [1,5,6]. Характер этих изменений свидетельствует о том, что введение Са-дс-РНК, по-видимому, затрагивает наиболее ранние звенья в цепи ответных реакций системы кроветворения при острой анемии, развитие которых, основываясь на данных литературы, можно представить следующим образом.

Так, уже достаточно давно установлено, что универсальным

мессенджером между действием гормонов и ферментов, регулирующих активность генов, ответственных за инициацию синтеза ДНК, пролиферации и дифференцировки, и ответными реакциями клеток является цАМФ и что катализирует его образование из АТФ аденилциклаза, обладающая удивительной способностью активизироваться под влиянием гормонов и различных биологически активных веществ, в том числе экзогенного происхождения [7]. Исходя из литературных данных, к таким веществам следует отнести и экзогенные дс-РНК, которые, как это было показано в целом ряде исследований, при введении в организм стимулируют образование и накопление в клетках цАМФ [2]. Есть основания полагать, что и Са-дс-РНК действует таким же образом, стимулируя накопление в клетках цАМФ и повышая активность ферментов, регулирующих синтез ДНК и белков, поскольку ранее в экспериментах на мышах было выявлено стимулирующее влияние на эритропоэз, важную роль в регуляции которого играет эритропоэтин, экзогенных цАМФ и его аналогов [12,13]. В нашем случае роль мессенджера может выполнить только эндогенный цАМФ, активизирующее же действие аденилциклазы может быть реализовано лишь через соответствующие рецепторы клеточной мембраны, ингибирующие ее активность в норме. Диссоциация рецепторов (фосфолипидного компонента) происходит под воздействием фосфолипаз, в регуляции активности которых участвуют дс-РНК [3] и ионы кальция или натрия [7,10]. Исходя из изложенного, механизм влияния экзогенного Са-дс-РНК на эритропоэз при анемии в целом можно представить в виде некоторой последовательности реакций внутри- и надклеточных механизмов регуляции процесса кроветворения. Вначале повышается проницаемость мембран гемопоэтических клеток, стимулируются активность аденилциклазы и накопление в клетках цАМФ, затем происходит активация цАМФ-зависимых киназ, реакций катализа (повышение энергетического ресурса клеток) и, наконец, синтеза ДНК, РНК и белков, что на клеточном уровне проявляется как активация пролиферации и дифференцировки эритроидных клеток. Из этого следует, что Са-дс-РНК непосредственно воздействует, скорее всего, на индуктивную фазу кроветворения, стимулируя преобразование дополнительного числа покоящихся гемопоэтических стволовых клеток костного мозга в компетентные эритроидные клетки и размножение последних. Это подтверждают данные, представленные в предшествующих сообщениях [1,5,6]. Дальнейшие же события развиваются в рамках программы эритропоэза, изменения в реализации которой, наблюдавшиеся нами (микроцитоз, гиперрепликация ДНК и макроцитоз), зависят от конкретных условий восстановления эритрона после криза анемии в отсутствие или в присутствии Са-дс-РНК.

В связи с изложенным возникает вопрос: может ли оказать какое-то влияние на эритропоэз введение Са-дс-РНК нормальным животным или его воздействие проявляется лишь в условиях острой анемии? Есть сведения о том, что при инкубации колониеобразующих клеток костного мозга мышей с дибутирил-цАМФ повышалась активность включения ядра Н-тимидина, однако увеличение его концентрации в среде приводило к потере эффекта.

Дибутирил-цАМФ не оказывал влияния и на активность синтеза ДНК в стволовых клетках костного мозга при введении нормальным мышам [8]. Эти данные позволяют полагать, что при введении Са-дс-РНК нормальным крысам существенные изменения в процессе эритропоэза маловероятны. Косвенным подтверждением сказанного являются результаты анализа поведения гетерогенной ядерной РНК в нормальных малых лимфоцитах и лейкемических бластных клетках. В лимфоцитах эта РНК обнаруживалась лишь в течение непродолжительного времени, в лейкемических же клетках она преобразовывалась в подобные дс-РНК структуры, устойчивые к действию эндогенных нуклеаз и сохранявшиеся в клетках значительно дольше [14]. Несмотря на то, что эти данные получены на другой модели, можно предположить, что экзогенная дс-РНК, введенная нормальным крысам, также подвергнется деградации под воздействием нуклеаз. Намного более интересен вопрос о том, каким может оказаться эффект введения Са-дс-РНК не при кризе анемии, а до него? Вполне вероятно, что в этом случае острота анемии существенно снизится. Ответ на эти вопросы будет дан в следующих публикациях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аброян Л.О., Каралова Е.М., Захарян Р.А., Карапетян С.А., Магакян Ю.А. Биолог. журн. Армении, 51, 1-2, 30-31, 1997.
2. Земсков В.М., Лидак М.Ю., Земсков А.М., Микстайс У.Я. Низкомолекулярные РНК. Получение, гидролиз и применение в медицине. 201, Рига, 1985.
3. Карагезян К.Г., Захарян Р.А., Овакимян С.С. Биолог. журн. Армении. 40, 12, 979-985, 1987.
4. Магакян Ю.А., Каралова Е.М., Аброян Л.О. Цитология, 35, 8, 17-23, 1993.
5. Магакян Ю.А., Каралова Е.М., Аброян Л.О., Карапетян С.А. Цитология, 39, 8, 705-710, 1997.
6. Магакян Ю.А., Каралова Е.М., Аброян Л.О., Карапетян С.А. Цитология, 39, 8, 711-718, 1997.
7. Федоров Н.А. Регуляция пролиферации кроветворных клеток. 160, М., 1977.
8. Byron J.W. In: Cell Cycle controls. 87-99, N.Y.-L., 1974.
9. Graham F.L. Van der Eb A.J. Virology, 52, 456-461, 1973.
10. Haro, de, C., Herreros, de, A.G., Ochoa S. Cur. Top. Cell Regulation, 27, 63-81, 1985.
11. Kronenberg L.H., Humphreys T. Biochemistry, 11, 2020-2026, 1972.
12. Rodgers G.M., Fisher J.W., George W.J. Proc. Soc. Exp. Biol., 148, 380-382, 1975.
13. Rodgers G.M., George W.J., Fisher J.W. Proc. Soc. Exp. Biol., 40, 977-981, 1972.
14. Torelli U. Acta Haematol, 54, 234-241, 1975.

Поступила 22.IV.1997

ВЛИЯНИЕ РНК-ПОЛИМЕРАЗНЫХ МУТАЦИЙ НА ПОСТРАДИАЦИОННОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРОЙ У *lon*⁻ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* K-12

Г.Г.ОГАНЕСЯН, А.А.БАРСЕГЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

РНК-полимеразные мутации - радиочувствительность - температурный шок

В последнее время интерес к *lon* гену *Escherichia coli* K-12 заметно возрос. Это связано с тем, что наряду с такими свойствами клетки, как радиочувствительность, клеточное деление, синтез капсулярных полисахаридов, он контролирует также специфическую протеазную активность, обуславливающую деградацию дефектных и чужеродных белков в клетке [4, 7]. Установлено также, что *lon* ген является одним из 17 генов теплового шока, активность которых индуцируется высокой температурой [9]. При этом показано, что детерминированный *lon* геном биосинтез АТФ-зависимой протеазы при температурном шоке резко повышается. Специфическим субстратом этой протеазы является ингибитор клеточного деления, синтез которого в ответ на облучение индуцируется с белками, входящими в состав SOS-регулона [6].

Способность повышать пострadiaционную выживаемость после временной экспозиции при высокой температуре является характерной особенностью *lon* мутантов [3,8]. На основании достигнутых результатов последних лет было сделано предположение, что увеличение устойчивости этих мутантов к облучению при высокой температуре связано с повышением уровня остаточной *Lon*-протеазной активности, за счет *de novo* синтеза этого белка [9]. Если это так, то устойчивость *lon*⁻ культур будет зависеть от активности компонентов белоксинтезирующего аппарата клетки: РНК-полимеразы, рибосом и других.

С целью проверки этого предположения в настоящей работе изучалось влияние мутационных изменений β -субъединицы РНК-полимеразы на пострadiaционное восстановление *lon*⁻ культур, подвергнутых температурному шоку.

Материал и методика. В работе использовали следующие бактериальные штаммы *Escherichia coli* K-12: JC335 (F⁻ *leu* *his* *arg* *metB* *supE*); A200 (F⁻ *leu*⁻ *lon* *his* *arg* *metB* *supE*⁺) и его рифампициностойчивые (Риф-р) *groB* *metB*⁻ рекомбинанты A-p1, A-p2, A-p3, A-p9 и A-p23, описанные нами ранее [5].

Применялись общепринятые среды: мясо-пептонный бульон (МПБ), мясо-пептонный агар (МПА), минимальная среда М9 [2], фосфатный буфер pH 6,8.

УФ облучение проводили по ранее описанной методике под лампой БУВ-30 [1]. Время генерации культур определяли по Миллеру [2].

Результаты и обсуждение. Были определены температурные максимумы

роста исследуемых культур (табл. 1).

Таблица 1. Рост исследуемых *lon proB* штаммов *E.coli* после посева спот-тестом на МПА при различных температурах

Штаммы	Температура инкубации, °C				
	37	40	42	44	46
JC335	+++	+++	+++	++	-
A200	+++	+++	+++	++	-
A-p1	++	++	++	+	-
A-p2	++	++	++	+	-
A-p3	+++	+++	+++	++	-
A-p9	+++	+++	+++	++	-
A-p23	+++	+++	+++	++	-

Примечание: (+++) - нормальный рост; (++) - слабый рост; (+) - очень слабый рост; (-) - отсутствие роста.

До 42° у всех культур скорость роста почти не изменялась. При 44° происходило заметное торможение роста, особенно у штаммов А-р23 и А-р3, а при 46° происходила резкая остановка его у всех культур, включая дикий штамм. На основании полученных результатов для термошока была выбрана температура 44°.

Все культуры были подвергнуты УФ облучению тремя дозами. Затем часть культуры была высеяна на чашки с МПА и инкубировалась при оптимальной температуре 37°, другая часть была высеяна на предварительно нагретые до 44° чашки и выдерживалась при этой температуре в течение 6 ч, после чего переносилась на оптимальную температуру. Усредненные результаты 5-7 опытов приведены на рис. 1.

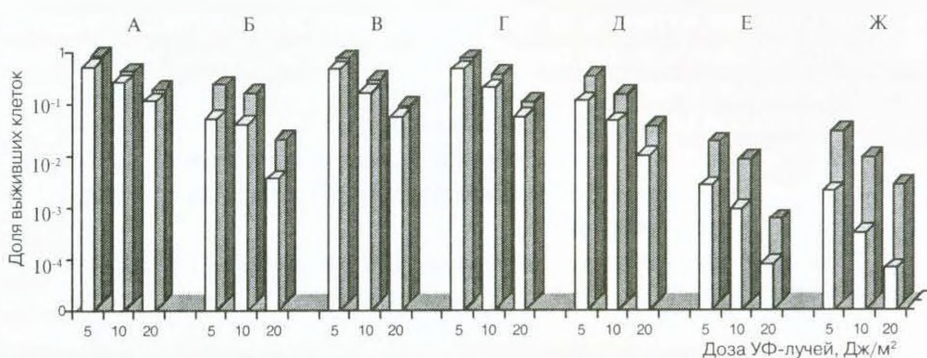


Рис. 1. Кинетика УФ-гибели и пострадиационное восстановление высокой температурой рифампицинустойчивых *lon* штаммов: А - JC335 (дикий штамм); Б - A200 (исходный штамм); В - А-р1; Г - А-р2; Д - А-р9; Е - А-р23; Ж - А-р3. Светлые колонны - выживаемость при оптимальной температуре (37°), темные колонны - выживаемость при повышенной температуре (44°).

Как видно из рисунка, риф-р *lon* культуры по своей чувствительности существенно отличаются друг от друга при всех дозах облучения. Выживаемость штаммов А-р1 и А-р2 под влиянием риф-р мутации повышалась до уровня этого показателя у дикого штамма JC335, а у культур А-р23 и А-р3 она оказалась намного ниже, чем у исходной *lon* культуры A200. Максимальная разница

в выживаемости между риф-р штаммами составляла более 200 раз при дозе 5 Дж/м² и почти 1500 раз при 20 Дж/м².

После перенесенного термошока выживаемость чувствительных культур резко повышалась, тогда как у устойчивых культур она оставалась неизменной. Влияние высокой температуры особенно сильно сказалось на УФ-чувствительном штамме А-р3. У этой культуры при дозе УФ 5 Дж/м² выживаемость повышалась в 9 раз, а при 20 Дж/м² - в 35 раз, в то время как у исходного штамма А200 она повышалась всего в 3 и 5 раз соответственно. Аддитивное повышение выживаемости риф-р мутацией и действием высокой температуры происходило только у штамма А-р2 (хотя и в этом случае оно было незначительным). На штаммы А-р23 и А-р3 риф-р мутации и высокая температура оказывали противоположные действия. Мутации уменьшали, а температура повышала выживаемость этих культур.

Ранее нами была найдена корреляция между скоростью роста *lon* культур и их чувствительностью к УФ облучению [1,5]. Как видно из рис. 2, после перенесения термошока чувствительность культур оставалась зависимой от скорости роста. Обычно с повышением температуры биохимические реакции активизируются, но из-за ускорения деградации вновь синтезированных



Рис. 2. Время генерации рифампицину-устойчивых *lon* штаммов. Обозначения такие же как на рис. 1.

белков скорость роста увеличивается незначительно [6]. И в нашем случае высокая температура существенного влияния на скорость роста радиоустойчивых культур не оказывала. Обратная картина наблюдается у быстрорастущих при оптимальной температуре культур А-р23 и А-р3: при повышении температуры скорость роста уменьшается, почти доходя до уровня исходной *lon*⁻ культуры.

Отношение риф-р культур к УФ облучению и восстановлению теплошоком в большей мере определяется взаимодействием глобальных регуляторных систем клетки - SOS- и НТР-регулонов. Индукция первого УФ облучением вызывает повышенный синтез ингибитора клеточного деления *SulA*, а второго теплошоком - повышение *Lon*-протеазной активности, расщепляющей *SulA* белок. Изменение соотношения количества этих двух белков риф-р мутациями может приводить либо к ингибированию, либо возобновлению клеточного деления.

Индукция SOS-регулона в сильной степени зависит от физиологического состояния клетки. У быстрорастущих риф-р культур из-за увеличения числа репликативных вилок повышается вероятность индукции и полной экспрессии SOS-регулона и входящего в его состав *sulA* гена [10]. Ускоренный синтез *SulA* белка в отсутствие или при малых количествах *Lon*-протеазы приводит к необратимому подавлению клеточного деления, образованию филаментов и лизису клеток [7]. Быстрорастущие мутанты более отзывчивы к высокой температуре, так как индуцируемая теплошоком мутантная *Lon*-протеаза

синтезируется в большем количестве [7], благодаря чему увеличивается ее суммарная активность, что и вызывает разрушение SulA белка, возобновляя деление большей части филаментов. У медленно растущих культур вероятность индукции SOS-регулона резко уменьшается, а в случае индукции белки, входящие в его состав, синтезируются с меньшей скоростью. В отсутствие (или при малом количестве) SulA-субстрата индукция Lon-протеазы повышенной температурой не будет давать ощутимого эффекта, что и наблюдается у штаммов A-p1 и A-p2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барсегян А.А., Оганесян Г.Г., Оганесян М.Г. Биолог. журн. Армении, 36, 6, 479-484, 1983.
2. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной биологии. 436. М., Мир., 1976.
3. Мясник М.Н. Генетический контроль радиочувствительности. 152, М., Атомиздат, 1974.
4. Оганесян Г.Г., Барсегян А.А. Биолог. журн. Армении, 49, 1-2, 30-33, 1996.
5. Оганесян Г.Г., Барсегян А.А., Оганесян М.Г. Биолог. журн. Армении, 37, 5, 398-404, 1984.
6. Farewell A., Neidhardt F.C. J.Bacteriol., 180, 17, 4704-4710, 1998.
7. Gottesman S., Maurizi M.R. Microbiol. Rev., 56, 592-621, 1992.
8. Ogannessian H.G., Ogannessian M.G. Studia Biophysica, 53, 151-152, 1975.
9. Phillips T.A., Van Bogelen R.A., Neidhardt F.C. J.Bacteriol., 159, 1, 283-287, 1984.
10. Walker G.C. Microbiol. Rev., 48, 1, 60-93, 1984.

Поступила 9.XI.1998

Ավանդիկներ և քննարկներ • Обзоры и дискуссии • Reviews and discussions

Биолог. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 576.1

ЧТО ТАКОЕ ЖИЗНЬ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ КИБЕРНЕТИКИ

Б.Б. МЕЛИК-ШАХИНАЗАРОВ

*Исследовательский центр информационных систем Министерства
промышленности и торговли Армении, 375033, Ереван*

Теология, критикуя дарвинизм, основывается на том, что в условиях постоянного изменения внешней среды возникновение жизни невозможно. А парадокс заключается именно в том, что только при изменении внешней среды самовоспроизводящаяся клетка, в результате теории отражения, "потребляет" информацию из этой среды, приспосабливается к ней и "живет", обеспечивая свое биологическое развитие. Это подтверждает и Э.Шредингер, утверждая, что жизнь существует благодаря потреблению "отрицательной энтропии", то есть информации из внешней среды.

Թեոլոգիան, քննադատելով դարվինիզմը, հիմնվում է այն բանի վրա, որ արտաքին միջավայրի մշտական փոփոխման պայմաններում կյանքի առաջացում հնարավոր չէ: Բայց զարմանալին այն է, որ միայն արտաքին պայմանների փոփոխման միջավայրում է, որ ինքնավերարտադրվող բջիջը, անդրադարձման տեսության համաձայն, «օգտագործում է» այդ միջավայրից ինֆորմացիան, հարմարվում է դրան և «ապրում», ապահովելով իր կենսաբանական զարգացումը: Այս է հաստատում և է. Շրեդինգերը, ապացուցելով, որ կյանքը գոյություն ունի շնորհիվ «բացասական էնտրոպիայի» օգտագործման, այսինքն ինֆորմացիայի արտաքին միջավայրից:

Theology, criticizing Darwin's Theory, is based on that the beginnings of life is impossible during constant alterations of environment conditions. But it is so strange that only due to alterations of environment the self-reproduced cell, in accordance with the theory of reverberation, "uses" the information from that environment, adapts itself and "live", assuring its biological evolution. This is defended by E. Schrodinger, who confirms that the life exists owing to "negative entropy", i.e. the information from environment.

Кибернетика - эволюция - понятие "жизнь" - дарвинизм

Казалось, что понятие "жизнь", являясь основополагающим в биологии и в обществе, давно должно было иметь четкое определение. Но, к сожалению, все научные труды в этой области касаются лишь механизмов, как следствий самой жизни, не раскрывая основных принципов - сущности жизнедеятельности. Наиболее близко к этой проблеме подошел Э.Шредингер, который признал, что биологические организмы существуют благодаря "отрицательной энтропии", которую они черпают из внешней среды. Он пишет: "отрицательная энтропия это то, чем организм питается", подразумевая под этим получение организмом информации из окружающей среды согласно "новому типу физического закона"[6], обеспечивающего процесс жизнедеятельности. Но "отрицательной энтропии" в природе не существует, хотя кибернетики под этим понятием подразумевают именно информацию. Дело в том, что информация содержит и определенную семантику, а энтропия не может ее иметь. Академик А.И. Опарин, полемизируя с академиком А.А.

Марковым, считает, что законы управления биологическими организмами существуют "вопреки" познанным законам физики, как бы "над" ними [4], чем подтверждает результаты наших исследований и что легко проследить при анализе логистических кривых. В эту дискуссию вмешался и И. Пригожин, показав возможность получения самовоспроизводящей себя клетки искусственным путем, за что и получил Нобелевскую премию. Но и он ничего не добавил к самому понятию жизнедеятельности [5].

Нельзя заниматься проблемами кибернетики и не пытаться дать объяснение сущности жизненных процессов. Важно отметить, что в природе, от атомов до живых организмов, то есть в неорганической и органической природе, все подвижно. Естественно, что таковыми являются и самовоспроизводящиеся живые клетки. Но кристаллы неорганической природы тоже имеют способность воспроизводиться в растворах. При производстве пластмасс даже требуется "оппозиция", то есть реактивы, разрывающие длинные молекулы и не позволяющие раствору затвердеть. Но все это не объясняет сущности жизни.

Основной жизненных процессов, как это признал и Э.Шредингер, является способность организмов обеспечивать развитие и свое существование за счет потребления "отрицательной энтропии", то есть информации из внешней среды, что характерно для управляемых систем всех уровней - от клеток до общества. Здесь мы имеем гегелевский "корень всякого движения и жизни", то есть здесь основному закону неорганической природы - второму закону термодинамики (закону роста энтропии) - в корне "противоречит" закон, обеспечивающий жизнедеятельность, то есть "закон роста информации". По нашему мнению, последний является основным законом кибернетики как науки [3]. И сам Винер признал, что он дал лишь введение в кибернетику, так как в его трудах она, как наука, не имеет должного набора аксиом и законов [2].

Надо сказать, что вся теологическая литература с сарказмом отмечает, что постоянное изменение внешней среды не может способствовать совершенствованию живой системы, да и любой, так как легче приспособиться к устойчивой среде, чем к постоянно меняющейся. С точки зрения элементарной логики противоположное кажется нонсенсом. Но когда над этим иронизирует даже О.Мандельштам, издеваясь над К.Линнеем и Ж.Ламарком, то необходимость объяснения процесса эволюции становится поистине неизбежной.

Сначала примем за аксиому, что с какой-то, весьма малой, долей вероятности из-за природных катаклизмов образовалась клетка, способная к самовоспроизводству. При статичности окружающей среды клетка столь же статично взаимодействовала бы с ней, и никакой необходимости в изменении ее состояния не было бы. Но самовоспроизводящаяся клетка вынуждена меняться, то есть "жить", так как изменяющаяся внешняя среда заставляет ее приспосабливаться к этим изменениям, что естественно. Таким образом, жизнь это не процесс самовоспроизводства вообще, как принято думать, а именно процесс приспособления, развития. Дело в том, что, приспособляясь, клетка, ощущая внешнюю среду, как бы "черпает" информацию о ней, и эта информация, по диалектическому закону отражения запечатливаясь в клетке, накапливается в ней, то есть клетка "питается" этой информацией. Этот процесс бесконечен сперва на уровне новых воспроизведенных клеток, затем уже органов, особей, их популяций, что и представляет собой процесс приспособления, развития, эволюции живой природы. Клетка не разумное существо, чтобы выбирать лучшие условия, но при самовоспроизводстве естественно выживает тот, кто попадает в лучшие условия существования. Если бы внешняя среда была статична, то подобное развитие не имело бы место. Исследования Анохина о функциональной системе, где он утверждает, что любая функциональная система упорядочена на получение конечного "полезного результата", касается развития высших форм жизни [1]. В данном случае "полезный результат" реализуется вероятностно, как результат развития низших форм жизни. Здесь "полезный результат" - это получение самовоспроизводящейся особью внешней информации и естественный процесс приспособления к ней.

Иерархия биологических систем, взаимодействуя с внешней средой, согласно теории вероятности, постепенно накапливает информацию в соответствии с уравнением сложных процентов, совершенствуя свои функции и структуру [3]. Из вышеизложенного следует и то, что пора прекратить критику Чарльза Дарвина за его эволюционную теорию под тем предлогом, что малые масштабы истории Земли не содержат все "кадры" эволюции живой природы. Пусть так, но она однозначно верна в масштабе Космоса, и разве выводы надо делать при наличии "кадров" истории эволюции природы на Земле? Если в Космосе

летают звезды, планеты и астероиды, то почему бы не летать спорам, штаммам и бактериям. а природа Земли может использовать все, что подарил ей Космос путем сальтации. Так можно легко примерить сальтациониста с дарвинистами и гипотетически признать, что "жизнь есть и на Марсе".

ЛИТЕРАТУРА

1. Анохин П.К. Успехи физиологических наук, I, 19-54, М., 1970.
2. Винер Н. Кибернетика и общество. 39, М., 1968.
3. Мелик-Шахназаров Б.Б. Кибернетика общества. Афины, 1996.
4. Опарин А.И. Сб. "О сущности жизни." М., 1964.
5. Пригожин И. От существующего к возникающему. М., Наука, 1985.
6. Шредингер Э. Что такое жизнь? С точки зрения физики. М., 1972.

Поступила 13.III.1998

Ավանդարված հոդվածների ռեֆերատներ*
Рефераты депонированных статей**
Abstracts of deponated articles***

Биол. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК616-018;616.001.4

**ДИНАМИКА ЗАЖИВЛЕНИЯ ИНФИЦИРОВАННЫХ РАН В
ГИСТОЛОГИЧЕСКОМ АСПЕКТЕ / Вартамян А.В., Акопян К.А.**

- Армянская сельскохозяйственная академия - Ереван, 1999 - 5с.

- Библиогр. 2 назв - Рус. - Деп. 15.01.99 N 53 - БЖА 99

Проблема заживления ран различного характера и происхождения является одной из наиболее актуальных в хирургии и других сферах ветеринарии и медицины.

Так как клинические наблюдения за заживлением инфицированных ран недостаточны для представления о полной картине раневого процесса на тканевом и клеточном уровне, мы сочли целесообразным исследовать этот процесс с морфогистологической точки зрения.

В качестве лечебного средства использовали прополисовую мазь, так как она обладает бактерицидным, биостимуляторным, противовоспалительным, дермопластическим свойствами. Учитывая, что диадинамические токи также обладают стимулирующим, противоотечным свойствами, способствуя более глубокому проникновению в ткани лечебного средства, они были выбраны в качестве комбинаторного средства.

Исследовали пробы раневых тканей с 10 собак, разделенных на две равные группы. Контрольных собак лечили общепринятым методом - линиментом Вишневского, остальных - 15%-ной прополисовой мазью в сочетании с диадинамическими токами.

Период воспалительной реакции у животных опытной группы был значительно короче, процесс регенерации интенсивнее. Уже на 9 сутки наблюдали разрастание соединительной ткани в дерме с признаками организации. Раневой дефект был заполнен дифференцированной соединительной тканью. Молодая соединительная ткань, заполняющая место раневого дефекта, составляла единый слой, включающий вытянутые горизонтально раневой поверхности фибробласты и параллельно расположенные пучки коллагеновых волокон. Раны животных опытной группы были полностью эпителизированы на 10-11 сутки. А у животных контрольной группы на 9 сутки отмечали малодифференцированные грануляции, обильно

инфильтрированные клеточными элементами лейкоцитарного ряда, что указывало на воспалительную клеточную реакцию. Они были эпителизированы на 15-16 сутки.

Таким образом, на основании морфогистологических исследований пришли к выводу, что воздействие на инфицированные раны 15%-ной прополисовой мази в сочетании с диадинамическими токами ускоряет процесс заживления и организации тканей по сравнению с общепринятыми методами лечения на 4-5 дней.

Մորֆոհիստոլոգիական հետազոտումների արդյունքները ցույց են տվել, որ 15%-մեղրամսի քսուքի օգտագործումը դիադինամիկ հոսանքի զուգակցմամբ արագացնում է ռեգեներատի ձևավորման պրոցեսը և վերքերի էպիթելացումը, համեմատած համընդհանուր ընդունված բուժման մեթոդների:

The results of morphohistological researches revealed that 15% propolis ointment in combination with diadynamic currents, accelerates the formation of regenerat and epitelization of wounds in comparison with general accepted methods of treatment.

Биол. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 621.821.6

ОСОБЕННОСТИ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ У НАСЕКОМОЯДНЫХ В РАЗЛИЧНОМ ФУНКЦИОНАЛЬНОМ СОСТОЯНИИ / Нуритдинов Э.Н. - Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова - Петербург, 1999 - 6с. - Библиогр. 19 назв. - Рус. - Деп. 15.01.99 № 54 - БЖА 99

На модели пищедобывательного поведения у ежей обнаружены изменения условнорефлекторной деятельности, находящиеся в зависимости от функционального состояния организма. В активный период их жизнедеятельности (весенне-летний) условные положительные и отрицательные (дифференцировочное торможение) реакции на световые и звуковые стимулы вырабатываются быстро. Период вхождения в зимнюю спячку сопровождается нарушением условнорефлекторной деятельности, появлением невротических нарушений. На фоне зимней спячки врожденные и приобретенные формы нервной деятельности заторможены. После естественного пробуждения от зимней спячки восстановление и стабилизация положительных и отрицательных условных пищедобывательных реакций происходит значительно быстрее, чем у интактных животных. Данные обсуждаются и интерпретируются с точки зрения адаптивных и диссолюционных явлений в интегративной деятельности мозга.

Սննդառության վարքագծի մոդելի վրա ոգնիների մոտ բացահայտվել են պայմանական ռեֆլեկտոր գործունեության փոփոխությունները, կախված օրգանիզմի ֆունկցիոնալ վիճակից:

On a model of feeding behaviour in hedgehogs the changes in conditional reflectory activity, connected with functional state of organism have been revealed.

Биол. журн. Армении, 2 (52), 1999

**К СИНОНИМИКЕ ЗЛАТОК (*COLEOPTERA, BUPRESTIDAE*)
КАВКАЗА И ЗАКАВКАЗЬЯ / Алексеев А.В. - Орехово-Зуевский
педагогический институт - Орехово-Зуево, 1999 - 9 с. - Библиогр.
38 назв. - Рус. - Деп. 15.01.99 N 55 - БЖА 99**

Фаунистические списки златок нашей фауны, относящихся к наиболее трудным для систематики родам *Sphenoptera* Sol. и *Agrilus* Curt., изобилуют названиями видов, являющимися синонимами, что создает значительные трудности для их диагностики, выяснения реальных ареалов, происхождения и изучения экологии. Нами изучались большей частью типовые материалы по малоизвестным видам Кавказа и Закавказья, хранящиеся в фондах отечественных и зарубежных учреждений. Конспецифичность видов устанавливали в результате сравнения и оценки степени сходства наружного строения, строения гениталий самца и яйцеклада типовых, реже аутентичных экземпляров, а также надежно определенных экземпляров хорошо изученных и широко распространенных видов.

Нами приведены данные по синонимии 23 видов жесткокрылых - златок родов *Sphenoptera* (16 видов), *Meliboëus* (2), *Agrilus* (4), и *Paracylindromorphus* (1). Результаты исследования могут быть использованы в систематике семейства.

Բերված են նոր տվյալներ *Sphenoptera* (16 տեսակ), *Meliboëus* (2), *Agrilus* (4), *Paracylindromorphus* (1) ցեղերին պատկանող 23 տեսակի կարծրաթև ոսկերգեզների հոմանիշության վերաբերյալ: Հետազոտությունների արդյունքները կարող են օգտագործվել ընտանիքի դասակարգման համար:

The new data on synonymy for 23 species of buprestid-beetles of the genera *Sphenoptera* (16 species), *Meliboëus* (2 sp.), *Agrilus* (4 sp.) and *Paracylindromorphus* (1 sp.) are given. The results of study can be used for systematics of the family.

Երիցրո • Хроника • Chronics

АРТАШЕС МАНАСОВИЧ АГАДЖАНИЯН



Отечественная биология понесла тяжелую утрату. 13 февраля 1999 г. скоропостижно скончался Агаджаниян Арташес Манасович - доктор биологических наук, заведующий отделом генетики растений Института ботаники НАН Армении.

А.М.Агаджаниян родился 22 сентября 1928 г. в селе Нагорный Джагир Шамхорского района Азербайджана. В 1951 г. с отличием окончил виноградо-плодоовощной факультет Азербайджанского сельскохозяйственного института в г.Кировабаде (ныне Гянджа) и получил квалификацию ученого агронома. После окончания института он переехал в Ереван и поступил в аспирантуру при Институте генетики и селекции АН АрмССР. Весной 1955 г. успешно защитил кандидатскую диссертацию на тему: "Роль предварительной прививки при скрещивании и изолировании самоопыления растений". После окончания аспирантуры А.М.Агаджаниян

направили на работу заведующим отделом селекции и семеноводства овощных культур Ленинканской (ныне Гюмринской) государственной селекционной станции Армянского института земледелия, где под его руководством стали проводить активные работы по селекции и семеноводству многих важных для республики культур. Ему принадлежит большая заслуга в изучении агротехники и семеноводства цветной капусты, что способствовало широкому районированию этой культуры в Армении. Он является одним из авторов свидетельства на выведение сорта столовой моркови "Ленинканская".

В 1967 г. А.М.Агаджаниян перевелся в отдел генетики растений Арм.НИИ земледелия, где работал сначала в должности старшего научного сотрудника, позже и.о. зав.отделом, ведущим научным сотрудником, а с июля 1990 г. - зав. отделом генетики. В Эчмиадзине он расширил начатые еще в Ленинкане работы по межвидовой гибридизации томатов, включив в исследования все известные дикие и культурные виды. Используя томаты в качестве модельного объекта, он получил важные и во многом приоритетные данные о биологии внутривидовой и межвидовой несовместимости, эволюции самосовместимости и односторонней несовместимости растений. Обобщающие публикации А.М.Агаджанияна по этим вопросам принесли ему широкую известность в научных кругах. Результаты работ представляют несомненный интерес и для генетико-селекционных исследований. Они позволяют прогнозировать формообразовательный процесс в поколениях отдаленных гибридов, поведение которых, как установлено, находится в строгой зависимости от систем размножения родительских видов. В 1988 г. А.М.Агаджаниян защитил докторскую диссертацию на тему: "Концепция полового размножения растений в связи с генетикой несовместимости томатов".

В дальнейшем А.М.Агаджаниян все больше углублялся в генетические, ботанические и эволюционные аспекты проблемы репродуктивной биологии растений. В 1995 г. под его руководством в Институте ботаники НАН Армении был организован отдел генетики растений. Проводимые фундаментальные исследования по вопросам селективности оплодотворения и эволюции систем размножения у покрытосеменных очень скоро сделали отдел генетики растений одним из ведущих в институте.

А.М.Агаджаняном опубликовано более 100 научных трудов. Последние из них, посвященные вопросам распространения и эволюции гетероморфной несовместимости, получили высокий отзыв рецензентов.

А.М.Агаджанян принимал активное участие в работах республиканских, всесоюзных и международных научных конференций, съездов ВОГиС и Армянского общества генетиков и селекционеров. В течение ряда лет он являлся членом Президиума общества генетиков и селекционеров Армении, Армянского ботанического общества, председателем экспертного совета Армении по оценке исследовательских программ по вопросам генетики, членом спецсоветов по защите диссертаций, председателем экспертного совета Министерства экономики и НАН Армении по генетике, цитологии и антропологии. Был лауреатом конкурса Национального фонда и инновации РА (1991), стипендиантом фонда Дж.Сороса по программе "Биоразнообразие" (1992-1993), победителем Международного конкурса по программе "Сорос-1" (1993).

А.М.Агаджанян всегда пользовался уважением и признанием коллектива научных сотрудников своим трудолюбием, профессионализмом и исключительной преданностью науке.

Арташес Манасович Агаджанян навсегда останется в памяти всех его коллег и друзей.

Е.М. Навасардян

ԲՈՎԱՆ-ԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Օրիգինալ հոդվածներ

Հովհաննիսյան Վ.Ա., Սիրանյան Ե.Ռ., Բաղայան Լ.Լ., Սահակյան Ժ.Ճ., Վարդանյան Ա.Գ., Քանալյան Ռ.Գ. Սպիտակուցների մասնակցությունը ուղեղի միտոքոնդրիալ գլուտամինազայի ակտիվության կարգավորման մեջ	87
Գյուլիսանդանյան Ա.Վ., Բլբուլյան Ա.Վ., Սարգսյան Բ.Գ. Էրիթրոցիտներում Ca ²⁺ -ից և Pb ²⁺ -ից կախված K ⁺ -ի ելքի ինհիբիցիան էկոնազոլով	92
Ավանեսյան Լ.Ա., Դավթյան Տ.Կ., Ալեքսանյան Յու.Թ. Ադրիամիցին և նրա Fe ³⁺ , Cu ²⁺ և Co ²⁺ միացությունների մեմբրանոտրոպ էֆեկտները	95
Խուրշուդյան Պ.Ա., Մովսիսյան Գ.Գ., Չարչոյան Ա.Ա. Բարդու ամերիկյան հիբրիդային արագած սորտերի աճը Հայաստանի պայմաններում	100
Գրիգորյան Կ.Մ., Յուսեֆ Օ.Ա., Լ.Լ. Օսիպյան Հայաստանում չոր ունդավոր սերմերը աղտոտող միկրոմիցենտների տեսակային կազմը և տոքսիզեն ակտիվությունը	107
Պետրոսյան Ռ.Ա., Դավթյան Ս.Ա., Խաչատրյան Ն.Ս., Դազանյան Ն.Լ., Աֆրիկյան Է.Գ. Ֆտորապլաստային կոմպոզիտների սնկապատման առանձնահատկությունները	112
Պարոնյան Ա.Խ., Աֆրիկյան Է.Գ. <i>Spirulina</i> ցեղի միկրոջրիմուռների աճեցումը Հայաստանի հանքային և ստորգետնյա ջրերի վրա	117
Հովհաննիսյան Գ.Գ., Խաչատրյան Լ.Ա., Հովհաննիսյան Ս.Ա. ՈՒՄ-ճառագայթված <i>Escherichia coli</i> K-12 NM9 լոն մուտանտի կենսունակության վերականգնման մեխանիզմը պանտոթիլլակտոնով	124
Փոստոյան Ա.Ռ. Տրիպանոսոմոզից ընկած խոշոր եղջերավոր անասունների օրգանների պաթոանատոմիական և պաթոհիստոլոգիական փոփոխությունները	129
Գևորգյան Մ.Գ., Սարգսյան Կ.Վ. Տարբեր գործոնների ազդեցությունը ֆոսֆատազային ռեակցիայի կինետիկայի վրա կարբոնատային սևահողում	133
Սարգսյան Ա.Ռ., Սկրտչյան Դ.Դ., Մելքոնյան Ա.Ա. Հարուցված պոտենցիալների պատիվ բաղադրամասեր առաջացնող համակարգերի պարամետրերի գնահատումը: I. Համաձայնեցված բեռնվածքով կաբելային մոդել	138

Համառոտ հաղորդումներ

Մելիքսեթյան Գ.Դ., Սկրտչյան Զ.Ս., Հակոբյան Ժ.Ի., Դարագյոզյան Կ.Գ. ճարպաթթուների ազդեցությունը մարդու սրտամկանից անջատված ՄՍ կրեատինկինազայի վրա	143
Ռուխկյան Ռ.Դ., Գրիգորյան Կ.Ա. Սևանա լճի արծաթագույն գետածածանի (<i>Carassius auratus gibelio</i> (Bloch.)) դիպլոիդ գինոգենեզը	145
Փարսյան Ա.Է. Իմունոլոգիական ցուցանիշները վահանաձև գեղձի հանգուցավոր ախտահարման դեպքում	148
Արրոյան Լ.Օ., Կարալովա Ե.Ս., Ջաքարյան Ռ.Ա., Կարապետյան Ս.Ա., Մաղաքյան Յու.Հ. Առնետների սուր անեմիայի դեպքում էրիտրոպոեզի պրոցեսի կարգավորման համակարգում երկպարույր ՌՆԹ-ի կալցիումական պրոցիպիտատի ներառման մեխանիզմի մասին	151
Հովհաննիսյան Դ.Գ., Բարսեղյան Ա.Դ. ՌՆԹ-պոլիմերազային մուտացիաների ազդեցությունը բարձր ջերմաստիճաններով պայմանավորված հետճառագայթային վերականգնման վրա <i>Escherichia coli</i> K-12 լոն - շտամների մոտ	155

Ակնարկներ և բանավեճ

Մելիք-Շահնազարով Բ.Բ. Ինչ է կյանքը կիբերնետիկայի տեսանկյունից	159
---	-----

Ավանդադրված հոդվածների ռեֆերատներ

Վարդանյան Ա.Վ., Չակոբյան Կ.Ա. Արտահարված վերքերի լավացման դինամիկան հյուսվածքաբանության տեսանկյունից	162
Նուրիտդինով Է.Ն. Միջատակերների բարձրագույն նյարդային գործունեության առանձնահատկությունները տարբեր ֆունկցիոնալ լիճակներում	163
Ալեքսեն Ա.Վ. Կովկասի և Անդրկովկասի ոսկերզեզների (<i>Coleoptera, Buprestidae</i>) հոմանիշության մասին	164

Լրադրում

Արտաշես Մանասի Աղաջանյան	165
--------------------------------	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

Оганесян В.С., Микаелян Е.Р., Бадалян Л.Л., Саакян Ж.Дж., Варданян А.Г., Камалян Р.Г. Участие белков в регуляции активности митохондриальной глутаминазы мозга	87
Гюльханданян А.В., Блбулян А.К., Саркисян Б.Г. Ингибирование эконозолем Ca^{2+} - и Pb^{2+} -зависимого выхода K^{+} из эритроцитов	92
Аванесян Л.А., Давтян Т.К., Алексанян Ю.Т. Мембранотропные эффекты адриамицина и его комплексов с Fe^{3+} , Cu^{2+} и Co^{2+}	95
Хуршудян П.А., Мовсисян Г.Г., Чарчоглян А.А. Рост сортов американских гибридных быстрорастущих тополей в условиях Армении	100
Григорян К.М., Юсеф О.А., Осипян Л.Л. Видовой состав и токсигенная активность микромицетов - контаминантов сухих семян бобовых культур в Армении	107
Петросян Р.А., Давтян С.А., Хачатурян Н.С., Казанчян Н.Л., Африкян Э.К. Особенности грибного обрастания фторопластовых композиционных материалов	112
Паронян А.Х., Африкян Э.К. Выращивание микроводорослей рода <i>Spirulina</i> на минеральных и грунтовых водах Армении	117
Оганесян Г.Г., Хачатрян Л.С., Оганесян С.С. Механизм восстановления жизнеспособности облученного УФ-светом <i>lon</i> мутанта NM9 <i>Escherichia coli</i> K-12 пантоиллактоном	124
Постоян С.Р. Патологоанатомические и патологистологические изменения органов павшего от трипаносомоза крупного рогатого скота	129
Геворкян М.Г., Саркисян К.В. Влияние различных факторов на кинетику фосфатазной реакции в карбонатном черноземе	133
Саркисян А.Р., Мкртчян О.А., Мелконян А.А. Оценка параметров систем, генерирующих пассивные компоненты вызванных потенциалов. 1. Кабельная модель при согласованной нагрузке	138

Краткие сообщения

Меликсетян Г.О., Мкртчян З.С., Акопян Ж.И., Карагезян К.Г. Влияние жирных кислот на активность ММ креатинкиназы миокарда человека	143
Рухкян Р.Г., Григорян К.А. Диплоидный гиногенез у серебряного карася (<i>Carassius auratus gibelio</i> (Bloch.)) оз. Севан	145
Парсян А.Э. Иммунологические параметры при узловом поражении щитовидной железы	148

Аброян Л.О., Каралова Е.М., Захарян Р.А., Карапетян С.А., Магакян Ю.А. О механизме включения кальциевого преципитата двуспиральной РНК в систему регуляции эритропоэза при острой анемии у крыс	151
Оганесян Г.Г., Барсегян А.А. Влияние РНК-полимеразных мутаций на пострадиационное восстановление высокой температурой у <i>lon</i> ⁺ штаммов <i>Escherichia coli</i> K-12	155

Обзоры и дискуссии

Мелик-Шахназаров Б.Б. Что такое жизнь с точки зрения кибернетики	159
--	-----

Рефераты депонированных статей

Вартанян А.В., Акопян К.А. Динамика заживления инфицированных ран в гистологическом аспекте	162
Нуритдинов Э.Н. Особенности высшей нервной деятельности у насекомых в различном функциональном состоянии	163
Алексеев А.В. К синонимике златок (<i>Coleoptera</i> , <i>Buprestidae</i>) Кавказа и Закавказья	164

Хроника

Арташес Манасович Агаджанян	165
-----------------------------------	-----

CONTENTS

Original articles

Hovhannisyan V.S., Mikaelyan E.R., Badalyan L.L., Sahakyan Zh.J., Vardanyan A.G., Camalyan R.G. Participation of proteins in regulation of brain mitochondrial glutaminase activity	87
Gyulkhandanyan A.V., Ilbulyan A.K., Sarkisyan B.G. Inhibition of Ca ²⁺ - and Pb ²⁺ -dependent K ⁺ efflux from erythrocytes by econazole	92
Avanessian L.A., Davtyan T.K., Alexanyan Yu.T. Membranotropic effects of adriamycin and its complexes with Fe ³⁺ , Cu ²⁺ and Co ²⁺	95
Khurshudyan P.A., Movsisyan G.G., Charchoghlyan A.A. Growth of varieties of american hybrid quick-growing poplars under conditions of Armenia	100
Grigorian K.M., Youssef O.A., Osipian L.L. Specific composition and toxigenic activity of micromycetes - contaminants of dry seeds of leguminous cultures in Armenia	107
Petrosyan R.A., Davtyan S.A., Khachatryan N.S., Ghazanchyan N.L., Afrikan E.G. Peculiarities of fungal growth on fluorine polymeric composites	112
Paronyan A.Kh., Afrikan E.G. Growth of <i>Spirulina</i> genus microalgae on mineral and underground waters of Armenia	117
Hovhannisyan H.G., Khachatryan L.S., Hovhannisyan S.S. Mechanism of recovery of survivability in UV-irradiated NM9 <i>lon</i> mutant of <i>Escherichia coli</i> K-12 by pantoyllactone	124
Postoyan S.R. Pathoanatomical and pathohistologic changes in organs of cattle perished from trypanosomosis	129
Gevorkian M.G., Sarkissian C.V. Influence of different factors on kinetics of phosphatase reaction in carbonate chernozem	133
Sarkisyan A.R., Mkrtchian H.H., Melkonian A.A. Estimation of systems parameters generating passive components of evoked potentials. I. A cable model with matched load	138

Short communications

<i>Meliksetian G.H., Mkrtchian Z.S., Akopian J.I., Karageuzian K.G.</i> Influence of fatty acids on MM creatine kinase activity from human heart miocardium	143
<i>Rukhkian R.H., Grigorian K.A.</i> Diploid ginogenesis of silver carp (<i>Carassius auratus gibelio</i> (Bloch.)) from the lake Sevan	145
<i>Parsyan A.E.</i> Immunologic indicies at nodular injury of thyroid gland	148
<i>Abroyan L.O., Karalova E.M., Zacharyan R.A., Karapetyan S.A., Magakian Yu.H.</i> On mechanism of inclusion of the double-stranded RNA calcium precipitate in system of erythropoesis process regulation during accute anemia in rats	151
<i>Hovhannisyan H.G., Barseghyan A.H.</i> Effect of RNA-polimerase mutations on postradiation recovery with high temperature in <i>lon</i> strains of <i>Escherichia coli</i> K-12 ...	155

Reviews and discussions

<i>Melik-Shahnazarov B.B.</i> What is the life by point of cybernetics	159
--	-----

Abstracts of deponated articles

<i>Vardanyan A.V., Hakobyan K.A.</i> Dynamics of infected wounds healing by hystologic aspect	162
<i>Nuritdinov E.N.</i> Peculiarities of highest nervous activity in insectivores under different functional conditions	163
<i>Alexeev A.V.</i> On synonymy of Buprestid-beetles (<i>Coleoptera, Buprestidae</i>) from the Caucasus and Transcaucasus	164

Chronics

Artashes M. Aghajanian 	165
--	-----