

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՏՐԱԼՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ

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, կենսատեսիսոլոգիայի, 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. Afrikan

Executive Secretary - N.H. Apinyan

Խմբագրական կոլեգիա Է.Գ.Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Ծ.Մ.Ավագյան, Ն.Գ.Բակլավաճյան, Մ.Ա.Գավթյան, Ժ.Ի.Նակոբյան (գլխավոր խմբագրի տեղակալ), Բ.Մ.Նարոտյունյան, Վ.Ն.Նսպարյան, Պ.Ա.Ղանդիլյան, Կ.Գ.Նարազյույան, Ս.Խ.Մայրապետյան, Ս.Ն.Մոսիսյան, Ն.Ն. Ապինյան (պատասխանատու քարտուղար)

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

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

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

Հովանավոր Զ. Պարսեկյան (ԱՄՆ)

Sponsor: A. Parsekian (США)

Sponsor: H. Parsekian (USA)

Биолог. журн. Армении, 3-4 (53), 2001

УДК 579.846

ТЕРМОТОЛЕРАНТНЫЕ *LEPTOSPIRILLUM*-ПОДОБНЫЕ БАКТЕРИИ И ОЦЕНКА ИХ РОЛИ В ОКИСЛЕНИИ ПИРИТА

Н.С. ВАРДАНИЯН, В.П. АКОПЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян

Изучены два штамма *Leptospirillum*-подобных бактерий, выделенные из отходов Алавердского и Ахтальского месторождений Армении. Установлено, что оптимальная температура роста для обоих штаммов составляет 37°, верхний температурный предел - 40°. Оптимальные значения pH лежат в диапазоне pH 2,0-2,3. Выделенные штаммы являются строгими автотрофами. При окислении пирита в мезофильных условиях *Leptospirillum*-подобные бактерии проявляют идентичную с *Thiobacillus ferrooxidans* активность, а при 37° примерно в 2,0-2,7 раз превосходят умеренно термофильные бактерии. Применение изученных штаммов лептоспирилл в ассоциации с умеренно термофильными бактериями позволяет в 2,3-3,6 раза интенсифицировать выщелачивание пирита. Изученная ассоциация характеризуется высокой устойчивостью к низким значениям pH и повышенным концентрациям железа.

Ուսումնասիրվել են Հայաստանի Ալավերդու և Ախթալայի սուլֆիդային հանքավայրերից մեկուսացված *Leptospirillum*-ման երկու շտամներ: Շտամների աճման օպտիմալ ջերմաստիճանը կազմում է 37°-ը, վերին ջերմաստիճանային սահմանը 40°-ը: Միջավայրի pH-ի օպտիմալ արժեքները ընկած են pH 2,0-2,3 միջակայքում: Մեկուսացված շտամները խիստ պոտոտրոֆ են: Պիրիտի օքսիդացման պրոցեսում մեզոֆիլ պայմաններում լեպտոսպիրիլները ցուցաբերում են *Thiobacillus ferrooxidans*-ի հետ համեմատելի ակտիվություն, մինչդեռ 37°-ում 2,0-2,7 անգամ գերազանցում են չափավոր թերմոֆիլ բակտերիաներին: Լեպտոսպիրիլների ուսումնասիրված շտամների կիրառումը չափավոր թերմոֆիլ բակտերիաների հետ խառը կուլտուրայի ձևով թույլ է տալիս 2,3-3,6 անգամ ինտենսիվացնել պիրիտի օքսիդացումը: Ուսումնասիրված համակցությունը բնորոշվում է բարձր դիմացկունությամբ pH-ի ցածր արժեքների և երկաթի բարձր կոնցենտրացիաների նկատմամբ:

Two strains of *Leptospirillum*-like bacteria isolated from dumps of Alaverdi and Akhtala sulfide ore deposits in Armenia have been studied. Optimal temperature for growth of two strains is 37°, maximum temperature is 40°. Optimal pH values are found to be in range of pH 2,0-2,3. The strains isolated are strict autotrophs. Under mesophilic conditions the strains show with *Thiobacillus ferrooxidans* identical activity of pyrite leaching, whereas at 37° they exceed the moderate thermophilic bacteria about 2,0-2,7 times. Application of *Leptospirillum*-like bacteria associated with moderate thermophilic bacteria allows to intensify pyrite leaching to 2,3-3,6 times. This association is characterized by high tolerance to low pH and high concentration of iron.

Лептоспириллы - смешанные культуры - выщелачивание пирита

Хемолитотрофные бактерии *Leptospirillum ferrooxidans*, окисляющие двухвалентное железо, впервые выделены и описаны Маркосяном [4]. Позднее подобные вибриоидные микроорганизмы были обнаружены в урановых рудах, кислых дренажных водах медных руд и в кучах угля [13, 14, 16]. Из кислой гидротермы о-ва Кунашир выделена термофильная бактерия *L.thermoferrooxidans* с оптимальной температурой роста 45-50° [3]. В настоящее время этот род включает два вида: типовой вид *L.ferrooxidans* L15(T) (=DSM 2705 (T)) и вид *L.thermoferrooxidans* L-88(T) [12]. Чистые культуры *L.ferrooxidans* не способны окислять элементную серу и ее восстановленные соединения, такие как тиосульфат и тетратионат [4, 10]. Однако несмотря на отсутствие сероокисляющей активности, *L.ferrooxidans* могут осуществить растворение пирита [12, 15]. Более того, считают, что пирит способствует росту лептоспирилл, и не случайно, что некоторые активные штаммы *Leptospirillum*-подобных бактерий выделены из биореакторов выщелачивания пирита и кобальто-железного пирита [7]. Ряд авторов отмечает, что на определенной стадии непрерывного выщелачивания пирита *L. ferrooxidans* превалирует над ростом *Thiobacillus ferrooxidans*, что объясняется их более высокой устойчивостью к ионам двухвалентного железа и низким значениям pH [7, 11]. Лептоспириллы считаются также перспективными для удаления пирита из угля [14]. По мнению авторов, *L. ferrooxidans* принимает не прямое участие в выщелачивании пирита путем продуцирования трехвалентного железа [8]. В монокультуре своей активностью лептоспириллы уступают *T. ferrooxidans*. Однако в ассоциации с *T. thiooxidans* лептоспириллы выщелачивают пирит так же активно, как *T. ferrooxidans* [2, 11, 14-16]. В отличие от мезофильных штаммов термофильная бактерия *L.thermoferrooxidans* не способна расти на пирите и халькопирите [3].

Нами из природных биотопов сульфидных руд Армении выделены два штамма *Leptospirillum* - подобных бактерий, способных окислять двухвалентное железо в диапазоне температур 30-40°.

Целью наших исследований являлось изучение особенностей роста выделенных штаммов термотолерантных лептоспирилл с оценкой их роли в выщелачивании пирита.

Материал и методика. Объектом исследования служили выделенные нами термотолерантные штаммы *Leptospirillum*-подобных бактерий 64 и 72, штаммы умеренно термофильных бактерий 69 и 86 и *T. ferrooxidans*, шт. 33, 63, 18. Инокуляционным материалом для получения накопительных культур *Leptospirillum* - подобных бактерий служили пробы отвалов руды Алавердского и Ахтальского месторождений Армении. Инкубирование проб проводили при 35°. Чистые культуры бактерий получали высевом на среду Браерли [1], содержащую 0,8% агарозы. Чистоту выделенных штаммов проверяли посевами в среду с 0,02-0,05%-ного дрожжевого экстракта в отсутствие или присутствии 0,1% глюкозы. Для выращивания *Leptospirillum*-подобных бактерий и умеренно термофильных бактерий использовали среду Браерли, для штаммов *T. ferrooxidans* - среду Летена [1]. В качестве источника энергии использовали двухвалентное железо в количестве 3 г/л. Бактериальному выщелачиванию подвергали пирит из Алавердского месторождения, измельченный до частиц размером 0,080 мм. Опыты по выщелачиванию проводили в колбах Эрленмейера в условиях периодического культивирования бактерий в режиме встряхивания (180 об./мин) при 30° или 37° в зависимости

от использованных штаммов. Физиологические особенности бактерий изучали в стационарных условиях. Биомассу бактерий определяли по белку методом Лоури [1]. Количество Fe^{2+} и Fe^{3+} определяли комплексонометрическим методом с трилоном-Б [6].

Значения кардинальных температур для роста выделенных штаммов *Leptospirillum*-подобных бактерий определяли на среде, содержащей двухвалентное железо в качестве источника энергии. Культивирование бактерий проводили в стационарных условиях при температурах от 25 до 50° с интервалом в 5°. О их росте судили по количеству окисленного Fe^{2+} .

Результаты и обсуждение. Нами установлено, что нижний температурный предел роста выделенных штаммов составляет 30°, а верхний температурный предел - 40°. Рост бактерий и окисление Fe^{2+} отсутствуют при 25°. Примечательно, что при 40° у шт.64 сохраняется высокая окислительная активность, тогда как у шт. 72 она резко падает. Рост выделенных штаммов прекращается при 45°. Оптимальная температура роста для обоих штаммов составляет 37° (рис.1).

Для выяснения оптимальных значений pH рост выделенных штаммов изучали в диапазоне pH 1,4-3,3. Изучение роста и окислительной активности бактерий проводили в первые сутки культивирования, пока существенных изменений в реакции среды не происходило. Установлено, что оптимальное значение pH среды для роста шт. 72 составляет 2,0, а для шт. 64 - 2,3, нижний предел равен 1,4 (рис.2).

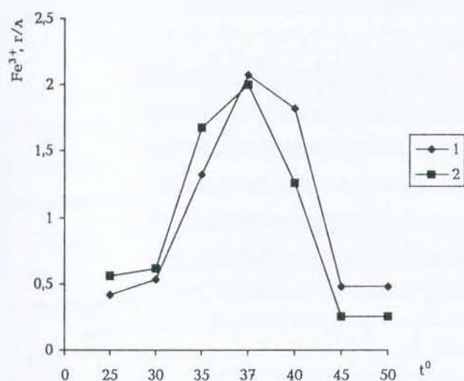


Рис. 1. Интенсивность окисления Fe^{2+} шт. 64 (1) и 72 (2) *Leptospirillum*-подобными бактериями при разных температурах.

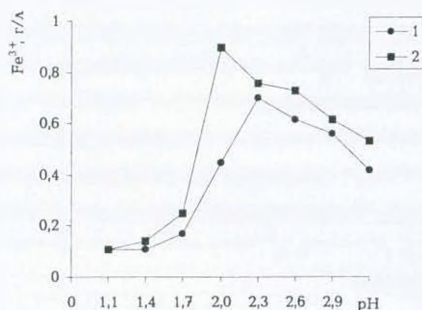


Рис. 2. Интенсивность окисления Fe^{2+} шт. 64 (1) и 72 (2) *Leptospirillum*-подобными бактериями при разных значениях pH.

Выделенные штаммы являются строгими автотрофами. Дрожжевой экстракт в концентрациях 0,01-0,02% не оказывал существенного подавляющего влияния на окислительную активность бактерий. Однако при содержании в среде более 0,05% дрожжевого экстракта наблюдалось угнетение окисления железа, а при 0,2% - его полное ингибирование (рис.3).

Окисление пирита. Исследовали способность *Leptospirillum*-подобных бактерий окислять пирит. При этом их активность сравнивали с активностью *T. ferrooxidans* шт. 33, 63 и 18. Полученные данные представлены на рис.4. Как видно из рисунка, за 10 дней культивирования шт.64 по количеству выщелаченного железа превосходит *T. ferrooxidans* шт. 33 и 63, однако уступает

T. ferrooxidans шт. 18 в 1,2 и 1,4 раза соответственно. Следует отметить, что при этом наблюдается корреляция между активностью штаммов и продолжительностью их лаг-фазы. Так, у шт. 64 *Leptospirillum*-подобных бактерий и *T. ferrooxidans* шт. 33 и 63 она составляет примерно четыре суток, тогда как у *T. ferrooxidans* шт. 18 через два дня после инокуляции начинается интенсивное выщелачивание пирита (рис.4).

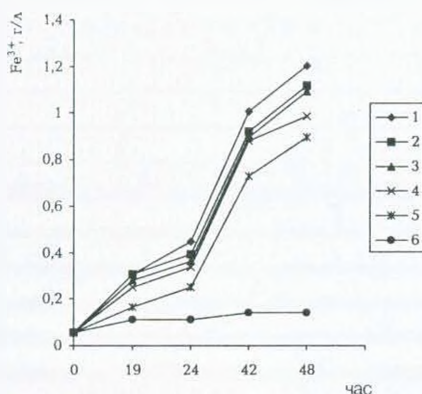


Рис. 3. Окисление Fe^{2+} *Leptospirillum*-подобными бактериями шт. 64 и 72 при содержании в среде дрожжевого экстракта в концентрации: 1 - 0,001; 2 - 0,02; 3 - 0,05; 4 - 0,1; 5 - 0,2; 6 - 0,5%.

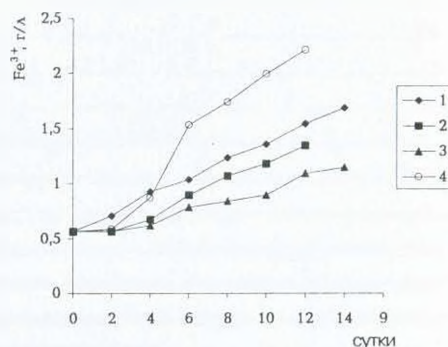


Рис. 4. Окисление пирита *Leptospirillum*-подобными бактериями шт. 64 (1) и *T. ferrooxidans*, шт. 33 (2), шт. 63 (3) и шт. 18 (4) при 30°.

Во второй серии опытов изучали интенсивность окисления пирита выделенными *Leptospirillum*-подобными бактериями в сравнении с умеренно термофильными штаммами, а также при их совместном культивировании (табл. 1).

Таблица 1. Окисление пирита штаммами *Leptospirillum*-подобных бактерий и умеренно термофильными бактериями при раздельном и совместном культивировании (FeS_2 - 2%, pH 2,0, время культивирования - 10 дней, t - 37°)

Использованные штаммы	Добавление дрожжевого экстракта	Выщелачено Fe, г/л		Белок, мг/мл	Конечный pH
		Fe^{3+}	Fe^{2+}		
шт.64	-	4,760	0,028	0,076	1,25
шт.86	-	1,064	0,476	0,02	1,38
шт.86	+	1,764	0,308	0,042	1,33
шт.86 + шт.64	-	6,384	0,028	0,070	1,15
шт.72	-	2,604	0,056	0,040	1,12
шт.69	-	1,372	0,532	0,02	1,25
шт.69	+	2,196	0,168	0,025	1,2
шт.69 + шт.72	-	5,096	0,028	0,045	0,95

Исследование показало, что по эффективности окисления пирита шт. 64 в 4,5 и 2,7 раз превосходит шт. 86, растущего в автотрофных и

миксотрофных условиях в присутствии 0,02% дрожжевого экстракта. Такая же картина наблюдается при сравнительном исследовании шт. 72 *Leptospirillum* - подобных бактерий и умеренно термофильного шт. 69. Так, количество выщелаченного железа при окислении пирита при 37° шт. 72 соответственно в 1,9 и 1,2 раза больше, чем при автотрофном и миксотрофном росте умеренно термофильного шт. 69.

Известно, что умеренно термофильные серо- и железоокисляющие бактерии являются миксотрофами, то есть проявляют хороший рост и окислительную активность только в присутствии 0,02% дрожжевого экстракта, что очевидно и в нашем эксперименте со штаммами 69 и 86. Проведенные исследования показали, что эффективность умеренно термофильных бактерий значительно увеличивается при их совместном культивировании с *Leptospirillum* - подобными бактериями в автотрофных условиях. Так, ассоциацией шт.86 со шт. 64 за 10 дней культивирования в среду выделяется 6,4 г/л железа, то есть в 1,3 раза больше, чем при росте шт. 64 в монокультуре и в 6,0 и 3,6 раз больше, чем при росте шт. 86 в отсутствие и в присутствии дрожжевого экстракта соответственно.

Подобную эффективность проявляет также ассоциация термофильного шт. 69 со шт. 72 *Leptospirillum*-подобных бактерий. По количеству выделенного железа упомянутая ассоциация в 2,0 раза превосходит шт. 72 и в 3,7 и 2,3 раза активнее шт. 69, растущего в автотрофных и миксотрофных условиях.

Характерно, что при использовании *Leptospirillum*-подобных бактерий в монокультуре или в ассоциации с умеренно термофильными штаммами выщелаченное в среду железо представлено исключительно в трехвалентном состоянии, что свидетельствует о создавшемся сильном окислительном условии. При росте умеренно термофильных бактерий в автотрофных или миксотрофных условиях в среде доминирует трехвалентное железо, однако присутствует значительное количество (примерно 0,5 г/л) двухвалентного железа. То есть в этом случае среда характеризуется менее сильным окислительным свойством. Следует отметить также высокую устойчивость ассоциаций изученных бактерий к низким значениям pH. Они продолжают активно окислять пирит при pH 0,95.

В литературе имеются данные об успешном использовании *S.thermosulfidooxidans* в ассоциации с *T. ferrooxidans* в окислении пиритно-арсенопиритного концентрата с применением технологической схемы с переменным температурным режимом [5]. С другой стороны, совместное культивирование *S.thermosulfidooxidans* и *T.caldus* в автотрофных условиях позволяет достичь эффективности миксотрофно растущих сульфобацилл [11].

Изученная нами ассоциация умеренно термофильных серо- и железо-окисляющих бактерий и *Leptospirillum*-подобных штаммов проявляет значительно высокую активность в окислении пирита и может быть успешно использована для интенсификации выщелачивания пирита и других пирит-содержащих руд и концентратов. Преимуществом указанной ассоциации является также возможность осуществления бактериального выщелачивания

металлов при сравнительно высоких температурах и без добавления каких-либо органических источников углерода. Исследованная ассоциация характеризуется также высокой устойчивостью к низким значениям рН и повышенным концентрациям железа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биогeотехнология металлов. Под ред. Каравайко Г.И., Грудева С.Н., М, Центр Международных проектов ГКНТ, 1985.
2. Варданян Н.С. Биол. журн. Армении, 48, 1, 8-12, 1995.
3. Головачева Р.С., Голышина О.В., Каравайко Г.И., Дорофеев А.Г., Пивоварова Т.А., Черных Н.А. Микробиология, 61, 6, 1056-1065, 1992.
4. Маркосян Г.Е. Биол. журн. Армении, 25, 2, 26, 1972.
5. Меламуд В.С., Пивоварова Т.А., Кондратьева Т.Ф., Каравайко Г.И. Прикл. биохимия и микробиология, 33, 2, 182-189, 1999.
6. Резников А.А., Муликовская Е.П., Соколов И.Ю. Методы анализа природных вод, М, 1970.
7. Battaglia F. et al. Antonie van Leuwenhook, 66, 295-302, 1996.
8. Brierley J.A., Brierley C.L. VNR Comp. Inc. NY. 253-262, 1985.
9. Dopson M., Lindstrom B.E. Appl. Environ. Microbiol., 65, 36-40, 1999.
10. Eccleston M., Kelly D.P., Wood A.P. Planetary Ecology. Eds. Caldwell D.E.
11. Helle U., Onken U. Appl. Microbiol. Biotechnol., 28, 553-558, 1989.
12. Hippe H. System. Evol. Microbiology, 50, 501-503, 2000.
13. Johnson D.B. FEMS Microbiol. Ecology, 27, 307-317, 1998.
14. Merrettig U., Wlotzka P., Onken U. Appl. Microbiol. Biotechnol., 31, 626-628, 1989.
15. Norris P.R. Recent Progress in Biohydrometallurgy, Eds. Rossi G., Torma A.E.- Cagliari, Italy, 83-96, 1983.
16. Sand W., Rohde K., Sobotke B., Zenneck C. Appl. Environ. Microbiol., 1, 85, 1992.

Поступила 06.III.2001

О СОВМЕСТНОМ ВЫРАЩИВАНИИ МИКРОВОДОРОСЛИ *SPIRULINA* И ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

А.Х. ПАРОНИЯН, Э.К. АФРИКЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

Установлено значительное стимулирующее действие фототрофных бактерий на рост и биосинтез пигментов микроводоросли *Spirulina platensis* при смешанном культивировании этих микроорганизмов. Показано, что при определенном соотношении культур посевного материала и компонентов среды можно существенно увеличить выход биомассы *S.platensis* по сравнению с монокультурой. Подобраны оптимальные условия выращивания смешанных культур.

Հաստատվել է ֆոտոտրոֆ բակտերիաների նկատելի խթանիչ ազդեցությունը *Spirulina platensis* միկրոօրգանիզմի աճի և գունանյութերի կենսասինթեզի վրա այդ միկրոօրգանիզմների համատեղ կուլտիվացիայի պայմաններում: Ցույց է տրվել, որ ցանքասանյութի կուլտուրաների և միջավայրի կոմպոնենտների որոշակի փոխարարերության դեպքում զգալի աճելանուն է *S.platensis*-ի կենսազանգվածի ելքը մոնոկուլտուրայի հետ համեմատած: Գտնվել են խառը կուլտուրաների աճեցման օպտիմալ պայմանները:

The significant stimulation action of phototrophic bacteria on the growth and biosynthesis of pigments of microalgae *Spirulina platensis* during their joint cultivation has been shown. Under certain relation of cultures applied and the components of media, the biomass yield of *S.platensis* increased in comparison with its monoculture. The optimal growth conditions of joint cultures were developed.

Спирулина - фототрофные бактерии - пигменты

Фототрофные бактерии и микроводоросли с высокой эффективностью конвертируют солнечную энергию в энергию химическую и имеют важное значение для получения белка и различных биологически активных веществ [8, 10, 11, 14]. Выращивание фотосинтезирующих микроорганизмов на разных доступных дешевых питательных средах (промышленные и с.-х. отходы, стоки, минеральные воды) не требует больших расходов. Однако при этом выход биомассы микробов не всегда удовлетворительный [4].

В последние годы при микробиологическом получении многих биологически активных веществ с успехом используется смешанное культивирование [2, 6, 9]. В литературе имеются данные о совместном выращивании разных видов фототрофных бактерий, фототрофных и гетеротрофных бактерий, однако данные о совместном выращивании микроводорослей и фототрофных бактерий отсутствуют [12, 14].

Цель настоящей работы состояла в подборе культур фототрофных бактерий для совместного культивирования с микроводорослью *Spirulina platensis* для достижения высокого выхода полноценной биомассы.

Материал и методика. В работе использовали чистую культуру *S.platensis* и фототрофных бактерий *Rhodobacter capsularius* ИНМИА В-6504 и *Ectothiorhodospira sp.*, шт. Ал-1, выделенных из минеральных источников Джермука и содовых солончаков Арапатской равнины соответственно [3, 5]. Все перечисленные микроорганизмы депонированы в

Республиканском Центре депонирования микробов (РЦДМ). Культура *S.platensis* получена от проф. Чифери из Италии (Университет Флоренции) и является основным производственным штаммом для производства белково-витаминных концентратов из этой микроводоросли.

В качестве посевного материала использовали 5-6-суточные культуры фототрофных бактерий, выращенные в люминистате в анаэробных условиях на среде Ормеруда [15]. В случае *Ectothiorhodospira sp.*, шт. Ал-1 к среде добавляли бикарбонат в количестве 2,5 г/л. Микроводоросли выращивали в стационарных условиях на среде Заррука [7]. Для смешанного культивирования использовали модифицированную среду Заррука, а также ранее разработанную питательную среду на основе минеральной воды Бжни [4]. Посевной материал состоял из смеси суспензий микроводоросли и фототрофных бактерий, оптические плотности которых перед смешиванием приравнивали к показателю 0,5 на спектрофотометре СФ-26 при длинах волн 540 и 660 нм соответственно. Посевной материал вносили в среду из расчета 5 мл на 100 мл питательной среды. рН среды 9,5-9,8. Совместное культивирование проводили в конических колбах емкостью 250 мл (объем питательной среды - 100 мл) в стационарных условиях в люминистате при освещенности 1500-2000 и температуре 30-32° в течение 15 суток.

Биомассу собирали пропусканием культуральной жидкости через мембранные фильтры с порами 0,17 мкм. Биомассу определяли по сухому весу - высушиванием при 90° до постоянного веса.

О состоянии культур судили по цвету культуральной жидкости, по микроскопии клеток под фазовым контрастом, а также по спектрам поглощения целых клеток культуры, которые снимали на спектрофотометре "Specord" UV-Vis. Содержание белка в биомассе определяли по Лоури [13].

Результаты и обсуждение. Используемая в опытах минеральная вода Бжни по химическому составу относится к углекислым гидрокарбонатно-хлоридно-натриевым. Химический состав воды по формуле Курлова следующий:

$$\text{CO}_2, 0,7\text{M}_{4,7} \frac{\text{HCO}_3, 73 \cdot \text{Cl} 37}{(\text{Na} + \text{K}) 84} \text{Т}^\circ 35^\circ \text{C}$$

Дебит воды составляет 2,0 л/сек [1]. Как уже отмечали, на средах, разработанных на основе минеральных вод Армении, в том числе и на Бжни, выход биомассы спирулины невелик [4]. В целях ее повышения нами использовано совместное выращивание спирулины с фототрофными бактериями, с учетом их физиологических особенностей, основных компонентов среды и условий выращивания [6]. Выбор фотосинтезирующих бактерий в основном определяется физиологическими особенностями испытанных культур (табл. 1).

Для оптимизации сред при смешанном культивировании вносили органический источник углерода - малат (0,5 г/л) и дрожжевой экстракт (0,02%). Рост культур изучали как при раздельном, так и совместном выращивании. Сравнительное изучение динамики роста монокультур на контрольных средах и на среде с минеральной водой показало, что все изучаемые культуры лучше растут на контрольных средах, причем у спирулины выход биомассы уступает таковому у фототрофных бактерий (рис. 1).

Однако при совместном выращивании спирулины с фототрофными бактериями картина полностью меняется. Полученные результаты представлены в табл. 2.

Таблица 1. Основные физиологические особенности *S.platensis* и использованных фототрофных бактерий

Показатели	Микроорганизмы		
	<i>S.platensis</i>	<i>Rh.capsulatus</i> , шт. D-4	<i>Ectothiorhodospira</i> sp., шт. Ал-1
Температура роста, С°	30-32°	28-30°	28-35°
Оптимум pH	9,5-10,0	7,0-8,0	9,0-9,5
Тип питания	Фотоавтотроф	Фотогетеротроф	Фотомиксотроф
Тип фотосинтеза	Оксигенный	Аноксигенный	Аноксигенный
Основные доноры электронов	Вода	Орг.источники углерода	Орг.источники углерода, восстановленные соед. серы
Основные светосвязывающие пигменты	Фикоцианин, аллофикоцианин, б-каротин	Сферонден, гидроксенсферонден	Спириллоксантин, ликопин

Данные таблицы свидетельствуют о заметном стимулирующем действии фототрофных бактерий на рост *S.platensis*. Влияние фототрофных бактерий заметно при освещении различной интенсивности, однако выход биомассы выше всего при освещении 2000 люкс.

Нами было также изучено влияние содержания отдельных культур указанных микроорганизмов и компонентов среды в изучаемых ассоциациях на рост и развитие *S.platensis*.

На основании полученных данных можно заключить, что стимулирующее действие фототрофных бактерий на рост спирулины более эффективно при соотношении культур в посевном материале 1:0,5 (табл. 3).

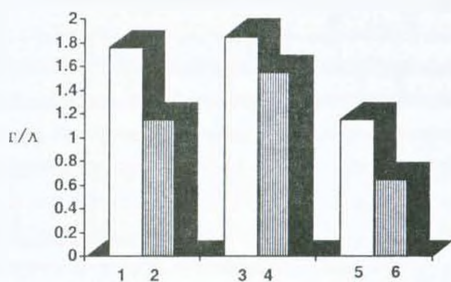


Рис. 1. Рост спирулины и фототрофных бактерий на средах с минеральной водой Бжни:

- 1- шт. D-4 на ср. Ормеруда;
- 2- шт. D-4 на мин. воде;
- 3- шт. Ал-2 на модифицированной ср. Ормеруда;
- 4- шт. Ал-2 на мин. воде;
- 5- *S.platensis* на среде Заррука;
- 6- *S.platensis* на мин. воде;

Таблица 2. Накопление биомассы *S.platensis* в монокультуре и при смешанном культивировании с фототрофными бактериями при освещении разной интенсивности (рост в стационарных условиях)

Интенсивность освещения, люкс	Биомасса, г/л				
	Монокультура (<i>S.platensis</i>)	Смешанная культура (<i>S.platensis</i> + шт. D-4)	Прирост биомассы	Смешанная культура (<i>S.platensis</i> + шт. Ал 1)	Прирост биомассы
1000	0,39	0,54	0,15	0,59	0,2
1500	0,48	0,69	0,21	0,81	0,33
2000	0,63	0,99	0,36	1,19	0,56
2500	0,6	0,96	0,36	1,16	0,56
3000	0,53	0,64	0,11	0,88	0,35

Таблица 3. Влияние соотношения *S.platensis* и фототрофных бактерий в смешанной культуре на выход биомассы

Смешанные культуры	Биомасса, г/л				
	2:1	1:2	1:1	1:0,5	1:0,25
<i>S.platensis</i> + <i>Rh.capsulatus</i> , шт. D-4	0,56	0,35	0,78	0,99	0,7
<i>S.platensis</i> + <i>Ectothiorhodospira</i> sp., шт. Ал-1	0,59	0,47	1,05	1,19	0,95

Микроскопические исследования смешанных популяций испытанных культур показали, что при таком соотношении культур-компонентов в конце роста в поле зрения микроскопа обнаруживаются лишь единичные клетки фототрофных бактерий. Это подтверждается также и ярко-зеленым цветом биомассы. Сравнительно больше клеток фототрофов можно наблюдать в случае, когда партнером спироулины является *Ectothiorhodospira* sp., шт. Ал-1. Это, по-видимому, объясняется алкалофильностью шт. Ал-1. Морфологические наблюдения показали, что присутствие фототрофов не влияет на состояние клеток спироулины. В поле зрения наряду с прямыми клетками спироулины попадает множество клеток, закрученных в спираль.

Сравнительное изучение белка в биомассе монокультуры и смешанной культуры показало, что по количеству белка они почти идентичны (табл. 4).

Таблица 4. Выход биомассы и содержание белка при раздельном и совместном выращивании спироулины с фототрофными бактериями

Культуры	Биомасса, г/л	Прирост биомассы, %	Белок, % на сухой вес
<i>S.platensis</i>	0,63	-	42,45
<i>S.platensis</i> + шт. D-4	0,99	57	42,45
<i>S.platensis</i> + шт. Ал-1	1,19	88,8	42,85

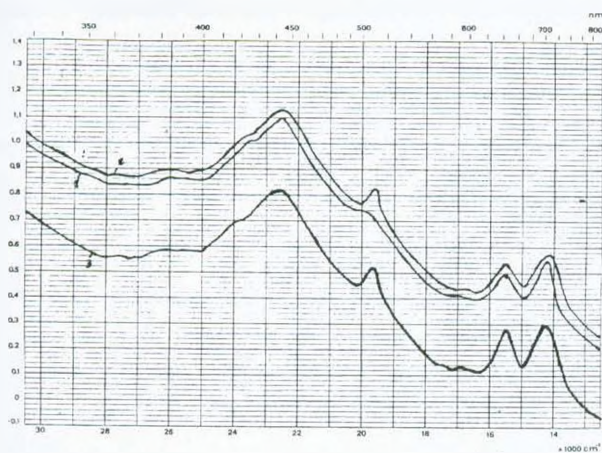


Рис. 2. Спектры поглощения целых клеток монокультуры и смешанных культур:

1 - *S.platensis*; 2 - *S.platensis* + шт. D-4; 3 - *S.platensis* + шт. Ал-1

Сравнение спектров поглощения клеток монокультур и смешанных популяций выявляет количественные различия в пигментном составе. Спектр поглощения смешанной культуры отличается от такового у монокультуры, где каротиноидные пигменты представлены в виде плеча около 500 нм. К концу культивации смешанной культуры проявляется заметный

пик в зоне поглощения каротиноидов. С другой стороны, партнерство спирулины со шт. Ал-1 приводит к значительному увеличению пика в зоне 623 нм, что соответствует фикоцианину. Со штаммом D-4 это явление выражено достаточно слабо (рис. 2).

Таким образом, в процессе совместного культивирования имеет место количественное и качественное изменение биомассы *S. platensis* по сравнению с ее монокультурой. Учитывая нетоксичность фототрофных бактерий [12], можно полагать, что их использование в совместной популяции со спирулиной может обеспечить как интенсификацию ее роста, так и определенное усиление биосинтеза продуцируемых этой микроводорослью многих ценных биологически активных веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Г.И., Топчян Ж.С. Курортная зона Арзакан-Агверан, Ереван, 9-13, 1973.
2. Ландау Н.С., Милованова И.И., Егоров Н.С. Микробиология, 54, 4, 529-532, 1985.
3. Паронян А.Х. Биолог. журн. Армении, 53, 1-2, 41-45, 2001.
4. Паронян А.Х., Африкян Э.К. Биолог. журн. Армении, 52, 2, 117-124, 1999.
5. Паронян А.Х., Габаяева Т.А., Малакян М.Н. Биолог. журн. Армении, 35, 10, 803-809, 1982.
6. Печуркин Н.С. Смешанные проточные культуры микроорганизмов. Новосибирск, 1981.
7. Пиневиц В.В., Верзилин Н.Н., Михайлов А.А. Физиология растений, 15, 3, 1037-1046, 1970.
8. Элиазян А.А., Паронян А.Х., Африкян Э.К. Биотехнология, 6, 51-54, 1997.
9. Яковлева Е.П. Прикл. биохимия и микробиология, 19, 3, 330-346, 1983.
10. Balloni W., Filip C., Florenzano G. Algae Biomass. Elsevier. North-Holland Biomedical Press, 217-227, 1980.
11. Buiton G. Carotenoides, chemistry and biology. Plenum Press, 168-186, 1990.
12. Kobayashi M., Kurata Sh. Process Biochemistry, 13, 2, 27-29, 1978.
13. Lowry O.H., Rosebrough H.J., Farr A.L. et al. J. Biol. Chemistry, 193, 1, 265-276, 1951.
14. Noparatnaraporn, N. Traculnaleumsali, S., Silveria, R. et al. Ferment. Technology, 65, 1, 11-16, 1987.
15. Ormerod I.J., Ormerod S.F., Gest H. Arch. Biochem. and Biophys., 94, 2, 449-463, 1961.

Поступила 02.VII.2001

ИССЛЕДОВАНИЕ ТЮРИЦИНОВ-БАКТЕРИЦИНОВ *BACILLUS THURINGIENSIS*

**Б.П. КАРАБЕКОВ, А.С. ОВСЕПЯН, А.Х. ЧАХАЛЯН, С.К. КЕЛЕШЯН,
Н.Э. МИКАЕЛЯН, С.В. АВЕТЯН**

НИИ “Биотехнология”, АОЗТ, 375056, Ереван

Исследована бактерициногенная активность 100 штаммов *Bacillus thuringiensis*, принадлежащих к различным серотипам. Показано, что из них 42 штамма способны продуцировать бактерицины-тюринцины, в том числе 17 штаммов *subsp. galleriae* (серотип 5a:5b) и 9 штаммов *subsp. berliner* (серотип 1). Определены условия культивирования для максимальной продукции тюринцинов; оптимальной средой является мясо-пептонный агар. Идентифицированы 4 типа тюринцинов *B. thuringiensis*. Некоторые штаммы одновременно синтезируют тюринцины двух типов. При обработке этидиум-бромидом или додецилсульфатом натрия происходит элиминация тюринциногенного фактора (Thu' - признака) с частотой 1-2%. Показана возможность передачи Thu' фактора при смешанном культивировании Thu' и Thu- штаммов.

Ուսումնասիրվել է *Bacillus thuringiensis*-ի տարբեր սերոտիպերին պատկանող 100 շտամների բակտերիցինոգեն ակտիվությունը: Պարզվել է, որ դրանցից 42-ը ունեն այդ հատկությունը և արտադրում են բակտերիցիններ-թյուրիցիններ, այդ թվում 17 շտամ *subsp. galleriae* (սերոտիպ 5a:5b) և 9 շտամ *subsp. berliner* (սերոտիպ 1): Որոշվել են թյուրիցինների մաքսիմալ արտադրման համար աճեցման պայմանները, օպտիմալ միջավայր է հանդիսանում մսապեպտոնային ագարը: Իդենտիֆիկացվել են *B. thuringiensis*-ի թյուրիցինների 4 տեսակներ: Որոշ շտամներ միաժամանակ սինթեզում են 2 տեսակի թյուրիցիններ: Եթիդիում բրոմիդով կամ մատրիումի դոդեցիլսուլֆատով մշակելու դեպքում տեղի է ունենում թյուրիցինոգենային գործոնի (Thu'-հատկանշի) էլիմինացիա 1-2% հաճախականությամբ: Ցույց է տրվել Thu' և Thu- շտամների խառը աճեցման պայմաններում Thu' գործոնի փոխանցման հնարավորությունը:

Bacteriocinogenic activity of 100 strains of *Bacillus thuringiensis* belonging to different serotypes was studied. 42 strains displayed ability for propoducing bacteriocines-thuricines, including 17 strains *subsp. galleriae* (serotype 5a:5b) and 9 strains *subsp. berliner* (serotype 1). The cultivation conditions for maximum production of thuricines were defined, the optimum medium is meat-peptone agar. 4 types of *B. thuringiensis* thuricines were identified. Some strains synthesize simultaneously 2 types of thuricines. The elimination of the thuricinogenic factor (Thu' - sign) with 1-2 per cent frequency at ethidium-bromide or sodium dodecylsulfate treatment takes place. The possibility of transmission of the thuricinogenic factor at joint cultivation of Thu' and Thu- strains was shown.

*Тюринцины-бактерицины - Bacillus thuringiensis - трансмиссивность -
элиминация*

Первые сведения об антагонистических взаимоотношениях в группе *Bacillus thuringiensis* содержатся в работе Красильникова [7] и Африкяна [1]. Впервые метаболиты, подавляющие рост бактерий внутри вида *B. thuringiensis*, были идентифицированы как бактерицины Кригом [14]. Согласно общепринятой номенклатуре, бактерицины, продуцируемые штаммами *B. thuringiensis*, получили название “тюринцины”. В дальнейшем продукцию тюринцинов у различных штаммов этого микроорганизма описали Гозе [11], Иванов с соавт. [4], Де Баржак с соавт. [10], Нетыкса с соавт. [8] и Карабеков с соавт. [9].

Однако до настоящего времени в литературе нет полных сведений о типах тюрисинов, продуцируемых этими бактериями, различиях между представителями разных серотипов, их основных свойствах, устойчивости Thu^+ признака и возможной его трансмиссивности.

Нами предпринята попытка исследовать явление тюрисиногенности на основе изучения большого количества штаммов *B. thuringiensis*, представляющих практически все серотипы этой бактерии. Поскольку данный микроорганизм широко используется в народном хозяйстве, представляется актуальным изучение основных физико-химических свойств продуцируемых тюрисинов, их типов у разных серотипов, возможности излечения от Thu^+ фактора, передачи этого фактора Thu штаммам, а также частоты возникновения признака тюрисиногенности у разных серотипов. Все эти вопросы не освещены в современной научной литературе и нуждаются в исследовании.

Материал и методика. В работе использованы 100 штаммов *B. thuringiensis* практически всех известных серотипов. Штаммы были выделены в различных регионах бывшего СССР и любезно предоставлены в наше распоряжение Всесоюзным институтом защиты растений (г. Санкт-Петербург).

Тюрисиногенную активность штаммов определяли методом "отсроченного антагонизма" по Фредерику [9].

Для выявления индикаторных штаммов (тест-культур) все исследованные штаммы подвергли перекрестной проверке. Типирование тюрисинов проводили с помощью тюрисинрезистентных мутантов. Резистентные к тюрисинам мутанты выделяли из зоны подавления роста тест-культур.

Излечение от тюрисиногенности (элиминация Thu^+ признака) проводили путем обработки штамма этидиум-бромидом (5 мкг/мл) или додещилсульфатом (0,001%).

Питательные среды и методы культивирования штаммов не отличались от общепринятых в микробиологии.

Результаты и обсуждение. Тюрисиногенная активность была выявлена у 42 из 100 исследованных штаммов, причем наибольшее число тюрисиногенных штаммов обнаружено у серотипа 1 (*subsp. berliner*) - 64,3% и серотипа 5a:5b (*subsp. galleriae*) - 42,5%.

Штаммы вариантов *thuringiensis*, *thompsoni* и *galleriae* продуцируют тюрисины широкого спектра действия. Удивительно, что ни один из 9 исследованных штаммов *subsp. dendrolimus* не продуцировал тюрисины, но в то же время они оказались чувствительными к тюрисинам, продуцируемым всеми 42 тюрисиногенными штаммами, т.е. были универсальными индикаторами тюрисинов. Свойства универсальных индикаторов оказались присущи также штаммам U-50, 17-2 и P10/14 *subsp. galleriae*. Эти последние и были выбраны в качестве тест-культур для изучения тюрисинов.

Морфология зоны торможения роста чувствительных культур тюрисинами разных серотипов представлена в табл. 1, по данным которой тюрисиногенные штаммы, относящиеся к вариантам *thuringiensis* и *thompsoni*, а также 14 штаммов варианта *galleriae* вызывают полную задержку роста индикаторного штамма, образуя прозрачные зоны торможения роста диаметром от 15 до 40 мм. Тюрисины остальных штаммов образуют в основном мутные зоны торможения роста индикаторной культуры с вторичным ростом, реже-прозрачные зоны.

Таблица 1. Морфология зоны торможения роста чувствительных культур тюринцинами разных серотипов

Вариант	Серотип	Морфология зоны торможения роста						
		Характер зоны			Диаметр зоны, мм			
		*	**	***	до 10	15	20	до 40
<i>thuringiensis</i>	1	9	-	-	-	-	3	6
<i>finitimus</i>	2	-	1	-	-	1	-	-
<i>alesti</i>	3a;3c	-	-	2	2	-	-	-
<i>galleriae</i>	5a;5b	14	3	-	3	4	4	6
<i>entomocidus</i>	6	-	-	1	1	-	-	-
<i>tolworthi</i>	9	-	2	-	-	1	1	-
<i>darmstadiensis</i>	10a;10b	-	2	-	-	-	1	-
<i>thompsoni</i>	12	1	-	-	-	-	-	1
не серотипируемые	-	1	1	3	1	3	2	1
Итого:	-	25	9	6	7	9	11	14

Примечание: * - прозрачная зона; ** - прозрачная зона с вторичным ростом; *** - мутная зона.

Результаты исследования физико-химических свойств тюринцинов, представленные в табл. 2, показали, что из 42 исследованных тюринцинов лишь 15 проходили через целлофановую мембрану, тем самым проявляя одно из фундаментальных свойств, присущих бактерицинам. В основном это тюринцины, продуцируемые вариантами *thuringiensis*, *darmstadiensis*. В то же время из 17 штаммов варианта *galleriae* только 3 штамма - 11-67, 3-014, 3-16 - продуцировали тюринцины, проходящие через целлофановую мембрану. Остальные, по-видимому, имеют более высокий молекулярный вес. Неоднородны тюринцины и по чувствительности к тепловой обработке. Так, выдерживание при 60° в течение 30 мин приводило к инактивации тюринцинов у 21 штамма. Остальные тюринцины не утрачивали активности даже при нагревании до 80-100°. Теплоустойчивыми в основном оказались тюринцины вариантов *thuringiensis*, *galleriae*, *caucasicus*. Термочувствительными были тюринцины вариантов *finitimus*, *entomocidus*, *tolworthi*.

Таблица 2. Сравнительные данные о некоторых физико-химических свойствах тюринцинов, продуцируемых штаммами *Bac.thuringiensis*

Вариант	Проходимость через целлофан	Чувстви- тельность к трипсину	Устойчивость к тепловой обработке		
			60°	80°	100°
<i>thuringiensis</i>	9/9	9/9	7/9	7/9	7/9
<i>finitimus</i>	0/1	1/1	0/1	0/1	0/1
<i>alesti</i>	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2
<i>galleriae</i>	3/17	17/17	10/17	10/17	10/17
<i>subtoxicus</i>	0/1	1/1	1/1	1/1	1/1
<i>entomocidus</i>	0/1	1/1	0/1	0/1	0/1
<i>tolworthi</i>	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2
<i>darmstadiensis</i>	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
<i>caucasicus</i>	0/3	3/3	2/3	2/3	2/3
<i>thompsoni</i>	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1
не серотипируется	1/4	4/4	0/4	0/4	0/4
Итого:	15/42	42/42	21/42	21/42	21/42

Примечание: В числителе - количество тюринцинов, обладающих указанным свойством, в знаменателе - количество исследованных тюринцинов.

Все исследованные тюрисины оказались чувствительными к обработке трипсином, что говорит об их белковой природе.

Неоднородны тюрисины и по скорости диффузии в агар.

Известно, что способность бактерий синтезировать бактерицины определяется их генотипом, однако фенотипическое проявление этого признака во многом зависит от внешних условий [5].

Особенно важное значение имеет состав питательной среды. Так, бактерицины *Corynebacterium glutamicum*, так называемые глутацины, не синтезируются на агаризованных средах, приготовленных на основе перевара Хоттингера, но хорошо проявляются на мясо-пептонном агаре (МПА).

Для определения оптимальных условий синтеза тюрисинов нами было исследовано 12 видов питательных сред и установлено, что тюрисины хорошо синтезируются на 1,2% МПА, несколько хуже - на среде с рыбным гидролизатом (1,2%). Добавка к МПА 0,5%-ной глюкозы резко тормозит синтез тюрисинов. Таким же свойством обладает NaCl.

Для типирования тюрисинов, синтезируемых штаммами *B. thuringiensis*, нами были получены резистентные к тюрисицам мутанты универсального индикаторного штамма *subsp. galleriae* P 14/10. Этот штамм, кроме высокой чувствительности ко всем 42 выявленным тюрисицам, обладает резистентностью к высоким концентрациям стрептомицина и синтезирует темно-коричневый пигмент, т.е. имеет фенотип $\text{Thu}^+ \text{Str}^+ \text{Pig}^-$. Выбор такого маркированного штамма был удобен для последующего анализа полученных мутантов.

На первом этапе типирования исследуемых тюрисинов были получены $\text{Thu}^+ \text{Str}^+ \text{Pig}^-$ мутанты, выделенные одноступенчатым отбором из вторичного роста зоны торможения роста штамма P14/10, вызванного тюрисином, синтезированным штаммом 260-15 *subsp. galleriae* (мутант 14/26). Указанный мутант оказался резистентным одновременно к тюрисицам еще 6 штаммов, что свидетельствует об идентичности этих тюрисинов и возможности выделения их в отдельную группу, условно обозначенную как тип А. В нее в основном вошли тюрисины, синтезируемые штаммами *subsp. galleriae*.

Мутант 14/26 ($\text{Thu}^+ \text{Str}^+ \text{Pig}^-$) по сравнению с исходным штаммом P14/10 ($\text{Thu}^+ \text{Str}^+ \text{Pig}^-$) изменил свою чувствительность к тюрисицам еще 11 штаммов, что выразилось в резком сужении зоны торможения роста. Мы предположили, что эти 11 штаммов продуцируют либо тюрисины 2 типов, один из которых аналогичен тюрисицам типа А, либо продуцируют один сложный тип тюрисица, частично родственный тюрисицам типа А. Чувствительность мутанта 14/26 к тюрисицам других 24 штаммов оставалась прежней.

На втором этапе типирования тюрисинов у мутантного штамма 14/26 был получен новый полирезистентный мутант 14-16/10, который был выделен из вторичного роста зоны торможения монорезистентного мутанта 14/26 тюрисином штамма 3-16 *subsp. galleriae*. Полученный мутант 14-16/10 оказался одновременно резистентным к тюрисицам еще 12 штаммов разных серотипов. Этот тип тюрисинов, родственный тюрисицу штамма 3-16, был

обозначен как тип В. Полученный новый мутант имел фенотип $\text{ThuA}^+ \text{ThuB}^+ \text{Str}^+ \text{Pig}^-$ и был при этом полностью резистентным к тюрисицинам 5-ти из 11-ти тюрисициногенных штаммов. Монорезистентный мутант 14/16 $\text{ThuA}^+ \text{Str}^+ \text{Pig}^-$ оказался частично резистентным к этим же тюрисицинам. Это позволяет заключить, что указанные 5 штаммов - 64-7, 11-67, 3-014 (*subsp. galleriae*), штамм Р (*subsp. subtoxicus*) и штамм Р-1 (*subsp. darmstadiensis*) - продуцируют одновременно два типа тюрисицинов А и В. Следовательно, эти штаммы маркируются как имеющие фенотип $\text{ThuA}^+ \text{ThuB}^+$ в отличие от штаммов типа А, имеющих фенотип ThuA^+ , и штаммов, продуцирующих тюрисицины типа В и имеющих фенотип ThuB^+ . Чувствительность мутанта 14-16/10 к остальным, оставшимся нетипированными тюрисицинам либо вовсе не изменилась, либо изменилась в сторону сужения диаметра зоны торможения роста и ее морфологии (зона осталась мутной).

На третьем этапе типирования оставшихся 22-х тюрисициногенных штаммов у мутантного штамма 14-16/10 ($\text{ThuA}^+ \text{ThuB}^+ \text{Str}^+ \text{Pig}^-$) был получен новый полирезистентный мутант 14-16/10-43Р. Последний был выделен из вторичного роста зоны торможения мутанта 14-16/10, вызванного тюрисицином, синтезируемым штаммом 43Р *subsp. thompsoni*. Кроме штамма 43Р, этот мутант был полностью резистентным к тюрисицинам еще 15 штаммов, которые оказались родственными к тюрисицину 43Р. Этот тип тюрисицинов мы обозначили как тип С. Таким образом, новый полирезистентный мутант 14-16/10-43Р был маркирован как имеющий фенотип $\text{ThuB}^+ \text{ThuC}^+ \text{Str}^+ \text{Pig}^-$, а штаммы, синтезирующие тюрисицины типа С, как штаммы, имеющие фенотип ThuC^+ . Оставшиеся пять тюрисициногенных штаммов, к которым мутант 14-16/10-43Р оставался частично чувствительным, мы условно отнесли к типу Д.

Таким образом, в результате этих исследований удалось показать, что штаммы *B. thuringiensis* синтезируют тюрисицины, по крайней мере, 4 типов, которые можно типировать с помощью моно- и полирезистентных мутантов.

В итоге, из 100 исследованных штаммов *B. thuringiensis* - 42 оказались тюрисициногенными, из них 7 штаммов продуцируют тюрисицины типа А, 8 штаммов - типа В, 17 - типа С, 5 - типа Д, а еще 5 штаммов синтезируют одновременно тюрисицины типов А и В (табл.3).

Анализируя полученные результаты, можно заключить, что штаммы 1 серотипа образуют тюрисицины только типов В и С, 2 серотипа - типа Д, серотипа 3а - типов А и С, 5 - типов А, В и С, 6 - только типа Д, 9 - только типа С, 10 - только типа Д, 11 - только типа С. Тем не менее только на основании этих результатов говорить о какой-либо коррелятивной связи между типом синтезируемого тюрисицина и серотипом штамма не приходится. Найти корреляцию между типом тюрисицина и его физико-химическими свойствами также не удалось.

Мы предположили, что продукция тюрисицинов у *B. thuringiensis*, так же как и у других микроорганизмов, может быть обусловлена присутствием в клетках тюрисициногенных штаммов особых экстрахромосомальных генетических факторов (возможно, плазмид), осуществляющих контроль признака Thu^+ .

Такое предположение не лишено основания, поскольку у *B. thuringiensis* также обнаружены плазмиды [2, 3]. Если это предположение верно, то штамм может утратить Thu^+ признак, в результате чего он перестанет синтезировать тюринцины и, следовательно, утратит иммунитет к действию аналогичных тюринцинов [12].

Таблица 3. Результаты типирования тюринцинов, продуцируемых штаммами *B. thuringiensis*

Типы тюринцинов			
Штаммы и подвиды			
А	260-15	<i>galleriae</i>	43 P <i>thompsoni</i>
	260-12	<i>galleriae</i>	30 P <i>thuringiensis</i>
	254-4	<i>galleriae</i>	52C <i>thuringiensis</i>
	71-3	<i>galleriae</i>	3 <i>thuringiensis</i>
	71-4	<i>galleriae</i>	63 <i>thuringiensis</i>
	42-2	<i>galleriae</i>	62 <i>thuringiensis</i>
	34 P	<i>alesti</i>	180-2 <i>thuringiensis</i>
В	3-16	<i>galleriae</i>	76-1 <i>thuringiensis</i>
	V-2	<i>berliner</i>	54C <i>alesti</i>
	V-3	<i>berliner</i>	234-4 <i>galleriae</i>
	78-1	<i>galleriae</i>	19-2 <i>galleriae</i>
	78-2	<i>galleriae</i>	63-C <i>tolworthi</i>
	U-50	<i>galleriae</i>	40-P <i>tolworthi</i>
	U-77	<i>galleriae</i>	17-2 не серотипируется
	101	<i>galleriae</i>	58-C не серотипируется
А и В	64-7	<i>galleriae</i>	44-1 не серотипируется
	11-67	<i>galleriae</i>	60-C не серотипируется
	3-014	<i>galleriae</i>	
	37 P	<i>subtoxicus</i>	
	38 P	<i>darmstadiensis</i>	
Д	811	<i>caucasicus</i>	
	837	<i>caucasicus</i>	
	805	<i>caucasicus</i>	
	53C	<i>finitimus</i>	
	BTE	<i>entomocidus</i>	

Исследования по элиминации тюринциногенных факторов (Thu^+) проводили путем обработки двух штаммов, синтезирующих тюринцины типа А (42-2 *subsp. galleriae*), типа В (3-16 *subsp. galleriae*) и типа С (30P *subsp. thuringiensis*) этидиум-бромидом (ЭБ) или додецилсульфатом натрия (SDS). Эти же штаммы отличались тем, что продуцировали тюринцины, образующие ясные, прозрачные, большого диаметра зоны торможения роста индикаторных культур, проходящие через целлофановую мембрану.

Результаты этих опытов представлены в табл. 4, по данным которой все 36 Thu^- клонов, полученных в результате этих опытов, оказались чувствительными к тюринцинам исходных штаммов, что свидетельствует об утрате иммунитета к действию собственного тюринцина.

Эти результаты косвенно говорят о внехромосомном контроле Thu^- признака у *B. thuringiensis*. Трансмиссивность бактерициногенных факторов установлена давно [2]. Возможность осуществления передачи трансмиссивных генетических факторов у *B. thuringiensis* была показана нами [6]. Поэтому для проверки трансмиссивности Thu^- фактора нами была применена методика, описанная в работе Карабекова с соавт. [6].

В качестве донорного штамма был использован штамм 42-2 варианта *galleriae*, продуцирующий тюринцин типа А и имеющий фенотип $\text{ThuA}^+ \text{Pig}^- \text{Str}^- \text{ThuA}^+$. В качестве реципиента был использован индикаторный штамм 10-14 *subsp. galleriae*, имеющий фенотип $\text{Thu}^- \text{Pig}^+ \text{Str}^- \text{ThuA}^+$.

Таблица 4. Частота элиминации Thu^+ маркера тюринциногенных штаммов при обработке этидиум-бромидом и додецилсульфатом натрия

N штамма	Элиминирующий фактор	Количество исследованных колоний	Количество утративших Thu^+ признак колоний	Частота элиминации, %
42-2	ЭБ	1100	11	1,0
	SDS	400	7	1,75
3-16	ЭБ	650	7	1,08
	SDS	680	5	0,7
30P	ЭБ	100	2	2,0
	SDS	350	4	1,14
Итого	ЭБ	1850	20	1,08
	SDS	1430	16	1,12
Всего	ЭБ + SDS	3280	36	1,09

Выросшие на чашках Петри $\text{Pig}^+ \text{Str}^+$ колонии тотально проверяли на тюринциногенность.

Из проверенных 2500 колоний лишь в одном случае (0,04%) у одного из клонов был зарегистрирован фенотип $\text{ThuA}^+ \text{Pig}^- \text{Str}^+ \text{ThuA}^+$, т.е. клон носил признаки как реципиентного, так и донорного штамма.

Результаты этих опытов, по-видимому, следует рассматривать лишь как предварительные данные о возможном трансмиссивном характере Thu^+ факторов *B. thuringiensis*, что требует дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Африкян Э.Г., Чилингарян В.А., Чил-Акопян Л.А., Геворкян С.Г. и др. Биол. журн. Армении, 2, 8, 1969.
2. Дебабов В.Г., Азизбеков Р.Р. и др. Генетика, 13, 3, 496-501, 1977.
3. Захарян Р.А., Израелян Ю.А. и др. Микробиология, 48, 2, 226-229, 1979.
4. Иванов Г.М., Марченкова Т.В., Лихотникова Н.И. Изв. СО АН СССР, 3, 1973.
5. Карабеков Б.П., Кажоян С.В. и др. Микробиология, 3, 2, 261, 1984.
6. Карабеков Б.П., Чахмахчян А.Г., Оганесян М.Г. Генетика, 18, 4, 1062-1067, 1982.
7. Красильников Н.А., Гукасян А.Б. Микробиология, 32, 4, 1964.
8. Нетыкса Е.М., Смирнова Т.А., Миненкова И.В., Азизбекян Р.Р. Микробиология, 48, 4, 1979.
9. Фредерик П. В сб.: Биологическое воспроизведение макромолекул, Изд. ИЛ. М., 1960.
10. Barjac de H. et J. Lajudie Ann. Microbiol (Inst. Pasteur) 125B, 4, 1974.
11. Coze A. C. R. Soc. Biol., 166, 1, 1972.
12. Fukushima H., Tsuboi Y., Fukushima S., Sagawa H. Arch. Oral. Biol., 25, 767-771, 1980.
13. Glows R.C. Zbl. Bact., 196, 2/3, 152, 1965.
14. Kreeg A. J. Invert. Pathol., 15, 2, 1970.

Поступила 16.IX.1997

БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФИТОТЕРАПИИ УШНЫХ ШУМОВ

С.А. ГЮЛХАСЯН

Министерство обороны РА, 375049, Ереван

На основе средневековых рукописей Матенадарана разработан и применяется содержащий биологически активные вещества фитосбор многофакторного действия при лечении ушных шумов у больных с церебро-васкулярной патологией. В результате отмечалось уменьшение интенсивности вибраторного и невибраторного ушного шума и сужение его спектра.

Մատենադարանի միջնադարյան ձեռագրերի հիման վրա մշակվել և կիրառվում է կենսաբանական ակտիվ միջոցեր պարունակող բուսական հավաքածու, որը բազմագործոն ազդեցություն ունի ցերեբրավասկուլյար պաթոլոգիայով տառապող հիվանդների ականջի աղմուկների բուժման ժամանակ: Արդյունքում նկատվել են ականջի տատանողական և ոչ տատանողական աղմուկների ուժգնության փոքրացում և նրա սպեկտրի նեղացում:

On the basis of medieval manuscripts of Matenadaran herbal multifactor preparation containing biologically active substances is worked out and applied for the treatment of ear noises of the patients with cerebral-vascular pathology. In the result decrease of intensity of vibratory and non-vibratory ear noises and its spectrum contracting were recorded.

Вибраторные и невибраторные шумы - спектр и интенсивность шумов - фитосбор "Мариам"

Значение биологически активных веществ, содержащихся в лекарственных растениях, в практической медицине заметно возрастает. Лекарственные растения и их сборы содержат сбалансированные комплексы действующих ингредиентов, что обеспечивает мягкий эффект их воздействия. Особенно благоприятные результаты фитотерапии достигаются при лечении хронических заболеваний, требующих длительного применения лекарств.

Современные представления о болезни, как об отклонении от нормального метаболического и энзиматического статуса организма, позволяют наиболее полно оценить значение биологически активных веществ растительного происхождения в восстановлении нарушенных болезнью обменных процессов с учетом особенностей патогенетических механизмов заболевания.

В результате многолетних исследований древних рукописей Матенадарана с VII по XV века на основе рецептов армянской средневековой медицины нами составлен рецепт многокомпонентного фитосбора, названного "Мариам" [1, 2, 7, 8, 9].

Составление комбинированных препаратов является одним из древних путей поиска новых лекарственных средств с целью повышения их терапевтической эффективности. Наибольшее признание в клинической практике получила системная теория составления комбинированных препаратов [6]. Она заключается в одновременном применении препаратов

из трех основных фармакологических групп, направленных на ослабление воздействия этиологического фактора, уменьшение повреждения тканей и органов, усиление защитных и компенсаторно-приспособительных механизмов организма. Изучив современные представления о характере лечебного действия этих трав, с учетом данных о химическом составе, фармакологическом эффекте, подтвержденном в эксперименте и клинической практике, мы пришли к выводу о реализации следующих основных направлений действия лекарственного сбора: противовоспалительном, детоксикационном, био- и иммунокорригирующем.

Проблема шума в ушах является одной из наиболее сложных в патофизиологии слуха и лечении слуховых нарушений, что во многом объясняется разнообразием факторов, вызывающих этот симптом, а также трудностью выявления его генеза и, следовательно, эмпирическим подходом к лечению. Трудно назвать еще один такой вид патологии, при которой бы использовался столь разнообразный комплекс лечебных мероприятий. Богатый арсенал медикаментозных средств, физических методов, психотерапевтических воздействий и хирургических вмешательств, применяемых для лечения ушных шумов, оказался далеко не универсальным и часто малоэффективным.

Наиболее частой причиной шума в ушах являются слуховые нарушения, возникающие в результате сосудистых заболеваний головного мозга – церебрального атеросклероза и гипертонической болезни.

Шум в ушах является одним из основных, постоянных и нередко самых ранних симптомов различной патологии слухового анализатора. Это весьма тягостное и мучительное ощущение, отрицательно влияющее на общее состояние и самочувствие, нередко причиняющее больше беспокойства, чем понижение слуха.

Целью исследования явилась разработка нового способа фитотерапии ушного шума и оценка эффективности его лечения. Для достижения поставленной цели следовало установить параметры основных, наиболее информативных показателей ушного шума (спектра и интенсивности) у больных с церебро-васкулярной патологией, провести лечение ушного шума общепринятым и методом фитотерапии; дать сравнительную оценку результатов лечения.

Материал и методика. Под нашим наблюдением было 58 больных с церебральным атеросклерозом в возрасте от 36 до 83 лет (из них 30 женщин и 28 мужчин) и 52 больных с гипертонической болезнью в возрасте от 27 до 78 лет (из них 45 женщин, 7 мужчин), обратившихся с жалобами, наряду с другими, на шум в ушах.

С целью проведения иммунокоррекции, коррекции нарушенных нейро-гуморально-метаболических процессов в организме и определения эффективности их лечения все 110 обследованных были разделены нами на две группы: получавшие общепринятое медикаментозное лечение, включающее рефлексотерапию, применение сосудорасширяющих средств, ангиопротекторов, средств, действующих преимущественно на сосуды головного мозга, на ЦНС и ганглиоблокаторов (контрольная группа) и больные, получавшие в комплексе лечения также фитосбор авторской разработки – “Мариам” (основная группа) [1, 2].

Проведены общеклиническое, отоневрологическое обследования всех больных,

комплексное исследование ушного шума по общепринятой методике спектральной шумометрии, а также объективная регистрация вибраторного ушного шума устройством авторской разработки [3].

Дифференциацию вибраторных и невибраторных ушных шумов проводили разработанным нами способом. Вычитанием из спектра шума, полученного спектральной шумометрией, частотного спектра вибраторного ушного шума определяли составляющие спектр невибраторного шума частоты, чем и обеспечивалась их дифференциация [4, 5].

Основываясь на данных литературы о роли нейрогуморально-метаболических и иммунных нарушений в организме и в системе внутреннего уха при нейросенсорной тугоухости сосудистого генеза и опыте применения фитосбора многофакторного действия "Мариам", нам представилось целесообразным использовать его при лечении ушных шумов у больных с церебро-васкулярной патологией [10, 11].

С целью сравнительной оценки эффективности лечения исследование ушного шума было проведено до и после окончания 14-дневного курса лечения.

Результаты и обсуждение. У обследованных с церебро-васкулярной патологией из контрольных групп после проведения общепринятого курса лечения заметной динамики в отношении интенсивности и спектра ушного шума по показателям спектральной шумометрии не наблюдалось. У обследованных из основных групп отмечалось снижение интенсивности и сужение спектра ушного шума за счет сравнительно низких частот спектра с уменьшением количества составляющих его частот (табл. 1).

У обследованных из контрольных групп после общепринятого курса лечения не наблюдалось также изменения показателей интенсивности и спектра вибраторного ушного шума. У обследованных же из основных групп отмечалось снижение интенсивности вибраторного ушного шума с сужением его спектра от высоких — в сторону сравнительно низких частот.

Анализируя и обобщая результаты проведенных исследований и лечения ушного шума, можно заключить, что полученные положительные результаты фитотерапии проявляются в уменьшении интенсивности вибраторных и невибраторных ушных шумов и сужении спектра вибраторного ушного шума за счет сравнительно высоких частот, а невибраторного — за счет сравнительно низких (табл. 2).

Во избежание перегрузки организма больных с церебро-васкулярной патологией при лечении химиопрепаратами, для профилактики лекарственной болезни и побочных их действий считаем целесообразным использование фитопрепаратов многофакторного разнонаправленного действия, действующих на нейрогуморально-метаболические и иммунные системы организма, корригирующих обменные и иммунные процессы. С этой целью рекомендуем использование фитосбора "Мариам", обладающего высоким терапевтическим эффектом и большой широтой терапевтического действия, содержащего флавоноиды, полифенольные соединения, терпеноиды, полисахариды, широкий комплекс витаминов и микроэлементов, благодаря которым он обладает антиоксидантным, детоксикационным, общеукрепляющим, био- и иммунокорригирующим действием, не нарушая при этом защитно-компенсаторных систем организма, а наоборот, укрепляя их.

Таблица 1. Результаты спектральной шумометрии

Наименование заболевания	Номер исследования	Группа больных	Число наблюдений	Количество частот в шумовом спектре							Составляющие спектр шума частоты, кГц										Интенсивность шума, ДБ											
				0	I	II	III	IV	V	Спектр не определяется	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0	Спектр не определяется	Отсутствие	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45
Церебральный атеросклероз	I	K.	29	—	6	7	8	4	3	1	—	1	2	1	1	1	6	16	19	28	1	—	—	—	9	8	5	1	4	2	—	—
		O.	29	—	6	6	8	5	3	1	2	2	—	—	—	3	9	16	19	28	1	—	—	—	9	7	5	—	5	2	1	—
	II	K.	29	—	6	7	8	4	3	1	—	1	2	1	1	1	6	16	19	28	1	—	—	—	9	8	5	1	4	2	—	—
		O.	29	4	6	4	9	3	2	1	2	2	—	—	—	2	6	14	15	24	1	4	4	5	6	4	6	1	3	—	—	—
Гипертогическая болезнь	I	K.	26	—	11	12	2	1	—	—	2	1	—	—	—	—	2	9	9	26	—	—	—	3	13	4	2	1	—	—	—	—
		O.	26	—	12	11	3	—	—	—	1	1	—	—	—	—	3	9	9	26	—	—	—	3	15	6	2	1	1	—	—	—
	II	K.	26	—	11	12	2	1	—	—	2	1	—	—	—	—	—	9	9	26	—	—	—	3	13	4	2	1	—	—	—	—
		O.	26	3	12	10	1	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	6	6	23	—	3	3	8	8	5	2	—	—	—	—	—

Таблица 2. Результаты исследования вибраторного ушного шума

Наименование заболевания	Номер исследования	Группа больных	Число наблюдений	Интенсивность шума, ДБ																						Максимальные частоты Спектр шума, Гц						
				15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	<251	251-300	301-400	401-500	501-600	601-700	701-800
Церебральный атеросклероз	I	К.	29	-	-	-	1	2	9	10	1	1	1	1	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	29	28	12	2	-	-	-
		О.	29	-	-	-	-	1	8	12	1	2	2	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	29	29	12	1	1	-	-
	II	К.	29	-	-	-	1	3	8	11	1	-	1	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29	26	12	2	-	-	-
		О.	29	-	-	-	-	5	10	10	2	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29	25	10	1	-	-	-
Гипертоническая болезнь	I	К.	26	-	1	-	1	4	3	1	2	3	1	2	1	1	1	-	-	-	1	-	1	1	2	26	24	10	7	3	1	1
		О.	26	-	-	1	1	5	3	2	2	2	2	2	1	1	-	-	-	-	-	1	2	-	1	26	25	11	8	4	2	1
	II	К.	26	-	1	-	1	4	3	1	2	3	2	1	1	1	1	-	-	-	1	-	2	1	1	26	22	10	8	2	1	1
		О.	26	-	-	3	4	6	1	-	-	1	2	4	1	-	1	-	3	-	-	-	-	-	-	26	22	9	6	1	1	-

1. *Амирдовлат Амасиаци* Ненужное для неучей. Библиотека. Рукопись, на древнеарм. яз., Матенадаран им. М. Маштоца. 1626, №414, л. 219.
2. *Амирдовлат Амасиаци* Учение медицины. Ахрабадин и другие медицинские тексты. Сб. Тр./Рукопись, на древнеарм. яз., Матенадаран им. М. Маштоца. 1459, №8871, л. 186.
3. Лечебник Гагика Хетума. Библиотека армянской конгрегации мхитаристов Венеции. Рукопись, на древнеарм. яз., 1294, №1281, л. 395.
4. Лечебник врача Ованнеса. Библиотека армянской конгрегации мхитаристов Вены. Рукопись, на древнеарм. яз., 1438, №310, л. 384.
5. Сб. медицинских текстов. Рукопись, на древнеарм. яз., Матенадаран им. М. Маштоца. 1786-1787, №2595, л. 282.
6. Сб. медицинских текстов. Рукопись, на древнеарм. яз., Матенадаран им. М. Маштоца. 1466-1469, №415, л. 234.
7. Сб. медицинских текстов. Рукопись, на древнеарм. яз., Матенадаран им. М. Маштоца. 1560, №549, л. 186.
8. Сб. медицинских текстов. Рукопись, на древнеарм. яз., Матенадаран им. М. Маштоца. 1635, №7100, л. 159.
9. Сб. медицинских текстов. Рукопись, на древнеарм. яз., Матенадаран им. М. Маштоца. XIV, №8382, л. 268.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гюлхасян С.А. Тез. конф., 63-64, Ереван, 1992.
2. Гюлхасян С.А. Тез. конф., 25-27, Ереван, 1993.
3. Гюлхасян С.А. Авторское изобретение № 508, 1999.
4. Гюлхасян С.А. Всеарм. воен.-врач. I научно-практ. конференция. Ереван, 1, 285-292, 2001.
5. Гюлхасян С.А. Мед. наука Армении, 3, 61-66, 2001.
6. Кудрин А.Н. Фармакология с основами патофизиологии. М., 84-90, 1977.
7. Пшеницына Г.К., Гюлхасян С.А. XV Росс. съезд оторинолар. 2, СПб., 188-191, 1995.
8. Пшеницына Г.К., Гюлхасян С.А. Мат-лы Всеросс. науч. конф. по геронтологии и гериатрии. 216-217, Самара, 1995.
9. Пшеницына Г.К., Гюлхасян С.А. Науч.-практ. конф. фак. последипломной подготовки: Тез. докл. 131-132, Самара, 1995.
10. Cao M.Y., Peggouj N., Gersdorff M., Tomasi J.P. Laryngoscope. 106 (2 pt 1), 207-212, Feb., 1996.
11. Harris J.P., Ryan A.F. Otolaryngol., Head, Neck Surg. 112 (6), 639-653, June, 1995.

Поступила 30.VIII.2001

ДИНАМИКА ИНТЕНСИВНОСТИ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ УФ-РЕЗИСТЕНТНЫХ И УФ-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ШТАММОВ *SALMONELLA DERBY*

А.З. ПЕПОЯН

Институт молекулярной биологии НАН Армении, 375014, Ереван

Изучены особенности динамики процессов липидной пероксидации штаммов *Salmonella derby*, различных по УФ-чувствительности. Установлен характер интенсивности свободнорадикальных процессов в бактериальных суспензиях и клеточных экстрактах. Показано, что течение этих процессов в клетках *S. derby* зависит как от логарифмических и стационарных фаз роста, так и от характера бактериальных межклеточных взаимодействий.

Ուսումնասիրվել են ՌԻՄ-զգայունությամբ տարբերվող *Salmonella derby* շտամների լիպիդային պերօքսիդացիոն պրոցեսների դինամիկայի առանձնահատկությունները: Բացահայտվել է ազատ ռադիկալային պրոցեսների ինտենսիվության բնութագիրը բակտերիաների սուսպենզիաներում և բջջային էքստրակտներում: Ցույց է տրվել, որ *S. derby* բջջերում վերոհիշյալ պրոցեսների ընթացքը խիստ կախված է ինչպես բակտերիաների աճման լոգարիթմական և ստացիոնար փուլերից, այնպես էլ միջբջջային փոխազդեցությունների բնույթից:

The dynamics peculiarities of lipid peroxidation processes of *Salmonella derby* strains differed UV-sensitivity have been studied. The description of intensity free of radical processes in bacterial suspensions and cell extracts has been revealed. It has been shown that indicated processes in *S. derby* cells are deeply depended as on the exponentiation and stationary phases of bacterial growth as character of intercellular interactions.

УФ-резистентность - плазмида - пероксидация липидов - межклеточные взаимодействия

Чрезмерное или длительное неферментативное свободнорадикальное окисление липидов приводит к резкому нарушению физико - химической структуры мембран. Это, в частности, распространяется на проницаемость, устойчивость липид-белковых комплексов, а также на инактивацию липидзависимых мембраносвязанных ферментов. В серии работ нами было показано изменение ряда морфологических, генетических, биохимических свойств УФ-резистентных и УФ-чувствительных клеток *Salmonella derby* [1-3]. Целью настоящей работы явилось изучение динамики интенсивности свободнорадикальных процессов УФ-резистентных и УФ- чувствительных штаммов *S. derby*.

Материал и методика. В работе использовали УФ-чувствительные мутанты *S. derby* К 134, полученные из диких условнопатогенных штаммов *S. derby* К 89 и бесплазмидные УФ-резистентные штаммы *S. derby* К 95, полученные из штаммов *S. derby* К 134 [1].

Об активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) судили по интенсивности окрашивания малонового диальдегида (МДА) в реакции с тиобарбитуровой кислотой. Интенсивность окрашивания регистрировали спектрофотометрически (СФ - 4А) при длине волны 535 нм [1]. Количество пероксидов пересчитывали на мг белка данной суспензии. Белок определяли по методу Лоури [7] и Яковлевой [6] как в экстрактах бактерий, так и

в бактериальной суспензии в зависимости от концентрации клеток (расчет концентрации проводили по плотности клеток в 1 мл среды, определяемой по СФ - 4А и продолжительности реакции (время инкубации)).

Результаты и обсуждение. В табл. 1, 2 представлены данные о количестве МДА, последнего продукта пероксидации липидов биологических мембран, в зависимости от времени инкубации, фазы роста и концентрации штаммов *S.derby*.

Таблица 1. Количество МДА (мкг/мг белка), образующегося в процессе ПОЛ в клетках *S.derby* в зависимости от времени инкубации (n, ч)

Штаммы <i>S.derby</i>	Время инкубации, ч			
	n=0.5	n=1	n=1.5	n=2
Суспензия (K=0.4)				
K 89	93.47±1.28	102.58±2.44	118.5±0.28	118.54±0.14
K 82	30.58±1.40	33.13±1.04	35.68±0.94	36.95±0.81
K 134	23.90±1.40	37.44±3.21	47.00±0.70	47.44±3.21
K 95	8.00±1.34	30.62	35.21±0.01	35.4±2.00
Экстракт (K=0.4)				
K 89	24.94±0.58	25.84±3.14	26.07±0.90	26.30±0.23
K 82	25.64±0.07	27.49±1.40	34.80±0.08	34.80±1.13
K 134	22.4	23.52±0.40	23.71±0.70	23.80±0.87
K 95	7.88±0.89	8.43±0.31	10.70±2.20	10.70±1.20
Суспензия (K=0.7)				
K 89	30.39±0.60	39.39±0.58	54.02±1.11	54.02±0.70
K 82	19.81±0.20	23.33±1.01	26.01±1.05	26.00±1.23
K 134	15.00±0.43	18.90±0.87	25.90±0.10	26.10±3.01
K 95	21.20±0.47	27.54±0.09	30.29±0.40	30.70±2.70
Экстракт (K=0.7)				
K 89	44.37±0.19	53.24±0.30	70.99±0.41	71.00±3.06
K 82	19.30±1.03	44.42±0.25	73.34±2.31	77.20±2.10
K 134	22.33±0.07	26.80±0.44	32.20±0.07	32.24±1.04
K 95	9.77±1.01	17.26±2.07	22.95±0.78	24.10±3.00

По интенсивности ПОЛ в бактериальной суспензии выявлено различное содержание МДА в плазмидных (УФ-чувствительных) и бесплазмидных (УФ-резистентных) клетках. Показано, что количество МДА у УФ-резистентного штамма *S.derby* K 95 при любой концентрации клеток приблизительно постоянно, а у УФ-чувствительных клеток *S.derby* наблюдается обратная корреляция между количеством МДА и концентрацией клеток.

Поскольку процесс протекает в диффузионной области, то не исключено, что скорость выделения МДА, образующегося в процессе ПОЛ, из мембраны в межклеточное пространство должна зависеть в первую очередь от площади свободной поверхности клеток. Обозначив наружную поверхность клеток через S_n , поверхность, занятую межклеточным контактом, S_k , можно получить скорость накопления МДА в межклеточном пространстве для

клеточной суспензии:

$$d[\text{МДА}]_c/dt = K_o N [\text{МДА}]_o (S_o - S_k), \quad (1)$$

где K_o – константа процесса выделения МДА из мембраны в межклеточное пространство, N – концентрация клеток в системе, $[\text{МДА}]_o$ – концентрация МДА в мембране, $S_o - S_k$ – свободная от контактов поверхность наружной стороны клеточной мембраны.

Для экстракта, состоящего из разрушенных клеток, поверхность межмембранного контакта S_k^3 , с одной стороны, должна быть больше по сравнению с поверхностью целостных клеток; с другой стороны, внутренняя и наружная поверхности клеточных мембран должны одинаково участвовать в процессе переноса МДА из мембраны в межклеточное пространство. Следовательно, для разрушенных клеток будем иметь

$$d[\text{МДА}]_c/dt = 2K_o N [\text{МДА}]_o (S_o - S_k^3), \quad (2)$$

Разделив (1) на (2), получим

$$d[\text{МДА}]_o/d[\text{МДА}]_c = S_o - S_k / 2(S_o - S_k^3) \quad (3)$$

При постоянной концентрации клеток ($S_k = \text{const}$, $S_k^3 = \text{const}$), интегрируя (3), получим

$$[\text{МДА}]_c = S_o - S_k / 2(S_o - S_k^3) [\text{МДА}]_o \quad (4)$$

Таким образом, очевидность существования зависимости между количеством МДА в системе от S_k и S_k^3 в случае целостных ($[\text{МДА}]_c$) и разрушенных клеток ($[\text{МДА}]_o$) не вызывает сомнений. Следовательно, отношение $[\text{МДА}]_c/[\text{МДА}]_o$, определяемое экспериментально, будет зависеть (при $S_o = \text{const}$) от поверхности межклеточного (S_k) и межмембранного (S_k^3) контактов, в свою очередь зависящих от концентрации клеток. При этом поверхность контактов в случае целостных и разрушенных клеток будет по-разному зависеть от концентрации клеток. В случае разрушенных клеток следует ожидать более быстрого роста S_k^3 , чем в случае целостных клеток. Это объясняется комплементарностью разрушенных клеток в отличие от мембран целостных клеток, имеющих сферическую или эллипсоидную форму.

Опираясь на представление об отличии межмембранных контактов целостных и разрушенных клеток попытаемся выяснить механизм изменения $[\text{МДА}]_c$ и $[\text{МДА}]_o$. Как видно из табл. 1, кинетика плазмидных штаммов при малых концентрациях клеток ($K=0.4$) на протяжении всего процесса демонстрирует превышение $[\text{МДА}]_c$ над $[\text{МДА}]_o$, и наоборот, $[\text{МДА}]_o$ над $[\text{МДА}]_c$ при относительно высокой концентрации клеток ($N=0.7$). Из сопоставления данных табл. 1 с формулой (4) видно, что при малой концентрации клеток выполняется условие

$$S_o - S_k / 2(S_o - S_k^3) > 1, \quad (5)$$

а при большой концентрации

$$S_o - S_k / 2(S_o - S_k^3) < 1, \quad (6)$$

т. е.

$$S_o - S_k > 2(S_o - S_k^*), \quad (7a)$$

$$S_o - S_k < 2(S_o - S_k^*). \quad (7б)$$

Из (7а) и (7б) видно, что при малых концентрациях клеток свободная от контактов наружная поверхность целостной клетки $S_o - S_k$ оказывается больше удвоенной поверхности клеток $2(S_o - S_k^*)$. Увеличение же концентрации клеток по стерическим причинам должно приводить к незначительному росту S_k^* вследствие быстрого достижения стационарного значения и к более быстрому росту S_k , ибо мембраны разрушенных клеток благодаря плоской форме и комплементарности, уже при малых концентрациях должны максимально контактировать друг с другом, в то время как для целостных клеток увеличение S_k с концентрацией является монотонным процессом, не имеющим предела насыщения. Следовательно, с повышением концентрации клеток условие (7а) должно перейти в (7б), что, согласно (4), равносильно отмеченному при малых концентрациях превосходству $[МДА]_c$ над $[МДА]_i$ и, наоборот, для высоких концентраций клеток, что и имеет место в экспериментах, проводимых с УФ-резистентными плазмидными штаммами. Наблюдаемые же (см. табл. 1) во времени увеличение $[МДА]$ в случае суспензии $[МДА]_c$ и незначительное уменьшение в случае экстракта $[МДА]_i$, вероятно, обусловлено наличием двух противоположных процессов: а) повышения концентрации клеток (N) и б) и в) уменьшения свободной от контактов поверхности клеток и мембран ($S_o - S_k$), ($S_o - S_k^*$). Увеличение N и уменьшение $S_o - S_k^*$ компенсируют друг друга, что приводит к незначительному падению $[МДА]_i$ во времени.

В случае целостных клеток рост их концентрации (N), вероятно, превалирует над падением ($S_o - S_k$), что и приводит к росту $[МДА]_c$ во времени. Согласно изложенной альтернативе о роли поверхностных контактов в ПОЛ у плазмидосодержащих клеток *S. derby*, можно данные по ПОЛ у бесплазмидного штамма (табл. 2), определяемые в бактериальной суспензии и указывающие на отсутствие влияния концентрации клеток на количество МДА, объяснить также наличием большого числа контактов между этими клетками, выявляемых уже при малых концентрациях клеток в суспензии, плотность которой $K=0.2$ (по значениям ФЭК). Это согласуется с выявленным ранее изменением морфологии и ультраструктуры бесплазмидных клеток *S. derby*, для которых показано, что клетки имеют извилистую поверхность клеточной стенки с фимбриями лектинной природы [4], увеличивающими вероятность образования межклеточных контактов.

С другой стороны, весьма интересны результаты изучения ПОЛ в клетках *S. derby* в процессе их роста и размножения, т.е. в логарифмической фазе роста. При равных концентрациях клеток ($K=0.2$) выявляется зависимость ПОЛ от их физиологического состояния, что особенно ярко выражено у *S. derby* K 89 (табл. 2). Показано также, что бесплазмидные клетки (*S. derby* K 95 и K 82) отстают в росте в 2-3 раза по сравнению с плазмидными и при равной концентрации их количество жизнеспособных клеток в 10 раз меньше, чем в случае плазмидосодержащих.

Вышеизложенное не исключает существования неисследованных регуляторных механизмов, обеспечивающих различный уровень образования пероксидов в бактериальной суспензии УФ-резистентных и УФ-чувствительных клеток *S.derby*.

Таблица 2. Количество МДА (мкг/мг белка), образующегося в процессе ПОЛ в клетках в зависимости от фазы роста и концентрации штаммов *S.derby*

Штаммы <i>S.derby</i>	K=0.1	K=0.2	K=0.2	K=0.4	K=0.7
	Клеточная суспензия				
	Логарифмическая фаза		Стационарная фаза		
K 89	140.10±2.0	54.32±1.00	36.22±3.40	118.54±1.4	54.02±0.1
K 82	32.01±2.10	32.79±9.1	34.66±1.10	36.95±0.81	26.01±1.23
K 134	17.50±0.90	23.01±0.70	23.90±1.10	47.44±3.21	26.10±3.01
K 95	13.00±2.10	14.90±0.40	15.20±1.40	35.40±2.00	30.70±2.70
	Клеточный экстракт				
	Логарифмическая фаза		Стационарная фаза		
	K 89	20.05±0.41	30.90±2.00	9.90±1.21	26.30±0.23
K 82	27.00±0.40	27.00±0.24	13.10±2.01	34.80±1.13	77.20±2.11
K 134	5.50±0.70	5.80±0.40	2.50±0.15	23.80±0.87	32.24±1.04
K 95	4.10±1.20	6.00±1.10	5.80±0.80	10.70±1.20	24.10±3.00

На основе вышеприведенных данных реальное количество образовавшего МДА определяли при концентрации клеток *S.derby* K=0.4, при которой для всех клеток *S.derby* межклеточные взаимодействия существенно не влияют на выделение МДА в межклеточное пространство. Поскольку окислению в основном подвергаются липиды, а основную часть мембранных липидов у бактерии составляют амфифильные фосфолипиды, количество МДА пересчитано на 1 мкг фосфора данной суспензии. Количество фосфора определяли при изучении ФЛ состава клеток *S.derby* [2, 5].

Результаты по определению интенсивности течения реакции ПОЛ в плазмидных и бесплазмидных клетках *S.derby* показали, что количество МДА в мембранах *S.derby* в аскорбат- и НАДФН-зависимых системах переокисления одинаково (табл. 3).

Таблица 3. Количество МДА (мкг/мг ФЛ) в клетках *Salmonella derby* при аскорбат-зависимой и НАДФН-зависимых системах переокисления

МДА	Штаммы			
	<i>S.derby</i> K89 (дикий плазмидный)	<i>S.derby</i> K134 (плазмидный, УФ-чувстви- тельный мутант)	<i>S.derby</i> K82 (бесплазмид- ный УФ-резистент- ный)	<i>S.derby</i> K95 (бесплазмид- ный УФ-резистент- ный)
Бактериальная суспензия	33.23±1.20	12.78±1.40	416.43±18.30	407.00±56.10
Культуральная жидкость	9.10±1.07	10.50±1.80	278.40±14.00	381.00±17.44

Однако, как явствует из табл. 3, в бесплазмидных клетках (клеточные суспензии) интенсивность ПОЛ почти в 12.5 раза выше, чем в диких клетках *S.derby* К 89, и более 32 раз выше, чем в УФ-чувствительных штаммах *S.derby* К 134. Выявлено почти одинаковое количество МДА в клеточных суспензиях и культуральных жидкостях штаммов *S.derby* К 134 (табл. 3), в то время как в остальных изученных клетках (дикие клетки *S.derby* К 89, УФ-резистентные бесплазмидные клетки *S.derby* К 82 и *S.derby* К 95) уровень пероксидации липидов в клеточных суспензиях значительно выше, чем в культуральных жидкостях.

Таким образом, отсутствие R-плазмиды в диких клетках *S.derby* К 134 влияет на динамику интенсивности пероксидации липидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаян М.А. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1998.
2. Балаян М.А., Вардеванян П.О., Пепоян А.З. и др. Биол. мемб., 14, 506–509, 1997.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., Наука, 1972.
4. Кцоян Ж.А., Таисова А.С., Саркисян Н.Н. и др. Антибиотики и химиотерапия. 10, с. 760, 1988.
5. Пепоян А.З., Балаян М.А., Карагезян К.Г. Докл. АН РА. 97, 79-83, 1997.
6. Яковлева В.И., Малофеева И.В., Зуева И.Н. Приклад. биохимия и микробиология. 15, 328, 1979.
7. Lowry O.M., Rosebrough N.J., Farr A.L. J. Biol. Chem. 93, 265, 1951.

Поступила 10.VII.2001

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЦИДИНА НА ИММУНОЛОГИЧЕСКУЮ РЕАКТИВНОСТЬ ЦЫПЛЯТ, БОЛЬНЫХ ПУЛЛОРОЗОМ-ТИФОМ

Л.Т. ДАНИЕЛЯН, А.Д. АВАКЯН

*Армянская сельскохозяйственная академия,
кафедра микробиологии и вирусологии, 375009, Ереван*

Исследования на цыплятах, больных пуллорозом-тифом, показали, что бактерицидин, по сравнению с фуразолидоном, стимулирует неспецифические защитные функции организма, повышая титр естественных антител в сыворотке крови и фагоцитарную активность крови цыплят, способствует ускорению восстановления больного организма и повышает их сохранности. Наиболее высокие показатели наблюдаются при суточной дозе бактерицидина 0,6 мл/голову, уменьшающейся в 2 раза через каждые 7 дней до 21 дня.

Պոլլորոզ-տիֆով հիվանդ ծտերի վրա կատարված հետազոտությունները ցույց են տվել, որ համեմատած ֆուրազոլիդոնի հետ, բակտերիցիդինը խթանում է օրգանիզմի ոչ յուրահատուկ պաշտպանական կենսագործունեությունը, բարձրացնելով ծտերի արյան չիճուկում բնական հակամարմինների տիտրը և արյան ֆագոցիտային ակտիվությունը, որոնք նպաստում են հիվանդ օրգանիզմի վերականգնման գործընթացի արագացմանը և պահպանման բարձրացմանը: Առավել արդյունավետ է եղել բակտերիցիդինի 0,6 մլ/գլուխ օրական չափաքանից, որը յուրաքանչյուր 7 օրը մեկ, մինչև 21-րդ օրը, պակասեցվել է 2 անգամ:

Investigation of chickens with pullorosis-typhoid has shown that the usage of bactericidin as compared with furazolidone, stimulates non-specific protective functions of the organism, increasing natural antibodies titre in the blood plasma and chickens' blood phagocyte activity, which contribute to the ill organism's restoration process acceleration and high percentage of chickens' safety. The best results are observed at daily dose of 0.6 ml per head, decreasing twice after every 7 days up to 21 days.

Бактерицидин - иммунологическая реактивность - цыплята - пуллороз-тиф

Немаловажное значение в защите от инфекционных заболеваний имеют иммуностимуляторы, среди которых нашли широкое применение различные антимикробные препараты [6]. Следует отметить, что влияние иммуностимуляторов на клеточные и гуморальные факторы иммунитета в борьбе с сальмонеллёзом слабо изучено, а данные по этому вопросу нередко носят противоречивый характер [10]. В птицеводстве при сальмонеллёзной инфекции широкое распространение получило применение фуразолидона. Известно, что он эффективен в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, а из возбудителей кишечных инфекций наиболее чувствительны к нему бактерии дизентерии, брюшного тифа и паратифов [5]. Наряду с этим, исследования ряда авторов показали, что эффективность фуразолидона по сравнению с некоторыми антибиотиками (гентамицин, левомецетин) при сальмонеллёзной инфекции птиц ниже [12].

Кроме того, дача фуразолидона с кормом, в суточных дозах 2 мг, а с водой – 19, 28, 39 г/100л вызывает явления токсикоза, характеризующиеся структурными изменениями в сердце и печени [8, 14]. Есть также данные о том, что нитрофураны нарушают процессы кроветворения, снижают активность и количество пищеварительных соков в организме кур [1].

Учитывая указанное, мы сочли возможным испытать действие бактерицидина на физиологическую активность цыплят, больных пуллорозом-тифом и выяснить его влияние на неспецифические защитные механизмы организма птиц при данной болезни, по сравнению с широко применяемым в ветеринарной практике фуразолидоном.

Материал и методика. Опыты были проведены на базе птицефермы «Элиган-96» Котайкской области на 50 цыплятах севанской породы [4].

Фагоцитарную реакцию проводили *in vitro*, по методу Бомотникова [2] с использованием тест-культуры *Staphylococcus aureus* 209. Результаты реакции выражали показателями: фагоцитарный индекс (ФИ), процент фагоцитоза (ПФ) и фагоцитарное число (ФЧ).

Реакцию агглютинации ставили по классическому методу (пробирочному), в качестве антигена использовали взвесь смыва 2 млрд. клеток с суточной агаровой культуры *Escherichia coli* [9].

Исследования проводили на 10, 30, 40, 70 и 100-й дни после отмены бактерицидина.

Результаты опытов статистически обработаны по методу Ойвина с использованием t-критерия Стьюдента [7].

Бактерицидин получен на основе культуральной жидкости чайного гриба по разработанной Даниелян, Шакарян способу культивирования [3].

Результаты и обсуждение. Изучение неспецифической гуморальной защиты организма цыплят (табл. 1) показало, что дача бактерицидина опытными группам, по сравнению с контрольной, способствовала повышению накопления естественных антител в сыворотке крови цыплят в зависимости от дозы препарата в различной степени. Наиболее высокие показатели наблюдаются при суточной дозе бактерицидина 0,6-0,3-0,15 мл/голову. В данной группе титр антител колебался в пределах 1:32-1:108, при контрольной – 1:11-1:32. При этом его максимальный уровень (1:108) наблюдался в период с 40 по 70 день после отмены бактерицидина, который снижался на 100-й день, оставаясь выше контрольной почти в 3 раза.

В первой, третьей и контрольной группах титр антител достигал максимального значения на 70 день после отмены препарата.

Аналогичное повышение отмечено в показателях фагоцитарной активности лейкоцитов крови цыплят (табл. 2), особенно при суточной дозе бактерицидина 0,6-0,3-0,15 мл/голову. Так, при этой дозе ФИ колебался в

пределах 0,75-3,25, при контрольной — 0,50-1,05. ПФ, характеризующий активность лейкоцитов, также был высок и колебался в пределах 39,0-50,7%, при контроле — 30,5-40,7%. ФЧ в опытной группе характеризовалось выраженной агрессивностью клеток-фагоцитов и колебалось в пределах 1,91-6,39, в то время как в контрольной оно составило 1,63-2,56.

Таблица 1. Изменение титра естественных антител в сыворотке крови цыплят, больных пуллорозом-тифом, после отмены бактерицидина, {M±m}

Возраст, дни	Дни исследования	Опытные группы и суточные дозы бактерицидина, мл/голову			Контрольная группа и суточная доза фуразолидона, 2мг/голову
		I 0,4-0,2-0,1	II 0,6-0,3-0,15	III 0,8-0,4-0,2	
30	10	1:24±1:157	1:32±1:160	1:16±1:80 **	1:11±1:81
50	30	1:32±1:160	1:53±1:292	1:28±1:137 *	1:16±1:80
60	40	1:53±1:292 *	1:108±1:543	1:53±1:292 *	1:28±1:137
90	70	1:64±1:320	1:108±1:543	1:91±1:647	1:32±1:160
120	100	1:53±1:292 *	1:91±1:647	1:64±1:320	1:32±1:160

Примечание: P<0,05; * P<0,1; ** P<0,2

Таблица 2. Изменение фагоцитарной активности крови цыплят, больных пуллорозом-тифом, после отмены дачи различных доз бактерицидина, {M±m}

Показатели, %	Группы	Возраст, дни и дни исследования				
		30(10-й)	50(30-й)	60(40-й)	90(70-й)	120(100-й)
ФИ	I	0,68±0,06	1,15±0,09	2,17±0,18	2,25±0,16	2,19±0,17
	II	0,75±0,08	1,51±0,11	3,25±0,19	3,23±0,17	3,20±0,19
	III	0,62±0,07	0,94±0,08	1,73±0,16	2,45±0,14	2,47±0,12
	Контроль	0,50±0,04	0,57±0,06	0,71±0,17	1,05±0,15	0,97±0,12
ПФ	I	38,2±1,80**	43,5±1,19	46,5±1,76	46,7±1,65	46,5±1,19
	II	39,0±1,83	44,0±0,91	50,7±1,03	50,5±0,50	50,0±0,71
	III	35,5±2,53	39,2±1,11	43,5±1,76	49,5±1,32	49,7±0,85
	Контроль	30,5±1,44	30,7±1,38	36,2±1,93	40,7±1,49	39,7±0,75
ФЧ	I	1,77±0,07*	2,63±0,13	4,64±0,21	4,79±0,18	4,69±0,16
	II	1,91±0,12	3,42±0,18	6,39±0,24	6,39±0,30	6,39±0,31
	III	1,73±0,08**	2,38±0,14	3,95±0,20	4,93±0,16	4,96±0,16
	Контроль	1,63±0,04	1,84±0,10	1,90±0,38	2,56±0,27	2,42±0,26

Примечание: P<0,05; * P<0,1; ** P<0,2

Наиболее высокие показатели фагоцитарной активности во второй опытной группе наблюдались на 40 день после отмены бактерицидина, а в контрольной, первой и третьей группах — на 70 и 100 дни.

Известно, что одним из патогенетических звеньев сальмонеллезной инфекции является угнетение завершенности фагоцитоза [15]. Этот факт ряд авторов объясняет уменьшением ферментативной активности нейтрофилов

периферической крови, связывая это с повышением секреторной дегрануляции клеток в результате воздействия патогенного фактора [11, 13]. Согласно данным наших исследований, высокая фагоцитарная активность крови у больных цыплят, получавших бактерицидин, по-видимому, объясняется нейтрализацией патогенного влияния *Salmonella pullorum* и стимуляцией ферментативной активности клеток-фагоцитов в связи с подавлением их секреторной дегрануляции.

Таким образом, результаты исследований показали, что бактерицидин во всех испытываемых дозах, в отличие от фуразолидона, стимулирует неспецифические защитные механизмы организма больных цыплят, хотя и в различной степени, способствует быстрому восстановлению и повышению иммунологического статуса выздоровевших цыплят. Об этом свидетельствуют данные о сохранности поголовья за весь период исследований (120 дней), которая в I группе составляет — 90%, во II и III группах — 100%, в то время как в контрольной — 50%. Дача бактерицидина способствует также более быстрому исчезновению характерных для пуллороза-тифа цыплят клинических признаков — к 3-5 дню, а фуразолидона — к 10-15 дню.

Как показывают данные исследования, лечебно-профилактическое и стимулирующее действие бактерицидина проявляется не только в сохранности, более быстром восстановлении роста и развития больного организма цыплят, повышении их иммунологического статуса, но и в интенсивном накоплении массы тела, особенно при суточной дозе препарата 0,6-0,3-0,15 мл/голову в более ранние сроки жизни цыплят (в 60-дневном возрасте) превышающей контрольный вариант на 35,6%, при среднесуточном привесе 12,8 г.

Таким образом, для эффективной защиты организма от сальмонеллёзной инфекции, наряду с этиотропной терапией, необходим поиск и подключение препаратов с иммуностимулирующими свойствами. С этой точки зрения экономически более целесообразно использование бактерицидина как лечебно-профилактического препарата, обладающего указанными свойствами. Он обладает широким спектром антимикробного действия, при котором не возникают устойчивые к препарату формы бактерий [3]. Исходя из представленного материала видно, что бактерицидин, обладая антибактериальным действием и стимулирующий физиологическую активность организма, способствует повышению иммунологического статуса больных сальмонеллёзом цыплят.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авраменко Н.В. Автореф. канд. дисс., М., 1988.
2. Бомотников И.А. Иммунопрофилактика инфекционных болезней птиц, М., Россельхозиздат, 1982.

3. Даниелян Л.Т. Чайный гриб, Ереван, 135 с., 1993.
4. Даниелян Л.Т., Авакян А.Д., Оганесян А.О. Биолог. журн. Армении, 51, 3, 200-205, 1998.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства, 2, 302-303., М., "Медгиз", 1987.
6. Навасардян А.А. Автореф. докт. дисс., М., 1990.
7. Ойвин И.А. Журн. патол. физиология и эксперим. терапия, 4, 76-85, 1960.
8. Орлов Ф.М. Болезни птиц., М., изд. "Колос", 1971.
9. Пиященко С.И., Сидоров В.Т. Естественная резистентность организма животных, Л., "Колос", 184с., 1979.
10. Прудников В.С. Автореф. докт. дисс., Л., 1991.
11. Свиридов Л.П., Степанов А.В., Мисникова М.А. Журн. микробиологии эпидемиологии и иммунологии, М., 2, 3-4, 1991.
12. Черкашина Л.И. Автореф. канд. дисс., Омск, 1992.
13. Douglas S.D. Musson R.A. Clin. Immunol. Immunopathol., 40, 62-69, 1986.
14. Mustafa A.I., Idris S.O., Ali B.H., Mahdi B.M., Elgasim A.I. Abu. "Vet.Rec." 115, 10, 251, 1984.
15. Spinger T., Anderson D. Bioscemistry of Macrofages.-L.: Pitman, 102-126, 1986.

Поступила 11.VII.2001

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСНОВНЫХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ВЫДЕЛЕНИЯ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

А.Е. АГАДЖАНИЯН, Г.Ж. ОГАНЕСЯН, Д.Г. АРУТЮНЯН, Р.А. БРУТЯН

НИИ биотехнологии АОЗТ, 375056, Ереван

Исследован процесс флокуляции взвешенных веществ и биомассы из культуральной жидкости (КЖ) синтеза глутаминовой кислоты в зависимости от pH среды, типа флокулянта и его концентрации, времени отстаивания; определены оптимальные параметры отделения осадка, обесцвечивания пермеата глутаминовой кислоты, проведенного на анионите АВ-16ГС в зависимости от температуры раствора, скорости потока жидкости; основные параметры процесса кристаллизации и перекристаллизации глутаминовой кислоты. Полученные данные использованы для разработки технологии выделения и очистки глутаминовой кислоты из КЖ и получения моноглутамата натрия.

Ուսումնասիրվել է կուլտուրալ հեղուկից (ԿՀ) կախությունների և կենսազանգվածի ֆլոկուլացման պրոցեսը կախված միջավայրի pH-ից, ֆլոկուլյանտի տիպից ու կոնցենտրացիայից, նստվածքազդյացման ժամանակից, և որոշվել են պրոցեսի օպտիմալ պարամետրերը: АВ-16ГС անիոնիտով հետազոտվել է գլուտամինաթթվի պերմեատի գունազրկման պրոցեսը, կախված ջերմաստիճանից, խեժով անցկացվող լուծույթի ծավալից և հոսքի արագությունից, ու որոշել պրոցեսի պարամետրերը: Որոշվել են բյուրեղացման և վերաբյուրեղացման պրոցեսների հիմնական պարամետրերը: Ստացված փորձնական տվյալների հիման վրա մշակվել են ԿՀ գլուտամինաթթվի անջատման ու մաքրման, ինչպես նաև նատրիումի մոնոգլուտամինատի ստացման տեխնոլոգիաներ:

The process of flocculation of hanging substances and biomass from cultural liquid (CL) has been investigated depending on the medium pH and flocculant type and its concentration, the sedimentation time, and optimal parameters of this process were determined. Glutamic acid permeate discolouration process with anionite AB-16GC depending on temperature, solution volume and flow rate was investigated and the optimal parameters were determined. The basic parameters of crystallization and double crystallization were found. The data obtained in these experiments were used for development of technologies for glutamic acid extraction and purification from CL and formation of sodium monoglutamate.

Кислота глутаминовая - флокулянт хитозан - технологические параметры выделения

Глутаминовая кислота и ее монанатриевая соль находят широкое применение в пищевой промышленности, медицине, сельском хозяйстве и т. д. [3,6].

Ввиду сложности компонентного состава КЖ глутаминовой кислоты вопросы определения основных технологических параметров выделения и очистки ее являются актуальными. В литературе эти вопросы освещены недостаточно.

Материал и методика. КЖ микробиологического синтеза L-глутаминовой кислоты, полученной культивированием штамма-продуцента L-глутаминовой кислоты *Brevibacterium flavum* НИТИА-39 (ВКПМ-5031), представляет собой суспензию темно-коричневого цвета, содержащую микробные клетки, частицы мела и другие взвеси, составляющие около 1% в пересчете на сухое вещество (СВ). Содержание глутаминовой кислоты составляет 40-52 г/л, сопутствующие аминокислоты (аланин, глицин, лизин) в сумме — 4-5 г/л, азотсодержащие

и безазотистые органические вещества в сумме —1,0-1,5% в пересчете на СВ. Вязкость КЖ составляет 1,6-2,0 спз, плотность 1,04-1,05 г/см³.

Устойчивость суспензии оценивали по скорости образования осадка.

Скорость осаждения взвесей определяли измерением высоты осадка (Н) через 5, 10, 20, 30 и 60 мин отстаивания после добавления к подогретой до 50-55° КЖ соответствующего количества флокулянта. Далее жидкость перемешивали в течение 15-20 мин, охлаждали до 18-20° и выдерживали 60 мин. Высота слоя отстаиваемой взвеси во всех опытах равнялась 10 см [5].

Обычно при микробиологическом способе производства биологически активных веществ коллоидальные частицы и клетки микроорганизмов из раствора осаждают коагуляцией с использованием кислотно-солевых коагулянтов или флокуляцией с последующим отделением осадка от раствора фильтрацией или центрифугированием [4].

При производстве глутаминовой кислоты применение кислотно-солевых коагулянтов неприемлемо, так как при величине pH 3,0-3,3 происходит частичное осаждение целевого продукта и его безвозвратная потеря с осадком. Кроме того, раствор загрязняется минеральными солями, которые в конечном счете переходят в состав целевого продукта. Поэтому для улучшения седиментационных и фильтрационных свойств КЖ ее обрабатывали растворами флокулянтов. На основании результатов предварительных опытов в качестве флокулянта использовали природный поликатионит хитозан, получаемый из различных источников хитинсодержащего сырья в виде порошка, и сильноосновной поликатионит ППС, представляющий собой продукты полимеризации мономерной соли 2-метил-5-винилпиридина и диметилсульфата. ППС в промышленности выпускается в форме жидкого геля с концентрацией основного вещества 45% [2].

Осадок от надосадочной жидкости отделяли центрифугированием при скорости вращения ротора 3000 об/мин и времени центрифугирования 15-20 мин.

Концентрацию глутаминовой кислоты в образцах определяли бумажной хроматографией [7] и с помощью аминокислотного анализатора типа ААА-881.

Микрофильтрацию фугата осуществляли пропусканием жидкости через мембраны "Блэдипор" типа МФА-МА с размером пор 0,1 мк.

Светопропускание фугата определяли на спектрофотометре типа СФ-26, $\lambda=410$ нм, $l=1,0$ см.

Обесцвечивание подогретого пермеата осуществляли путем пропускания раствора через термостатированную ионообменную колонку, заполненную среднеосновной смолой АВ-16 ГС в СI-форме со скоростью потока жидкости 0,1-0,15 м/ч.

Содержание СВ в растворе определяли рефрактометром, а вязкость раствора — вискозиметром.

Степень осветления фугата определяли колориметрически на ФЭК-56М при $\lambda=540$ нм, $l=0,5$ см с использованием уравнения:

$$\tau = \frac{D_{\text{исх}} - D_{\text{к.осв}}}{D_{\text{исх}}} \cdot 100\%,$$

где $D_{\text{исх}}$ — оптическая плотность (ОП) исходного раствора; $D_{\text{к.осв}}$ — ОП раствора после обесцвечивания.

Подготовку активированного осветляющего угля марки ОУВ осуществляли контактированием угля с 1,5%-ным раствором соляной кислоты при температуре 60° в течение 60 мин с последующим отделением твердой фазы от жидкой фильтрацией и промывкой угля обессоленной водой до отсутствия ионов хлора в фильтрате.

Результаты и обсуждение. Как видно из рис. 1, оптимальное значение pH раствора, при котором обоими испытанными флокулянтами шло хорошее осаждение взвесей из КЖ, 3,5-5,5. При этом происходило расслоение суспензии с образованием плотного осадка и прозрачной надосадочной жидкости. При pH больше 8,5 образовывался хлопьевидный осадок, легко

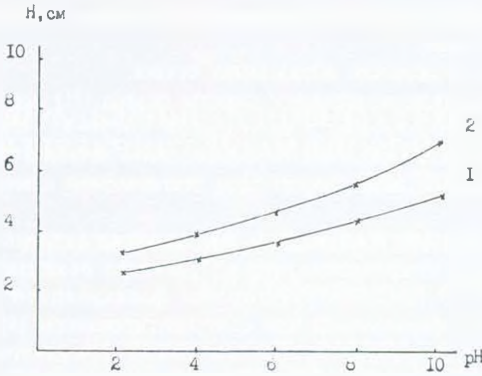


Рис. 1. Зависимость высоты слоя осадка от величины pH среды. 1 - с применением хитозана ($c=18$ мг/л); 2 - с применением ППС ($c=35$ мг/л).

— 32–36 мг/л.

При оптимальных концентрациях флокулянтов и величинах pH 3,5–5,5 после центрифугирования образуется достаточно осветленный раствор.

Флокуляция с применением хитозана более эффективна, чем с применением ППС (рис. 1).

С целью освобождения от остаточных взвесей и высокомолекулярных соединений фугат подвергали микрофильтрации. При этом контролировали следующие показатели исходного и полученного раствора: содержание целевой аминокислоты, ОП, СВ и вязкость (табл. 1).

Таблица 1. Параметры обрабатываемой жидкости на разных стадиях очистки.

Наименование раствора	Показатели			
	СВ, %	ОП	Конц. глут. к-ты, г/л	Вязкость, спз
Фугат	17,0	0,82	50,2	2,06
Пермеат	15,7	0,67	48,8	1,52

Как видно из табл. 1, микрофильтрация фугата снижала оптическую плотность на 0,15 единиц, а вязкость раствора на 0,54 спз, что указывает на удаление из раствора части высокомолекулярных веществ и их агрегатов. Это заметно улучшало последующие стадии выделения и очистки.

Чистота выделяемой глутаминовой кислоты в значительной мере зависит от степени очистки раствора от окрашенных соединений. Для освобождения от них применяли ионитовый способ обесцвечивания пермеата. Ранее нами было показано [1], что процесс обесцвечивания на анионите эффективно протекает при температуре раствора 42–50°, что и было применено в этих экспериментах. При пропускании 15 объемов пермеата на один объем смолы показатели осветления раствора достаточно высоки и составляют примерно 85% (рис. 2). Введение стадии осветления раствора позволяет значительно,

без существенного снижения качества кислоты, повысить степень упаривания раствора перед кристаллизацией.

Для выделения кристаллов глутаминовой кислоты осветленный фильтрат упаривали под вакуумом при температуре 50-60° и остаточном давлении 0,015-0,017 МПа до заданного объема. Затем pH раствора снижали с помощью соляной кислоты до значения 3,2 (до изoeлектрической точки).

Полученную массу охлаждали при перемешивании до 10° и после выдерживания раствора при этой температуре в течение 5-6 ч выпавшие кристаллы из раствора отделяли фильтрацией через поливинилхлорную ткань.

Анализом содержания глутаминовой кислоты в высушенных кристаллах и в маточном растворе определяли выход кислоты (табл.2).

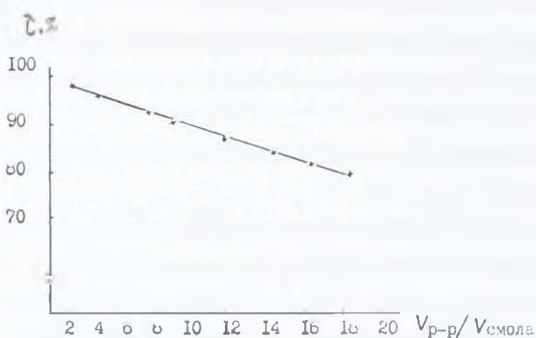


Рис. 2. Зависимость степени осветления пермеата на анионите АВ-16 ГС от объема пропущенного раствора.

Таблица 2. Зависимость выхода глутаминовой кислоты от степени упаривания раствора

№ п.п.	Конц. глут. к-ты в р-ре, г/л	Степень упаривания $\frac{V_{исх}}{V_{кон}}$	Выход глут. к-ты, %	Содержание глут. к-ты в продукте, %	Содержание глут. к-ты в маточном р-ре, г/л
1	49,7	2,0	62,5	97,4	19,8
2	48,8	2,8	72,4	96,8	21,3
3	47,9	4,0	78,2	94,1	22,6
4	47,4	4,5	78,9	92,6	22,5
5	48,0	5,2	87,6	91,2	24,3
6	45,0	6,5	92,4	87,4	25,7
7	47,1	7,4	93,6	85,2	27,2

Из полученных данных следует, что увеличение концентрации глутамата натрия в упаренном растворе и его перевод в форму глутаминовой кислоты с охлаждением раствора приводит к увеличению выхода глутаминовой кислоты с 62,5 до 93,6 %. Однако при этом чистота продукта уменьшается на 12 %. Поэтому с технологической точки зрения выгоднее, чтобы перед кристаллизацией содержание СВ в упаренном растворе составляло 45-60% (степень упаривания раствора 4,0-5,2). При этом концентрация остаточных углеводов, определяющая в основном вязкость раствора, не должна превышать 8-10 спз.

Опыты показали, что увеличение продолжительности кристаллизации с 5-6 ч до 65-70 ч приводит к повышению выхода глутаминовой кислоты лишь на 3-5 %. Из данных табл. 2 следует также, что концентрация глутаминовой кислоты в маточном растворе практически не зависит от степени

упаривания и сохраняется на уровне 20-27 г/л.

Исследование процесса очистки глутаминовой кислоты от примесей органического и неорганического характера показали, что в отличие от ряда аминокислот физико-химические свойства глутаминовой кислоты позволяют с помощью водной перекристаллизации очистить ее от примесей и получить препарат квалификации "х.ч." без дополнительного ионитового обессоливания. Это обусловлено сравнительно низкой растворимостью глутаминовой кислоты в воде и крутым подъемом кривой растворимости кислоты в зависимости от температуры раствора.[8].

Водную перекристаллизацию глутаминовой кислоты проводили растворением кристаллов в минимальном количестве обессоленной воды при 80°. Горячий раствор осветляли заранее подготовленным активным углем в количестве 1,0-1,5 % от веса раствора и наносили на поверхность фильтрующей воронки в виде "угольной подушки". Пропущенный через "угольную подушку" осветленный раствор со скоростью 1,5-2,0 град/мин охлаждали при непрерывном перемешивании сначала до комнатной температуры, а затем со скоростью 2,5-3,0 град/мин до 10° и выдерживали при этой температуре в течение 6-8 ч. Отделенные от маточного раствора кристаллы на фильтре промывали одним объемом на объем кристаллов охлажденной до 10° обессоленной водой (табл. 3).

Таблица 3. Выход глутаминовой кислоты при перекристаллизации в зависимости от содержания основного вещества в техническом продукте

Содержание основного вещества в технической глутаминовой к-те, %	Концентрация глутаминовой к-ты в маточном р-ре, г/л	Выход кристаллов, %	Содержание ионов хлора в продукте, %
85,2	20,0-21,0	74,5	0,054
91,2	18,0-19,0	77,6	0,014
94,1	14,0-15,0	82,4	0,0045
97,4	11,0-12,0	84,3	не обнаружен

Как видно из табл. 3, при водной перекристаллизации выход глутаминовой кислоты в значительной степени зависит от чистоты исходных кристаллов и составляет от 74,5 до 84,3 %.

Высушивание полученных кристаллов осуществляли в вакуум-сушильном шкафу при температуре 55-60° и остаточном давлении 0,013-0,015 МПа в течение 8-10 ч.

Из очищенных кристаллов для получения моноглутамата натрия к сырым кристаллам глутаминовой кислоты добавляли воду, чтобы отношение веса воды к сухой глутаминовой кислоте было равно 2:1, и к полученной таким образом суспензии при непрерывном перемешивании по каплям добавляли 50%-ный раствор едкого натра до pH 7,0. Раствор по вышеуказанному режиму упаривали до содержания СВ=55-57 %. В упаренный раствор вносили затравки кристаллов моноглутамата натрия, затем охлаждали в течение 3 ч до 10° и оставляли при этой температуре на 8-10 ч. Выпавшие кристаллы от маточного раствора отделяли на центрифуге и подвергали вакуум-высушиванию по вышеуказанному режиму. Полученный препарат по чистоте соответствовал квалификации "х.ч."

Таким образом, представленные в работе данные способствовали разработке эффективной технологии выделения и очистки глутаминовой кислоты из КЖ и получению моноглутамата натрия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Հարությունյան Ջ. Դ., Աղաջանյան Ա. Ե., Քոչարյան Շ. Ս. և ուրիշներ: ՀՀ արտոնագիր N 413, 1997:
2. Баран А.А., Тесленко А.Я. Флоккулянты в биотехнологии, 143, Изд. "Химия", Л., 1990.
3. Биотехнология. Принципы и применение. Под ред. И. Хиггенса. 470, Изд. "Мир", М. 1988.
4. Верникова Л.М., Жуковская С.А. Антибиотики, 7, 658, 1969.
5. Ельшин А.И., Греченко С.А., Путницев С.А., Зуев Б.Г., Курош В.В. Биотехнология, 5, 34, 1985.
6. Неклюдов А.Д., Котов В.Б., Гошев В.Е., Зубец А.М., Горбачева Н.А. Микробиологическая промышленность, 7, 33, 1972.
7. Успенская Ж.В., Кретович В.Л. Методики количественной бумажной хроматографии сахаров, органических кислот и аминокислот у растений, 43, Изд. АН СССР, М.-Л., 1962.
8. Saeky Masaru and Sakata Yosiky *Ferm. And Ind.*, 10, 906, 1982.

Поступила 28.X.1997

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ АНТИБИОТИКО- И ХЛОРАМИНОРЕЗИСТЕНТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ К БАКТЕРИЦИДИНУ «HONGO»

Ж.Р. БАБАЯН*, Г.Г. ШАКАРЯН**, Л.Т. ДАНИЕЛЯН*, Ю.Т. АЛЕКСАНИЯН*

**НИИ эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии
имени А.Б. Алексаняна МЗ РА, 375009, Ереван
**ООО «Сантос», 375082, Ереван*

Выявлено выраженное бактерицидное действие биологически активного стимулятора бактерицидина «Hongo», разработанного на основе культуральной жидкости чайного гриба, в отношении антибиотико- и хлораминорезистентных грамположительных, грамотрицательных микроорганизмов. Показано, что бактерицидная активность бактерицидина зависит от плотности микробной суспензии, степени разбавления препарата, значения pH среды.

Բացահայտվել է բեյի սնկի կուլտուրալ հեղուկի հիման վրա մշակված կենսաբանական ակտիվ խթանիչ բակտերիցիդիկ «Hongo» արտահայտված մանրէասպան ազդեցությունը հակաբիոտիկա- և քլորամինակայուն գրամդրական, գրամբացասական միկրոօրգանիզմների նկատմամբ: Ցույց է տրվել, որ բակտերիցիդիկ մանրէասպան ակտիվությունը կախված է մանրէային կախույթի խտությունից, պրեպարատի նոսրացման աստիճանից, միջավայրի pH-ի նշանակությունից:

A pronounced bactericidal effect of the biological stimulator bactericidin "Hongo" has been found out, which was worked out on the basis of cultural liquid of tea fungus, in relation with antibiotics and chloramine resistant Gram-positive and Gram-negative microorganisms. It has been shown that bactericidal activity of bactericidin depends on the density of microbe suspension, degree of dilution of the preparation and value of medium pH.

*Бактерицидная активность - антибиотико- и хлораминорезистентность-
грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы*

Несмотря на значительные успехи, достигнутые органами здравоохранения, профилактика инфекционных болезней представляет одну из наиболее серьезных проблем [2, 10].

За последнее десятилетие в республике сохраняется стабильно высокий уровень заболеваемости внутрибольничными инфекциями (ВБИ), вызываемыми патогенными и условно патогенными микроорганизмами [1, 3].

В настоящее время даже в высокоразвитых странах в результате широкого и часто бесконтрольного использования антибиотиков ежегодно десятки тысяч людей погибают от ВБИ, вызываемых, в частности, антибиотикоустойчивыми микроорганизмами [9, 11]. Одной из причин распространения ВБИ является высокая резистентность возбудителей инфекционных заболеваний к применяемым в практике некоторым дезинфицирующим средствам, вследствие чего снижается эффективность проводимых дезинфекционных мероприятий [6, 7].

Это обстоятельство указывает на то, что проблема разработки более совершенных средств, обладающих бактерицидной активностью, чрезвычайно актуальна.

Целью настоящей работы явилось изучение бактерицидного действия биологически активного стимулятора бактерицидина «Hongo» в отношении антибиотико- и хлораминорезистентных грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

Материал и методика. Бактерицидную активность бактерицидина «Hongo» [4] изучали методом обеззараживания батиновых тест-объектов, обсемененных микробной суспензией грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, содержащей в 1 мл 100 тыс., 1 млн, 10 млн, 100 млн, 500 млн, 1 млрд и 2 млрд микробных клеток, согласно общепринятой методике [5]. Бактерицидное действие изучено в отношении эталонных штаммов *Escherichia coli* (штамм 1257), *Staphylococcus aureus* (штамм 906), *Klebsiella pneumoniae* (штамм 12) и выделенных от больных хлорамино- и антибиотикорезистентных штаммов *Salmonella typhimurium* (штамм 1474), *Yersinia enterocolitica* (штамм 33), *Shigella flexneri* 2a (штамм 5422), *Proteus vulgaris* (штамм 745), *Proteus mirabilis* (штамм 3669), при экспозициях от 5 до 60 мин, а также после 6- и 24-часовой выдержки тест-объектов в бактерицидине. Изучали также влияние pH среды (в диапазоне 3,0-8,0) на бактерицидную активность препарата в отношении эталонных культур *E. coli* (штамм 1257), *S. aureus* (штамм 906) и *K. pneumoniae* (штамм 12) при экспозициях от 5 до 120 мин. В экспериментах использованы растворы бактерицидина в разведениях 1:2, 1:5 и без разведений.

Для культивирования изученных микроорганизмов использовали мясо-пептонный агар (МПА) и бульон (МПБ). Посевы с культурами выращивали в термостате при 37° в течение 7 суток МПБ и 48 ч МПА. О росте судили по помутнению бульона и типичным колониям на соответствующей твердой питательной среде. Окончательные результаты учитывали после микроскопирования мазков, приготовленных из проросших колоний.

Влияние изменений среды на активность исследуемого препарата изучали при значениях pH 3,0, 6,5, 7,0, 8,0. Для подкисления растворов использовали лецитинормальный раствор соляной кислоты, а для подщелачивания - 10%-ный раствор едкого калия. Концентрацию водородных ионов в растворах определяли потенциометрическим методом.

Контролем во всех экспериментах служили соответствующие растворы хлорамина, с содержанием 28% активного хлора в сухом хлорамине.

Антибиотикочувствительность выделенных от больных штаммов *S. typhimurium*, *Y. enterocolitica*, *S. flexneri* 2a, *P. vulgaris*, *P. mirabilis* изучали в отношении 14 антибиотиков (амикацин, ампициллин, гентамицин, канамицин, карбенициллин, левомицетин, неграмон, полимиксин, рифампицин, неомицин, стрептомицин, тетрациклин, тобрамицин, цефалотин) по общепринятому методу [8]. Перечисленные микроорганизмы проявляют резистентность к 5 и более антибиотикам.

Результаты и обсуждение. Данные по изучению чувствительности устойчивых бактерий к неразбавленному бактерицидину в зависимости от экспозиций и плотности микробной суспензии, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что бактерицидин при плотностях микробной суспензии 100 тыс., 1 млн и 10 млн микробных тел в 1 мл (м.т./мл), при значении pH 6,5, обладает бактерицидным действием в отношении всех изученных штаммов в течение 10-60 мин. При микробной нагрузке 100 млн и 500 млн препарат оказывает бактерицидное действие только в отношении эталонных штаммов *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* в течение 35-60 мин.

Согласно данным табл. 1, с повышением плотности микробной нагрузки удлиняются сроки экспозиции бактерицидного действия препарата. Так, при микробной нагрузке 100 тыс. м.т./мл бактерицидное действие препарата проявляется от 10 до 40 мин, при 1 млн - от 20 до 50 мин, при 10 млн - от 25 до 60 мин, а при 100- и 500 млн м.т./мл бактерицидному действию подвергаются лишь *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*.

Таблица 1. Чувствительность хлорамино- и антибиотикорезистентных микроорганизмов к неразбавленному бактерицидину, в зависимости от экспозиции и плотности микробной суспензии при pH=6,5

Микроорганизмы	Плотность микробной суспензии, м.т./мл				
	100.000	1 млн.	10 млн.	100 млн.	500 млн.
	Время гибели микроорганизмов, мин.				
<i>E. coli</i>	20	30	40	55	60
<i>S. aureus</i>	15	25	30	45	55
<i>K. pneumoniae</i>	10	20	25	35	45
<i>S. typhimurium</i>	40	50	60	>60	>60
<i>Y. enterocolitica</i>	35	45	55	>60	>60
<i>S. flexneri 2a</i>	20	35	45	>60	>60
<i>P. vulgaris</i>	15	25	40	>60	>60
<i>P. mirabilis</i>	15	25	35	>60	>60

Примечание: >60 - бактерицидин не оказывает губительного воздействия на микроорганизмы в течение 60 мин.

При более длительной экспозиции, в частности, 6- и 24-часовой выдержке тест-объектов в бактерицидине препарат действует губительно на изученные микроорганизмы не только при вышеуказанных плотностях микробной суспензии, но и при 1 и 2 млрд. микробной нагрузке (табл. 2).

Таблица 2. Зависимость бактерицидной активности бактерицидина при высокой плотности микробной суспензии и экспозиций 6 и 24 часа

Микроорганизмы	Плотность микробной суспензии, м.т./мл			
	100 млн	500 млн	1 млрд	2 млрд
	Время гибели микроорганизмов, ч			
<i>E. coli</i>	*	*	24	24
<i>S. aureus</i>	*	*	24	24
<i>K. pneumoniae</i>	*	*	6	6
<i>S. typhimurium</i>	6	24	24	
<i>P. mirabilis</i>	6	24	24	24
<i>P. vulgaris</i>	6	24	24	24
<i>S. flexneri 2a</i>	6	24	24	24
<i>Y. enterocolitica</i>	6	6	6	24

Примечание: * - не испытывали.

Нами было установлено также, что при микробной нагрузке 100 тыс. м.т./мл разбавленный водой бактерицидин в разведении 1:2 оказывает бактерицидное действие в отношении всех испытанных микроорганизмов (кроме *S. typhimurium*) в более поздние сроки экспозиции (45-60 мин), которые удлиняются в 1,5-4,5 раза (табл. 3).

Следует отметить, что наиболее чувствительными к бактерицидину являются *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, которые под воздействием неразбавленного препарата погибают в течение 10-20 мин.

При изучении влияний изменений pH среды (в диапазоне pH 3.0-8.0) на бактерицидную активность бактерицидина в отношении эталонных культур *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, проведенных при микробной нагрузке 100 тыс. м.т./мл, выявлено, что бактерицидное действие как неразбавленного,

так и разбавленного (1:2, 1:5) препарата зависит от степени разбавления и различных значений pH среды (табл. 4).

Таблица 3. Сравнительные показатели чувствительности бактерий к разведенному и неразбавленному бактерицидину при микробной нагрузке 100 тыс. м.т./мл

Микроорганизмы	разведение 1:2	неразбавленный
	Время гибели микроорганизмов, мин	
<i>E. coli</i>	60	20
<i>S. aureus</i>	50	15
<i>K. pneumoniae</i>	45	10
<i>S. typhimurium</i>	>60	40
<i>P. mirabilis</i>	55	35
<i>P. vulgaris</i>	50	20
<i>S. flexneri 2a</i>	45	15
<i>Y. enterocolitica</i>	45	15

Примечание: >60 - бактерицидин не оказывает губительного воздействия на микроорганизмы в течение 60 мин.

Таблица 4. Бактерицидная активность бактерицидина при различных значениях pH среды

Микроорганизмы	рН среды											
	3.0			6.5			7.0			8.0		
	Разведения и время гибели микроорганизмов, мин											
	н/р*	1:2	1:5	н/р	1:2	1:5	н/р	1:2	1:5	н/р	1:2	1:5
<i>E. coli</i>	30	70	90	15	55	70	20	60	100	35	80	120
<i>S. aureus</i>	25	55	85	10	45	60	15	50	90	30	65	100
<i>K. pneumoniae</i>	20	35	60	5	30	45	10	45	70	25	50	80

Примечание: *н/р - неразбавленный бактерицидин

Наилучшее бактерицидное действие бактерицидина как неразбавленного, так и разведенного (1:2, 1:5), проявляется при значениях pH 6.5 и 7.0.

Таким образом, результаты исследований показали, что биологически активный стимулятор бактерицидин («Hongo»), разработанный на основе культуральной жидкости чайного гриба, обладает выраженным бактерицидным действием в отношении антибиотико- и хлораминорезистентных грамположительных, грамотрицательных микроорганизмов. Он может быть применен в качестве эффективного средства для профилактики и лечения больных кишечными инфекциями.

ЛИТЕРАТУРА

- Алексанян Ю.Т., Гукасян Г.Б., Мкртчян А.Е., Арутюнян Н.М., Бабалян Ж.Е., Хачатрян Т.С., Мамиконян К.Л., Лалаян А.А., Цаканян А.В., Ханджян Г.Ж., Аракелян Р.С., Маргарян А.В., Аветисян А.Р., Казарян А.Э., Погосян К.П. Мат. научн. конф. НИИ ЭВ и МП им. А.Б. Алексаняна, 55-57, Ереван, 1996.
- Генчиков Л.А., Бусуек Г.П., Володина Н.И. ЖМЭИ, 3, 103-105, 1996.
- Гукасян Г.Б., Саркисян А.С., Кушкян А.М., Алексанян Ю.Т. Тез. Докл. 2

- Российской научно-практической конф. «Внутрибольничные инфекции - проблемы эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики», 79-80, М., 1999.
4. Даниелян Л.Т. В кн.: Чайный гриб, 135, изд-во «Айастан», Ереван, 1993.
 5. Инструкция по определению бактерицидных свойств новых дезинфицирующих средств № 739-68. МЗ СССР, 1968.
 6. Красильников А.Н., Гудкова Е.И. ЖМЭИ, 5, 22-28, 1993.
 7. Пхакадзе Т.А., Богомолова Н.С., Большаков Л.В. Эпидемиология и инф. болезни, 1, 26-30, 1998.
 8. Рожнова С.Ш. Метод. указ. по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями. М., 1984.
 9. Шандала М.Г. Эпидемиология и инфекционные болезни, 1, 12-14, 1996.
 10. Altekhruse S.T., Cohen M.L., Swerdlow P.L. Emerg. Infect. Dis., 3, 285-293, 1997.
 11. Garmer J., William R., Emori G., Horan T. Hyghes J. Определения внутрибольничных инфекций, разработанных ЦКЗ (под ред. Бурганской Е.А.) основы инфекционного контроля. Атланта, Джоргия, 17-21, 1997.

Поступила 10.VI.2000

ПРОЛИНОКСИДАЗА И ПИРРОЛИН-5-КАРБОКСИЛАТ ДЕГИДРОГЕНАЗА ФАСОЛЕВОЙ ЗЕРНОВКИ И ИХ РЕГУЛЯТОРНЫЕ СВОЙСТВА

М.С. МАРТИРОСЯН, А.Х. АГАДЖАНИЯ

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375049

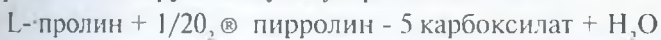
Выявлена роль аргинина в качестве модулятора пролиноксидазы (ПО) и пирролин-5-карбоксилат дегидрогеназы (П5КД). Низкие концентрации его стимулируют активность ферментов, а высокие, наоборот, полностью ингибируют их активность. Обнаружена сильная стимуляция активности ферментов катаболизма пролина L-цитруллин как с НАД⁺, так и с НАДФ⁺. Установлено, что глюкоза и фруктоза являются отрицательными модуляторами ПО и П5КД. Удалось 50% активности ферментов личинок и 25% активности ферментов жуков перевести из осадка в надосадок. Фракционированием пролиноксидазы сульфатом аммония активность фермента обнаружена в осадочной фракции 30%-ного насыщения гомогената.

Ցույց է տրվել արգինինի դերը որպես պրոլինօքսիդազի (ՊՕ) և պիրրոլին-5-կարբօքսիլատ դեհիդրոգենազի մոդուլատոր: Նրա ցածր կոնցենտրացիաները խթանում են ֆերմենտների ակտիվությունը, իսկ բարձր կոնցենտրացիաները ընդհակառակը ճնշում նրանց ակտիվությունը: Հայտնաբերվել է ֆերմենտների ակտիվության ուժեղ խթանում ցիտրուլինով ինչպես օքսիդացված ՆԱԴ-ի, այնպես էլ ՆԱԴՖ-ի մասնակցությամբ: Հաստատվել է, որ գլյուկոզը և ֆրուկտոզը համարվում են ՊՕ-ի և Պ5ԿԴ-ի բացասական մոդուլատորներ: Հաջողվել է թրթուրների ֆերմենտի ակտիվության 50% և բզեզների ֆերմենտի ակտիվության 25% անցկացնել նստվածքից վերստվածք: Տարբեր հագեցմամբ ամոնիումի սուլֆատով ֆրակցիոնացնելիս պրոլինօքսիդազի ակտիվությունը հայտնաբերվել է 30% հագեցման տիրույթում:

The role of arginin has been defined as a modulator of proline oxidase (PO) and pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase. Low concentration of arginin stimulates the activity of enzymes, whereas its high concentration depress its activity. High stimulation of enzymes of proline degradation activity has been observed both with citrulline and NAD⁺ and NADP⁺. 25% of enzyme activity of beetles and 50% of enzyme activity of larvae has been successfully transferred from sediment into supernatant. This enzyme has been discovered in the supernatant fraction of 30% saturated homogenate during fractionation of proline oxidase with sulphate ammonium.

*Фасолевая зерновка - пролиноксидаза - пирролин-5-карбоксилат
дегидрогеназа - эффекторы катаболизма*

Окисление пролина осуществляется пролиноксидазой (ПО) и пирролин-5-карбоксилат дегидрогеназой (П5КД). ПО, используя в качестве акцептора кислород, катализирует следующую реакцию:



ПО найдена и очищена в 300 раз у бактерий, дрожжей и животных [3]. Фермент ассоциирован с мембранами митохондрий и рибосом и находится в тесной связи с дыхательной цепью. По мнению некоторых исследователей [5], пирролин-5-карбоксилат редуктаза в зависимости от величины pH, соответствующего пула пиримидиновых нуклеотидов и других условий реакции может работать или в направлении биосинтеза, или катаболизма пролина как

пролиндегидрогеназа. Предполагается, что способность фермента осуществлять прямую и обратную реакции обусловлена существованием у него двух каталитических центров связывания для субстратов (пролина и пирролин-5-карбоксилата) и одного - для пиримидиновых нуклеотидов. К этому выводу пришли на основе исследования ферментов у пшеницы и тыквы [8].

Превращение пирролин-5-карбоксилата в глутамат катализируется П5КД по следующей реакции:



Регуляция катаболизма пролина подробно изучена у *Pseudomonas aeruginosa* [7]. Установлено, что в среде роста с пролином и глутаматом полностью отсутствует пролиндегидрогеназа (ПДГ) и обнаружена только активная НАД - зависимая П5КД. При наличии в среде орнитина активность последнего у про - мутантов увеличивается в 3-45 раз.

Настоящая работа посвящена изучению некоторых регуляторных возможностей ферментов окисления пролина - ПО и П5КД у фасолевой зерновки.

Материал и методика. Объектами исследования служили личинки, куколки и жуки фасолевой зерновки *Acanthoscelides obtectus* Say. Гомогенизацию проводили в 0.1 М калий - фосфатном буфере (рН 8.0). Инкубационная среда для определения ПО и П5КД содержала 53 мМ калий - фосфатного буфера (рН 8.0), 0.2 мМ L-пролина, 1.6 мкМ цитохрома С и 4 мкМ НАД⁺. Инкубацию проводили при 37° в течение 60 мин. Реакцию останавливали добавлением 96% - ного охлажденного этанола в соотношении 1:1. Осадок удаляли центрифугированием при 10000 об/мин в течение 10 мин.

Об активности ПО и П5КД судили по синтезированному глутамату, содержание которого определяли методом бумажной хроматографии. Определение плотности окраски проводили путем фотометрирования на фотоколориметре типа КФК - 2 с зеленым фильтром.

Результаты и обсуждение. Нами изучено влияние различных концентраций L-арг на активность ПО и П5КД у жуков фасолевой зерновки.

Выявлено, что L-арг при низких концентрациях стимулирует активность ферментов катаболизма пролина (табл. 1). При сравнительно высоких концентрациях его (10⁻⁴М) стимуляция активности ферментов не происходит. Согласно данным нашей лаборатории, более высокие концентрации арг приводят к полному ингибированию активности ПО и П5КД. Очевидно, аргинин является модулятором ферментов окисления пролина, оказывая положительный эффект при низких концентрациях и отрицательный - при высоких [2].

Установлен также факт стимулирования активности ПО и П5КД L-цитруллином (табл. 2).

Согласно полученным данным, в инкубационной среде L-цитруллин, как с окисленным кофактором НАД⁺, так и с НАДФ⁺ в одинаковой степени сильно стимулирует активность ферментов катаболизма пролина.

Таким образом, как аргинин, так и цитруллин оказывают стимулирующее влияние на активность ПО и П5КД у жуков фасолевой

зерновки. Это может служить основой для препаратного получения ПО из насекомых, активность у которых более чем в 200 раз превышает таковую мозга крыс [1].

Таблица 1. Влияние различных концентраций L-арг на активность ПО и П5КД у жуков фасоловой зерновки, мкМ глу на 1 г ткани

Варианты	Концентрация L-арг, М	Активность
Опыт		12.9 ± 1.2
L-арг	$1 \cdot 10^{-6}$	15.2 ± 1.3
"	$1 \cdot 10^{-5}$	14.7 ± 1.3
"	$3 \cdot 10^{-5}$	14.2 ± 1.4
"	$5 \cdot 10^{-5}$	14.7 ± 1.3
"	$1 \cdot 10^{-4}$	12.4 ± 1.2

Таблица 2. Стимулирование активности ПО и П5КД в митохондриях жуков L-цитруллином (10^{-6}), мкМ глу на 1 г ткани

Система	Активность ПО и П5КД
L- цитрул. без кофакт.	0.0
L- цитрул.+НАД'	15.0 ± 1.4
L- цитрул.+НАДФ ⁺	15.0 ± 1.3

В следующей серии экспериментов изучали влияние различных концентраций глюкозы и фруктозы на активность ферментов окисления пролина у жуков фасоловой зерновки (табл. 3).

Таблица 3. Влияние различных концентраций глюкозы и фруктозы на активность ПО и П5КД у жуков фасоловой зерновки, мкМ глу на 1 г ткани

Варианты	Концентрация, М	Активность ПО и П5КД
Полная среда		18.9 ± 1.9
Глюкоза	$1 \cdot 10^{-6}$	16.6 ± 1.7
	$1 \cdot 10^{-5}$	14.4 ± 1.9
	$5 \cdot 10^{-5}$	10.3 ± 1.1
	$1 \cdot 10^{-4}$	6.2 ± 0.9
Фруктоза	$1 \cdot 10^{-6}$	15.7 ± 1.6
	$1 \cdot 10^{-5}$	13.2 ± 1.4
	$5 \cdot 10^{-5}$	9.3 ± 1.0
	$1 \cdot 10^{-4}$	5.6 ± 0.5

Полученные данные показывают, что исследованные моносахариды при всех изученных концентрациях подавляют активность ферментов катаболизма пролина. Причем с повышением их концентраций активность ферментов постепенно снижается и при концентрации глюкозы и фруктозы 10^{-4} М активность ферментов подавляется примерно на 70%.

Возникает вопрос: является ли подавление активности ПО и П5КД результатом конкуренции между гликолизом и окислением пролина. Следующая серия экспериментов дала окончательный ответ на этот вопрос. Мы проследили за динамикой расхода глюкозы в инкубационной среде, определяя содержание ее по методу Хагедорна- Йенсена. Полученные

данные приведены в табл. 4.

Таблица 4. Динамика расхода глюкозы в инкубационной среде у личинок фасолевой зерновки

Варианты	Кол-во глюкозы, введенной в инкубационную среду, мг	Кол-во сахара, определенное по методу Хagedорна-Йенсена, мг
Опыт	-	0,04
1. ОП+глюкоза	0.02	0.05
2. 	0.20	0.36
3. 	1.0	1.07
4. 	2.0	2.78

Установлено, что в инкубационной среде не происходит уменьшение содержания глюкозы, скорее, наоборот, обнаруживается некоторое увеличение ее содержания. Но это увеличение можно даже приписать к погрешностям метода определения глюкозы. Таким образом, можно предположить, что глюкоза и фруктоза при высоких концентрациях (10^{-4} М) являются отрицательными модуляторами ферментов окисления пролина.

Далее нами сделаны попытки изолировать ПО и П5КД с помощью гельфильтрации. Следует отметить, что некоторые авторы пытались очистить ПО, однако их работы не увенчались успехом. Обработка митохондрий печени животных тритоном $\times 100$ и фракционирование экстракта привело к разделению активности ПО от активности 4-гидроксипролиноксидазы [4]. Авторы заключают, что ПО не поддается очистке.

Мы применяли различные системы для перевода ПО и П5КД из осадочной фракции в надосадочную.

Как видно, 50% активности ферментов личинок и 25% активности ферментов жуков с помощью калий-фосфатного буфера переведены из осадка в надосадок (табл. 5).

Таблица 5. Применение различных систем для перевода ферментов окисления пролина из осадка в надосадочную жидкость у жуков и личинок фасолевой зерновки, мкМ глу на 1 г ткани

Растворитель ферментов		Фракции		
		Целый гомогенат	Осадок	Надосадок
Жуки	EDTA+KCl	15.5 $\pm$ 1.4	13.4 $\pm$ 1.2	2.7 $\pm$ 0.14
	Калий-фосфатный буфер, pH 8.0	19.4 $\pm$ 1.7	15.3 $\pm$ 1.4	4.7 $\pm$ 0.35
Личинки	EDTA+KCl	8.8 $\pm$ 0.72	4.5 $\pm$ 0.31	2.1 $\pm$ 0.18
	Калий-фосфатный буфер, pH 8.0	12.1 $\pm$ 0.98	7.3 $\pm$ 0.65	6.7 $\pm$ 0.61

Смесь EDTA+KCl в этом отношении значительно уступает калий-фосфатному буферу.

Осуществлено фракционирование ферментов окисления пролина сульфатом аммония на различных стадиях метаморфоза фасолевой зерновки.

Таблица 6. Фракционирование ПО и П5КД сульфатом аммония на различных стадиях метаморфоза фасолевой зерновки, мкМ глу на 1 г ткани

Степень насыщения гомогената сульфатом аммония, %	Активность ПО и П5КД		
	Личинки	Куколки	Жуки
30	13.3±1.3	8.6±0.71	23.4±1.8
50	1.2±0.1	0.8±0.05	2.1±0.2
65			

Как видно из табл. 6, на всех стадиях метаморфоза фасолевой зерновки ферменты окисления пролина осаждаются при 30%-ном насыщении гомогената и обнаруживаются в осадочной фракции.

Нам не удалось обнаружить активность ферментов катаболизма пролина в осадках, полученных при 50% и 65%-ном насыщении сульфатом аммония.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.Х. Док. дисс., Ереван, 1990.
2. Гукасян Дж. Г., Агаджанян А.Х. Биол. журн. Армении, 41, 4, 307-312, 1988.
3. Adams E., Frank L. Ann. Rev. Biochem., 49, 1005, 1980.
4. Kramar R., Fitscha P. Enzymologia, 39, 101-108, 1970.
5. Krishna R.V., Belstein P., Leisinger T. Biochem. J., 181, 1, 223, 1979.
6. Mazelis M., Creveling R.K. Phytochemistry, 13, 3, 559, 1974.
7. Meile L., Soldati L. Leinsinger. Arch. Microbiol., 132, 182-189, 1982.
8. Rena A.B., Splittstoesser W.E. Phytochemistry, 14, 3, 657, 1975.

Поступила 16.IV.2001

ФЕРМЕНТЫ БИОСИНТЕЗА ПРОЛИНА В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ САЗАНА *CYPRINUS CARPIO*

А.Х. АГАДЖАНИЯН, З.С. МИНАСЯН, М.А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, 375049

Установлено, что максимальная активность ферментов биосинтеза пролина обнаруживается в почках сазана. Во всех органах эффективное трансаминирование орнитина происходит с α -КГ (кетоглютарат), а в сердце и жабрах трансаминирование с пируватом и оксалоацетатом не происходит. По сравнению с НАДН, НАДФН как кофактор пирролин-5-карбоксилат редуктазы (П5КР) гораздо эффективен. Ферменты биосинтеза пролина почек и печени сазана резко отличаются по влиянию на них ионов двухвалентных металлов. При гельфильтрации на сефадексе G-150 в почках сазана обнаружено по два изофермента орнитин- α -трансаминаза (ОТ) и П5КР.

Հաստատվել է, որ պրոլինի կենսասինթեզին մասնակցող ֆերմենտները մաքսիմալ ակտիվություն ցուցաբերում են ծածան ձկան երիկամներում: Բոլոր օրգաններում էֆեկտիվ տրանսամինացում տեղի է ունենում α -ԿԳ-ից, սակայն սրտում և խոզիկներում պիրուվատով և օքսալոացետատով տրանսամինացում տեղի չի ունենում: Պիրոլին-5-կարբօքսիլատ ռեդուկտազի (Պ5ԿՐ) համար առավել էֆեկտիվ կոֆակտոր է համարվում ՆԱԴՖԻ, քան ՆԱԴԻ: Ծածան ձկան երիկամների և լյարդի պրոլինի կենսասինթեզին մասնակցող ֆերմենտները եապես տարբերվում են մետաղների իոնների նկատմամբ ցուցաբերած հատկություններով: Սեֆադեքսով հելֆիլտրացիայի միջոցով ծածան ձկան երիկամում հայտնաբերվել են օրնիտին- α -տրանսամինազի (ՕՏ) և Պ5ԿՐ-ի համար երկուական իզոֆերմենտ:

It has been approved that the enzymes of proline biosynthesis manifest maximal activity in the kidney of sazan. Effective transamination in all organs occurs with α -CG, but transamination with pyruvate and oxaloacetate doesn't occur in the heart and in the gills. NADPH is more effective cofactor for pyrroline-5-carboxylate reductase (P5CR) than NADH. The enzymes of proline biosynthesis in the kidney and in the liver of sazan considerably differ in terms of influence of various iron's ions. Pairwise isoenzymes of ornithine- α -transaminase (OT) and P5CR have been discovered during gel filtration with sefadex in the kidney of sazan.

*Пролин - орнитин- α -трансаминаза - пирролин-5-карбоксилат редуктаза -
почки - печень - сазан*

Биосинтез пролина у микроорганизмов, растений и животных осуществляется двумя известными путями: глутаматным и орнитиновым, включающим образование пролина из аргинина и цитруллина. Начальные реакции обеих путей приводят к образованию общих ключевых промежуточных продуктов: L- полуальдегида глутаминовой кислоты и продукта его спонтанной циклизации L-пирролин-5-карбоксилата (П5К). Предшественник пролина орнитин по сравнению с глутаминовой кислотой изучен хорошо. Данные по биосинтезу пролина у рыб отсутствуют.

Синтез пролина из орнитина и глутамата в митохондриях, выделенных из падальной мухи *Aldrichino grahani*, изучен Вадано [7]. Было осуществлено клонирование человеческой П5КС (пирролин-5-карбоксилат синтаза),

бифункционального энзима, имеющего γ -глутамилиназную и глутамилфосфатредуктазную активность. Данный регион ДНК длиной 26907 Да кодирует полипептид с 795 аминокислотными остатками. Были определены заболевания человека, причиной которых является дефицит фермента: общая гиперлаксация, кожная эластичность, катаракта, умственная отсталость с гипераммонемией, низкое содержание пролина, цитруллина [5].

Из хрусталика глаза быка и крысы выделена и очищена почти до гомогенного состояния П5КР. Установлено, что фермент у последних состоит из восьми субъединиц с молекулярной массой каждой до 300 000.

П5КР в качестве кофактора использует либо НАДН, либо НАДФН, а иногда оба кофактора. Так, для высокоочищенной П5КР из *Clostridium* кофактором служит НАДН [4].

Доказано превращение аргинина в пролин в молочной железе лактирующих крыс [8].

Была выявлена взаимосвязь между аргиназой и ферментами биосинтеза пролина у тутового шелкопряда [3].

Наша работа посвящена изучению влияния различных эффекторов на ферменты биосинтеза пролина в различных органах сазана *Cyprinus carpio*.

Материал и методика. Объектом исследований служила рыба сазан (*Cyprinus carpio*) семейства карповых отряда карпообразных массой от одного до полутора кг.

Инкубационная смесь (3 мл) содержала 100 мкмоль L-орн, 20 мкмоль α -КГ, 100 мкмоль калий-фосфатного буфера pH-7.6 и 0.5 мл гомогената. Инкубацию проводили при 38° в течение 1 часа. За это время *про* среды под действием ОТ превращался в П5К. Затем в среду добавляли 4 мкмоль НАДН и 0.5 мл свежего гомогената, смесь инкубировали еще 15 мин. Под действием П5КР, присутствующей в гомогенате, П5К превращается в *про*. Реакцию останавливали 20%-ной ТХУ (если *про* определяли химическим методом). Пробы центрифугировали при 8000 об/мин в течение 10 мин, после чего определяли *про* как хроматографическим, так и химическим методом.

Химическое определение *про* проводили по Блюменкрантцу [6]. Чувствительность метода составляла 1 мкг. К 1 мл образца добавляли 1 мл нингидринового реагента (3 г нингидрина в 180 мл ледяной уксусной кислоты и 20 мл формалина). Смесь кипятили 1 мин при 100° или 4 мин при 75°, охлаждали льдом и измеряли окраску на ФЭК при 470 нм. В качестве стандарта применяли *про* в концентрации 2 мкг/мл.

Осаждение проводили 30%-ным сульфатом аммония. После центрифугирования в оставшийся остаток добавляли 45%-ный сульфат аммония, а затем 60%-ный.

Гель-фильтрацию экстрактов для изучения изоэнзимного спектра ферментов биосинтеза *про*, полученных после 30-минутного центрифугирования при 25000 об/мин, проводили на колонке с сефадексом (G-150). На колонку наносили 3-4 мл экстракта 5%-ного гомогената. Уравновешивание и элюцию осуществляли 0.005M трис - HCl буфером, pH 7.4. Скорость элюции - 30 мм/час, объем фракций - 5 мл.

Результаты и обсуждение. Нами изучено влияние концентрации гомогената почек на активность ферментов биосинтеза пролина.

Выявлено, что максимальный выход фермента достигается при 5%-ной концентрации гомогената (табл. 1). В дальнейших экспериментах нами использован именно 5%-ный гомогенат.

В следующей серии экспериментов изучали ферменты биосинтеза пролина (ОТ и П5КР) в различных органах сазана. Полученные данные (табл.

2) свидетельствуют о том, что активность ферментов в почках в 15 раз превышает таковую в изученных органах (печень, сердце, жабры, кровь). Минимальную активность обнаружили в крови (0.32 мкМ).

Таблица 1. Влияние концентраций гомогената почек на активность ферментов биосинтеза пролина, мкМ на 1 г свежей ткани

Концентрация гомогената, %	Активность
5	6.7±0.5
10	3.9±0.3
15	2.7±0.3
20	2.7±0.4

Сравнивая эти данные с имеющимися в литературе, можно заметить, что активность ферментов биосинтеза пролина в почках сазана почти в 4-5 раз ниже, чем таковая в почках крыс, а активность ферментов в печени ниже почти на один порядок [2].

Таблица 2. Ферменты биосинтеза пролина в различных органах сазана, мкМ на 1 г свежей ткани

Органы и ткани	Активность
Почки	6.5±0.4
Печень	0.42±0.05
Сердце	0.74±0.07
Жабры	0.42±0.04
Кровь	0.32±0.03

Нами изучена внутриклеточная локализация ферментов биосинтеза пролина почек сазана (табл. 3).

Таблица 3. Внутриклеточная локализация ферментов биосинтеза пролина почек, мкМ на 1 г свежей ткани

Фракции	Активность
Гомогенат	6.2±0.4
Надосадок	4.7±0.2
Осадок	0.76±0.05

Данные таблицы показывают, что ферменты биосинтеза пролина обнаруживаются в надосадочной фракции гомогената, полученной при центрифугировании 27000g.

В следующей серии экспериментов изучали влияние различных субстратов на активность биосинтеза пролина в различных органах сазана (табл. 4).

Согласно данным табл., процесс биосинтеза пролина во всех органах сазана протекает с наибольшей эффективностью, когда субстратами для него служат орнитин и α-КГ. Наименьшая активность обнаруживается, когда в качестве кетокислоты выступает щавелево-уксусная кислота (ЩУК). В сердце и жабрах биосинтез пролина с пируватом и ЩУК не осуществляется. Таким

образом, из изученных органов лишь в почках протекает интенсивный биосинтез пролина в присутствии изученных нами кетокислот. Эти данные полностью согласуются с данными нашей лаборатории, полученными при изучении различных органов нормальных, беременных и лактирующих крыс [1].

Таблица 4. Влияние различных кетокислот на активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах сазана, мкМ на 1 г свежей ткани

Органы	Субстраты	Активность
Почки	Орнитин, αКГ	6.1 ± 0.3
	Орнитин, пируват	1.8 ± 0.1
	Орнитин ШУК	0.25 ± 0.01
Печень	Орнитин, αКГ	0.69 ± 0.03
	Орнитин, пируват	0.39 ± 0.02
	Орнитин ШУК	0
Сердце	Орнитин, αКГ	0.9 ± 0.06
	Орнитин, пируват	0
	Орнитин ШУК	0
Жабры	Орнитин, αКГ	0.64 ± 0.03
	Орнитин, пируват	0
	Орнитин ШУК	0

Данные таблицы показывают, что трансминирование орнитина во всех органах сазана интенсивно осуществляется с α-КГ, а в сердце и в жабрах с пируватом и оксалоацетатом вовсе не осуществляется. В почках сазана орнитин трансминирован с исследованными нами кетокислотами.

Далее изучалось влияние кофакторов НАДН и НАДФН на активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах сазана (табл. 5).

Таблица 5. Влияние различных кофакторов на активность ферментов биосинтеза пролина в различных органах сазана, мкМ на 1 г живой ткани

Органы	Кофакторы	Активность
Почки	НАДН	5.28 ± 0.3
	НАДФН	8.14 ± 0.06
Печень	НАДН	0.71 ± 0.06
	НАДФН	1.59 ± 0.1
Сердце	НАДН	1.14 ± 0.07
	НАДФН	1.37 ± 0.09
Жабры	НАДН	0.7 ± 0.06
	НАДФН	1.14 ± 0.08
Мозг	НАДН	0
	НАДФН	1.36 ± 0.09

Во всех органах без исключения НАДФН служил лучшим кофактором фермента П5КР по сравнению с НАДН, более того, в мозгу сазана с НАДН фермент не проявлял никакой активности.

Мы изучали также влияние кофакторов на проявление ферментов биосинтеза пролина почек и печени во фракциях гомогената, полученных осаждением сульфатом аммония. Полученные данные приведены в табл. 6, 7.

По данным таблиц, преимущество НАДФН как кофактора, очевидна и во фракциях, полученных осаждением сульфатом аммония. Максимальная активность биосинтеза пролина обнаруживается при 30%-ном осаждении, причем активность ферментов биосинтеза пролина в почках в надосадке 30%-ной фракции в 2 раза превышает таковую в осадке. А в печени даже активность надосадочной фракции несколько уступает таковой в осадке. Таким образом, выявляется различное проявление свойств ферментов биосинтеза пролина почек и печени.

Таблица 6. Влияние различных кофакторов на ферменты биосинтеза пролина почек сазана во фракциях, полученных осаждением сульфатом аммония

Степень насыщения сульфатом аммония, %	Фракции	Кофакторы	Активность	Распредел. активностей, %
30	Гомогенат	НАДН	6.5±0.6	100
		НАДФН	9.7±0.8	100
	Осадок	НАДН	0.7±0.06	10.8
		НАДФН	2.0±0.07	20.6
45	Надосадок	НАДН	0.56±0.04	8.6
		НАДФН	1.8±0.1	18.6
	Осадок	НАДН	0.57±0.04	8.8
		НАДФН	0.9±0.06	9.3
60	Надосадок	НАДН	0.5±0.03	7.7
		НАДФН	0.76±0.06	7.8
	Осадок	НАДН	0.56±0.04	8.6
		НАДФН	0.8±0.05	8.2
	Надосадок	НАДН	0.4±0.03	6.2
		НАДФН	1.0±0.08	10.3

Таблица 7. Влияние различных кофакторов на ферменты биосинтеза пролина печени сазана во фракциях, полученных осаждением сульфата аммония, мкМ на 1 г свежей ткани

Степень насыщения сульфатом аммония, %	Фракции	Кофакторы	Активность	Распредел. активностей, %
30	Гомогенат	НАДН	0.93±0.07	100
		НАДФН	2.1±0.15	100
	Осадок	НАДН	0.25±0.015	27.8
		НАДФН	0.52±0.04	24.8
45	Надосадок	НАДН	0.31±0.025	34.4
		НАДФН	0.47±0.03	22.4
	Осадок	НАДН	0.17±0.013	18.9
		НАДФН	0.73±0.06	34.8
60	Надосадок	НАДН	0	0
		НАДФН	0.17±0.013	8.1
	Осадок	НАДН	0.08±0.007	8.9
		НАДФН	0.13±0.011	6.2
	Надосадок	НАДН	0.04±0.005	4.4
		НАДФН	0.11±0.01	5.2

Ферменты биосинтеза пролина почек и печени сазана отличаются также

тем, что в печени их активность обнаруживается в 2.5 раза больше при 30%-ном осаждении по сравнению с активностью (20%) в почках.

Полученные данные показывают, что в почках сазана все изученные нами ионы (за исключением кобальта) стимулируют активность ферментов биосинтеза пролина, в печени же, за исключением марганца, все остальные ионы либо не стимулируют, либо ингибируют указанные ферментативные активности (табл. 8).

Таблица 8. Влияние ионов различных металлов на ферменты биосинтеза пролина в печени и почках сазана, мкМ на 1 г свежей ткани

Органы	Ионы металлов	Концентрация, мкМ	Активность
Почки	Опыт	5	6.4±0.5
	Mn ²⁺	5	8.8±0.8
	Cd ²⁺	5	8.8±0.7
	Fe ²⁺	5	8.1±0.6
	Fe ³⁺	5	8.8±0.8
	Co ²⁺	5	6.4±0.4
Печень	Опыт	5	0.7±0.04
	Mn ²⁺	5	1.05±0.08
	Cd ²⁺	5	0.7±0.03
	Fe ²⁺	5	0
	Fe ³⁺	5	0
	Co ²⁺	5	0

В следующей серии экспериментов изучалось влияние различных концентраций ионов металлов (Cd²⁺, Mn²⁺) на ферменты биосинтеза пролина в почках и в печени сазана (табл. 9).

Таблица 9. Влияние различных концентрации ионов металлов на ферменты биосинтеза пролина в печени и почках сазана, мкМ на 1 г свежей ткани

Органы	Ионы	Концентрация, мкМ	Активность
Почки		Опыт	6.0±0.5
	Cd ²⁺	2	8.6±0.7
	Cd ²⁺	4	8.8±0.7
	Cd ²⁺	6	9.6±1.1
	Cd ²⁺	8	6.8±0.6
	Mn ²⁺	2	11.1±1.0
	Mn ²⁺	4	9.19±1.0
	Mn ²⁺	6	9.07±1.0
	Mn ²⁺	8	1.07±0.05
Печень		Опыт	0.77±0.04
	Cd ²⁺	2	2.68±0.2
	Cd ²⁺	4	2.86±0.3
	Cd ²⁺	6	0.71±0.03
	Cd ²⁺	8	2.68±0.2
	Mn ²⁺	2	11.3±1.1
	Mn ²⁺	4	1.83±0.08
	Mn ²⁺	6	1.77±0.09
	Mn ²⁺	8	0.77±0.04

Данные таблицы 9 свидетельствуют, что в печени минимальная активность ферментов биосинтеза пролина проявляется при 6 мкМ Cd²⁺.

Таблица 10. Использование различных изоэнзимов для биосинтеза пролина в почках сазана, мкМ на 1 г свежей ткани

Изоэнзимы		Активность
ОТ	П5КР	
I	I	0.16 ± 0.013
I	II	0.026 ± 0.0025
II	I	0.028 ± 0.003
II	II	0.01 ± 0.001

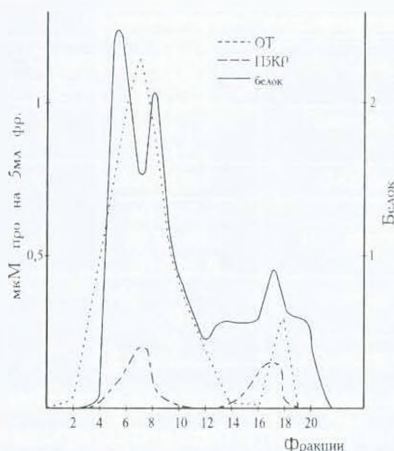


Рис. 1. Изоэнзимы ОТ и П5КР в почках сазана.

Ионы Mn^{2+} в почках при 8 мкМ на 90% ингибируют активность ферментов биосинтеза пролина. Подобное явление обнаруживается и при биосинтезе пролина печени. Однако ионы Mn^{2+} в концентрации 2 мкМ в наибольшей степени стимулируют активность биосинтеза как в почках, так и в печени. Дальнейшее увеличение концентрации этого двухвалентного металла приводит к подавлению активности ферментов биосинтеза пролина.

Для дополнительного уточнения наличия изоэнзимов биосинтеза пролина была воспроизведена система с использованием различных комбинаций ОТ и П5КР (табл. 10). Наиболее интенсивный синтез пролина наблюдался при совместном функционировании I изоэнзима ОТ с I изоэнзимом П5КР.

Мы изучали изоэнзимный спектр ОТ и П5КР при гель-фильтрации на сефадексе G150 (рис. 1).

Как видно из рис. 1, при гель-фильтрации обнаружены по два изоэнзима ОТ и П5КР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.Х., Арутюнян Л.М. Биолог. журн. Армении, 32, 12, 1179-1184, 1979.
2. Агаджанян А.Х., Давтян М.А. Биолог. журн. Армении, 27, 5, 19-23, 1974.
3. Давтян М.А., Агаджанян А.Х. Биолог. журн. Армении, 35, 8, 651-636, 1982.
4. Adams E. Biochem. 49, 1005-1061, 1980.
5. Aral B., Schlenzig J.S., Liu G., Kamoun P. C-R-Acag-Sci-III, 319, 171-178, 1996.
6. Blumenkrantz N. Clin. Biochem., 13, 177-183, 1980.
7. Wadano A. Experientia., 36, 1028-1029, 1980.
8. Yip M.C., Knox W.E. Biochem. J., 127, 893-899, 1972.

Поступила 04.XII.2000

О ВЫЩЕПЛЕНИИ УФ - ИНДУЦИРОВАННЫХ ПИРИМИДИНОВЫХ ДИМЕРОВ ИЗ ДНК КЛЕТОК НЕЙРОБЛАСТОМЫ И ФИБРОБЛАСТОВ МЫШИ

З.М. МАНУКЯН, К.Л. МАНУКЯН, Г.Г. ЖАМГАРЯН, К.Г. КАРАГЕЗЯН

Институт молекулярной биологии НАН РА, 375014, Ереван

Методом седиментации в щелочных градиентах сахарозы при использовании УФ-эндонуклеазы из *Micrococcus luteus* исследовалось выщепление УФ-индуцированных пиримидиновых димеров из ДНК клеток нейробластомы (субклон N-2a опухоли C-1300) и фибробластов (линия L₉₃₉) мыши. Показано, что в обеих клеточных линиях при действии УФ-света (10 Дж/м²) практически не происходит выщепления из ДНК основных летальных фотопродуктов - димеров пиримидиновых оснований.

Ուսումնասիրվել է սախարոզի ալկալիական գրադիենտներում *Micrococcus luteus*-ից ՈւՄ-էնդոնուկլեազի օգտագործմամբ սկզբնի նեյրոբլաստոմայի (C-1300 ուռուցքի N-2a ենթակլոն) և ֆիբրոբլաստոմների (L₉₃₉ գիծ) բջիջների ՊՆԹ-ից ՈւՄ-ինդուցված պիրիմիդինային դիմերների արտանդումը: Ցույց է տրվել, որ երկու բջջային զծերում ՈւՄ-ճառագայթման (10 Ջ/մ²) ազդեցությամբ գործնականում ՊՆԹ-ից հիմնական մահացու ֆոտոնյութերի պիրիմիդինային հիմքերի դիմերների արտանդում տեղի չի ունենում:

The excision of UV-induced pyrimidine dimers from DNA of mouse neuroblastoma (subclone N-2a of tumor C-1300) and fibroblasts (line L₉₃₉) cells was studied using the method of sedimentation in the sucrose alkaline gradients and the UV-endonuclease from *Micrococcus luteus*. It was shown, that in the cells investigated under the action of UV-light (10 J/m²) there was practically no excision from DNA the main lethal photo-products, the dimers of pyrimidine bases.

*Нейробластома - фибробласты - ДНК - пиримидиновые димеры - УФ-лучи -
УФ-эндонуклеаза - выщепление*

Известно, что при УФ-облучении клеток млекопитающих основными биологически важными летальными повреждениями, образующимися в ДНК, являются циклобутановые пиримидиновые димеры (ПД) [3, 8, 14]. Кроме ПД, в ДНК клеток образуется множество других продуктов [1, 3, 7], биологическая роль которых пока неизвестна. Репарация ДНК, поврежденной воздействием УФ-радиации, осуществляется путем выщепления ПД и последующего ресинтеза, т.е. эксцизионной репарацией (ЭР) ДНК [1, 4, 8]. Клетки млекопитающих обладают неодинаковой способностью выщеплять ПД: если из ДНК клеток здоровых людей после УФ-облучения в умеренных дозах примерно за 20 ч удаляется 80-100% ПД, то из ДНК большинства клеточных линий грызунов — всего 5-10% [6, 9]. Особенностью клеток млекопитающих является низкая скорость выщепления ПД (в клетках здорового человека через 6 ч удаляется лишь 30-40% димеров) [1, 6], в то время как внеплановый синтез завершается относительно быстро (1-3 ч). Наличие внепланового синтеза не всегда коррелирует с выщеплением ПД из ДНК [15]. Это, по-видимому, связано с тем, что инцизионные разрывы

образуются не только в результате выщепления ПД, но и вследствие действия эндонуклеаз, активных по отношению к другим фотопродуктам. Следовательно, исследование внепланового синтеза является косвенным определителем выщепления ПД, которое отражает лишь стимулированное облучением включение нуклеотидов в одонитевые ДНК клеток. Непосредственное удаление ПД из ДНК позволяет определить метод, основанный на способности УФ-эндонуклеаз прокариот производить одонитевые разрывы около ПД. Эффективность ЭРПД зависит от таких факторов, как степень клеточной дифференциации или же наличие генетических дефектов в системе ЭР. В ряде работ показано, что высокодифференцированные клетки хуже репарируют ДНК [5].

Целью настоящей работы является сравнительное исследование выщепления ПД из ДНК УФ-облученных клеток нейробластомы и фибробластов мыши.

Материал и методика. Работу проводили на асинхронных культурах клеток нейробластомы (субклон N-2a опухоли C-1300) и фибробластов (линия L₉₃₇) мыши, культивируемых на среде Игла с 10%-ной сывороткой крови крупного рогатого скота в кварцевых флаконах Карреля. В логарифмической фазе роста клетки метили ЦН-тимидином (10 мкКю/мл) в течение 2 сут. Меченую среду заменяли свежей, монослой клеток (без среды) облучали УФ-светом ($\lambda = 254$ нм) в дозе 10 Дж/м² с помощью лампы БУВ-60 и продолжали инкубацию в ростовой среде 6-20 ч при 37°. Клетки (~2·10⁶) снимали со стекла с помощью 0,02% версена и выделяли из них ДНК фенольным методом в модификации [10], затем осаждали, ресуспендировали в 0,5 мл проницаемой смеси (0,1 М NaCl, 0,1 М ЭДТА, 0,01 М Трис - HCl, pH 7,6; 1% саркозил; 0,1 мг/мл протеиназы К; 0,05% тритон X - 100) и инкубировали 2 ч при 37°. Лизат встряхивали с равным объемом фенола, насыщенного 0,1 М Трис-HCl буфером, pH 7,6. Водный слой диализовали против 2 смен 0,01 М фосфатного буфера с 0,001 М ЭДТА, pH 7,5.

УФ-эндонуклеазу (фракция II) выделяли из *Micrococcus luteus* методом [2]. 100 мкл фермента или буфера добавляли к 100 мкл ДНК и инкубировали 30 мин при 38°. Затем к смеси добавляли 100 мкл раствора, содержащего 0,5 М NaCl и 0,02 М ЭДТА и наклоняли на изокинетический градиент сахарозы (5-29,6%). Градиенты центрифугировали на ультрацентрифуге L2-65B Beckmann, ротор SW. 65, со скоростью 32 000 об/мин, 90 мин при 20°, фракционировали по времени на бумажные фильтры FN-12 и промывали стандартным способом. Радиоактивность подсчитывали в толуоловом сцинтиляторе на счетчике Beckmann LS 8100. Молекулярный вес (M_w) вычисляли по методу [14]. Количество ПД определяли как сайты, специфичные к УФ-эндонуклеазе, по формуле:

$$\lambda = 2 \left[\frac{1}{(M_w)_1} - \frac{1}{(M_w)_2} \right],$$

где $(M_w)_1$ - M_w - ДНК после инкубации с УФ-эндонуклеазой, $(M_w)_2$ - M_w - ДНК до инкубации с ферментом.

Результаты и обсуждение. На рис. 1а представлены седиментограммы образцов ДНК из необлученных клеток N-2a, инкубированных с УФ-эндонуклеазой. Профиль седиментации ДНК из необлученных клеток после обработки ферментом практически совпадает с профилем седиментации ДНК, не обработанной УФ-эндонуклеазой. Следовательно, использованный препарат свободен от эндонуклеолитических активностей по отношению к ДНК

необлученных клеток. При обработке ферментом ДНК из облученных (10 Дж/м^2) клеток наблюдается снижение его M_w . Для клеток N-2a: $(M_w)_k = 70 \cdot 10^6 \pm 5 \cdot 10^6$ дальтон, $(M_w)_{0ч} = 25 \cdot 10^6 \pm 2 \cdot 10^6$ дальтон. Это свидетельствует об образовании эндонуклеолитических разрывов, рис. 1б. Расчеты показывают, что в клетках, облученных УФ-светом в дозе 10 Дж/м^2 , обработка УФ-эндонуклеазой вызывает в среднем 5-6 разрывов ДНК на 10^8 дальтон.

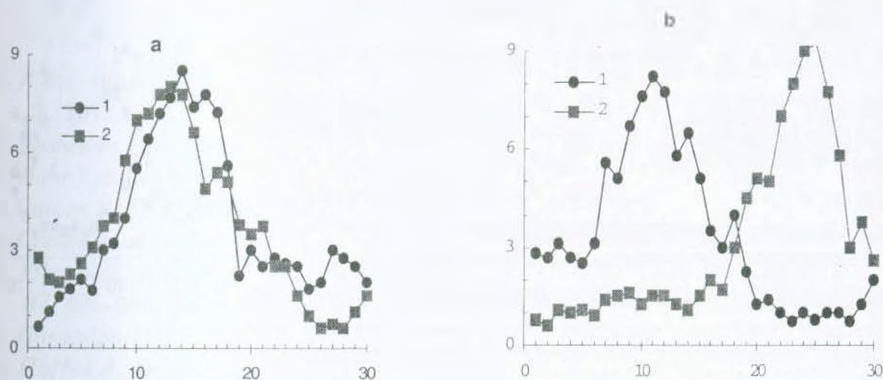


Рис. 1. Седиментация ДНК клеток N-2a: необлученных (а) и УФ-облученных - 10 Дж/м^2 (б).

По оси абсцисс - номера фракций (от дна), по оси ординат - радиоактивность, % от общей.

1,2 - ДНК до и после инкубации с УФ-эндонуклеазой соответственно.

Эффективность элиминации ПД из ДНК клеток млекопитающих находится в обратной зависимости от дозы облучения [1, 7, 9, 10]. Согласно литературным данным, при облучении УФ-светом ($\lambda = 254 \text{ нм}$) в дозе 10 Дж/м^2 примерно 0,05% пиримидиновых оснований ДНК переходит в димеры. При этом в гаплоидном геноме клеток эукариот ($3 \cdot 10^{12}$ дальтон) образуется $\sim 4 \cdot 10^5$ ПД. Количество эндонуклеазочувствительных сайтов при дозе облучения 5 Дж/м^2 составляет $4 \cdot 10^8$ и $9 \cdot 10^8$ при дозе облучения 10 Дж/м^2 .

Для исследования элиминации ПД из ДНК УФ-облученные клетки инкубировали в ростовой среде и затем с помощью фермента определяли наличие сайтов, чувствительных к УФ-эндонуклеазе. На рис. 2 представлены седиментограммы ДНК из клеток клонов N-2a и L_{929} , облученных в дозе 10 Дж/м^2 и затем выдержанных в ростовой среде при 37° в течение 6 и 20 ч. Профили седиментации ДНК клонов клеток N-2a и L_{929} , обработанных ферментом через 0 ч и 6 ч после облучения, практически совпадают. Для N-2a: $(M_w)_{0ч} = 24 \cdot 10^6 \pm 2 \cdot 10^6$ дальтон. Через 6 ч после действия УФ не происходит выщепления ПД из ДНК. При увеличении времени инкубации УФ-облученных клеток до 18-20 ч (рис. 2) наблюдается небольшой сдвиг седиментограмм ДНК в сторону тяжелых фракций. То есть происходит незначительное уменьшение эндонуклеазочувствительных участков в ДНК клеток обеих исследованных линий. Для N-2a: $(M_w)_k = 25 \cdot 10^6 \pm 2 \cdot 10^6$ и $2(M_w)_{20ч} = 28 \cdot 10^6 \pm 3 \cdot 10^6$ и составляет 4,4 разрыва на 10^8 дальтон. Таким

образом, при 18-20 - часовой инкубации клеток N-2a и L₉₂₉, облученных в дозе 10 Дж/м², происходит лишь незначительное (10-15%) удаление ПД из ДНК, и в общем виде кривые выщепления димеров из ДНК клеток N-2a и L₉₂₉ совпадают, рис. 3.

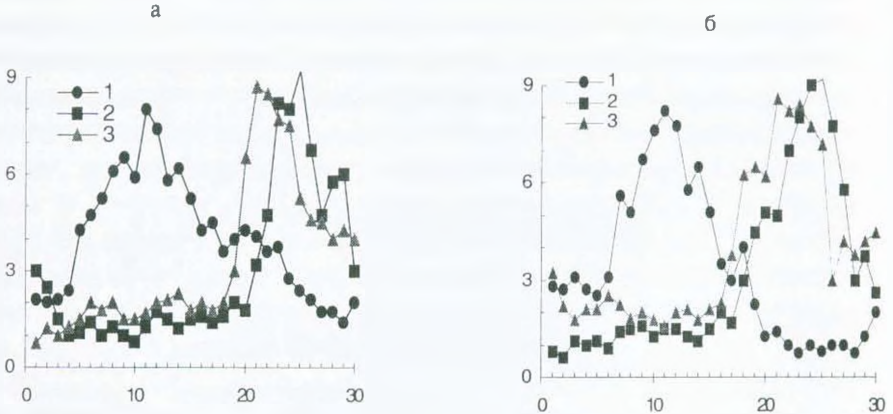


Рис. 2. Седimentация ДНК УФ-облученных (10 Дж/м²) клеток N-2a и L₉₂₉.

По осям – то же, что и на рис. 1.

1 - ДНК до инкубации с УФ-эндонуклеазой;

2 - ДНК после инкубации с ферментом, 0 ч, 6 ч (практически совпадают);

3 - ДНК после инкубации с ферментом, 20 ч.

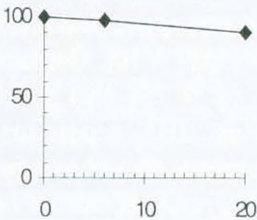


Рис. 3. Удаление УФ-эндонуклеазочувствительных сайтов из ДНК УФ-облученных (10 Дж/м²) клеток N-2a в процессе пострadiационной инкубации.

По оси абсцисс – время инкубации, ч.

По оси ординат – сайты, специфичные к эндонуклеазе, %.

Очевидно, что в клетках нейробластомы N-2a равно как и в фибробластах L₉₂₉ при действии УФ-света практически не происходит удаления из ДНК основных летальных фотопродуктов – димеров пиримидиновых оснований. И следовательно, новый цикл репликации начинается на ДНК с повреждениями. Это позволяет предположить, что для обеспечения жизнеспособности клеток недостаточность эксцизионного пути репарации в исследованных нами клетках должна быть компенсирована высокоэффективными механизмами пост-реплика-

тивной и (или) репликативной репарации ДНК.

Пониженный уровень выщепления ПД в исследованных клетках может быть обусловлен как недостатком УФ-эндонуклеазы, так и ее ингибированием (например, при хронической вирусной инфекции [12]). При исследовании репарации в УФ-облученных первичных перевиваемых эмбриональных клетках хомячков и мышей было выявлено, что по мере пассирования клеток наблюдается снижение способности к вырезанию димеров. Такого рода данные дали авторам основание сделать предположение о наличии в клетках грызунов процесса ЭР, который, по-видимому, в перевиваемых линиях этих животных

репрессирован. Вопрос об “отсутствии” ЭРПД в клетках грызунов продолжает широко обсуждаться в литературе.

Таким образом, исследованные линии клеток N-2a и L₉₂₉, проявляющие низкий уровень ЭРПД, могут служить удобной моделью для изучения пострепликативных (репликативных) механизмов репарации ДНК в клетках различного уровня дифференциации при действии ДНК-тропных факторов УФ-типа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жестяников В.Д. Репарация ДНК и ее биологическое значение. “Наука”, Л., 1979.
2. Томилин Н.В. Молек. Биол. 8, 557-568, 1974.
3. Bohr V.A. DNA Adducts: Identif. And Biol. Signif., Lyon, 361-369, 1994.
4. Calson P., Salles B. Nucl. Acids. Res. 22, 4937-4942, 1994.
5. Compston A. J. Neurology, 242, S1, 1994.
6. Filon A.R., Kampinga H.H., Konings A.W., Mullenders L. Int. J. Rad. Biol., 67, 495- 501, 1995.
7. Gurzadyan G.G., Corner H. Photochem. Photobiol, 63, 143-153, 1996.
8. Hoffen A., Balajee A.S., Bouayadi K., Natarajan A., Zeeland A., Mullenders L. J. Cell Biochem. (Suppl.), 12C, 105, 1994.
9. Lehmann A.R. J. Molec. Biol., 66, 319 – 337, 1972.
10. Lehmann A.R., Kirk-Bell S. Photobiol., 27, 297-307, 1978.
11. O'Donnell R., Boorstein R., Cunningham R., Teebor G. Biochem., 33, 9875-9880, 1994.
12. Ruven H., Seelen C., Maud J., Lohman P., Kranen H., Zeeland A., Mullenders L. Oncogene, 9, 3427-3432, 1994.
13. Sage E. Photochem. Photobiol, 57, 163-174, 1993.
14. Studier A. J. Mol. Biol., 11, 373-390, 1965.
15. Teebor G., Goldstein M. J. Supramol. Struct., Suppl. 2, 11, 1978.

Поступила 09.IX.1998

ХОХЛАТКИ (*LEPIDOPTERA*, *NOTODONTIDAE*) АРМЕНИИ

С.А. МИРЗОЯН*, А.В. САЯДЯН

*Институт защиты растений МСХ Армении,
Институт зоологии НАН РА, 375014, Ереван*

Приводятся данные о значении, видовом составе, кормовых растениях отдельных видов, степени встречаемости по областям республики (по материалам светоловушек) и распространении по зоогеографическим провинциям 28 видов хохлаток, 7 из которых отмечаются для Армении впервые.

Բերված են Հայաստանում հայտնաբերված փոսիկալաթիթեռների նշանակության, տեսակային կազմի, կերարույների, հանդիպելիության աստիճանի (ըստ լուսաթակարդների տվյալների) և քանից կենդանաաշխարհագրական տարածվածության վերաբերյալ: Նկարագրվում են 28 տեսակներ, որոնցից 7-ը Հայաստանի համար նշվում են առաջին անգամ:

Data are presented on *Notodontidae* in Armenia: its significance, species spectrum, feeding plants, abundance in the Republic's regions light trap (results of study with light traps) and distribution in zoogeographical landscapes. 28 species of *Notodontidae* are described, and 7 species among them are observed in Armenia for the first time.

Фауна Армении - хохлатки

Хохлатки - одно из важнейших семейств крупных бабочек. Многие виды их являются вредителями леса, садов и хозяйственных культур. В отдельные годы они размножаются в массе и причиняют заметный вред растениям. Среди хохлаток есть также виды, имеющие эстетическое значение.

Специальные исследования по выявлению фауны хохлаток в Армении не проводились и нет опубликованных данных. Сравнительно большое число видов приведены в работах Мирзояна [9-11], Авестян [2, Рябова и др. [13] и частично Тер-Григорян [14]. Некоторые виды хохлаток приведены в работах Авакяна [1], Арутюняна [3], Орманяна [12].

В обобщенных работах Лозового [5-7] и Дидманидзе [4] при описании фауны чешуекрылых Грузии приводятся также данные об их распространении в Армении и Азербайджане. Таким образом, всего для Армении приведены данные о 16 видах хохлаток и об их распространенности по районам Армении. Об указанных нами 7 видах в литературе Армении нет данных, они выявлены в светоловушках и приводятся для Армении впервые.

Изучение видового состава хохлаток, определение хозяйственного значения и степени встречаемости отдельных видов представляет интерес как с научной, так и с практической точек зрения.

Цель наших исследований состояла в выявлении фауны хохлаток Армении, определении их хозяйственного значения, а также проведении зоогеографического анализа.

Материал и методика. Кроме литературного обзора данных о распространении видов хохлаток по областям республики, приводится также анализ собственных материалов и материалов, собранных в светоловушках, вывешенных в разных ландшафтных зонах

Армении сотрудниками опорных пунктов АрмНИИЗР, за 1960-1984 гг. Учет встречаемости отдельных видов в светловушках по декадам, а также их определение проводилось М.Р.Геворкяном, а последующая обработка данных по областям и грациям - нами. Проводился также анализ по кормовым растениям и ареалам распространенности в целом.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты показывают, что в Армении зарегистрировано 28 видов хохлаток, 7 из которых приводятся впервые (*Harpia furnula* Cleron, *Drymonia dosdonea* Den. et Schiff., *Pheosia tremula* Clerck., *P. gnoma* F. (= *dictaeoides* Esp.), *Notodonta dromedarius* L., *N.phoebe* Stebert., *Clostera pigra*), а остальные виды даются с расширенными арсеналами. В таблице приводится видовой состав, распространенность по областям республики и степень их встречаемости.

Все указанные виды являются филофагами лесных (28 видов) насаждений и плодовых культур (3 вида).

Из таблицы видно также, что из приведенных видов наиболее многочисленны и повсеместно встречаются *Cerura (Dicranura) vinula* Esp., *Pterostoma palpinum* L., *Phalera bucephala* L. и частично - *Ptilophora plumigera* Den. et Schiff., *Clostera pigra* Huf. Остальные виды сравнительно малочисленны.

Наибольшее количество видов хохлаток питается листьями тополя (16 видов), ивы (10 видов), частично дуба (10 видов). Остальные виды питаются на осине (4 вида), ильмовых (3 вида), грабе (3 вида), березе (2 вида), буке (4 вида) и по одному виду на липе, ольхе и клене.

Из сказанного выше можно сделать вывод, что большинство хохлаток являются филофагами ивовых (тополя, ивы, осины).

Экологические исследования показали, что хохлатки в основном развиваются в сравнительно влажных лесных и парковых местообитаниях, в сухие годы их численность ниже, за исключением лунки серебристой (*Phalera bucephala* L.). В отдельные годы отмечается массовое развитие этого вида, причиняющего заметный вред лесным и плодовым породам.

По литературным данным, в республиках Закавказья в массе встречается также другой вид этого рода - лунка дубовая (*Phalera bucephaloides* Ochs.), однако, по-видимому, этот вид в Закавказье или отсутствует, или данные о нем спутаны с данными о лунке серебристой. Кроме того, в материалах светловушек он не обнаружен.

Как вредителей лесных и плодовых пород из числа хохлаток можно отметить 3 вида: лунка серебристая (*Phalera bucephala* L.), малая кисточница (*Harpia hermelina* Geoze.) и частично остроголовка (*Pterostoma palpinum* L.), в популяциях которых в отдельные годы отмечаются всплески массового размножения, что наносит вред насаждениям на сравнительно небольших участках. В отдельные годы на небольших участках отмечается высокая численность кленовой хохлатки (*Lophopteryx cucullina* Den. et Schiff.) и ильмовой многохвостки (*Exaereta ulmi* Den. et Schiff.), однако оголения лесных массивов не наблюдается, поэтому этот вид не имеет важного хозяйственного значения.

В топольниках часто в массовом порядке развивается большая гарция (*Cerura (Dicranura) vinula* Esp.), которая вредит лишь молоднякам и школам топольников. Остальные виды хохлаток не имеют хозяйственного значения.

Таблица. Распространенность хохлаток по областям Армении

Название видов	Распространенность										
	Ереван	Арагат	Армавир	Арагацотн	Ширак	Лори	Тавуш	Котайк	Севан	Ванк	Сюник
1. <i>Harpia fumula</i> Cleron											+/1
2. <i>H.hermelina</i> Geoeze (=bifida Hb.)	/1	/1	/1	+/		+/4	+/1	+/4			+/1
3. <i>H. interrupta</i> Christ.						+/1	+/1				/4
4. <i>Cerura</i> (<i>Dicranura</i>) <i>vinula</i> Esp.	+/6	+/6	+/6	+/4	+/2	+/4	+/2	+/3	+/2	+/3	+/2
5. <i>Stauropus fagi</i> L.						+/1	+/1				/1
6. <i>Exaereta ulmi</i> Den. et Schif.	/1	/1	/1	/1	+/	+/3	+/3	/1		/1	/3
7. <i>Hylocampa terifica</i> Den. et Schif.	+/										
8. <i>Drymonia ruficornia</i> Huf.	?/										
9. <i>D.dodonea</i> Den. et Schif.						/5	/1	/2			/1
10. <i>Pheosia tremula</i> Clerck						/1	/1				/1
11. <i>P.gnoma</i> F. (=dictaeoides Esp.)						+/					
12. <i>Notodonta dromedarius</i> L.	/1	/1	/1				/1				/1
13. <i>N. phoebe</i> Stebert	?/						/1				
14. <i>N. tritopus</i> Esp.						/1	/1			/1	/1
15. <i>N.Grummi</i> Ohr.	+/	+/	+/							/1	+/1
16. <i>Peridea anceps</i> Geoeze	/1	/1	/1	/2		/2	/2	+/		/1	/3
17. <i>Drinobia velitaris</i> Ruf.						+/	/1				
18. <i>D. obliterata</i> Esp. (+melagona Bkh)	?/										
19. <i>Odontosis ziczac</i> L.					+/	+/1	+/1	+/1		+/1	+/2
20. <i>Lophopteryx capucina</i> L. (=comelina)						+/	+/	+/1			
21. <i>L.cuculina</i> Den. et Schif.						+/2	+/2	+/2			+/4
22. <i>Pterostoma palpinum</i> L.	+/6	+/6	+/6	+/3		+/3	+/3	+/1		/3	/2
23. <i>Philophora plumigera</i> Den. et Schif.						+/6	+/6	/6			/4
24. <i>Phalera bucephala</i> L.	+/1	+/1	+/1	+/2	+/1	+/4	+/4	+/6	/3	+/2	+/4
25. <i>P. bucephaloides</i> Ochs.						+/1	+/1				
26. <i>Clostera anachoreta</i> Den. et Schif.	?/										
27. <i>C. curtula</i> L.						+/	+/1				+/1
28. <i>C. pigra</i> Huf.	/4	/4	/4	+/4		/4	/4			/3	/3
29. <i>Marpya lanigera</i> Btl.	?										

Приложение: 1 - Очень редко; за сезон в светоловушках выловлено в среднем до 25 бабочек; 2 - Редко; 26-50 бабочек; 3 - Средняя встречаемость; 51-100 бабочек; 4 - Частая встречаемость; 101-150 бабочек; 5 - Высокая численность; 151-200 бабочек; 6 - Массовое появление; 201 и более бабочек; + - наличие литературных данных

Зоогеографический анализ приведенных видов показал, что среди них Армянский, Закавказский и Кавказский эндемики отсутствуют. Остальные виды являются представителями нижеследующих зоогеографических зон:

I Гирканская: *Notodonta grummi* Esp.

II Восточносредиземноморская: *Phalera bucephaloides* Ochs.

III Европейская: *Drymonia ruficornis* Huf., *Notodonta phoebe* Stebert., *Driobia velitaris* Huf., *D. oblitterata* Esp., *Odontosia ziczac* L., *Ptilophora plumigera* Den. et Schiff.

IV Евросибирская: *Harpya interrupta* Christ., *Cerura vinula* (*dicranura* Esp., *Stauropus fagi* L., *Pheosia gnoma* F., (*dictaeoides* Esp.)), *Notodonta dromedarius* L., *N. triopis* Esp., *Phalera bucephala* L., *Clostera anachoreta* Den. et Schiff., *C. cutula* L.

V Транспалеарктическая: *Harpya furnula* Cleron., *Exaetera ulmi* Den. et Schiff., *Hylocampa terifica* Den. et Schiff., *Drymonia dodonea* Den. et Schiff., *Pheosia tremula* Clerck., *Peridea anceps* Geoze., *Lophopteryx capucina* L., (*comelina* L.), *L. cucullina* Den. et Schiff., *Pterostoma palpinum* L., *Clostera pigra* Huf., *Harpya lanigera* Btl.

VI Палеарктическая: *Harpya hermelina* Geoze (= *bifida* Hb.).

Таким образом, основная часть видов принадлежит к Транспалеарктическим и Евросибирским видам. Остальные группы малочисленны. Четыре вида (*Harpya furnula* Cleron., *Hylocampa terifica* Den. et Schiff., *Drymonia ruficornis* Huf., *Clostera anachoreta* Den. et Schiff.), по литературным данным, отмечены для Закавказья, в том числе и Армении, однако подтверждающие данные в литературе отсутствуют. Они не были обнаружены и в материалах светловушек. Следовательно, численность видов хохлаток в Армении составляет не 28, а 23 вида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян Г.Д. В кн.: Зоол. сб. АН Арм.ССР. 9, 58-123, 1956.
2. Аветян А.С. Вредители плодовых культур в Армянской ССР. Ереван, 1952.
3. Арутюнян Г.А. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1968.
4. Дидманидзе Э.А. Мат-лы по крупным чешуекрылым аридных ландшафтов Закавказья (*Lepidoptera*, *Heterocera* без *Geometridae* и *Noctuidae*), 2., Вестн. Гос. музея Грузии, 1981.
5. Лозовой Д.И. Мат-лы к фауне вредных лесных насекомых Армении. Тр. Клоса, 1, Тбилиси, 27-77, 1941.
6. Лозовой Д.И. Тр. Бот. сада В-69, 49-96, Тбилиси, 1963.
7. Лозовой Д.И. Вредные насекомые парковых и лесопарковых насаждений Грузии. Тбилиси, 1965.
8. Макарян М.Я., Аветян А.С. Обзор вредителей с/х и лесных растений Арм.ССР. Ереван, 1931.
9. Мирзоян С.А. Ж. Лесное хозяйство, 11, 51-57, 1965.
10. Мирзоян С.А. Вредители деревьев и кустарников (на арм.яз.). Ереван, 1968.
11. Мирзоян С.А. Дендрофильные насекомые лесов и парков Армении. Ереван, 1977.
12. Орманиян Ж.Х. Автореф. канд. дисс.. Ереван, 1972.
13. Рябов М.А., Аветян А.С., Мирзоян С.А., Вардиакян С.А. В кн.: Вредители с/х культур, леса и складов Армении (на арм.яз.), 520-703, Ереван, 1976.
14. Тер-Григорян А.А. Зоол. сб., 3, 195-212, 1945.

Поступила 24.IX.1997

ТИПЫ ЖУКОВ-СТАФИЛИНОВ (*COLEOPTERA, STAPHYLINIDAE*) В КОЛЛЕКЦИЯХ С.М.ЯБЛОКОВА-ХНЗОРЯНА И ИНСТИТУТА ЗООЛОГИИ НАН АРМЕНИИ

А.Л.АМИРЯН

Институт зоологии НАН Армении, 375014, Ереван

В данной работе приведены сведения о типах стафилинид, находящихся в Ереване. В нижеследующем списке таксоны приводят в том порядке, в каком они представлены в коллекции С.М.Яблокова-Хнзоряна, с добавлением материалов Института зоологии НАН Армении. Для каждого таксона приводятся первоначальное наименование, литературная ссылка, статус экземпляров (голотип, паратип и т.д.), сведения географической этикетки и место сбора.

Տվյալ աշխատանքում բերված են տեղեկություններ Երևանում գտնվող ստաֆիլինիդների տարատեսակների մասին: Ներքոհիշյալ ցուցակում տաքսոնները բերվում են այն կարգով, որով ներկայացված են Ս.Ս.Յաբլոկով-Խնձորյանի հավաքածուի մեջ, ինչպես նաև ՀՀ ԳԱԱ Կենդանաբանության ինստիտուտի տվյալներ: Յուրաքանչյուր տաքսոնի համար նշվում է նրա սկզբնական անվանումը, գրական հղումը, մոնոշահատերի կարգավիճակը (հոլոտիպ, պարատիպ և այլն), աշխարհագրական պիտակի տեղեկություններ և գտնվելու տեղը:

Types of staphylinidae - beetles, which inhabited in Yerevan, are introduced in this work. In the following below list taxons are adduced in that established order, in which they were disposed in S.M.Iablokoff-Khnzorian's collection with the materials from Institute of Zoology of the National Academy of Sciences of Armenia. Original denomination, literary reference, status of specimens (holotype, paratype, etc.), information geographical label and specimen's location, are presented for each taxon.

Фауна Армении - жуки-стафилины (Coleoptera, Staphylinidae)

Staphylinidae - одно из крупнейших семейств жуков, насчитывающее в мировой фауне около 30000 видов. Систематика семейства, в том числе и на видовом уровне, разработана недостаточно; имеющиеся описания зачастую не содержат всех необходимых признаков, поэтому для решения многих таксономических проблем необходимо исследование типового материала.

Благодаря многолетним трудам С.М.Яблокова-Хнзоряна, в Ереване в настоящее время имеется крупное собрание стафилинид, частью хранящееся в коллекциях Института зоологии НАН Армении и частью в личной коллекции С.М.Яблокова-Хнзоряна, находящейся ныне в распоряжении М.Ю.Калашяна. В этих коллекциях содержатся типовые экземпляры многочисленных таксонов, описанных как самим С.М.Яблоковым-Хнзоряном, так и другими авторами.

С.М.Яблоков-Хнзорян публиковал свои работы под разными "вариантами" своей фамилии (С.М.Яблоков-Хнзорян, С.М.Хнзорян, S.M.Iablokoff-Khnzorian), однако в нижеследующем тексте все его таксоны обозначены "Khnzorian". Поскольку С.М.Яблоков-Хнзорян в своей коллекции использовал только донные этикетки, а голотипы (и то не всегда) обозначал рукописной этикеткой "Typus", мы снабдили все изученные нами типовые экземпляры стандартными этикетками с наименованием таксона и обозначением статуса экземпляра.

1. *Mannerheimia kirschenblatti* Khnzorian 1956:138
Голотип: Ереван, Гехард, 2300м., АССР, 1.05.1950.(КХ).
2. *Lathrimaem melanochromus* Khnzorian 1960:140
Голотип: (самец). Севан, остров, АССР, 28.5.51.(КХ).
3. *Olophrum palyi* Khnzorian 1965:20
Голотип: (самка). Сары-Челег, с.Аркит, Кргз., 21.05.1962.(КХ).
4. *Olophrum kondarensis* Khnzorian 1964:157
Голотип и 2 паратипа: Сталинабад, Квак., Тджк., 9.05.1961.(КХ).
5. *Olophrum erevanicum* Khnzorian 1964:155
Голотип: Ереван, Джрвеж, АССР, 18.04.1948.(КХ).
6. *Olophrum aragatzense* Khnzorian 1962:103
Голотип: Арагац, Севлич, АССР, 28.08.1948.(КХ). 2 паратипа: Арагац, Карилич, 3200, 14.08.1958.(КХ).
7. *Geodromicus svaneticus* Khnzorian 1988:134
Голотип: Местия, Мин. Источник, Сванетия, 5.07.1968.(КХ). 10 паратипов: 1 экз. - там же; 2 самца - там же - 8.07.68.(КХ); 2 самки - Местия, 1700м., Местурия, Сванетия, (КХ); 2 самки - Местия, лес, 1700м., Сванетия, 2.07.1968 (КХ); 1 самец - там же - 4.07.1968.
8. *Geodromicus striatus* Khnzorian 1988:138
Голотип: (самец). Ордубад, Нюс-Нюс, Нах.АССР, 25.04.1955.(КХ). 5 паратипов: 3 экз. - Ереван, Гехард, АССР, 15.08.1948. (КХ). 1 экз. - Ордубад, Нюс-Нюс, Нах.АССР, 25.04.1955. (КХ). 1 экз. - Горис, Шурухи, АССР, 14.06.1950.(КХ).
9. *Geodromicus rivularis* Khnzorian 1988:138
Голотип: Мегри, Аракс, АССР, 24.04.1954.(КХ). 2 паратипа: 1 экз. - Севан, остров, АССР, 14.06.1950.(КХ). 1 экз. - Ордубад, Нюс-Нюс, Нах.АССР, 24.05.1955.(КХ).
10. *Geodromicus armeniacus* Khnzorian 1988:134
Голотип: Горис, Севлич, АССР, 26.07.1950. (КХ).
11. *Anthophagus baikalensis* Khnzorian 1974:62
Голотип: (самка). Листвянка, институт, Байкал, 24.06.1973. (КХ).
12. *Ancyrophorus swaneticus* Khnzorian 1974:60
Голотип и 3 паратипа: (самец). Местия, 1700м., Местурия, Сванетия, 29.06.1968.(КХ).
13. *Stenus paphlagonicus* Puthz 1967:229
Паратип: Anat. B., Cangal, Dagh., 7.05.1960., leg. F.Schubert.(КХ).
14. *Stenus khnzoriani* Fagel 1967:356
3 паратипа: Богатка, Кодор, 300, Абхаз., 15.10.1961.(КХ).
15. *Stenus alpicola prometheus* Puthz 1967:232
Голотип: Севан, Уштапалар, 1.08.1948. (КХ).
16. *Stenus khnzoriani* Puthz 1973:292
Голотип: (самец). Сталинабад, Квак., Тджск., 13.04.1968.(КХ).
17. *Stenus armeniacus* Puthz 1973:292
Голотип: (самка). Ереван, Раздан, 25.04.1948 (КХ).
18. *Stenus korgei* Puthz 1979:320
Паратип: (самка). Базар-чай, 2000-2200м., 27.10.1963., Г.Аветисян (ИЗ).
19. *Stenus jatrigei* Puthz 1970:302
Паратип: (самец). Pont du Gard (КХ).
20. *Stenus claritarsis* Puthz 1971:85
Паратип: Caucasus, Reitter. (ИЗ).
21. *Dianous elegans* Khnzorian 1957:291
Голотип и паратип: АССР, Севкар, Киранц, 17.05.1951.(КХ).
22. *Bolitobius crassicornis* Coiffait 1974:203
Голотип и паратип: Шкотово, Пейшшула, Уссурийск., 18.08.1971, (КХ), там же. (КХ).
23. *Eremodromius takhtajani* Khnzorian 1960:148
Голотип: Ереван, Советашен, 1.07.1951.(КХ).
24. *Pronomaea subterranea* Khnzorian 1957:292
Голотип: Ереван, Советашен, 1.07.1951.(КХ).
25. *Tachinus khnzoriani* Coiffait 1975:36
Голотип: Байкал, Листвянка, лес, 20.06.1973. (КХ).

26. *Tachinus fimetarius* Khnzorian 1959:68
Голотип: Мравян, АССР, 18.06.1960. (ИЗ).
27. *Leptusa diformis apolis* Pace 1983a:81
Паратип: G de Chartreuse, Porguelin, alt. 970, I sere, 18.07.1945.(КХ).
28. *Leptusa pseudocaucaasica* Pace 1983b:286
Паратип: Рица, лес, Абхз., 4.07.1958.(КХ).
29. *Leptusa khnzoriani* Pace 1982:69
Голотип: Рача, Глола, Доламисис, Грузия, 31.07.1956. (КХ).
30. *Leptusa armeniaca* Pace 1982:67
Голотип: (самец). Арм.ССР, Кафан, Шинскерт, Мазра, 10.05.1981. Калашян М.(ИЗ).
31. *Callicerus velox* Khnzorian 1960a:1883
Голотип: Алаверди, Ахтала, АССР, 6.06.1949.(КХ).
32. *Gnypeta gracilior* Benick 1974:37
Голотип: (самка). Мартуни, Яных, АССР, 15.07.1950.(КХ).
33. *Geostiba khnzoriani* Pace 1983:132
Голотип (самец), аллотип (самка) и 2 паратипа: 15.07.1950. Горис, Шурнухи, АССР, 12.06.1950. (КХ).
34. *Zyras stenocephalus* Khnzorian 1960a:1882
Голотип: Горис, Шурнух, АССР, 14.06.1950. (КХ).
35. *Zyras argus* Khnzorian 1960a:1883
Голотип: Азизбеков, Чайкенд, АССР, 22.07.1950. (КХ).
36. *Zyras urartu* Khnzorian 1962:111
Голотип: (самка). Ереван, Нор-Ареш, 10.05.1955. Н.Акрамовский (ИЗ).
37. *Dinaraea angustiformis* Benick 1980:338
Голотип: (самка). Хасан, Приморская, Уссури, 30.08.1971.(КХ).
38. *Dinaraea similicollis* Benick 1980:336
Голотип: (самец). Шкотово, Пейшула, Уссури, 15.08.1971. (КХ).
39. *Atheta differens* Benick 1974:28
Голотип: (самец). Ереван, Гохт, АССР, 10.07.1949 (КХ).
40. *Atheta bigranipennis* Benick 1980:339
Голотип: (самец). Шкотово, Пейшула, Уссури, 15.08.1971. (КХ).
41. *Atheta altiviva* Benick 1974:31
Голотип: (самец). Севан, 3000м., Уштапалар, АССР, 1.08.1948. (КХ). Аллотип: (самка). Капутджух, перевал, 3500м., АССР, 4.08.1950.(КХ). 2 паратипа: 1 экз. - Сисиан, Кочбекский перевал, АССР, 23.07.1950. (КХ). 1 экз. - Джермук, Сарцали, АССР, 23.07.1950. (КХ).
42. *Atheta mediocris* Benick 1974:34
Голотип: (самка). Ереван, Гехард, АССР, 2.05.1950.(КХ).
43. *Atheta membranata* Benick 1974:33
Голотип: (самец). Талыш, Алексеевка. Азерб., 16.05.1956. (КХ).
44. *Atheta pseudolongiuscula* Benick 1974:35
Голотип: (самка). Местия, лес, 1700м., Сванетия, 2.07.1968.(КХ).
45. *Atheta salsolae* Benick 1974:27
Голотип: (самка). Арапат ст., солончаки, АССР, 7.04.1954.(КХ).
46. *Atheta fulgicollis* Benick 1974:30
Голотип (самец), аллотип (самка) и 3 паратипа: Кушка, Агашлы, Тркм., 7.05.1968.(КХ).
47. *Atheta tantula* Benick 1974:32
Голотип: (самец). Талыш, Алексеевка, Азерб., 16.05.1956. (КХ).
48. *Atheta sipaliformis* Benick 1974:35
Голотип: (самка). Алаверди, Ахтала, АССР, 6.06.1949. (КХ).
49. *Aleochara polychroma* Khnzorian 1966:175
Голотип: Арапат, 2800м., Архашен, АССР, 28.08.1948. (КХ).
50. *Aleochara fugax* Khnzorian 1962:112
Голотип и паратип: Веди, норы М. Vinogradovi, 8.04.1958. (ИЗ).
51. *Stilicus armeniacus* Coiffait 1970:154
Голотип: Горис, Шурнухи, АССР, 16.06.1950. (КХ).
52. *Medon fusculoides* Coiffait 1969:712

- Голотип: Микоян, Шатин, АССР, 16.07.1950. (КХ).
53. *Medon procursor* Khnzorian 1960:142
Голотип: Ереван, Джрвеж, 7.05.1952. (КХ).
54. *Medon lusitanicum* Coiffait 1969:717
Паратип: Portugal, Algarve, Env.Loule, 5.12.1964. Н. Coiffait. (КХ).
55. *Hypomedon armeniacus* Coiffait 1969:718
Голотип: Ереван, Канакер, АССР, 11.11.1948. (КХ). Паратип: Азизбеков, фригана, АССР, 5.06.1958. (КХ).
56. *Hypomedon khnzoriani* Coiffait 1969:726
Паратип: Ереван, Джрвеж, АССР, 2.04.1952. (КХ).
57. *Pseudolathra araxidis* Coiffait 1972:133
Голотип: (самка). Джульфа, Аракс, АССР, 2.05.1955. (КХ).
58. *Leptobium macrocephalum* Coiffait 1969a:858
Голотип: Душанбе, Адыри, Тдж., 16.04.1948. (КХ).
59. *Leptobium khnzoriani* Coiffait 1969a:849
Голотип: Сталинабад, Кондара, Тдж., 6.05.1961. (КХ).
60. *Leptobium turcmenicus* Coiffait 1967c:354
Голотип, и паратип: Репетек, пески, Тркм., 16.04.1965. (КХ).
61. *Leptobium unciferum* Coiffait 1969a:860
Аллотип: Курган-Тюбе, Ганджина, Тдж., 4.04.1964. (КХ).
62. *Cryptobium gracilis* Coiffait 1975:35
Голотип: (самец). Джиликуль, тугай, Тдж., 17.05.1961. (КХ).
63. *Leptacinus armeniacus* Coiffait 1966:196
Голотип: Ереван, Джрвеж, АССР, 15.05.1952. (КХ).
64. *Leptolinus cephalotes armeniacus* Coiffait 1966:196
Голотип: Ереван, Джрвеж, АССР, 2.04.1952. (КХ). Паратип: Ереван, Советашен, АССР, 4.04.1952. (КХ).
65. *Leptolinus nanus* Khnzorian 1960:143
Голотип: Ереван, Айгрич, АССР, 27.05.1950. (КХ).
66. *Xantholinus khnzoriani* Coiffait 1966:199
Голотип и 2 паратипа: Апаран, Люсагюх, АССР, 4.07.1968. (КХ)
67. *Xantholinus kirghisicus* Coiffait 1966:200
Голотип: Сары-Челег, Аркит, Кргз., 22.05.1962. (КХ).
68. *Xantholinus iablokoffi* Coiffait 1975:31
Голотип: (самец). Домбай, лес, Кубанск, 29.07.1973. (КХ).
69. *Xantholinus microphilus* Coiffait 1969c:287
Голотип: Сайдхлы, 2200м., Сисянский р-н, гнездо *M. arvalis*, 2.12.1965., Г. Аветисян. (ИЗ).
70. *Astenus silvicola* Khnzorian 1960:142
Голотип: Алаверди, Ахтала, АССР, 6.06.1949. (КХ). Паратип: Севан, Уштапалар, АССР, 1.08.1948. (КХ).
71. *Othius ussuriensis* Coiffait 1974:200
Голотип: (самец). Владивосток, Шамора, Усури., 4.09.1971. (КХ). 2 паратипа: Шкотово, Пейшула, Усури., 11.08.1971. (КХ).
72. *Erichsonius armeniacus* Coiffait 1965:846
Голотип: (самка). Кафан, Иригие, АССР, 27.06.1952. (КХ). 3 паратипа: (все самки). Кафан, Плат. роща, АССР, 21.07.1952. (КХ).
73. *Gabrius armeniacus* Coiffait 1966a:506
Голотип: Ереван, Арабкир, АССР, 15.04.1951. (КХ).
74. *Philonthus tuberculanus* Coiffait 1974:203
Голотип (самец) и 2 паратипа (самки): Шкотово, Пейшула, Усури., 11.08.1971. (КХ); 2 паратипа (самки) Усурийск, Сунутинск. зап., Усури., 3.08.1971. (КХ).
75. *Philonthus ussuriensis* Coiffait 1974:202
Голотип: (самец). Шкотово, Пейшула, Усури., 15.08.1971. (КХ). 3 паратипа: 1 самка: Шкотово, Пейшула, Усури., 13.08.1971. (КХ), 1 самка: Усурийск, Сунутинск. зап., Усури., 3.08.1971. (КХ). 1 самка: Усурийск, Сунутинск. зап., Усури., 10.08.1971. (КХ).
76. *Philonthus politus altaicus* Coiffait 1976:352
Голотип: Телец. озеро, ущ. Чогац, 1000м., Алтай, 19.07.1966. (КХ). 3 паратипа:

там же; 13.07.1966. (КХ).

77. *Philonthus oberti* var. *nigra* Coiffait 1974:202

Голотип: (самец). Хасан, Кедров, пады, Уссури., 24.09.1971. (КХ). 2 паратипа: 1 самка: Владивосток, Шамора, Уссури., 4.09.1971. (КХ). 1 самка: Уссурийск, Спутинск. жап., Уссури., 6.08.1971. (КХ).

78. *Philonthus bucharensis* Coiffait 1967:442

Голотип: Сары-Челег, озеро, Кргз., 20.05.1962. (КХ).

79. *Philonthus microtophilus* Coiffait 1967:444

Голотип и 2 паратипа: Мец Ишхансар, гнездо *M. arvalis*, 27.09.1962., Г.Аветисян. (ИЗ); 1 паратип, - там же, 23.10.1962. (ИЗ).

80. *Philonthus frigidus svanetiensis* Coiffait 1967:400

Голотип: Местия, лес, 1700м., Бакуриани, Сванетия, 27.06.1968. (КХ).

81. *Philonthus khnzoriani* Coiffait 1967a:352

Голотип: Телец, озеро, Чогац, Алтай, 13.07.1966.(КХ).

82. *Quedius angaricus* Coiffait 1975:32

Голотип: (самка). Листвянка, лес, Байкал, 19.06.1973. (КХ).

83. *Quedius xanthurus* Khnzorian 1960:147

Голотип: Кафан, Н.Ганд., АССР, 27.07.1952. (КХ).

84. *Quedius acuminiatus* ssp. *khnzoriani* Coiffait 1967a:423

Голотип и паратип: Арагац, Карагел, 3200м., АССР, 28.08.1948. (КХ)

85. *Quedius svaneticus* Coiffait 1969b:53

Голотип: Местия, 2400м., Бакуриани, Сванетия, 27.06.1968. (КХ).

86. *Quedius paraboops* Coiffait 1975:34

Голотип: (самец). Листвянка, лес, Байкал, 14.06.1973.(КХ); паратип: там же, 20.06.1973. (КХ).

87. *Quedius grouzicus* Coiffait 1969b:44

Голотип: Лагодехи, заповедник, Грузия, 13.06.1967. (КХ).

88. *Quedius abkasicus* Coiffait 1963:390

Голотип: Рица, 800м., лес, Абхз., 9.07.1958. (КХ)

89. *Quedius tadjikiscus* Coiffait 1975:32

Голотип: Таджикибад, Даран Назаран, Тджк., 15.07.1972. (КХ).

90. *Quedius quadripunctatus* Khnzorian 1960:144

Голотип: Шагалы, АССР, 2.06.1949. (КХ).

91. *Quedius turcomenicus* Coiffait 1969b:49

Голотип: Кушка, Агашлы, Тркм., 7.05.1968. (КХ).

92. *Heterothops montana* Khnzorian 1966:174

Голотип и 3 паратипа: Арагац, 3300м., Карилич, АССР, 29.08.1948. (КХ).

93. *Heterothops cephalota* Coiffait 1977:297

Голотип: (самка). Дарваз, Нульванд, Тджк., 28.06.1975. (КХ).

94. *Heterothops microtophilus* Coiffait 1977a:141

Голотип: Гукасян, Зугапюр, *M. arvalis*, 25.04.1967., Г.Аветисян (ИЗ).

Паратип: (самец). Гукасян, Сарогюх, *M. arvalis*, 29.05.1967., Г.Аветисян (ИЗ).

95. *Heterothops armeniaca* Coiffait 1977a:142

Голотип: (самка). Ереван, Канакер, АССР, 4.01.1948. (КХ).

96. *Heterothops macrops* Coiffait 1977a:142

Голотип: (самка). Двин, *M. vinogradovi*, 8.04.1967., Г.Аветисян (ИЗ).

97. *Pseudocypus picipennis* var. *rufocaucasicus* Coiffait 1964:101

Голотип: Ереван, Джрвеж, АССР, 7.03.1948. (КХ).

98. *Ocyrops khnzoriani* Coiffait 1967b:171

Голотип: Саркарон, Тджк., 7.05.1957. (ИЗ).

99. *Mycetoporus silvaticus* Khnzorian 1962:110

Голотип: Мравян, АССР, 18.06.1960. (ИЗ).

100. *Phyllodrepa armena* Khnzorian 1959:66

Голотип: Микоян, Арени, АССР, 7.06.1956. (ИЗ).

В коллекции С.М.Яблокова-Хнзоряна хранятся также следующие типы, для которых мы не нашли соответствующих источников.

101. *Anotylus foetens* Hammond

3 паратипа: 1 экз., - Хунзах, Даг.обл., 16.05.1907., Полторацкий; 2-3 экз., - Аг-

menia, prov. Loric. 7.08.1920. (ИЗ).

102. *Oxytelus foetens* Hammond

3 паратипа: Изхз. - Ереван. Бужакан, 25.06.1957. (КХ). 2экз. - Арагац, Карилич, 29.08.1948. (КХ).

103. *Oxytelus lederi* Hammond

Паратип: Или, Талгапка, Казахст., 16.05.1969. (КХ).

104. *Placusa armata* Benick

Голотип: (самец). Талыш, Алексеевка, Азерб., 16.05.1956. (КХ).

105. *Aleochara addenda* Likovsky

Паратип: Ордубад, сады, Нах.АССР. 22.04.1955 (КХ).

106. *Aleochara armeniacae* Likovsky

Голотип: Гукасян, Зугахпюр, М. Arvalis, 25.04.1967., Г.Аветисян. (ИЗ). Паратип: Айгрич, норы, 7.04.1965., Г.Аветисян. (ИЗ).

ЛИТЕРАТУРА

1. Куаффе Г. Зоол.журн., 45,195-202, 1966.
2. Хнзорян С.М. ДАН АрмССР, 22, 3, 135-139, 1956.
3. Хнзорян С.М. Зоол.сборн., 11, 2, 65-78, 1959.
4. Яблоков-Хнзорян С.М. Зоол.журн., 36, 2, 291-293, 1957.
5. Яблоков-Хнзорян С.М. Зоол.журн., 39,12, 1881-1884, 1960а.
6. Хнзорян С.М. Зоол.сборн., 12, 99-124, 1962.
7. Яблоков-Хнзорян С.М. Зоол.сборн., 13, 151-186, 1964.
8. Яблоков-Хнзорян С.М. Энт.исслед. в Киргизии, 16-26, Фрунзе, 1965.
9. Яблоков-Хнзорян С.М. ДАН АрмССР, 42, 3, 174-176, 1966.
10. Яблоков-Хнзорян С.М. ДАН АрмССР, 59, 60-64, 1974.
11. Яблоков-Хнзорян С.М. ДАН АрмССР, 87, 3, 134-139, 1988.
12. Benick G. Nouv. Rev. Ent., 4, 1, 25-37, 1974.
13. Benick G. Nouv. Rev. Ent., 10, 4, 335-340, 1980.
14. Fagel G. Bull. Ann. Soc. Roy. Entomol. Belg., 103, 347-372, 1967.
15. Coiffait H. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 98, 372-420, 1963.
16. Coiffait H. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 90, 81-106, 1964.
17. Coiffait H. Ann. Soc. Ent. Fr., 1, (N.S.), 843-849, 1965.
18. Coiffait H. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 102, 506-510, 1966a.
19. Coiffait H. Ann. Soc. Ent. Fr. (N.S.), 3, 352-444, 1967.
20. Coiffait H. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 103, 352-423, 1967a.
21. Coiffait H. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 103, 171-175, 1967b.
22. Coiffait H. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 103, 352-357, 1967c.
23. Coiffait H. Ann. Spel., 24, 701-727, 1967.
24. Coiffait H. Ann. Soc. Ent. Fr., 5, 839-886, 1969a.
25. Coiffait H. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 105, 44-53, 1969b.
26. Coiffait H. Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 105, 287-294, 1969c.
27. Coiffait H. Bull. Hist. Nat. Toulouse, 106, 146-155, 1970.
28. Coiffait H. Nouv. Rev. Ent., 2, 2, 131-150, 1972.
29. Coiffait H. Nouv. Rev. Ent., 4, 3, 197-204, 1974.
30. Coiffait H. Nouv. Rev. Ent., 5, 1, 31-37, 1975.
31. Coiffait H. Nouv. Rev. Ent., 7, 3, 295-297, 1977.
32. Coiffait H. Nouv. Rev. Ent., 7, 2, 133-143, 1977a.
33. Iablokoff-Khznorian S.M. Notul. Ent., 40, 140-153, 1960.
34. Pace R. Nouv. Rev. Ent., 12, 67-72, 1982.
35. Pace R. G. It. Ent., 1, 121-138, 1982.
36. Pace R. Annln. Naturh. Mus. Wien, 85/B, 53-102, 1983a.
37. Pace R. Acta Ent. Mus. Nat. Pragae, 41, 277-296, 1983b.
38. Puthz V. Ann. Entomol. Fenn., 33, 226-256, 1967.
39. Puthz V. Mitt. Zool. Mus. Berlin, 46, 299-309, 1970.
40. Puthz V. Entomol. Bl., 67, 2, 74-121, 1971.
41. Puthz V. Reichenbachia, 14, 35, 291-296, 1973.
42. Puthz V. Sb. Entomol. Odd. Nar. Mus. Praze, 39, 319-327, 1979.

Поступила 04.XI.1997

ВОЗБУДИТЕЛЬ ЧЕСОТКИ ОВЕЦ - КЛЕЩ *PSOROPTES EQUI VAR. OVIS* (HERING) ИЗ СЕМЕЙСТВА *PSOROPTIDAE CAN., 1892* (*SARCOPTIFORMES: ACARIDAE*) НА ТЕРРИТОРИИ АРМЕНИИ

Э.С. АРУТЮНЯН, К.П. ДИЛБАРЯН, А.В. КАЗАРЯН

Институт зоологии НАН Армении, 375014, Ереван

Приводятся результаты морфологических и биоэкологических исследований клеща *Psoroptes equi var. ovis* - возбудителя чесотки овец, рассматривается также ряд вопросов его распространения и характера патогенности в Армении.

Բերված են տվյալներ ոչխարի քու առաջացնող հարուցիչ *Psoroptes equi var. ovis* տղի մորֆոլոգիայի և կենսատվոլոգիայի վերաբերյալ: Զննարկվում են մի շարք հարցեր Հայաստանում տղի տարածվածության և նրա կողմից առաջացրած հիվանդության բնույթի վերաբերյալ:

The results of morphological and bioecological investigation of mite *Psoroptes equi var. ovis* agent of itch of sheeps are presented. Some questions about its spread and character of pathogenicity in Armenia are discussed.

*Клещ *Psoroptes equi var. ovis* - возбудитель чесотки - овцы*

При исследовании акароценозов на территории Армении почти во всех животноводческих районах отмечена зараженность овец клещом *Psoroptes equi var. ovis*. Вероятно, род *Psoroptes* представлен только видом *Psoroptes equi* Gerf., разновидности которого паразитируют на различных домашних и диких животных. Такого мнения придерживаются Херст [9], Дубинин [3,4], Бэкер и Уортон [7]. Другие авторы [2-11], не учитывая богатого потенциала изменчивости вида при переходе с одного животного на другое, считают, что каждому виду животного присущ свой особый вид клеща.

Материал и методика. С 1970 по 1990 гг. исследовали практически все животноводческие районы Армении на зараженность псороптозом овец, возбудителем которого является клещ *P. equi var. ovis*. На пастбищах разных районов для учета заболевания обследованы не менее 50 случайно выбранных овец. Изучение патогенеза чесотки проводили в государственных и частных хозяйствах. Для изучения морфологии взрослых особей клещей в течение 2-3 суток их содержали в просветляющем растворе фенол-хлоралгидрата (1:1), а затем готовили постоянные препараты по методу Арутюняна [1]. Препараты просматривали под микроскопом методом фазового контраста. Размеры (средние из нескольких промеров) указаны в микронах с округлением до 5. Ширину тела измеряли на уровне III тазика.

Результаты и обсуждение. Морфология. Длина тела самки *P. equi var. ovis* - 870, ширина 580. Форма тела самки яйцевидная (рис.1). Ноги пятичленистые, тазик слит с телом, края его на брюшной поверхности образуют плотнокхитинизированные структуры - эпимеры (рис.1, А). На лапках I, II и IV ног имеются присоски, сидящие на длинных сегментированных стебельках. Лапки III ног оканчиваются двумя длинными бичевидными щетинками. Ротовые органы грызущего типа. Хелицеры клещевидные,

удлиненные с зубчатыми краями и направленными назад шипами, с помощью которых, прокалывая, разрывают кожу животного. Мембрана тела с параллельной штриховкой на поверхности. Яйцевидное отверстие имеет вид продольной щели и расположено между тазиками I и II пары ног. Копулятивное отверстие расположено на заднем конце тела рядом с анальным отверстием. На брюшной и боковых поверхностях тела располагаются тонкие, гладкие щетинки различной длины, из которых вторая пара - подплечевые и две пары - постанальные, самые длинные щетинки. На спинной поверхности тела имеется хорошо склеротизированный пропо-досомальный щиток (рис. 1, Б) и 9 пар гладких щетинок, из которых вторая пара - лопаточные - вдвое длиннее остальных спинных щетинок.

Половой диморфизм выражен хорошо. Самец по сравнению с самкой имеет иную форму тела, иные размеры (длина тела 570, ширина-500) и вооружение ног и опистосомальные лопасти на заднем конце (рис.2, А). Копулятивный орган расположен на брюшной стороне тела на уровне тазиков IV ног. На

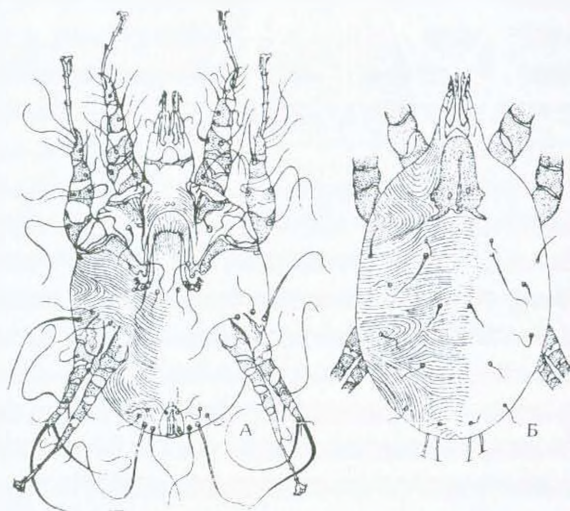


Рис. 1. *Psoroptes equi* var. *ovis*. А, Б самка. А - снизу, Б - сверху.

брюшной стороне заднего конца тела по сторонам анального отверстия имеется пара анальных копулятивных присосок. На лапках I, II и IV ног, как у самки, имеются присоски, сидящие на длинных сегментированных стебельках. Опистосомальные лопасти снабжены пятью парами щетинок, из которых две пары концевые хлыстообразные и длиннее остальных. На спинной поверхности тела (рис.2, Б), кроме проподосомального щитка, имеется хорошо склеротизированный опистосомальный щиток, который покрывает заднюю часть спинной поверхности тела. На брюшной, спинной и боковых поверхностях тела большинство щетинок, по сравнению с щетинками самки, более крупные и длинные.

Биоэкология. Жизненный цикл клеща включает фазы яйца, личинки, протонимфы, телеонимфы и имаго.

Заболевание овец чесоточным клещом-накожником *P. equi* var. *ovis* отмечено как в государственных, так и частных хозяйствах. Высокая зараженность в 1987-1989гг. зарегистрирована в Араратском, Апаранском, Арагацском, Артикском, Ахурянском, Красносельском, Варденисском и

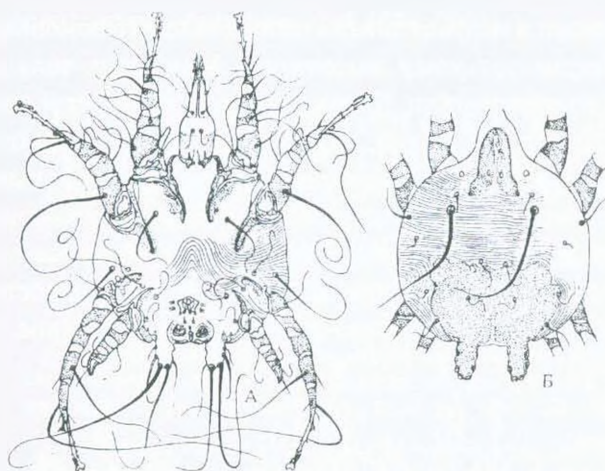


Рис. 2. *Psoroptes equi* var. *ovis*. А, Б самец.
А - снизу, Б - сверху.

Гукасянском районах. Псороптоз овец чаще встречается в частных хозяйствах, где практически не проводятся противочесоточные мероприятия. На пастбищах Варденисского района в конце сентября 1987 г. в частных стадах овец отмечена повышенная зараженность чесоткой. Из условно первого опытного стада (50 случайно выбранных голов

овец) шесть животных были заражены чесоткой, а из второго, третьего и четвертого (то же количество случайно выбранных голов овец) - соответственно 3, 6, 4 головы овец. При исследовании акароценозов высокогорий на летних пастбищах Арагатского района (Агриджа) в августе 1988 г. из 100 голов овец (частное хозяйство) семь были заражены *P. equi* var. *ovis*. В 1989 г. в Арагацском и Апаранском районах в июле-августе из 100 случайно выбранных голов овец государственного сектора у четырех, а в частном секторе - у одиннадцати обнаружен псороптоз.

В последние 15-20 лет в основном в государственных овцеводческих хозяйствах Армении степень зараженности овец чесоточным клещом низка, что не оказывает заметного отрицательного влияния на настриг шерсти и поголовье скота. Это объясняется тем, что при возникновении первых очагов возбудителя специалистами периодически проводятся противочесоточные мероприятия против зудневой, наожниковой чесотки.

Мероприятия против чесотки иногда осложняются практикующимся совместным содержанием государственного и частного стада на пастбищах, при котором и происходит заражение здоровых овец.

Клиника чесотки. Клещ *P. equi* var. *ovis* паразитирует на поверхности кожи овцы и не делает ходов в эпидермисе. Как было сказано выше, клещ прокалывает кожу хелицерами и питается лимфой и серозной жидкостью крови. Патологическое состояние кожи и связанная с ним обильная экссудация являются питательной средой для клещей. Клещ прокалывает эпидермис кожи в ямках вокруг мест выхода стержня волоса хозяина. В этих местах роговой слой эпидермиса тоньше и мягче, имеется богатое ветвление кровеносных сосудов, что помогает клещу с помощью коготков передних ног закрепиться на поверхности кожи и хелицерами прокалывать ее. В процессе поэтапного

лимфососания в местах прокола на поверхности кожи появляются капли прозрачного экссудата, которые в прикорневой части шерсти создают увлажненную среду, благоприятную для дальнейшего развития клеща. Одним из первых симптомов болезни является зуд, который усиливается в теплое время года, по ночам и во время движения овец. После откладки яиц, когда появляются различные постэмбриональные фазы клеща, в основном женские протонимфы и телеонимфы, и вследствие их жизнедеятельности прозрачный экссудат заметно густеет и приобретает вид бугристых комков, так называемые “мягкие корочки” [4], склеивающие волосы в пучки. В дальнейшем “мягкие корочки” высыхают, образуя суховатые комочки - “крошковидные корочки” буро-желтого цвета, крепко приставшие к эпидермису кожи. После образования твердой корки в этих участках - “потухших очагах” - живых клещей найти невозможно. Грубая корка постепенно отделяется от эпидермиса и во время расчесывания пораженных мест отпадает вместе с пучком шерсти, в результате чего образуются облысевшие участки кожи. Часто даже ветеринарные врачи ошибочно считают эти “потухшие очаги” действующими и проводят противочесоточные мероприятия против якобы присутствующих там клещей. В связи с этим, как отмечают некоторые авторы [4], при обнаружении накожниковой чесотки особое внимание должно быть направлено на молодые очаги, характеризующиеся наличием жидкого прозрачного экссудата.

Известно, что при неблагоприятных условиях существования у клещей появляются расселительные особи - женские телеонимфы, которые расползаются по телу хозяина или, переходя на других животных, образуют новые очаги. В жаркое время, когда на поверхности тела животного резко снижается влажность, в этих новых очагах заражения женские телеонимфы впадают в состояние диапаузы на срок до 5-6 месяцев в районах Араратской долины и на 3-4 месяца в горных и предгорных районах республики. После диапаузы в осенний период вновь обнаруживаются признаки чесотки, которые часто ошибочно расцениваются как новое заражение животного клещом *P. equi var. ovis*. Осенние случаи обнаружения чесотки, как отмечают и другие авторы [3,6], не являются новыми, а должны рассматриваться как рецидивы чесотки, обусловленные сохранением в летнее время на теле животных диапаузирующих женских телеонимф. В зависимости от условий среды клещ *P. equi var. ovis* в течение года может дать 9-10 поколений.

Такая распространенная форма чесотки появляется исключительно на покрытых густой шерстью частях тела животных. Особенно часто клещ заражает и развивается на теле тонкорунных овец (мериносов, рамбулье и др.), среди которых эпизотии чесотки принимают часто тяжелый характер. Псороптоз овец, одновременно представляющий опасность и для обслуживающего персонала, к сожалению, является до сих пор весьма опасным и распространенным в Армении заболеванием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Э.С. Определитель фитосейидных клещей сельскохозяйственных культур Армянской ССР. 176, Ереван, 1977.
2. Богданов Н.Н. Курс кожных болезней. 368, Сельхозгиз., М., 1936.
3. Дубинин В.Б. Зоол. журн., 29, 1, 41-51, 1950.
4. Дубинин В.Б. Чесоточные клещи. 172, Советская наука, М., 1954.
5. Палимпсестов М.А. Научн. тр. Укр. ин-та экспер. ветеринарии, 14, 35-45, 1946.
6. Троицкий И.А. Физиология и гигиена кожи сельскохозяйственных животных. 240, Сельхозгиз., М., 1948.
7. Baker E.W., Wharton G. An introduction to acarology. MacMillan, 465, N-Y., 1952.
8. Canestrini G. Atti Ist. Veneto. 52, 1200-1248, 1894.
9. Hirst S. Brit.Mus. (Nat. Hist.), Econ. Ser., 13, 107, 1922.
10. Megnin P. Les parasites et maladies parasitaires, 478, Paris, 1880.
11. Trouessart E.L. Bull. Soc. Entom., 326-328, France. 1896.

Поступила 18.IV.1997

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК В СИСТЕМЕ ООЦИТ-ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ КЛЕТКИ АРАРАТСКОЙ КОШЕНИЛИ

М.Г. ХАЧАТРЯН

Институт молекулярной биологии НАН Армении, 375044, Ереван

Исследовались рост питающих клеток и процесс накопления Sh-групп в них в мероистических политрофных овариолах араратской кошенили. Показано, что клетки, расположенные ближе к камбиальной зоне (зона митозов) и ооциту, раньше других достигают функциональной активности и что процесс дегенерации в этих клетках начинается сравнительно рано. Высказывается мнение, что гетерогенность клеток в системе ооцит-вспомогательные клетки обусловлена неодинаковой интенсивностью межклеточного обмена в этой системе.

Արարատյան որդան կարմիր մերոիստիկ պոլիտրոֆիկ ծվարաններում հետազոտվել է սնուցող բջիջների աճը և նրանցում Sh-խմբերի կուտակումը: Ցույց է տրվել, որ կամբիալ գոտուն (միտոզների գոտուն) և oogիտին առավել մոտ տեղադրված սնուցող բջիջներում, ֆունկցիոնալ հասունացումն ավելի վաղ է վրա հասնում և որ այդ բջիջներում քայքայման պրոցեսները նույնպես համեմատաբար վաղ են սկսվում: Ենթադրվում է, որ oogիտ-օժանդակ բջիջներ համակարգի բջիջների տարասեռությունը պայմանավորված է այդ համակարգում միջբջջային փոխանակության ինտենսիվության տարբերությամբ:

The processes of cell growth and accumulation of Sh-groups in the nurse cells of meroistic polytrophic ovarioles of Ararat Coccineal were studied. The cells located close to the combial zone (mitoses zone) and the oocyte are shown to achieve functional maturation earlier than the rest of the nurse cells. The processes of degeneration also are shown to take place in these cells relatively early compared with the rest of cells. It is supposed that cell heterogeneity of the oocyte-auxiliary cells system is due to differing activity in the cell-to-cell exchange processes.

Кошениль араратская - ооцит - трофоциты - фолликулярные клетки

В зависимости от способов питания и пространственных отношений между ооцитом и окружающими его клетками различают солитарный (отсутствие питающих и фолликулярных клеток), фолликулярный (ооцит окружен фолликулярным эпителием), и нутриментарный (присутствуют и фолликулярные и питающие клетки) типы оогенеза [14]. По своему строению яичники кошенили мероистически политрофные. Известно, что в политрофных яичниках трофоциты достигают наивысшей морфологической и функциональной активности [3, 4]. В них после завершения дифференциальных оогонияльных митозов ооцит с нечетным числом трофоцитов из гермария перемещается в вителлярий и вместе с ними окружается фолликулярными клетками. Трофоциты и ооцит остаются связанными цитоплазматическими мостиками (кольцевые каналы, фузомеры), через которые осуществляется переход РНК из питающих клеток в ооцит [1]. Число трофоцитов в образовавшейся таким образом яйцевой камере, за редким исключением, можно определить по формуле 2^{n-1} , где n- число делений и постоянно для каждого вида [17] и совпадает с числом цитоплазматических

мостиков прооцита. Предполагается, что синхронность митотических делений осуществляется благодаря кольцевым каналам и является основой для этой формулы [3].

Было показано, что у большинства насекомых период ранней дифференцировки ооцита и трофоцитов приходится на личиночные стадии развития [1]. На примере ряда насекомых было показано также, что в мейоз вступают клетки, имеющие наибольшее число цитоплазматических мостиков, в их ядрах начинается конъюгация хромосом и они становятся ооцитами. В ядрах же остальных клеток начинается полиплоидизация хромосом, и они становятся полиплоидными трофоцитами [3, 4].

Было показано также, что с началом дифференцировки в трофоцитах дрозофилы исчезают центриоли. В дальнейшем 14-17 центриолей из 32-х возможных попадают в будущий ооцит, а полиплоидизация в ядрах трофоцитов начинается лишь после утраты ими центриолей [15].

Исследования Кинга и сотрудников на дрозофиле показали, что расхождение путей развития ооцита и трофоцитов (в частности гетерогенность ядер трофоцитов по их размеру и плоидности, см. ниже) во многом определяется расположением и ориентацией клеток в цисте и в гермариин, а также в их контакте с префолликулярной тканью [5, 13] или интерцитиальными клетками [10]. Важное значение расположению клеток в цисте и в гермариин придает также Роуз [16].

Есть насекомые, для которых маркерным показателем будущего ооцита является тельце экстрахромосомной ДНК, у других оно служит маркером для будущих трофоцитов, у третьих же - появляется как в будущем ооците, так и в будущих трофоцитах [3]. На примере цекропии показано, что между ооцитом и трофоцитами существует разность потенциалов порядка 10 мВ. На этом основании Телфер предположил, что одним из условий расхождения путей развития ооцита и трофоцитов является поляризация движения материала в первом цитоплазматическом мостике, образовавшемся после первого оогонимального деления [17]. Несмотря на эти и многие другие данные, по сей день вопрос окончательной дифференцировки ооцита и трофоцитов остается открытым.

У кошенили типичная для насекомых яйцевая трубочка, состоящая из концевой нити, гермариин и вителлярин [1], не образуется. Каждая клеточная группа, образовавшаяся после завершения дифференциальных оогонимальных митозов (непосредственно в толще тяжа герминативного эпителия) и состоящая из 14 протрофоцитов и 2 проооцитов (одна из которых с некоторой задержкой тоже превращается в трофоцит), окружается плоским фолликулярным эпителием, прикрепляется к яйцеводу и превращается в ранний фолликул, в котором развивается только одна яйцеклетка. Перед началом вителлогенеза между ооцитом и трофоцитами образуется перегородка - зона митозов, или камбиальная зона [6]. Она формируется путем врастания фолликулярных клеток между ооцитом и трофической камерой, где до поздних этапов развития сохраняется пролиферативная активность фолликулярных клеток.

Через эту перегородку проходит трофоплазматический стержень, что создает сходство между овариолами кошенили и телотрофными овариолами

других насекомых.

Целью настоящих исследований было на основании морфологических отличий строения мероистически политрофных овариол араратской кошенили с таковыми у других насекомых выявить особенности дифференцировки клеток и причины этих особенностей в системе ооцит-вспомогательные клетки в процессе оогенеза араратской кошенили.

Материал и методика Исследования проводили на гонадах личинок и половозрелых самок араратской кошенили, собранных весной и осенью. Гонады извлекали в изотоническом растворе (0,75%-ный NaCl) при комнатной температуре и фиксировали в смеси формалин-этанол-уксусная кислота, готовили парафиновые срезы (5мкм). Для морфологического анализа срезы окрашивали гематоксилином по Мейеру и эозинном. Контуры ядер и клеток зарисовывали с помощью аппарата ФМН-2 на бумаге стандартной толщины (по 500-700 клеток и ядер на каждой стадии развития фолликула), околпуренные клетки вырезали, взвешивали на аналитических весах, полученные данные переводили в микрометры. Вычисляли площадь клеток и ядер. Реакцию на связанные с белком Sh-группы проводили на срезах. Препараты выдерживали в 0,05%-ном растворе 2,2-диокси-6-6-динафтил-дисульфиде (ДДД) в течение 1 ч при температуре 55°, затем докрашивали 0,06%-ным раствором диазониевой соли прочного К в течение 8 мин.

Фотометрию проводили на зондовом цитофотометре одноволновым методом (длина волны 555 нм).

Исследования проводили в период большого роста ооцита, который ранее условно был подразделен на 5 стадий. Первая и вторая стадии приходятся на цитоплазматический (привителогенез), а 3-5-е стадии - трофоплазматический (вителлогенез) роста ооцита [6].

Результаты и обсуждение. Как показали полученные нами данные, трофоциты, расположенные ближе к ооциту и фолликулярным клеткам зоны митозов (1-я зона), до 4 стадии крупнее, чем клетки, расположенные в апикальной (2-я зона) части трофической камеры (это относится как к цитоплазме, так и к ядру). Однако если рост клеток 2-й зоны продолжается и на 5-й стадии, то размеры клеток первой зоны на 5-й стадии заметно уменьшаются (табл. 1). Такая же закономерность наблюдается при накоплении белковосвязанных сульфгидрильных групп (табл. 2).

Таблица 1. Размеры трофоцитов по зонам, мкм

Зоны		Стадии развития				
		I	II	III	IV	V
Цито-плазма	I	30,5+0,7	165,3+4,4	224,6+4,5	277,4+12,2	230,1+7,4
	II	23,5+0,5	149,4+4,0	202,2+6,4	213,4+ 7,4	223,7+8,0
Ядро	I	21,6+0,4	127,4+3,4	159,4+4,5	243,0+13,1	163,8+7,4
	II	18,8+0,2	116,6+2,4	141,0+4,8	162,2+ 8,3	170,2+7,2

Таким образом, питающие клетки, расположенные ближе к ооциту и к фолликулярным клеткам в зоне митозов, отличаются сравнительно большими размерами и более высокой функциональной активностью на начальных этапах развития. Из этих данных следует также, что признаки дегенерации (уменьшение размеров и снижение уровня содержания сульфгидрильных групп) в этих клетках наблюдаются раньше, чем в расположенных далеко от зоны митозов и ооцита. Об этом свидетельствуют также наши данные о накоплении ДНК и суммарном белке [7].

Таблица 2. Содержание Sh-групп в трофоцитах по зонам, усл.едн.

Зоны		Стадии развития				
		I	II	III	IV	V
Цито- плазма	I	8,8±0,4	103,3±4,2	170,7±4,2	144,2±7,0	128,9±4,6
	II	7,0±0,2	82,5±3,4	155,7±5,4	111,0±4,0	127,5±4,8
Ядро	I	7,4±0,3	33,8±1,8	92,5±2,8	131,0±0,4	81,9±3,9
	II	8,0±0,1	33,8±1,8	82,0±3,0	118,9±5,3	88,5±4,2

Подобная гетерогенность трофоцитов была отмечена и у других представителей двукрылых [11]. Браун и Кинг объясняли гетерогенность трофоцитов у дрозофилы тем, что большая площадь контакта трофоцитов с фолликулярными клетками и другими трофоцитами в трофической камере способствует быстрому получению этими клетками необходимых предшественников. Иными словами, большая площадь контакта способствует интенсивному межклеточному обмену. Позднее между трофоцитами и фолликулярными клетками дрозофилы были обнаружены щелевые контакты [15], которые, как известно, играют очень важную роль в процессе межклеточного обмена [2]. Что касается второго предположения [9] о том, что чем ближе к ооциту расположены питающие клетки, тем быстрее они опорожняют свое содержимое в ооцит, то оно в свою очередь предполагает интенсивный межклеточный обмен. В данном случае уместно говорить о цитоплазматических мостиках, поскольку переход рибонуклеопротеидов (РНП) из трофоцитов в ооплазму осуществляется через них.

Нам же кажется, что раннее проявление признаков дегенерации в клетках, близко расположенных к ооциту, связано еще и с другим обстоятельством, а именно - чем раньше эти клетки достигают максимальной активности, тем раньше они завершают свое функционирование.

Поскольку на кошенили не проводилось более подробных исследований, то можно лишь предположить, что гетерогенность трофоцитов и раннее проявление признаков дегенерации в части из них могут быть обусловлены неодинаковой интенсивностью межклеточного обмена.

Своеобразным проявлением межклеточного обмена у кошенили может служить выход частично поврежденных, а порой и целых ядрышек трофоцитов в ооплазму через цитоплазматический стержень [7]. Поскольку не проводились исследования, доказывающие разность потенциалов между ооцитом и трофоцитами у кошенили, можно лишь предположить, что проникновение ядер в ооплазму объясняется этим явлением. Наличие же перегородки (см. выше) между ооцитом и трофоцитами в какой-то мере препятствует этому процессу. Факты выхода целых ядрышек из ядра в ооплазму были описаны ранее, но они считались артефактами. Однако в дальнейшем методом электронной микроскопии были обнаружены случаи выхода целых ядрышек в ооплазму у крыс, трематод и сверчков [12]. То обстоятельство, что этот феномен имел место перед таким ответственным моментом онтогенеза, как оплодотворение, причем у разных представителей животного царства, привело Яворску и Лима-де-Фария к выводу, что выход целых ядрышек, к тому же с

большим содержанием ДНК, не может быть случайным и имеет генетическое значение. Образование перегородки между ооцитом и трофоцитами, т.е. камбиальной зоны, где фолликулярные клетки очень долго сохраняют пролиферативную активность, было описано впервые у кошенили. Это уникальное явление заслуживает более пристального внимания, т.к. при должном изучении оно могло во многом способствовать выяснению механизмов, лежащих в основе клеточной дифференцировки.

Поскольку полиплоидизация и дальнейшая дифференцировка фолликулярных клеток у кошенили начинаются после того, как они отходят от зоны митозов и теряют контакт с питающими клетками, то было высказано предположение, что митотическая активность указанных клеток каким-то образом связана с их контактом с трофоцитами. По-видимому, во всех перечисленных процессах не самую последнюю роль играют межклеточные контакты. Окончательный ответ на все эти вопросы возможен только после проведения необходимых исследований.

У кошенили в синтезе РНК, необходимого для нормального развития яйцеклетки и начальных этапов эмбриогенеза, участвуют и питающие клетки, и ядро ооцита [6, 7, 8]. Следовательно, яичники араратской кошенили занимают промежуточное место между высокоразвитыми насекомыми, у которых синтез РНК происходит исключительно в питающих клетках, и теми, у которых эту функцию выполняет ядро ооцита. Таким образом, изучение оогенеза араратской кошенили имеет важное значение и с эволюционной точки зрения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айзенштадт Т.Б. Цитология оогенеза. М., Наука, 247, 1984.
2. Васильев Ю.М., Гельфанд И.М. М., Наука, 70, 1981.
3. Грузова М.Н. Онтогенез, 13, 6, 563-571, 1982.
4. Грузова М.Н. Цитология, 27, 4, 368-375, 1985.
5. Кожанова Н.И., Пасичник М.Н. Цитология, 21, 10, 1145-1149, 1979.
6. Магакян Ю.А., Макарян С.Р., Петросян А.В., Мкртчян Л.П., Аброян Л.О., Акопян Л.А. Цитология, 18, 8, 932-936, 1976.
7. Хачатрян М.Г., Акопян Л.А., Петросян А.В., Каралова Е.М., Макарян С.Р., Магакян Ю.А. Цитология, 21, 4, 382-389, 1979.
8. Хачатрян М.Г. Биол. журн. Армении, 43, 5, 383-387, 1979.
9. Brow E., King R.C. Growth, 28, 41-48. Buning J.J., 1964.
10. Buning J.J. Morphol., 156, 2, 237-255, 1978.
11. Daples C.C., King R.C. Ztschr. Zellforsch., 103, 1, 34-37, 1970.
12. Jaworska H., Lima-de-Faria A. Hereditas, 74, 2, 187-204, 1973 6.
13. King R.C., Rasch E.M., Riley S.F. Histochemistry, 72, 2, 131-134, 1985.
14. Korschelt E., Heider K. Jena, Fischer, 1902.
15. Mahowald A.P., Caulton., Edwards M.K., Floyd A.D. Exp. Cell Res., 118, 2, 404-410, 1979.
16. Rousset A. Intern. J. Insect Morphol. and Embryol., 7, 1, 45-71, 1978.
17. Telfer W.T. Adv. Insect. Physiol., 11, 2, 223-319, 1975.

Поступила 10.VII.2001

УСТОЙЧИВОСТЬ ЯГНЯТ С РАЗНОЙ ПИГМЕНТАЦИЕЙ ШЕРСТНОГО ПОКРОВА К ДЕЙСТВИЮ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА СРЕДЫ

Р.А. АРУТЮНЯН, Р.Г. КОЧАРЯН*, А.Ш. АНТОНЯН

Институт физиологии им. акад. Л.А. Орбели НАН Армении, 375028, Ереван
**Институт зоологии НАН Армении, 375014, Ереван*

Установлено, что у овец с коричневой пигментацией шерстного покрова высокая теплоустойчивость летом обусловлена активацией физических механизмов терморегуляции организма, в частности, интенсивной теплоотдачей испарением, механизмом полипноэ и излучением. Высокая холодоустойчивость овец с белой пигментацией шерстного покрова зимой объясняется активацией механизмов химической терморегуляции и повышением теплопродукции.

Բացահայտվել է, որ ամռանը մուգ գույնի բրդածծկույթով ոչխարների ջերմադիմացկունությունը պայմանավորված է նրանց ֆիզիկական ջերմակարգավորման մեխանիզմների ջերմաճառագայթման, պոլիպնոի և գոլորշիացման ինտենսիվ ընթացքով, իսկ սպիտակ գույնի բրդածծկույթով ոչխարների ցրտադիմացկունությունը ծնունդից բացահայտվում է նրանց ջերմակարգավորման քիմիական մեխանիզմներով, այն է բարձր նյութափոխանակությամբ և ջերմաքստադրությամբ:

It has been estimated that in summer the high thermostability in sheeps with brown pigmentation of the woolen cover has stipulated by activation of physical mechanisms thermoregulation of the organism, particularly intensive heat irradiation by means evaporation, mechanism polypnea and irradiation from organism. The high cold-resistance of the sheep with white pigmentation of woolen cover have been stipulated by the activity of mechanisms of chemical thermoregulation and increased thermoproduction.

Ягнята - пигментация шерстного покрова - терморегуляция - термосодержание

Изучение терморегуляторной функции животных с учетом морфологических особенностей пигментации шерстного покрова имеет важное научное значение. В свое время Калантар [3] выдвинул термическую теорию пигментации, согласно которой белый цвет шерстного покрова является защитным для животных в холодных странах, а черный цвет - в теплых. Исследования по влиянию окраски покрова на величину поглощаемости солнечного излучения показали, что для белого зулусского скота она равна в среднем 49%, для красного африканского - 89% [7].

По данным других исследователей [11], у коров с темно-коричневой окраской поглощение лучей при прямом солнечном облучении в 3 раза превышает собственную теплопродукцию. Доказано также [8, 9, 10], что белая поверхность шкуры крупного рогатого скота может поглотить 20% видимой радиации, а черная - 100%. Выявлена [6] неодинаковая теплоотдача кожи пятнистых крупного рогатого скота и свиней. Черные пигментные участки имеют более высокую температуру поверхности (при высокой температуре внешней среды), чем белые или светлые, что указывает на

усиленные кровообращение и метаболизм на черных участках. Установлено, что в летний период года у кур с черной пигментацией оперения теплоотдача увеличивается в среднем на 38,8%, а у кур с белой пигментацией - на 12,4%. В период термического полипноэ у кур с черной пигментацией оперения частота дыхания составляла 226, а у кур с белой пигментацией - 150. Имеются также работы [5], результаты которых свидетельствуют о зависимости оптических перьев птиц от их пигментации. Коэффициент отражения чернотелых перьев на 13-18% меньше аналогичного показателя белых перьев. Имеются данные [1] о более напряженном энергетическом обмене зимой у темных животных по сравнению с белыми. При этом потребление кислорода у темных животных на 70% выше, чем у белых.

Приведенные литературные данные не исчерпывают проблемы, и некоторые вопросы остаются нерешенными, требующими разъяснения. В частности, представляет особый интерес выяснение коррелятивных особенностей в сезонном проявлении механизма тепло- и холодоустойчивости у ягнят с разной пигментацией шерстного покрова в конкретных эколого-климатических условиях Армении.

Материал и методика. Опыты были проведены в условиях сухого континентального климата предгорной зоны Араратской равнины, в питомнике экспериментальной базы Института зоологии НАН Армении в течение 1997-1998гг. Для опытов были выделены 8 голов ягнят 4-месячного возраста, в том числе 5 голов с белой пигментацией шерстного покрова и 3 - с коричневой. Ягнят содержали в загоне и в общем стаде. Электротермометром ТЭМН-60 определяли температуру "ядра" организма в области ободочной кишки, а "оболочки" организма - в области носового зеркала и поверхности кожи спины. Частоту дыхания учитывали визуально, а частоту пульса - с помощью тактильной рецепции хвостовой артерии. Выбор этих показателей не случаен, так как температура кожи показывает уровень теплоотдачи излучением, а температура носового зеркала отражает уровень теплоотдачи испарением. Частота пульса и дыхания отражает интенсивность процессов терморегуляции организма в целом. Тепло- и холодоустойчивость определяли по формуле: $ИТХУ = 2(t_1 - 10dt + 10)$, где t_1 - дневная температура воздуха, dt - разница между дневной и утренней температурой тела [2]. Теплоемкость определяли по формуле $Q = Cmt$, где C - удельная теплоемкость ткани, равная 0,8 кал/г°C, m - масса животного, t - абсолютная температура "ядра" организма.

Порядок исследования: в разные сезоны года утром и днем определяли температуру внешней среды и органов "ядра" и "оболочки" организмов, а также состояние сердечно-сосудистой системы и дыхания. Всего было проведено 80 опытов, результаты которых статистически обработаны по критерию Стьюдента. Критический уровень значения принимали за 0,05.

Результаты и обсуждение. Известно, что постоянство температуры "ядра" организма овец в основном обуславливается физическими механизмами терморегуляции. Установлено, что в весенне-летний период года при средней температуре окружающей среды в утреннее время +19° и дневное +28° среднедневная температура "ядра" организма у белых овец составляла 39,6-39,8°, а у коричневых - 39,7-40,1°, т.е. на 0,3° выше. В осенне-зимний период года при температуре внешней среды утром +15° (осенью) и -12° (зимой), а днем соответственно +22 и -3° среднедневная температура "ядра" организма у белых овец составляла 39,5-39,8°, а у коричневых - 39,2-39,5°, т.е. на 0,3° ниже.

Изучение топографического распределения температуры "оболочки" организма на отдельных его участках показало, что в весенне-летние месяцы у коричневых овец температура кожи выше, чем у белых, что способствует лучшей теплоотдаче, а в осенне-зимние месяцы эти показатели сравнительно выше у белых овец. Так, в весенне-летние месяцы температура в области носового зеркала у коричневых овец была выше, чем у белых, на 1° , а в осенне-зимние месяцы - ниже на $1,3^{\circ}$. В весенне-летнее время года температура кожи у коричневых овец была выше в среднем на $0,7^{\circ}$. В осенне-зимние месяцы особой разницы в этом показателе не отмечалось.

В формировании физических механизмов терморегуляции большую роль играют сердечно-сосудистая и дыхательная системы. В наших экспериментах в весенне-летнее время года частота дыхания в период полипноэ у белых овец составляла 106, а у коричневых - на 11 больше. В зимние месяцы эти показатели составляли соответственно 32 и 34. Частота пульса у белых овец в этот период составляла максимум 103, а у коричневых - 96; в осенне-зимние месяцы в среднем соответственно 83 и 80 ($P < 0,05-0,001$).

Изучение изменения теплосодержания у овец показало, что в весенне-летние месяцы у белых овец оно составляло в среднем 31,8, у коричневых - 31,84 ккал/кг, а в осенне-зимние месяцы соответственно 31,72 и 31,5 ккал/кг, или на 0,22 ккал/кг выше (табл. 1)

Таблица 1. Тепло- и холодоустойчивость и теплосодержание в организме овец с разной пигментацией шерстного покрова

Сезоны года	ИТХУ		Теплосодержание, ккал/кг	
	коричневые	белые	коричневые	белые
Весна-лето	71,5	69	31,84	31,80
Осень-зима	39	40,5	31,5	31,72

Нами установлено также, что овцы с коричневой пигментацией кожного покрова более тепловыносливые в условиях жаркого климата, чем белые: у первых индекс теплоустойчивости летом составлял 71,5, а у вторых - 69. Зимой холодоустойчивыми оказались белые овцы, у них индекс холодоустойчивости составлял в среднем 40,5, а у коричневых - 39 (табл. 1).

Таким образом, высокая теплоустойчивость овец с коричневой пигментацией шерстного покрова в летний период года обусловлена активацией физических механизмов терморегуляции организма, в частности, интенсивной теплоотдачей испарением, механизмом полипноэ и излучением от организма. Высокая холодоустойчивость овец с белой пигментацией шерстного покрова в весенне-зимние месяцы обусловлена, с одной стороны, активностью механизмов химической терморегуляции, с другой - повышенной теплопродукцией, что подтверждается высоким теплосодержанием (в среднем на 0,22 ккал/кг) организма и температурой внутренних органов (в среднем на $0,3^{\circ}$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Белогубова Е.Г. Сб. VI Всес. конф. по эколог. физиологии, "Адаптация организмов к природным условиям", 13, Сыктывкар, 1982.
2. Ерохин П.И. Сб. Физиологические основы породного районирования с-х животных", Л., Наука, 15-19, 1968.
3. Калантар А.А. Закономерность окраски животных и термическая теория пигментации. М., Изд-во "Новая деревня", 1927.
4. Карапетян С.К., Арутюнян Р.А. Изв. с-х наук, 10, 67-74, Ереван, 1970.
5. Ким С.Х., Авдеенко А.П., Бугов Г.П. Сб. Применение оптического излучения в животноводстве и растениеводстве, 39, М.-Орджоникидзе, 1976.
6. Фляк В.В. Докл. Тимирязевской с-х академии, М., 63, 233, 1961.
7. Bonsma J.C. J. Agric. Sci., 39, 204, 1949.
8. Findlay J.D. Bull. Hanna Dairy. Sci., 9, 1958.
9. Findlay J.D. XX Inter. Congress Physiol. Abstr. of Commun., 288, Bruxelles, 1956.
10. Findlay J.D. Bull. Hanna Dairy Res., 17, 22, 1959.
11. Remersmidt G., Elder J.S.G. J. Veter. Sci., 26, 232, 1984.

Поступила 06.XI.1998

УЧАСТИЕ ГАМКЕРГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА О-СУЛЬФОЭТАНОЛАМИНА В ПРОЦЕССАХ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ

Р.Г. КАМАЛЯН, Т.А. ГЮЛЬБАЯЗЯН, Э.А. ШИРИНЯН

*Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН Армении, 375044, Ереван
Армянская СХА, 375009, Ереван, ИТОХ НАН Армении, 375014, Ереван*

Изучена возможность протекции ГАМКергическим препаратом О-сульфоэтаноломином (СЭА) транспортного стресса телят, приводящего к потерям массы при перевозках на различные расстояния. Показано, что дача с кормом препарата в дозе 1 г/кг массы за 1-3 ч до транспортировки способствует смягчению стресс-реакции, что проявляется в двукратном сокращении потерь массы, сопровождающемся ослаблением реакции коры надпочечников, оптимизацией энергетических затрат на выход из экстремальной ситуации. Характер действия препарата подобен эффекту применяемого в животноводческой практике давидина. В механизме действия СЭА первостепенное значение, скорее всего, имеет активация ГАМКергических механизмов мозга.

Ուսումնասիրվել է հորթերի տեղափոխման ընթացքում կենդանի զանգվածի կորստով ուղեկցվող տրանսպորտային ստրեսի կանխման հնարավորությունը ՉԱԹերգիկ նյութի Օ-սուլֆոէթանոլամինի (ՍԷԱ) օգտագործման միջոցով: Ցույց է տրվել, որ ՍԷԱ-ի կերի հետ հորթերին 1-3 ժամ տեղափոխումից առաջ 1գ/կգ զանգվածին ներմուծումը նպաստում է ստրես-նեակցիայի մեղմացմանը: Դրա մասին վկայում են հորթերի կենդանի զանգվածի կորստի կրկնակի կրճատումը, մակերիկամների կեղևի ռեակցիայի նվազումը և էքստրեմալ վիճակից դուրս գալու էներգետիկ ծախսերի տնտեսումը: Նյութի ազդեցությունը նմանվում է անասնապահության պրակտիկայում կիրառվող սեդատիվ պրեպարատների շարքին պատկանող դանիդինի ազդեցությանը: ՍԷԱ-ի ազդեցության մեխանիզմում առաջնային նշանակություն ունի ուղեղի ՉԱԹերգիկ մեխանիզմների ակտիվացումը:

The possibility of protection of the transport stress of the calves by the GABAergic substance O-sulfoethanolamine (SEA) has been studied. The transportation of calves leads to the loss of body weight. It was demonstrated that addition to the blood of calves 1-3 hours before the transportation causes decrease of the stress reaction. In particular the loss of the body weight is decrease twice., the reaction of adrenals is reduced and the optimization of the energy use during stress occurs. The character of the SEA action resembles the effect of daridin, the substance used in the practice of the live-stock farming. The mechanism of the SEA action is probably the activation of the GABAergic system of the brain.

На основании изучения закономерностей функционирования ГАМКергических механизмов мозга в норме и при различных нервно-психических расстройствах разработаны определенные подходы для их регуляции и корреляции путем вмешательства в процессы биосинтеза и утилизации ГАМК, ее высвобождения и захвата, гармонизации с другими нейромедиаторными механизмами. Особую роль в применении ГАМКергических препаратов сыграло изучение процессов рецепции ГАМК, архитектоники рецепторов и их физико-химических свойств, биохимических и фармакологических характеристик, приведшее к синтезу ряда агонистов и антагонистов ГАМК-рецепторов.

Поскольку ГАМКергические механизмы запускаются и при реализации

стрессорных ответов, генерация ГАМК в мозгу рассматривается как средство смягчения нежелательных последствий стресса, связанных с расстройством функций, приводящим к возникновению заболеваний.

В качестве источника ГАМК используют ее аналоги, преодолевающие ГЕБ и оказывающие выраженное тормозящее действие на нейронную активность. К их числу относятся давно и успешно применяемые лекарственные средства (фенибут, баклофен), являющиеся агонистами ГАМК-рецепторов. Последние, наряду с нейролептиками и транквилизаторами, используются в ветеринарии и животноводческой практике для протекции стрессов при транспортировке и комплексном содержании сельскохозяйственных животных [1-3].

Транспортировка, являющаяся мощным стресс-фактором, в особенности для молодняка, вызывает дополнительные затраты энергии, приводит к перестройке гомеостаза, уменьшению живой массы, ослаблению резистентности, нарушениям адаптационных механизмов [4-6].

В наших исследованиях в качестве ГАМКергического агента мы использовали СЭА, являющийся ингибитором ГАМКтрансаминазы [7] и агонистом ГАМК-рецепторов [8]. В опытах с иммобилизацией крыс [9] и имитацией у них транспортного стресса [10] было показано противострессорное действие СЭА, проявляющееся в уменьшении выброса кортикостерона в кровь и более экономном использовании энергетических ресурсов.

В настоящей работе приводятся результаты апробации СЭА в качестве потенциального протектора транспортного стресса телят, сопровождающегося значительными нейрогормональными сдвигами.

Материал и методика. Лабораторные эксперименты проведены на крысах-самцах массой 180-220 г. Животные содержались на соответствующих нормированных рационах. Транспортировку имитировали качанием животных в течение 2 ч на Шуттель аппарате при частоте качания 110-120 в мин. СЭА синтезировали в Институте тонкой органической химии АН РА [11]. Условия использования препарата приводятся в соответствующих таблицах. Эксперименты по транспортировке телят проводили в хозяйствах Севанского, Араратского и Ноемберянского районов РА. Пунктом доставки служил Зоравацкий промышленный комплекс Наирийского района. Транспортировку осуществляли в специальных автофургонах или на грузовиках, приспособленных для перевозки животных. Расстояние транспортировки от 72 до 262 км, время - от 3 до 7 ч. Телят взвешивали в хозяйствах-поставщиках непосредственно перед погрузкой и по прибытии на комплекс. За 1-3 ч до перевозки телятам давали с кормом СЭА из расчета 1 г/кг массы в смеси с комбикормом.

В органах и крови крыс и в крови телят до и после перевозки определяли: ГАМК [12], кортикостероиды [13], глюкозу [14], пируват [15], активность трансаминаз [16] и ЛДГ [17]. Результаты опытов подвергнуты статистической обработке с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Прежде чем использовать СЭА для апробации в качестве протектора стресса у телят при их транспортировке, в опытах на крысах были выявлены оптимальные дозы препарата, повышающие уровень ГАМК в мозгу при внутрибрюшинном введении, и сроки введения.

Данные табл. 1 показывают, что эффективными дозами являются 1,0-1,5 г/кг массы при 8-часовой и более экспозиции после введения СЭА, что и было учтено в последующих экспериментах. Следует отметить, что при

интрацестернальном введении 2,5-5,0 мг/кг препарата в мозг наблюдается 10-кратное повышение содержания ГАМК (данные не приводятся), что согласуется с результатами, полученными другими авторами [18] и свидетельствует об ограниченной проницаемости ГЭБ для СЭА. Вместе с тем известно, что при стрессе барьер преодолевается легче [19], что подтверждается и нашими данными по повышению уровня ГАМК в мозгу при стрессе на фоне введения СЭА [9].

Таблица 1. Динамика содержания ГАМК (мкмоль/г) в мозгу крыс при внутрибрюшинном введении СЭА, n=10

Доза, г/кг	Время экспозиции, ч				
	0	1	8	24	48
0,1	1,22±0,03	1,25±0,09	-	1,35±0,04	-
0,5	-	1,36±0,09	-	1,56±0,07*	-
1,0	-	1,52±0,07*	1,99±0,04*	2,65±0,12*	2,32±0,06*
1,5	-	1,55±0,10*	2,52±0,11*	2,79±0,10*	2,84±0,08*

Примечание: звездочкой обозначены статистически значимые сдвиги по сравнению с нулевым временем экспозиции в пробе без добавок СЭА.

Имитация транспортного стресса у крыс, как и иммобилизация [9], вызывают усиление синтеза кортикостерона в надпочечниках и выброса его в кровь (табл. 2). Дача с кормом СЭА достоверно смягчает реакцию коры надпочечников на имитацию транспортного стресса, не снимая этой защитной реакции организма. Известно, что усиление синтеза кортикостерона и выброс его в кровь являются адаптивным ответом на стресс-фактор, и чем мягче коррекция этой реакции, тем легче можно добиться оптимального приспособления к аварийным ситуациям, возникающим при действии различных раздражителей.

Таблица 2. Количественные сдвиги содержания кортикостерона крови (мг/100 мл) в надпочечниках крыс при имитации транспортного стресса, n=8

	Интактный контроль	Контроль имитации	Контроль СЭА-имитации
Плазма крови	20,15 ±2,15	39,80* ±1,2	35,23** ±1,49
Надпочечники	26,58 ±0,85	47,41* ±2,29	39,41** ±2,36

Примечание: здесь и в табл. 3-6 звездочкой обозначены значимые сдвиги при имитации перевозки, двумя звездочками - эффект СЭА при имитации, p<0,05.

Определение концентрации 11-оксикортикостероидов в крови телят до и после транспортировки выявляет более чем двукратное увеличение количества их в крови независимо от расстояния (табл. 3). В этих опытах наряду с СЭА использовали применяемый в животноводческой практике препарат успокаивающего действия данидин. Действие обоих препаратов аналогично и заключается в предупреждении резкого увеличения уровня кортикостероидов в крови.

Таблица 3. Сдвиги в содержании 11-оксикортикостероидов (мкг %) в крови телят при транспортировке

Хозяйства	Контрольная группа		Опытные группы			
	до перевозки	после перевозки	данидин		СЭА	
			до	после	до	после
Лчашен	13,00±0,78	29,50±1,49	14,29±0,95	17,18±0,9	14,34±0,87	17,62±0,79
Семеновка	14,24±0,93	30,29±1,77	13,87±1,04	16,21±1,00	14,34±0,87	15,84±0,98
Аралат	13,42±0,85	25,77±1,06	14,06±1,04	16,09±0,74	13,12±0,87	15,54±0,54
Бердаван	15,96±0,48	34,27±3,33	14,64±1,38	18,74±1,60	14,83±1,64	21,09±2,32

В табл. 4 представлены данные взвешивания транспортируемых телят до и после перевозки на различные расстояния. Следует отметить, что транспортный стресс является одним из выраженных многокомпонентных стрессов и приводит в зависимости от условий к потерям от 5 до 20% массы животных. Из данных, приведенных в табл. 4, явствует, что в процентном выражении потери живой массы на голову составляют при перевозке телят на 72 км - 9,7%, на 84 км - 11,4%, на 105 км - 10,6% и на 262 км - 15,3%, т.е. колеблются в зависимости от расстояния в пределах 9,7-15,3%.

Таблица 4. Динамика живой массы транспортируемых телят, кг

Хозяйства	Контрольная группа		Опытные группы			
	до перевозки	после перевозки	данидин		СЭА	
			до перевозки	после перевозки	до перевозки	после перевозки
Лчашен (72 км)	56,93 ±1,13	52,31 ±1,12	57,43 ±1,16	54,37 ±1,19	58,62 ±1,29	54,81 ±1,28
	-5,62		-3,06		-3,81	
Семеновка (84 км)	46,10 ±1,00	40,80 ±1,00	43,20 ±0,80	40,65 ±0,80	44,00 ±1,08	41,20 ±1,07
	-5,30		-2,55		-2,80	
Аралат (105 км)	58,50 ±0,90	52,30 ±0,90	56,10 ±3,40	53,70 ±2,60	52,90 ±0,60	50,20 ±0,60
	-6,20		-2,40		-2,70	
Бердаван (262 км)	58,80 ±2,90	49,88 ±2,70	55,00 ±1,40	52,16 ±1,30	56,00 ±4,00	53,66 ±3,60
	-9,00		-2,84		-2,84	

Четкой зависимости от расстояния не отмечается, что объясняется многими другими факторами (состоянием дорог, перепадом высот, условиями и временем перевозки и др.). Оба использованных нами препарата способствовали сокращению потери живой массы телят независимо от расстояния перевозки. Данидин оказался эффективным при относительно коротких перевозках, а СЭА - при дальних. Это объясняется, по-видимому, тем, что СЭА давали с кормом за 1-3 ч до перевозки, тогда как для оптимального эффекта его на уровень ГАМК в мозгу нужен заметный лаг-период. Возможно, что ранняя дача препарата до перевозки как на короткие, так и на дальние расстояния может оказаться более эффективной.

Потери живой массы телят, получавших данидин и СЭА, составили

соответственно при перевозке на 72 км - 5,3 и 6,5%, 84 км - 5,9-6,4%, 105 км - 4,9 и 5,1%, на 262 км - 5,2 и 4,2%. Применение исследуемых препаратов позволяет снизить потери живой массы телят при транспортировке на 45-68%.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что транспортировка животных приводит к нарушениям гормонального статуса, сопровождающимся потерей живой массы, обусловленной, вероятно, переключением метаболизма на усиленный катаболизм жиров и углеводов, что считается основной причиной обезвоживания тканей при транспортном стрессе. Выявилось также, что при транспортировке телят реакция надпочечников проявляется заметно сильнее, чем при имитации (табл. 2) или иммобилизации крыс [9]. Это связано, очевидно, как с большей чувствительностью телят к стрессу, так и многокомпонентностью и большей интенсивностью раздражителей при транспортировке.

Об этом свидетельствуют и результаты определения глюкозы в крови телят (табл. 5), уровень которой в результате транспортировки статистически значимо повышается независимо от расстояния. Так, увеличение концентрации глюкозы в процентах составляло при перевозке на 72 км - 60,6%, 84 км - 115%, 105 км - 20,8%, на 262 км - 59,4%. Как видно, корреляции с расстоянием не отмечается, однако во всех случаях потребность в энергии возрастает.

Таблица 5. Содержание глюкозы в крови транспортируемых телят, ммоль/л

Хозяйства	Контрольная группа		Опытные группы			
	до перевозки	после перевозки	данидин		СЭА	
			до	после	до	после
Лнашен (72 км)	3,67 ±0,05	5,89* ±0,09	3,75 ±0,05	5,01** ±0,05	3,79 ±0,05	5,38** ±0,05
Семеновка (84 км)	3,88 ±0,16	8,35* ±0,27	3,92 ±0,01	5,35* ±0,46	3,89 ±0,13	5,80** ±0,29
Арагат (105 км)	3,89 ±0,19	4,68* ±0,23	3,96 ±0,24	4,29 ±0,29	3,89 ±0,24	4,64 ±0,11
Бердаван (262 км)	4,70 ±0,06	7,50* ±0,12	4,62 0,07	5,89* ±0,16	4,80 ±0,09	6,61 ±0,16

Применение препаратов не предотвращает полностью возрастания уровня глюкозы, вызываемого транспортировкой, но заметно ослабляет ее эффект. Определение в этих опытах содержания пирувата и активности ЛДГ существенных изменений не выявило (данные не приводятся). Обнаружены достоверные сдвиги активности аспартат- и аланинаминотрансфераз (АСТ и АЛТ). Из данных табл. 6 видно, что активация трансаминаз составляет при перевозке на 72 км - 38,9 и 65%, 105 км - 76 и 41,8%, 262 км - 55,4 и 27,2%. Оба препарата препятствуют увеличению активности АСТ и не влияют на АЛТ.

Это, по-видимому, объясняется различной ролью ферментов в процессах энергетического обмена, большим потоком энергии через глутамат, сопряженным с глутаматдегидрогеназой, осуществляющей интеграцию процессов азотистого и углеводного обмена. Кроме того, соотношения в

Таблица 6. Активность трансаминаз в сыворотке крови телят при транспортировке (ммоль пирувата/л.ч), n=8

Хозяйства	Контрольная группа		АСТ				АЛТ					
			Опытные группы				Контрольная группа		Опытные группы			
	до перевозки	после перевозки	Данидин		СЭА		до перевозки	после перевозки	Данидин		СЭА	
			до	после	до	после			до	после	до	после
Лчашен (72 км)	0,54 ±0,09	0,75* ±0,05	0,55 ±0,06	0,44* ±0,05	0,55 ±0,06	0,43** ±0,04	0,96 ±0,09	1,57* ±0,10	1,01 ±0,11	1,51** ±0,15	1,02 ±0,05	1,69 ±0,09
Семеновка (84 км)	0,53 ±0,05	0,73* ±0,06	0,53 ±0,04	0,42** ±0,05	0,60 ±0,05	0,45** ±0,04	1,03 ±0,09	1,70* ±0,11	1,10 ±0,11	1,81** ±0,09	0,94 ±0,08	1,44 ±0,13
Арагат (105 км)	0,50 ±0,04	0,88* ±0,05	0,55 ±0,07	0,52** ±0,06	0,56 ±0,06	0,97** 0,04	1,10 ±0,14	1,56* ±0,13	1,03 ±0,10	1,42 ±0,15	1,16 ±0,16	1,48 ±0,15
Бердаван (262 км)	0,58 ±0,05	0,89* ±0,05	0,60 ±0,04	0,52** ±0,04	0,57 ±0,06	0,53** 0,04	1,14 ±0,15	1,45* ±0,15	1,16 ±0,16	1,46 ±0,16	1,18 ±0,18	1,28 ±0,28

активностях этих ферментов и влияние на них различных факторов могут меняться во времени.

К сожалению, в этом плане нами исследования не проводились, но имеются данные, свидетельствующие о неодинаковой постстрессовой динамике активностей трансаминаз и других показателей, детерминированной генетическими механизмами адаптации [20].

Полученные результаты позволяют предположить, что ингибитор ГАМК-трансаминазы и агонист ГАМК-рецепторов СЭА путем повышения уровня ГАМК в мозгу способствует смягчению ответа гормонально-медиаторного звена стресса, оптимизации энергетических затрат на выход из него и сокращению потерь массы сельскохозяйственных животных при транспортировке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаскин И.М. Лаб. дело, 8, 197-200, 1976.
2. Бузлама В.С., Мещеряков Н.П., Тауритис А.К. и др. Ветеринария, 6, 46-49, 1988.
3. Горбунов А.С., Куликова С.Н. В кн.: Методы и средства диагностики, профилактики и лечения болезней животных, 20-24, Ульяновск, 1988.
4. Кашин А.С. Ветеринария, 4, 61-63.
5. Крымян Ю.А., Гюльбаязян Т.А., Камалян Р.Г. В кн.: Нейрохимия, 11, 1, 65-71, 1992.
6. Крымян Ю.А., Гюльбаязян Т.А., Камалян Р.Г. В кн.: Применение биологически активных веществ в животноводстве, Труды ЕрЗВИ, 63, 50-56, Ереван, 1990.
7. Лукомская Н.С., Городецкий В.К. Биохимия, 28, 3, 477-482, 1981.
8. Назаретян А.Х., Карапетян Л.П., Торосян Г.О. и др. В кн.: Потребители-производители органических реактивов. Ярмарка идей 39, Ереван, 1989.
9. Радченко В.П., Голекович Е.К., Матвеев В.А. и др. Докл. ВАСХНИЛ, 25-27, 1983.
10. Тигранян Р.А. Гормонально-метаболический статус организма при экстремальных воздействиях, М., Наука, 1990.
11. Ширинян Э.А. Канд. дисс., М., 1970.
12. Ширинян Э.А. Лаб. дело, 2, 767-768, 1982.
13. Fletcher A., Fowler L.J. J. Pharmacol., 68, 130-131, 1980.
14. Fowler L.J., John R.A. Biochem. J., 130, 2, 569-573, 1972.
15. Hanichen T., Heinritz K., Bollwahn W. et al. Practis, 16, 2, 147-151, 1988.
16. Loscher W. J. Neurochem., 34, 5, 1603-1608, 1980.
17. Reitman S., Frankel S. Amer. J. Clin. Path., 28, 56-58, 1957.
18. Roberts E., Hartman P., Frankel S. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 90, 210-213, 1955.
19. Wendt M., Bichkardt K. Tlerarztl. Practis, 3, 77-83, 1988.
20. Wroblewsky F., La Due J.S. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 90, 210-213, 1955.

Поступила 01.VII.1997

КОРРЕКЦИЯ ЭЛЕУТЕРОКОККОМ ИЗМЕНЕНИЙ, ПРОИСХОДЯЩИХ В ЗАЩИТНЫХ ФАКТОРАХ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ У СОБАК

Р.В. КАЗАНДЖЯН

Сельскохозяйственная академия Армении, кафедра физиологии, патофизиологии и радиобиологии, Ереван, 375025

В опытах на щенках в условиях иммобилизационного стресса исследовалось действие элеутерококка с определением клинических и биохимических показателей крови.

Ուսումնասիրվել է էլեուտերոկոկի ազդեցությունը շան ծագերի արյան կլինիկական և կենսաքիմիական ցուցանիշների վրա իմոբիլիզացիոն ստրեսի պայմաններում:

The influence of eleuterococce on the clinical and biochemical figures of the puppies blood under immobilized stress conditions have been investigated.

Стресс иммобилизационный - элеутерококк - лейкоформула - гликопротеиды - общий белок - белковые фракции

В последнее время адаптогены все чаще рекомендуются как стресс протективные средства, поскольку в отличие от большинства лекарственных средств, применяемых при стрессе, они не оказывают отрицательного влияния на различные функции организма, в том числе на физическую и умственную работоспособность, а также на продуктивность животных. Настоящая работа содержит данные о влиянии элеутерококка на важнейшие показатели системы защиты у собак в условиях моделированного стресса.

Материал и методика. Наблюдения проводили на беспородных разнополых щенках одного помета от 45 до 60-дневного возраста с массой 2-2,5кг. Иммобилизационный стресс достигался жесткой фиксации на специальном станке в продолжение двух часов. Элеутерококком поили два раза в день по 30 капель.

В процессе иммобилизации через 30, 60, 90 и 120 мин и через 2, 5 и 48ч после воздействия стрессора методами, принятыми в клинической практике, определяли интегральные показатели. Кровь для анализов брали из хвоста методом купировки через 2, 5 и 48ч после воздействия стрессора. Подсчет количества лейкоцитов, лейкоформулы проводили общепринятыми в гематологии методами; мазки окрашивали по Романовскому-Гимза.

Общий белок (в г/л) определяли биуретовой реакцией, основанной на определении окрашенных комплексов, образующихся между белками и ионами меди в щелочной среде, при длине волны 550нм. Белковые фракции (%) - турбидиметрическим методом с использованием фосфатного буфера (удельный вес 1334). Гликопротеиды турбидиметрическим методом, основанным на добавлении к сыворотке крови раствора хлорной кислоты. При этом белки выпадают в осадок, а гликопротеиды остаются в реактиве и выделяются путем осаждения их фосфорно-вольфрамовой кислотой. Определяли их на спектрофотометре при длине волны 650нм по степени помутнения в условных единицах.

Полученные данные подвергли статистической обработке по Ойвину-Стьюденту.

Результаты и обсуждение. Как показали полученные данные, интегральные показатели у подопытных животных претерпевают определенные изменения как при стрессе, так и при введении элеутерококка на фоне стресса.

Так, на 30 минуте стресса температура тела снижается и составляет 36,8°

при исходной - $37,9^{\circ}$, на 60, 90 и 120 мин она стабилизируется на $37,3^{\circ}$, а через 24 после снятия действия стрессора несколько повышается, приближаясь к исходной, составляя $38,3^{\circ}$. В те же сроки в условиях стресса под влиянием элеутерококка снижение температуры тела было незначительным, она стабилизировалась на уровне исходного значения через 2 часа. При иммобилизационном стрессе отмечаются изменения в сердечной и дыхательной системах: на 30 минуте воздействия стрессора число сердечных сокращений и дыхательных движений в одну минуту составляло соответственно 171,3 и 30, на 60 мин - 172 и 27,3; на 90 мин - 168,6 и 28,6; на 120 мин - 171,3 и 30, при исходных 160 и 24,6.

Таким образом, в изучаемых условиях происходит изменение ритма дыхания и числа сердечных сокращений в сторону их учащения, что является сомато-вегетативной реакцией, отражающей изменения функциональной деятельности организма, и вполне согласуется с имеющимися в литературе данными.

Возврат указанных показателей к исходным величинам наступает через 24 со стабилизацией к 54 после воздействия стрессора, составляя соответственно 150,6 и 21,3.

Нами отмечено, что через 24 после стресс-воздействия элеутерококк на фоне стресса вызывает незначительное урежение как пульса, так и числа дыхательных движений - 154,3 и 23,3 соответственно, при исходных - 156,6 и 24, а через 48ч - 148 и 23.

Представляла интерес динамика массы тела в изучаемых условиях. Через 2 и 54 после воздействия стрессора потеря в массе составляла 117-217г, а через 48ч масса восстанавливалась почти до исходного - 2766г. Под влиянием элеутерококка масса несколько увеличивалась, а при даче его на фоне стресса изменений в этом показателе не отмечалось, она оставалась стабильной и через 2 и 54 после воздействия стрессора, однако через 48ч происходило некоторое увеличение массы подопытных животных, до 2833г.

Данные о лейкоцитарной реакции на стрессовое воздействие в основном совпадают с таковыми литературы. Общеизвестно, что лейкоциты выполняют защитную функцию и что нейтрофильный лейкоцитоз является одним из постоянных признаков реализации стресс-синдрома на уровне целостного организма [2].

Полученные результаты показали, что при иммобилизационном стрессе у щенков происходит увеличение числа лейкоцитов за счет нейтрофилов с ядерным сдвигом влево, наряду с этим отмечается уменьшение числа эозинофилов. Так, при исходном их количестве 1,5 через 24 оно составляет 0,33, а к 5 и 48ч - 0. Отмечено также уменьшение числа лимфоцитов, которое через 2 и 54 составляло 24,3 и 29 соответственно при исходном 39,6. Количество моноцитов уменьшалось через 24 до 4,0, через 54 возвращалось к исходному 5,0, а через 48ч заметно увеличивалось, достигая 7,4.

Под влиянием элеутерококка появляется тенденция к увеличению общего числа лейкоцитов до 9766 при исходном значении 9600, при этом в лейкоформуле количество палочкоядерных нейтрофилов достигало 3,66, при

исходном 2,5.

Таблица 1. Средние значения исходных показателей и показателей при стрессе у щенков

Исходные данные у собак N1-N6	Стресс - 2ч собаки N1-N3	Стресс - 5ч собаки N1-N3	Стресс 48ч собаки N1-N3
Л, тыс/мкл 9600	21000	17133	11200
ЛФ, % п-2,5 с 51,5 л-39,6 м-5,1	п-5,6 с-65,6 э0,33 л24,3 м-4	п-3,7 с62,3 э0 л29,0 м-5	п-2,0 с44,0 э0 л-46,7 м-7,4
ОБ 70,9г/л	82,16г/л	73,1г/л	67,6г/л
ГП 0,129	0,136	0,132	0,123
БФ а/г 78,4%/21,25%	79,7%/21,16%	78,4%/21,7%	78,5%/21,4%

Примечание: Л-лейкоциты, ЛФ-лейкоформула, п-палочковидные, с-сегментоядерные, э-эозинофилы, л-лимфоциты, м-моноциты, ОБ-общий белок, ГП-гликопротеиды, БФ-белковые фракции, а/г-соотношение альбумин/глобулины.

На фоне элеутерококка при стрессе отмечалось повышение числа лейкоцитов во все сроки наблюдений через 2, 5 и 48ч, составляя соответственно 21935, 19466, 13333 при исходном - 9600.

В лейкоформуле значительно увеличивалось число палочкоядерных, через 2 и 5ч до 5,6 и 3,4 при исходном 2,5, вместе с тем полностью исчезали эозинофилы.

Заметно сокращалось число лимфоцитов, через 2 и 5ч составляя 24 и

Таблица 2. Средние значения исходных данных, действия элеутерококка и на фоне элеутерококка при стрессе

Исходные данные у собак N1-N6	Действие ЭЭ собаки N4-N6	На фоне ЭЭ стресс-2ч собаки N4-N6	На фоне ЭЭ стресс -5ч собаки N4-N6	На фоне ЭЭ стресс-48ч собаки N4-N6
Л, тыс/мкл 9600	9766	21935	19466	13333
п-2,5 с51, э1,5 ЛФ, % л-39,6, м-5,1	п-3,66 с50,0 э0,66 л38,7 м6,7	п5,6 с64,7 э0 л24, 6м3	п3,4 с59,3 э0 л33,4 м3,0	ю0,66 п2,3 с46,0 л44,0 м5
ОБ 70,9г/л	69,2г/л	65,56г/л	67,03г/л	67,9г/л
ГП 0,129	0,133	0,154	0,148	0,137
а 78,4% БФ г 21,25%	75,1% 24,7%	72,4% 27,5%	71,7% 28%	71,4% 28,5%

Примечание: см. примечание к табл. 1.

33,4 соответственно, при исходном 39,6. Через 48ч появлялись юные нейтрофилы - 0,66 при исходном 0, несколько увеличивалось число эозинофилов и лимфоцитов.

Поскольку в основе образования защитных факторов организма (антител, форменных элементов крови и др.) важная роль принадлежит белковым телам,

мы определяли количество общего белка крови и белковые фракции у собак в условиях иммобилизационного стресса и под влиянием элеутерококка при стрессе.

Показано, что в условиях моделированного стресса увеличивается содержание общего белка с пиком через 2ч после воздействия стрессора (82,16 г/л при исходном показателе 70,9г/л), через 48ч отмечается некоторое снижение его до 67,6 г/л.

У интактных животных элеутерококк практически не оказывает существенного влияния на содержание белка. При даче элеутерококка на фоне стресса во все сроки наблюдений происходит снижение уровня общего белка соответственно до 65, 67, 67,9 при исходном значении 70,9г/л.

Изменения, происходящие в белковых фракциях, представляли следующую картину: количество альбуминов через 2ч после воздействия стрессора незначительно повышалось и составляло 79,7% при исходном значении 78,4%, через 5 и 48ч возвращалось к исходному количеству.

Элеутерококк вызывает снижение уровня альбуминов до 75,1% при исходном 78,4%, а на фоне элеутерококка в условиях стресса происходит дальнейшее снижение его от 72,4% через 2ч до 71,5% через 5 и 48 ч.

В изучаемых условиях существенно повышается уровень глобулинов. Так, при исходном их количестве 21,25% спустя 2ч после воздействия стрессора 27,5%, через 5 и 48ч соответственно 28 и 28,5%.

Наиболее существенные изменения происходят в α -, β - и γ -фракциях. При исходном количестве α -фракции 6,83% через 2 и 5ч после воздействия стрессора отмечалось снижение ее уровня до 5,71 и 5,93% соответственно, с последующим повышением через 48ч до 7,16%. На фоне элеутерококка в условиях стресса во все сроки наблюдений происходит снижение α -фракций, уровень которой через 48 часов 5,5% при исходном 6,83%.

Значительно увеличивалось содержание β -фракции глобулина во все сроки наблюдений, пик приходился на 48ч после воздействия стрессора, 10,03% при исходном 7,56%; при стрессе без элеутерококка уровень β -фракции глобулина не претерпевал существенных изменений. У интактных животных элеутерококк способствовал увеличению β -фракции глобулина до 9,56% при исходном 7,56%.

Уровень γ -глобулина в условиях стресса практически не изменяется. Элеутерококк повышает его до 5% при исходном 4%. На фоне элеутерококка в условиях стресса существенно повышается уровень γ -фракции глобулина, достигая максимума - 11% через 48ч после воздействия стрессора при исходном значении 4%.

Приведенные данные свидетельствуют о благотворном влиянии элеутерококка в особенности на β - и γ -фракции глобулинов, играющих

важную роль в общей системе защиты организма.

К числу защитных факторов организма относится также гликопротеиды. Исходное содержание гликопротеидов в крови собак составляет 0,129, через 2 и 5ч после воздействия стрессора количество его возрастает, достигая 0,136 и 0,132 соответственно, к 48ч отмечается тенденция к возврату на исходный уровень - 0,123.

Элеутерококк в отдельности и на фоне стресса приводит к увеличению количества гликопротеидов, наибольший показатель которого определяется через 2ч после воздействия стрессора и составляет - 0,154 при исходном значении 0,129. Через 5 и 48ч уровень их несколько снижается не доходя, однако, до исходного.

Таким образом, элеутерококк оказывает существенное положительное действие на уровень важнейших факторов естественной защиты и резистентности организма щенков в условиях стресса. Очевидно, что применение биологически активных препаратов, в частности элеутерококка, в значительной мере повышает защитные силы организма [1].

ЛИТЕРАТУРА

1. Брехман Н.И. Элеутерококк. Л., 1968.
2. Лунин Н.В., Коваль С.Б., Полтавский А.Ф., Шенкарев С.И., Агафонов Н.А. Актуальные проблемы современной физиологии, 196-197, Киев, 1986.

Поступила 01.VII.1997

**K⁺-ПРОНИЦАЕМОСТЬ И ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ,
ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННЫХ ХЛОРИНОМ e₆****А.В.ГЮЛЬХАНДЯНИ*, Г.В.ГЮЛЬХАНДЯНИ**, В.В. ГУКАСЯН******Институт биохимии им.Г.Бунятыана НАН Армении, 375014, Ереван****НИИ Биотехнологии МПНТ Армении, 375056, Ереван*

Показано, что фотосенсибилизатор хлорин e₆ при облучении светом с длиной волн в интервале 630-800 нм индуцирует K⁺-проницаемость эритроцитов человека. Выход K⁺ сопровождается входом H⁺ внутрь клеток. После выхода большей части ионов K⁺ из клеток начинается гемолиз и выход H⁺ из эритроцитов. Ловушка синглетного кислорода азид Na, антиоксидантный фермент каталаза (но не супероксиддисмутаза), блокатор SH-групп N-этилмалесимид (N-ЭМ) подавляют выход K⁺, вход H⁺ и гемолиз эритроцитов, фотосенсибилизированных хлорином e₆.

Ցույց է տրվել, որ 630-800 նմ երկարության ալիքներով ճառագայթման դեպքում բլորին e₆ ֆոտոսենսիբիլիզատորը խթանում է K⁺ իոնների արտահոսքը մարդու էրիտրոցիտներից: K⁺ իոնների ելքը զուգակցվում է H⁺ իոնների մուտքով բջիջների մեջ: Երբ K⁺ իոնների մեծ մասը դուրս է գալիս բջիջ, սկսվում է էրիտրոցիտների հեմոլիզ և H⁺ իոնների արտահոսք: Սինգլետ թթվածնի թափաղակ Na ազիդը, հակաօքսիդիչ ֆերմենտ կատալազը (սակայն ոչ սուպերօքսիդիզմանտազը), SH-խմբերի բլոկատոր N-էթիլմալեսիմիդը նվազեցնում են բլորին e₆-ի կողմից ֆոտոսենսիբիլիզացված K⁺ իոնների ելքը, H⁺ իոնների մուտքը և էրիտրոցիտների հեմոլիզը:

It has been shown that chlorin e₆ photosensitizer induces K⁺-permeability of human erythrocytes at light irradiation with the wavelength of 630-800 nm. K⁺ efflux is accompanied by the H⁺ influx into erythrocytes. Efflux of the most part of K⁺ ions from cells results in hemolysis and H⁺ efflux from erythrocytes. Singlet oxygen scavenger Na azide, antioxidant enzyme catalase (but not superoxide dismutase), SH-group blocker N-ethylmaleimide depress K⁺ efflux, H⁺ influx and erythrocytes hemolysis photosensitized by chlorin e₆.

*Фотосенсибилизаторы - хлорин e₆ - эритроциты - активные формы кислорода
- K⁺-проницаемость - антиоксиданты*

В настоящее время фотодинамическая терапия широко применяется в клинике при лечении раковых заболеваний [13]. Метод основан на селективной аккумуляции в опухолевых клетках специальных соединений - фотосенсибилизаторов (ФС), которые при возбуждении светом продуцируют активные формы кислорода, способные к деструкции опухолей [10].

Существует ряд работ, посвященных действию ФС на K⁺-проницаемость эритроцитов. Показано, что облучение эритроцитов видимым светом в присутствии протопорфирина IX приводит к кросс-связыванию мембранных белков, заметному уменьшению способности клеток к деформации, уменьшению активного транспорта K⁺ и Na⁺, в то время как пассивный транспорт катионов сильно увеличивается [6, 7]. Было обнаружено, что эти эффекты вызываются не перекисным окислением липидов, а фотоокислением мембранных белков. Производные гематопорфиринов при облучении вызывают выход K⁺ из мышинных фибробластов [8], при этом, по мнению авторов, межмолекулярное кросс-связывание белков не связано с усиленной

утечкой K⁺ из клеток.

ФС хлорин е₆ (ХЛ) в последнее время находит широкое применение в клинике [11, 12]. Однако влияние его на K⁺-проницаемость и на K⁺-каналы эритроцитов практически не изучено. Между тем, эритроциты являются простой и удобной моделью для изучения действия ФС на ионные потоки.

В настоящей работе выявлена индукция пассивной K⁺-проницаемости и гемолиза эритроцитов человека при фотодинамическом действии ХЛ.

Материал и методика. Эритроциты выделяли из свежей гепаринизированной крови доноров. Клетки промывали раствором, содержащим 0,15 М NaCl и 10 мМ трис-HCl (рН 7,4) с повторной последующей промывкой той же средой без буфера.

Концентрации K⁺ и H⁺ измеряли с помощью K⁺- (стекло марки NAS-2704) и H⁺- ("Radiometer", Дания) селективных электродов, подсоединенных вместе через общий электрод сравнения и выведенных с помощью милливольтметров к самописцам.

При исследовании влияния ХЛ на эритроциты его инкубацию с клетками проводили двумя способами. При I способе инкубации 1 мл плотно отцентрифугированных клеток суспендировали в 3 мл 0,15 М NaCl и вносили 80 мкг или 4 мкг ХЛ (в виде водного раствора), затем инкубировали при непрерывном встряхивании 30 мин в темноте при комнатной температуре. После этого суспензию два раза промывали в растворе 0,15 М NaCl. Для опыта 0,1 мл отцентрифугированных клеток вносили в подэлектродную ячейку с 1,9 мл среды инкубации и размещали на магнитной мешалке. Если считать, что весь ХЛ связался с эритроцитами, то количество ХЛ составляло 8 мкг/0,1 мл или 0,4 мкг/0,1 мл эритроцитов соответственно.

При II способе инкубации ХЛ непосредственно добавляли в подэлектродную ячейку, в которой инкубировались 0,1 мл эритроцитов и 1,9 мл среды. В этих опытах количество вносимого ХЛ варьировало от 8 мкг/0,1 мл до 40 мкг/0,1 мл эритроцитов.

Стандартная среда инкубации содержала 0,15 мМ холинхлорида и 0,1 мМ KCl. Сами эритроциты вносят в среду приблизительно 0,1 мМ KCl. В некоторых опытах в среде инкубации содержалось 4 мМ NaCl или 1 мМ CaCl₂.

Облучение проводили лампой с вольфрамовой нитью с использованием стеклянного фильтра с полосой пропускания в интервале 630-800 нм. Интенсивность облучения составляла 30 мВт/см². Сфокусированный луч света попадал на кювету с суспензией эритроцитов с расстояния в 25 см.

Выход K⁺ и синхронное изменение рН наблюдали обычно в течение 20-40 мин после начала облучения.

Скорость выхода K⁺ под действием ХЛ определяли, градуируя электрод стандартными добавками KCl.

Степень гемолиза эритроцитов по отношению к полному гемолизу, вызываемому сапонином (100% гемолиза), измеряли спектрофотометрически при 540 нм, используя супернатант быстро отцентрифугированной после определенного времени суспензии эритроцитов. В качестве контроля брали супернатант эритроцитов, инкубируемых 30 мин без каких-либо добавок.

Каждый из экспериментов повторяли не менее 3 раз.

Исследования проводили при комнатной температуре (22-25°).

Использовали N-этилмаленимид ("Serva"), трис, меркаптоэтанол, каталазу, Cu-Zn супероксиддисмутазу (СОД) (все "Sigma"). Хлорин е₆ был предоставлен "Предприятием по производству диагностических и лекарственных препаратов", г. Минск.

Результаты и обсуждение. На рис.1 показано действие двух разных количеств ХЛ (инкубация I способом) на изменение концентрации K⁺ и рН суспензии эритроцитов (0,1 мл клеток, суспензируемых с ХЛ I способом, вносили в 1,9 мл среды, содержащей 150 мМ холинхлорида и 0,1 мМ KCl). Как видно, в отсутствие облучения инкубация эритроцитов с 8 мкг ХЛ/0,1 мл

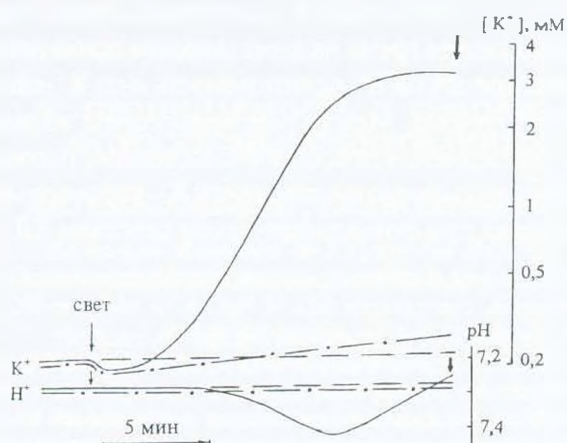


Рис. 1. Фотодинамическое действие хлорина e_6 (ХЛ) на пассивный выход K^+ и изменение pH суспензии эритроцитов. Сплошные линии — 8 мкг ХЛ/0,1 мл клеток, штриховые линии — 8 мкг ХЛ/0,1 мл клеток в отсутствие облучения, штрих-пунктирные линии — 0,4 мкг ХЛ/0,1 мл клеток. Толстыми стрелками здесь и на остальных рисунках показан момент забора проб для определения степени гемолиза.

клеток не приводит к существенному изменению выхода K^+ и pH в течение наблюдаемого времени (штриховые кривые). Включение облучения уже через 2-3 мин приводит к заметному выходу K^+ , хотя pH среды при этом практически не меняется (сплошные кривые). Однако через несколько минут начинается постепенный вход H^+ внутрь эритроцитов (pH в среде инкубации увеличивается). Выход K^+ на 6-7 мин совпадает с увеличением входа H^+ в клетки. Средняя скорость выхода K^+ из эритроцитов, наблюдаемая в течение 10 мин (до замедления движения K^+), составляла 3,6 ммоль/мин.л клеток. Пик всплеска pH совпадает с сильным уменьшением выхода K^+ . Очевидно, после выхода на плато основная часть ионов K^+ уже вышла из клеток (добавление сапонина, разрывающего мембрану эритроцитов, дает лишь небольшой дополнительный выход K^+). В момент выхода ионов K^+ на плато происходит выход H^+ из эритроцитов (уменьшение pH среды).

В случае инкубации эритроцитов с количеством ХЛ, равным 0,4 мкг/0,1 мл клеток (I способ), скорость фотосенсибилизированного выхода K^+ гораздо ниже и изменения pH не наблюдается (рис. 1, штрих-пунктирные кривые).

Измерение гемолиза клеток, взятых через 5 мин после пика всплеска pH, показали, что процент гемолиза при 8 мкг ХЛ/0,1 мл клеток составляет примерно 4,3 (табл. 1). При использовании 0,4 мкг ХЛ/0,1 мл клеток заметного отличия от контроля не наблюдалось. Для сравнения гемолиза пробы забирали через одинаковое время после включения облучения. Отметим, что фотогемолиз эритроцитов начинается тогда, когда скорость выхода K^+ уже заметно уменьшается, а pH достигает максимума (пик всплеска). При этом, чем меньше время от начала включения освещения до пика всплеска pH, тем больше степень гемолиза эритроцитов.

ХЛ индуцирует K^+ -проницаемость и изменение pH суспензии эритроцитов после включения облучения и при непосредственном добавлении его к суспензии эритроцитов (II способ инкубации). И при этом способе включение облучения через 3 мин инкубации приводит к картине, аналогичной

показанной на рис.1 (сплошные кривые). В этих опытах для получения заметного эффекта мы использовали количества ХЛ, равные 16-20 мкг/0,1 мл клеток. При 8 мкг ХЛ/0,1 мл клеток скорость выхода К⁺ незначительна. Изменения же рН по крайней мере в течение 30-40 мин практически не наблюдалось. В дальнейшем мы использовали в основном II способ инкубации эритроцитов с ХЛ.

Таблица 1. Влияние различных соединений на фотогемолиз эритроцитов, вызываемый ХЛ. В случае контроля проба забиралась через 30 мин инкубации клеток. В скобках указан % гемолиза, вызываемый только ХЛ.

Контроль	ХЛ, инкубация I способом	ХЛ+азид	ХЛ+каталаза	ХЛ+N-ЭМ
0,5±0,1	4,3±0,2	1,6±0,2 (2,9±0,3)	1,5±0,2 (2,9±0,3)	1,3±0,4 (3,6±0,4)

С целью выяснения активных форм кислорода (АФК), генерируемых ХЛ при облучении, и их влияния на барьерные функции эритроцитов, мы проверили действие ряда ингибиторов АФК на К⁺-проницаемость и гемолиз клеток.

На рис.2 показано влияние ловушки синглетного кислорода азида Na на индуцированный ХЛ выход К⁺ из эритроцитов (0,1 мл клеток вносили в 1,9 мл среды, содержащей 150 мМ холинхлорида, 0,1 мМ КСl и 4 мМ NaCl. ХЛ добавляли непосредственно в кювету с суспензией эритроцитов.). Как видно из рис.2 (штриховые кривые), инкубация с 2 мМ азида приводит к ингибированию выхода К⁺ из клеток, при этом всплеск рН очень слабо выражен. Почти в 2 раза уменьшается и степень гемолиза эритроцитов (табл. 1).

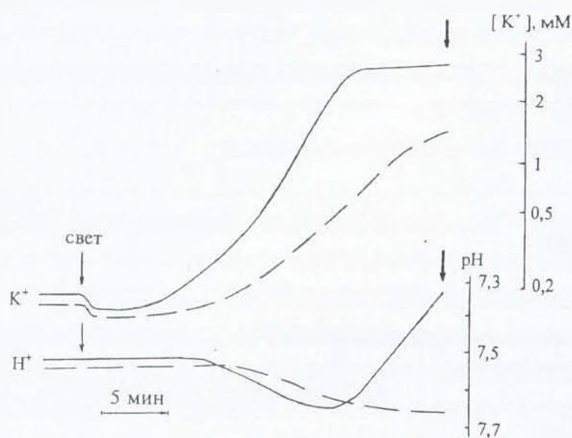


Рис.2. Влияние азида Na на фотоиндуцированный ХЛ выход К⁺ и изменение рН суспензии эритроцитов. Сплошные линии — добавлено 16 мкг ХЛ/0,1 мл клеток, пунктирные линии — до ХЛ предварительно внесено 4 мМ азида Na.

Аналогично азиду действует и антиоксидантный фермент каталаза (1 мг/мл; табл. 1).

Другой антиоксидантный фермент супероксиддисмутаза (СОД, 1 мг/мл) оказывает незначительный эффект (не представлено).

При поглощении красного света молекула ХЛ возбуждается и образуются активные формы кислорода, которые, реагируя с мембранными компонентами, приводят к нарушению барьерной функции мембран. Тот факт, что в наших опытах при относительно низких количествах ХЛ облучение в течение наблюдаемого времени не приводит к заметному выходу K^+ и гемолизу эритроцитов как при предварительной инкубации клеток с ХЛ (0,4 мкг ХЛ / 0,1 мл клеток; рис. 1, I способ инкубации), так и при непосредственном добавлении в ячейку (8 мкг ХЛ / 0,1 мл клеток; II способ инкубации), можно объяснить присутствием в эритроцитах мощной антиоксидантной системы. Это в основном СОД, катализирующая реакцию образования H_2O_2 из супероксидного радикала ($O_2^{\cdot-}$), а также каталаза и глутатионпероксидаза, метаболизирующие H_2O_2 до воды и O_2 [4]. Очевидно, есть пороговое количество ХЛ, ниже которой антиоксидантные системы эритроцитов противодействуют разрушению мембраны активными формами кислорода, причем величина этого порога зависит от времени связывания ХЛ с мембранами. Не исключено также и проникновение ХЛ в цитоплазму эритроцитов, что в принципе объясняет большую эффективность ХЛ при длительной инкубации (I способ).

Как видно из наших опытов с азидом и каталазой, активными формами кислорода, образующимися при фотодинамическом действии ХЛ и приводящими к увеличению пассивной K^+ -проницаемости и гемолизу эритроцитов, являются 1O_2 и H_2O_2 . Лосевым [3] ранее было отмечено участие 1O_2 в фотосенсибилизированном хлоринами разрушении молекул и биоструктур в водных средах. Недавно было выявлено участие супероксидного аниона и гидроксильных радикалов в процессе фотогемолиза эритроцитов бактериохлорином синглетного кислорода [9].

Весьма интересно отметить, что азид Na является также и ингибитором каталазы [14]. Ранее нами было показано, что добавление H_2O_2 в условиях ингибирования каталазы эритроцитов азидом приводит к выходу K^+ , увеличению уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) и гемолизу эритроцитов [2].

На основании настоящих опытов с азидом можно предположить, что начальным этапом фотодинамического действия ХЛ является появление 1O_2 , очевидно, в результате непрямого взаимодействия возбужденного ФС с 3O_2 и передачи ему энергии [1].

Супероксидный анион-радикал может образоваться при облучении в результате непосредственного взаимодействия молекулы ФС в возбужденном триплетном состоянии с O_2 и передачи ему электрона [1]. $O_2^{\cdot-}$ опасен тем, что реагируя с H_2O_2 может приводить к образованию сильного окислителя и очень реакционно-способного гидроксильного радикала (реакция Хабера-Вейсса) [5].



Однако поскольку добавление СОД не приводит к сколь-нибудь заметному уменьшению пассивной К⁺-проницаемости и степени гемолиза клеток, то скорее всего эта реакция не играет существенной роли в нарушении барьерной функции мембран. Очевидно О₂[•] превращается в Н₂О, эндогенной СОД.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Потанин А.Я. Физико-химические основы фотобиологических процессов, М., Высшая школа, 1989.
2. Гюльханданян А.В. Биол. журн. Армении, 40, 205-240, 1987.
3. Лосев А.П. В сб. "Лазерная биофизика и новые применения лазеров в медицине", Тарту, 5-17, 1990.
4. Мецлер Д. Биохимия, М., Мир, 2, 1980.
5. Фридович И.В. В кн. Свободные радикалы в биологии (под ред. У.Прайора), М., Мир, 1, 272-314, 1979.
6. Dubbelman T.M.A.R., de Bruijne A.W., van Steweninck J. Biochem. Biophys. Res. Commun., 77, 811-817, 1977.
7. Dubbelman T.M.A.R., de Goeij A.F.P.M., van Steweninck J. Biochim. Biophys. Acta, 595, 133-139, 1980.
8. Dubbelman T.M.A.R., van Steweninck J. Biochim. Biophys. Acta, 771, 201-207, 1985.
9. Hoebeke M., Schuitmaker H.J., Jannink L.E., Dubbelman T.M.A.R., Jakobs A., van de Vorst A. Photochem. Photobiol., 66, 502-508, 1997.
10. Kochevar I.E., Bouvier J., Lynch M., Lin C.W. Biochim. Biophys. Acta, 1196, 172-180, 1994.
11. Orenstein A., Kostenich G., Roitman L., Shechtman Y., Kopolovic Y., Ehrenberg B., Malic Z. Br. J. Cancer., 73, 937-944, 1996.
12. Pandey R.K., Bellnier D.A., Smith K.M., Dougherty T.J. Photochem. Photobiol., 53, 5-72, 1991.
13. Spikes J.D., Jori G. Lasers Med. Sci., 2, 3-15, 1987.
14. Stocks J., Dormandy T.L. Brit. J. Haematol., 20, 95-111, 1971.

Поступила 13.VI.2001

МИКРОГАМЕТОФИТНАЯ СИСТЕМА И ИНДИКАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ СРЕДЫ (I СООБЩЕНИЕ)

С.Г. ЕРВАНДЯН, Е.Г. СИМОНЯН, А.А. НЕБИШ, С.А. БЕГЛАРЯН,
Р.М. АРУТЮНЯН, Г.Л. СИХЧЯН

*Ереванский государственный университет, лаборатория цитогенетики, кафедра
генетики и цитологии, 375049*

С применением микрогаметофитного анализа исследован ряд сортов винограда. Цитоэмбриологическое и цитогенетическое исследования свидетельствуют о том, что изученные сорта проявляют различную чувствительность в отношении формирования полноценной пылы. Генотипы с максимальной фертильностью можно использовать как для биоиндикации, так и при подборе родительских форм.

Միկրոգամետոֆիտային վերլուծության կիրառմամբ հետազոտվել են խաղողի բազմաթիվ սորտեր: Բջջասաղմնաբանական և բջջագենետիկական ուսումնասիրությունները վկայում են, որ լիարժեք ծաղկափռչու ծնափորման տեսակետից փորձարկվող սորտերը առանձնանում են իրենց զգայունությամբ: Ֆերտիլ գենոտիպերը կարող են օգտագործվել ինչպես կենսաբանական ինդիկացիայի, այնպես էլ ծնողական զույգերի ընտրության ժամանակ:

Several sorts of grape have investigated by applying microgametophyte test. Cytoembriological and cytogenetical analyses show that sorts investigated differ by their sensitivity on the standpoint of formation of complete pollen. The results obtained indicate that grape genotypes with high fertility and active microgametophytical competition can be applied as a material for bioindication of environmental pollution and selection.

Пыльца - микрогаметофит - стерильность

В настоящее время все больше осознается необходимость создания системы биологической индикации, с помощью которой можно было бы не только устанавливать наличие генетически активных соединений в объектах окружающей среды, но и давать сравнительную оценку степени загрязнения. С этой целью наряду с традиционными методами учета мутаций использовался тест на определение стерильности пылы растений [2, 4, 5, 11-15]. Сделана попытка при помощи пыцевого анализа подойти к вопросам исследования цитогенетической активности окружающей среды в пределах Армянской атомной электростанции (ААЭС), отобрать с точки зрения биоиндикации более чувствительные генотипы. В настоящем сообщении изложены данные, полученные при изучении растений одной из важнейших для республики сельскохозяйственных культур - винограда.

Материал и методика. Объектом для исследования служила пыльца разных сортов винограда, выращенных в пределах ААЭС (Мецамор, Ерасхаун): Мсхали, Меграбуйр, Арарати, Воскеат, Амбари, Ачабаш, Шаумяни, Гаран дмак, Айастан, Токун, Мускат, Беркануш, Парвана, Араксени, Арени. В экспериментальный материал включены как сорта народной селекции, так и новые селекционные сорта. Микрогаметофитный анализ проведен по параметрам: фертильность (стерильность), диаметр и объем пылинки. Использованы общепринятые в литературе методы [8]. В каждом варианте анализировали от 5 до 10 тысяч пылинки на ацетокарминовых препаратах. Объем их определяли по формуле $D=1/6 \cdot \sqrt[3]{pd^3}$ [1, 9]. Материал, анализированный до перезапуска ААЭС, послужил

контролем для последующих исследований — после вторичного запуска ААЭС (опытный вариант) (Сообщение 1).

Результаты и обсуждение. Вариации почвенно-климатических и иных средовых условий способны вызывать вариабельность уровней дефектов пылевых зерен, зародышевых мешков и ограничивать репродуктивные возможности растений. Качество и конкурентоспособность пыльцы может модифицироваться условиями среды и генотипическими особенностями. Следовательно, влияние внешней среды опосредуется биологическими свойствами генотипов (видов, сортов). Об этом свидетельствуют проведенные нами исследования на разных сортах винограда. Из данных таблицы видно, что по изученным параметрам в пределах одного пункта и одного вида имеются определенные различия.

Таблица 1. Стерильность и некоторые морфометрические данные некоторых сортов винограда (до перезапуска АЭС)

Название сорта	Процент стерильности	Диаметр пылинки, мкм	Объем пылинки, мкм ³
МЕЦАМОР			
Мсхали	6.0 ± 0.11	28.42	11239.5
Меграбуйр	10.10 ± 0.18	26.07	9222.5
Арарати	10.36 ± 0.18	25.41	8550.5
Воскеат	10.44 ± 0.18	26.15	9337.8
Амбари	10.80 ± 0.19	25.11	8512.3
Хачабаш	11.60 ± 0.20	25.65	8670.5
Шаумяни	21.52 ± 0.33	19.19	12143.5
Гаран дмак	34.20 ± 0.45	24.14	7313.5
ЕРАСХАУН			
Айастан	2.64 ± 0.05	25.71	8553.2
Токун	6.1 ± 0.11	25.81	8563.1
Мускати Айкакан	12.7 ± 0.22	25.52	8452.3
Беркануш	12.12 ± 0.21	26.39	9443.6
Парвана	14.04 ± 0.24	25.52	8452.3
Араксени	40.46 ± 0.48	26.21	9958.6
Арени	40.82 ± 0.48	25.81	8243.2

Выделены генотипы с высокой (80-90%) и низкой (до 60%) фертильностью. Однако в группе этих сортов по этому признаку наблюдалась широкая вариабельность. Одним из критериев пригодности того или иного вида в качестве биоиндикаторов, помимо его распространенности, является достаточно низкая спонтанная частота проявления учитываемого признака (в данном случае стерильность пыльцы). В нашем опыте такой характеристике соответствуют сорта с невысоким (3-10%) показателем стерильности пыльцы (Мсхали, Меграбуйр, Воскеат, Амбари, Ачабаш, Айастан, Токун). Эти генотипы можно использовать для индикации загрязнения окружающей среды токсическими и мутагенными веществами по их гаметоцидному действию. Установленный для этих сортов уровень стерильности пыльцы может быть ориентировочно принят в качестве контрольного для региона [5]. Помимо

этого, обильная и фертильная пыльца обеспечивает сильную конкуренцию, способствует выживанию здоровых растений [5-6, 12, 15]. В этом случае проявляется влияние микрогаметофитной конкуренции на отдельные генотипы, так как приблизительно 60% структурных генов, экспрессирующихся в пыльце, экспрессируются и в спорофите [2, 7].

Максимальная стерильность других сортов может стать основой для слабой микрогаметофитной конкуренции и образования полиморфных популяций. Это может привести к появлению рекомбинантных индивидов, потере урожайности. В исследуемом материале к этой категории отнесены три генотипа (Гаран дмак, Араксени, Арени), у которых зарегистрирован наибольший процент стерильности (35-40). У сортов винограда с умеренной стерильностью (до 20%) микрогаметофитная конкуренция может, с одной стороны, стать исходным материалом для биоиндикации, а с другой - привести к образованию полиморфной популяции с новыми приспособлениями к средовым факторам.

Вследствие неблагоприятных метеорологических условий (градобитие) охватить полный набор экспериментального материала после непосредственного перезапуска ААЭС (1996г.) не удалось. Изучение трех генотипов (Мсхали, Меграбуыр, Арарати) за 1996 и 1997 гг. свидетельствует об образовании пыльцы с относительно низкой стерильностью (от 2% до 10%). Во избежание поспешных предположений работы по этому направлению продолжаются, охватывая другие сорта. Это обосновывается и тем, что при формировании мужского гаметофита, вне зависимости от побочных (антропогенных) факторов, существенная роль принадлежит и годичным климатическим условиям.

Микрогаметофитная конкуренция, а следовательно, и оплодотворяющая способность микрогаметофита, в большей степени зависит и от морфометрических данных. В этом отношении также наблюдалась генотипическая специфичность. Следует отметить, что по сравнению с более лабильным показателем стерильности, колебания по этому параметру ограничены. Переходы между показателями объема и диаметра у разных сортов незначительны, о чем свидетельствовали полученные данные (таблица) и результаты наших прежних исследований [3]. Эти параметры относительно константны и контролируются генотипом. У большинства изученных сортов средний диаметр пылинки составлял 25-26 мкм, объем - 5000-8000 мкм³. У двух сортов - Шаумяни и Мсхали как до, так и после перезапуска ААЭС эти показатели составляли 28-29 мкм (объем - 12000-13000 мкм³). Согласно литературным данным, сорта винограда с пылинками диаметром больше 27 мкм можно считать полиплоидными [10]. В этом аспекте указанные сорта соответствуют подобной характеристике.

Морфометрическая оценка микрогаметофита дополняется также данными частоты изменчивости признака (размер пылинки). У большинства сортов выражение развития признака, число отдельных вариантов в вариационном ряде насчитывалось от трех до четырех (от шести до семи — максимальные и два -

минимальные). Во всех вариантах исследования с большей частотой встречаются средние размеры (25-26 мкм) (рис. 1, 2). Вследствие этого, основная масса пыльцевых зерен гомогенна. Полученные результаты свидетельствуют о том, что употребление в качестве биоиндикаторов генотипов с лучшими качественными показателями (фертильность, гомогенность) предпочтительнее. У фертильных генотипов выше и микрогаметофитная конкуренция, устойчивость к заболеваниям, урожайность, что способствует сохранению популяций как целостной единицы [8, 13]. Возможно, микрогаметофитная конкуренция является одним из тех механизмов, который способствовал сохранению культур, в том числе и винограда, долгое время размножающихся вегетативным путем, от вырождения.

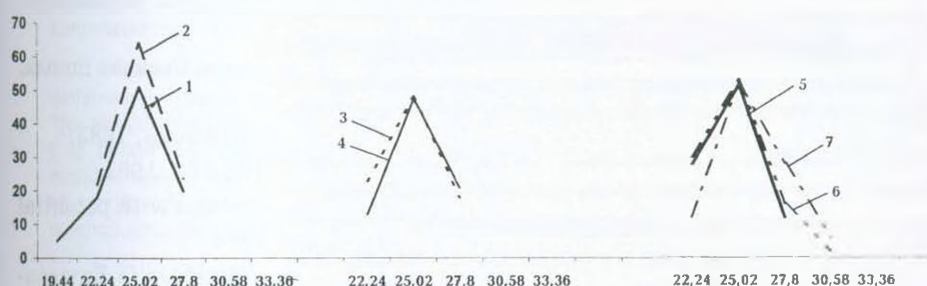


Рис. 1. Вариационная кривая диаметра пылинки сортов винограда, Мецамор. По оси абсцисс – варианты признака (диаметр пылинки, мкм), по оси ординат – частота встречаемости, %.

1 - Араксени; 2 - Арени; 3 - Айастан; 4 - Токун; 5 - Мускати Айкаккан; 6 - Парвана; 7 - Беркануш.

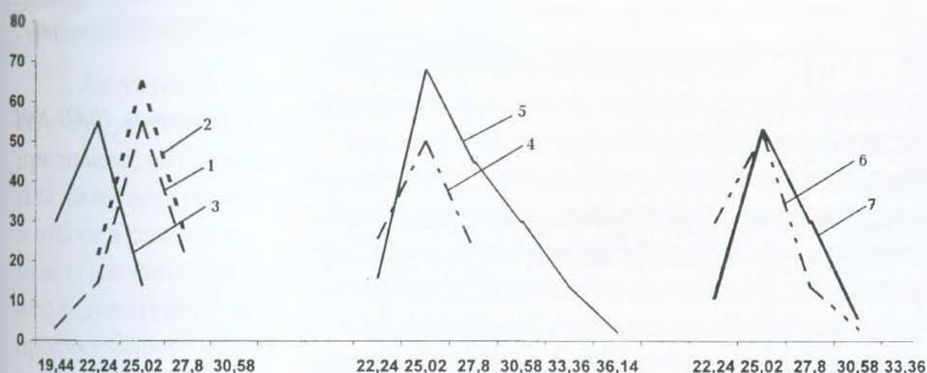


Рис. 2. Вариационная кривая диаметра пылинки сортов винограда, Ерасхаун. По оси абсцисс – варианты признака (диаметр пылинки, мкм), по оси ординат – частота встречаемости, %.

1 - Араксени; 2 - Арени; 3 - Мускати Айкаккан; 4 - Айастан; 5 - Токун; 6 - Парвана; 7 - Беркануш.

На основании результатов исследованного материала выделены сорта винограда с высокой фертильностью и чувствительностью и, следовательно, наиболее микрогаметофитной конкурентоспособностью. Мужской гаметофит отдельных сортов винограда может служить как в качестве материала для биоиндикации, так и привести к появлению популяций с измененной генетической структурой.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Выгодский М.Я.* Справочник элементарной математики. М., 263-265, 1976.
2. *Горовая А.И., Дигурко В.М., Скворцова П.М.* Цитология и генетика, 29, 5, 17-22, 1995.
3. *Ервандян С.Г., Галукян М.Г.* Радиобиология, 3, 31, 394-460, 1981.
4. *Куринный А.И.* Цитология и генетика, 17, 4, 32-35, 1983.
5. *Куринный А.И., Лекавичус Р.К., Елисеев К.Г. и др.* Метод. рекомендации, Киев, 1989.
6. *Куприянов П.Г.* Сб. "Апомиксис и цитозмбриология растений", Изд-во Саратовского ун-та, 5, 32-35, 1983.
7. *Лях В.Д.* Цитология и генетика, 29, 6, 76-82, 1995.
8. *Паушева В.П.* Практикум по цитологии растений. 256 с., М., Агроиздат, 1988.
9. *Рокицкий П.Ф.* Биологическая систематика, 230 с., Минск, Высшая школа, 1973.
10. *Топалэ Ю.Г.* Полиплоидия у винограда, Кишинев, Штиница, 1983.
11. *Amano Etsuo.* Environment Health Perspectives, 37, 165-168, 1981.
12. *Constantin Milton S.* Genotoxic Effect of Airborne systems with potential for the detection of atmospheric mutagens, 159-177, 1984.
13. *Nilan R.A., Rosichan J.J., Arenar P., Hodgdon A.Z., Kleinbors D.* Environment Health Perspectives, 37, 19-25, 1981.
14. *Ottaviano E., Sarigoffa M., Mutcahy L.L.* Structure, function and use in biology and medicine, Witey-Less inc., 575-588, 1990.
15. *Sharma C.B.* Evol. Mutagenic and Carcinogenic Potential. Environm. Agents, Collect, Articies and Lab. Meth. Work Shop. BARC. Febz.15-19, Bombay, 27-317, 1982.

Поступила 10.VII.2001

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ НЕКОТОРЫХ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ У ТАБАКА

В.А. МАРКАРЯН

Армянская сельскохозяйственная академия, 375025, Ереван

Установлено, что характер сопряженности между семью селектируемыми признаками у табака зависит от генотипов скрещиваемых пар. Между одноименными парами признаков, в зависимости от гибридной комбинации, меняется не только сила сопряженности, но и часто она имеет разные направления. На примере пяти изученных гибридных комбинаций показаны пути эффективного использования коррелятивных связей в селекции табака.

Հաստատվել է, որ ծխախոտի յոթ քանակական հատկանիշների միջև փոխկապվածության բնույթը կախված է տրամախաչված զույգերի գենոտիպերից: Հիբրիդային զուգակցությունից կախված, նույնանուն զույգ հատկանիշների միջև փոխվում է ոչ միայն փոխկապվածության ուժը, այլ հաճախ այն ունենում է հակառակ ուղղվածություն: Հետազոտված հինգ հիբրիդային զուգակցությունների օրինակով ցույց են տրվել ծխախոտի սելեկցիոն աշխատանքում համահարաբերական կապերի արդյունավետ օգտագործման ուղիները:

It is confirmed, that character of correlation among seven selected characters of tobacco depends on genotypes of crossing sorts. Between the same characters, depended on hybrid combination, the power of correlation is not only changed, but also has the different directions. On the example of investigated five hybrid combinations, the ways of effective using of correlations in selection of tobacco are showed.

Растение табака — фенотипическая корреляция — отбор — селекция

Актуальной задачей селекции табака является сочетание в генотипах селектируемых форм ряда важнейших хозяйственноценных количественных признаков, обуславливающих продуктивность и качество табачного сырья. Для выведения указанных форм необходимо при подборе родительских сортов и отборе в расщепляющихся гибридных популяциях учитывать сопряженность между названными признаками. Этой проблеме посвящены работы многих исследователей, в которых выявлены коэффициенты корреляций продуктивности и его компонентов с другими количественными признаками [1-3, 5-13].

Из данных этих работ следует, что коэффициенты корреляций между определенными признаками табака в зависимости от генотипов скрещиваемых пар и условий выращивания отличаются по величине и часто имеют разную направленность. Отметим также, что указанные работы выполнялись в основном на материале зарубежной селекции и полученные результаты невозможно экстраполировать на селекцию местных сортов. Для разработки эффективных селекционных программ необходимо проводить аналогичные исследования с вовлечением в эксперименты гетерогенных комбинаций.

Целью настоящей работы являлось изучение сопряженности важнейших количественных признаков на материале гибридных комбинаций местных промышленных сортов восточного типа табака.

Материал и методика. Работа выполнялась на экспериментальной базе Армянской опытной станции по табаку НПО "Табак" на следующих пяти гибридных комбинациях: Самсун 36 * Трапезонд 42, Самсун 959-11 * Остролист 44, Юбилейный * Остролист 44, Самсун 36 * Самсун 959-11, Трапезонд 10 * Трапезонд 42. Родительские сорта, гибриды первого и второго поколений, а также гибриды от возвратных скрещиваний растений с родительскими сортами изучали в трехкратной повторности.

Каждая повторность состояла из пяти блоков. Блоки, а также варианты в блоках, размещали по принципу полной рандомизации. Площадь учетных делянок, занятых родительскими сортами, гибридами первого поколения и от возвратных скрещиваний, составляла 10,5 м², а гибридами второго поколения — 21 м². Все опытные растения были этикетированы. В дальнейшем, ежедневно, до наступления осенних заморозков, проводили наблюдения за растениями для установления начала цветения. В день раскрытия первого цветка растение пронумеровывали с учетом следующих признаков: высоты растения, размера листа среднего яруса, количества листьев, продолжительности периода от посадки рассады до цветения, темпов листообразования. Со среднего яруса каждого пронумерованного растения брали по два листа и по методике, разработанной в ВИТИМ, определяли содержание сухого вещества. Темп листообразования определяли как отношение продолжительности периода от посадки рассады до цветения к количеству листьев на растении. Выборки из родительских сортов и гибридов составили соответственно: 77-114 (родительские сорта), 86-123 (гибриды первого поколения), 229-255 (гибриды второго поколения) и 127-148 (гибриды от возвратных скрещиваний) растений.

Фенотипическую корреляцию между признаками вычисляли методом Фишера [4] на популяциях гибридов второго поколения. С помощью нижеприведенных формул определяли коэффициент корреляции (r), стандартную ошибку коэффициента корреляции (S_r) и критерий существенности коэффициента корреляции (t_r):

$$r = \frac{\sum xy - (\sum x \cdot \sum y) : n}{\sqrt{[\sum x^2 - (\sum x)^2 : n] \cdot [\sum y^2 - (\sum y)^2 : n]}}, \quad S_r = \sqrt{\frac{1 - r^2}{n - 2}}, \quad t_r = \frac{r}{S_r},$$

где x — значение первого признака, y — значение второго признака, n — численность выборки.

Результаты и обсуждение. Анализ полученных данных показал, что коэффициенты корреляции между одноименными признаками в зависимости от гибридных комбинаций значительно различаются (табл.1). Наиболее высокими показателями коэффициентов корреляций обладала гибридная комбинация Самсун 959-11 * Остролист 44, у которой из 21 пары признаков у 17 наблюдались достоверные коэффициенты. В отличие от других комбинаций, вовлеченных в данный эксперимент, родительские сорта этого гибрида относятся к разным сортотипам: первый из них — к черешковым, а второй — сидячелистным. Слабой сопряженностью признаков характеризовалась комбинация Трапезонд 42 * Трапезонд 10, в которой лишь в 9 случаях наблюдались достоверные коэффициенты корреляций. У остальных гибридов такие корреляции отмечались в 14-16 случаях.

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ

Таблица 1. Коэффициенты фенотипической корреляции между количественными признаками у табака

Признаки	Высота растений	Количество листьев	Длина листа	Ширина листа	Темп листообразования	Содержание сухих листьев
Самсун 36 * Трапезонд 42						
Продолжительность вегетационного периода	0,678***	0,637***	-0,120	-0,255***	0,190**	-0,364***
Высота растений		0,762***	0,073	-0,032	-0,293***	-0,014
Количество листьев			0,051	0,010	-0,621***	-0,034
Длина листа				0,781***	0,291***	0,395***
Ширина листа					-0,305***	0,420***
Темп листообразования						-0,340***
Самсун 959-11 * Остролист 44						
Продолжительность вегетационного периода	0,441***	0,429***	0,575***	-0,194**	0,462***	-0,221***
Высота растений		0,556***	0,165*	0,149*	-0,185**	-0,009
Количество листьев			0,238***	-0,103	-0,669***	-0,178**
Длина листа				0,784***	-0,098	0,416***
Ширина листа					-0,043	0,482***
Темп листообразования						-0,247***
Юбилейный * Остролист 44						
Продолжительность вегетационного периода	0,535***	0,522***	-0,213**	-0,161*	0,096	-0,635***
Высота растений		0,406***	0,202**	0,205**	-0,064	-0,118
Количество листьев			0,078	0,098	-0,458***	-0,080
Длина листа				0,769***	-0,309***	0,467***
Ширина листа					-0,269***	0,469***
Темп листообразования						-0,450***
Самсун 36 * Самсун 959-11						
Продолжительность вегетационного периода	0,382***	0,350***	0,101	-0,010	0,534***	-0,291***
Высота растений		0,517***	0,316***	0,064	-0,154*	0,194*
Количество листьев			0,272***	-0,169*	-0,723***	-0,124
Длина листа				0,844***	-0,416***	0,291***
Ширина листа					-0,249***	0,136
Темп листообразования						-0,247***
Трапезонд 10 * Трапезонд 42						
Продолжительность вегетационного периода	0,836***	0,482***	0,371***	0,089	0,137*	-0,026
Высота растений		0,265***	0,052	-0,050	0,016	-0,156*
Количество листьев			0,007	-0,040	-0,023	-0,067
Длина листа				0,707***	-0,061	0,479***
Ширина листа					-0,049	0,462***
Темп листообразования						0,046

Примечание: *P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001.

Во всех изученных гибридных комбинациях высокодостоверные положительные корреляции наблюдались между длиной и шириной листа, продолжительностью вегетационного периода и высотой растения, продолжительностью вегетационного периода и количеством листьев, длиной листа и содержанием сухих веществ, шириной листа и содержанием сухих веществ. У этих же комбинаций сильные отрицательные корреляции обнаружены между количеством листьев и темпом листообразования, продолжительностью вегетационного периода и содержанием сухих веществ, темпом листообразования и содержанием сухих веществ, шириной листа и темпом листообразования.

Однако следует отметить, что между одноименными парами признаков в зависимости от гибридных комбинаций меняется не только сила сопряженности, но часто она приобретает разные направления. Так, например, у гибридов Самсун 959-11 'Остролист 44 и Трапезонд 10 'Трапезонд 42 коэффициент корреляций между продолжительностью вегетационного периода и длиной листа имеет высокодостоверные положительные значения, а у гибрида Самсун 36 'Самсун 959-11 — положительное незначительное значение. Однако у этой пары признаков в комбинациях Юбилейный 'Остролист 44 и Самсун 36 'Трапезонд 42 обнаружены отрицательные корреляции, причем в первом случае она имеет достоверное, а во втором — незначительное значение.

Отмеченное явление имело место также между следующими парами признаков: высотой растений и шириной листа, высотой растений и темпом листообразования, длиной листа и темпом листообразования, количеством листьев и шириной листа, высотой растения и содержанием сухих веществ.

Важным компонентом продуктивности и качества табачного сырья является содержание сухих веществ в листьях табака. У изученных комбинаций названный признак с исследуемыми признаками в основном коррелировал отрицательно, а в двух случаях отмечалось их существенное значение.

Высокостоверные положительные корреляции наблюдались лишь между содержанием сухих веществ и размерами листа. Следовательно, в потомстве исследуемых комбинаций отбор по размерам листа может быть успешным для получения продуктивных линий с достаточно хорошими показателями качества сырья.

В зонах табаководства, где лимитирующим фактором продуктивности и качества сырья выступает продолжительность вегетационного периода, в качестве перспективных линий для селекции необходимо подбирать комбинации, в которых содержание сухих веществ с этим признаком имеют отрицательные корреляции. Такая сопряженность признаков наблюдалась у комбинаций Самсун 36 'Трапезонд 42, Самсун 959-11 'Остролист 44, Юбилейный 'Остролист 44 и Самсун 36 'Самсун 959-11. Первые три

комбинации могли бы служить исходным материалом для получения скороспелых и среднеспелых сортов и гибридов скелетной группы, а последняя – для получения ароматичной группы. Поскольку анализируемый признак с содержанием сухих веществ слабо сопряжен лишь в комбинации Трапезонд 10 × Трапезонд 42, то последний может быть использован при выведении позднеспелых продуктивных линий. Успех проводимой селекционной работы обеспечивается также тем, что почти во всех гибридных комбинациях количество листьев слабо коррелирует с размерами листа и вопрос продуктивности возможно решать также за счет увеличения числа листьев на растении.

Таким образом, вычисление коэффициентов корреляций между хозяйственно ценными признаками табака и их дальнейшее использование при отборе в гибридных популяциях являются важным условием эффективности селекционной работы. В расщепляющихся гибридных популяциях отбор по комплексу признаков без учета их сопряженности может привести к снижению эффективности селекции и потере ценных генотипов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давидович С.Б. Тр. детскосельской акклиматизационной станции, 7, 7-35, 1928.
2. Маркарян В.А. Биолог. журн. Армении, 45, 1, 61-65, 1992.
3. Нерсисян П.М. Биолог. журн. Армении, 37, 3, 216-220, 1984.
4. Фишер Р.А. Статистические методы для исследователей, 268, 1954.
5. Цай С.Н. Селекция и семеноводство, I, 22-23, 1985.
6. Jones G.L., Kenyon J.M. Tobacco, 17, 1961.
7. Matzinger D.F., Mann T.J. Proc. Third World Tobacco Sci. Congr., Salisbury, 357-365, 1963.
8. Matzinger D.F., Wernsman E.A. 5-th Congr. Int. Tob. Sci, 68-76, 1970.
9. Oka M., Equchi K. Jap. J. Breeding, 15, 1, 47-52, 1965.
10. Povilaitis B. Can. J. Genet. Cytol., 7, 523-529, 1965.
11. Robinson H.F., Mann T.J., Comstock R.E. Heredity. 8, 365-376, 1954.
12. Smalcelj B., Kozumplik V. Agron. Glas., 42, 3, 309-315, 1980.
13. White F.H., Pandeya P.S., Dirks V.A. Canad J. Plant Sc., 59, 1, 111-120, 1979.

Поступила 23.III.1998

MOLECULAR AND CHIRAL RECOGNITION BY CYCLODEXTRINS

H. DODZIUK

*Institute of Physical Chemistry, Polish Academy of Sciences,
01-224 Warsaw, Kasprzaka 44, Poland*

The comparative investigations of the methods of X-ray analysis, NMR, molecular mechanics and molecular dynamics have been carried out for the calculation, prediction and application of the ability of cyclodextrins in molecular and chiral recognition of different enantiomers.

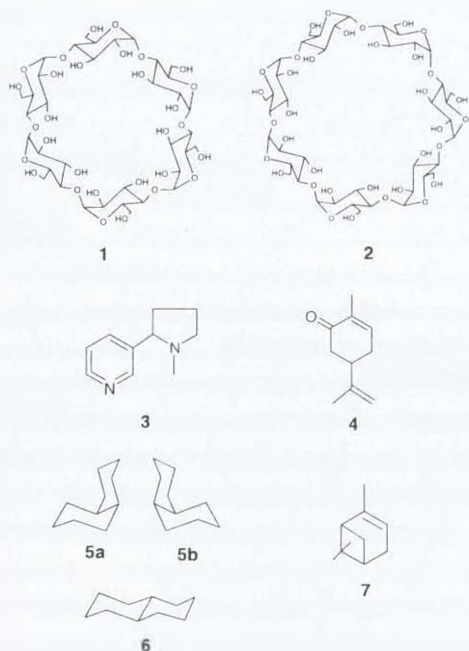
Կատարվել են ռենտգենականուցվածքային անալիզի, միջուկամագնիսական ռեզոնանսի, մոլեկուլյար մեխանիկայի և դինամիկայի մեթոդների համեմատական հետազոտություններ տարբեր էնանտիոմերների մոլեկուլյար և խիրալ ճանաչման վերաբերյալ ցիկլոդեքստրինների ունակության հաշվարկման, կանխատեսման և կիրառման համար:

Проведено сравнительное исследование методов рентгено-структурного анализа, ЯМР, молекулярной механики и динамики для калькуляции, прогнозирования и использования способности циклодекстринов для молекулярного и хирального узнавания различных энантиомеров.

Native cyclodextrins, CDs, like K-CD **1** and the cheapest and most popular 2-CD **2**, are cyclic oligosaccharides built of 6 or 7 glucopyranoside units, respectively, interconnected by κ -(1, 4) bonds [1]. They are obtained by enzymatic degradation of dextrin. On the basis of X-ray analyses [1b, c], for long time CDs were thought to have a rigid truncated-cone structure with a cavity capable of host-

ing another molecule, thus selectively forming complexes of different stability [2]. In addition to their significant role as enzyme models [3], their complexes have found several applications in food, cosmetic and pharmaceutical industry, in agrochemistry and other branches [4]. Of special interest is the separation of different or isomeric molecules on the basis of different stability of their cyclodextrin complexes [5].

Chirality is the property of objects that are not identical with their mirror images [6a]. The molecules related to each other as mirror images are called enantiomers. Prevailing majority of drugs and most molecules of which we are built are chiral, therefore drugs typically exhibit enantioselective action. For instance, our organisms



react differently to (*R*)- and (*S*)-nicotine **3** [6]. Similarly, by inhaling (+)- and (-)-carvones **4** we experience the herbaceous, but distinctly different odours; the former is suggestive of dill and caraway seeds while the latter is reminiscent of spearmint [7]. As the consequence of the drugs enantiospecificity, the second enantiomer of a drug (that is usually present as 50% admixture) may have serious side effects [6]. The best known, although not rigorously proved [8], example of such an undesired activity is thalidomide case. In the 70-ties the drug was taken by pregnant women who later bore highly intelligent children with deformities. The use of enantiomerically pure drugs is desirable to avoid side effects of the second enantiomer, thus of particular importance is the CDs application to the separation of enantiomers made possible by their chirality.

Cyclodextrins structure.

It should be stressed that CD complexes are very difficult objects for studies since.

1. They form complexes not only with the molecules under investigation but also with impurities. This can pose severe problems when the studied guests have low solubility.

2. They can form complexes of different stoichiometries, ternary complexes involving solvents, etc.

3. The stability constants depend significantly on the experimental conditions such as the solvent, concentration, pH, etc.

4. The CDs size and the specificity of their energy hypersurface characterized by numerous low-lying energy minima cast doubts in the reliability of theoretical results for them and their complexes.

As mentioned earlier, on the basis of X-ray analysis for long time CDs were thought to have a rigid truncated-cone structure (Fig. 1) although several experimental and theoretical arguments contradicted this opinion [1d].

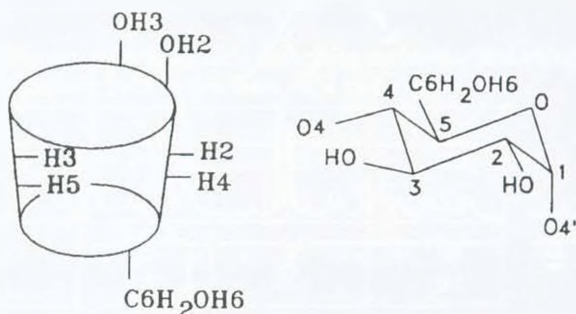


Fig. 1. A schematic view of the cyclodextrin spatial structure showing the localization of H3 and H5 protons inside their cavity (left) and the atom numbering in glycopyranoside unit.

1. NMR solution

spectra of the complexes involving benzene rings immersed inside the CD cavity consisted of only one signal of H3 (and that of H5) protons [2]. Such a result could not be reconciled with the rigid structure since the so-called ring currents should differentiate the cyclodextrin H3 protons. Similarly, the guest mobility even in the solid state is incompatible with the CDs rigidity [9].

2. Raman spectra and some other experimental results also contradict the CD rigidity [10].

3. The selectivity of the complex formation cannot be understood within the

framework of the rigid CD structure.

4. Both low barrier to internal rotation around glycosidic C-O bond and model calculations for K-CD **2** indicate [11] that these molecules are flexible. Moreover, the highly symmetrical structures **1**, **2** do not represent the absolute minima but the average structures.

The opinion on the CDs rigidity based on X-ray results was due to the fact that these experimental data were averaged over several molecular positions and long time during which the data were collected. Interestingly, recent, more accurate X-ray results pointed to the CDs flexibility [12].

Manifestations of chiral recognition by cyclodextrins.

CDs are chiral and only one CD enantiomer is known. Their interaction with chiral molecules entering their cavity is not identical. This dissimilarity forms the basis for chiral recognition by cyclodextrins. The CD complexes formed with the enantiomers differ in stability and other properties. For instance, bond lengths and angles of two complexes with enantiomeric guests determined by X-ray are not identical [13]. However, the X-ray data are too numerous and complicated to allow one to draw conclusions on the mechanism of chiral recognition by CDs. ^1H NMR spectra of the complexes exhibit splittings of signals like those shown in Fig.

2 [14]. Much less frequent are reports of the splittings in the carbon spectra (see, however, Ref. 15). NOE effects may also differentiate between the diastereomeric complexes with enantiomeric guest molecules [16].

Prediction of molecular and chiral recognition by cyclodextrins on the basis of model calculations.

In view of practical significance of enantiomer separation by CDs, in particular for chiral drugs, the possibility to predict chiral recognition ability by cyclodextrins would be of great value mainly for pharmaceutical industry.

Hundreds Molecular Mechanic, MM, [17] and few Molecular Dynamic, MD, [18] calculations for the complexes have been published. The calculations have been recently re-

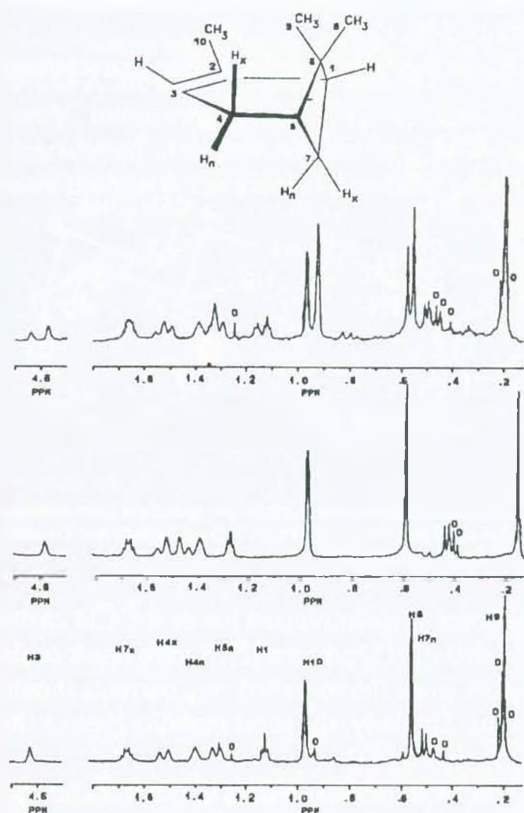


Fig. 2. ^1H spectra in D_2O of (1*S*,5*S*)- (bottom), (1*R*,5*R*)-apinene (middle), and the racemate (top) with the signal assignment. The signals of impurities are denoted by "o".

viewed by Lipkowitz [19] who expressed the opinion on the great possibilities of the methods in spite of their sometimes incompetent use. We believe that this opinion is too optimistic on the basis of our calculations of molecular and chiral recognition of decalin isomers by **b**-CD **2**. At room temperature, *cis*-decalin that forms relatively strong complex with **2** is known to exist as a mixture of two invertomers **5a** and **5b** that are enantiomers as well. When the ring inversion is frozen chiral recognition of the latter enantiomers by **2** manifest itself in ^{13}C NMR spectra by splittings of the guest signals [15]. The complex of **b**-CD with *trans*-decalin **6** is much weaker [20]. This unique set of experimental data [15, 20 – 21] has allowed us to test the applicability of MM and MD methods to the study of molecular and chiral recognition. The MM calculations [22] have been carried out for four different force fields and five values of electric permittivity ϵ for **6a**, **6b** and **7** and their complexes with **2**. The stabilization energy of the complexes was defined as a difference between the steric energy of a complex and the sum of the energies of its constituent parts. Then, the energy difference between the complexes with enantiomers **6** DDE_{chir} was taken as a measure of chiral recognition while the corresponding difference between the complex with **7** and with the closer in energy complex with either **5a** or that with **5b** DDE_{mol} was considered as a measure of molecular recognition. The results of the calculations are illustrated by the values obtained with the AMBER force field [23] and CVFF force field [24] for ϵ values of 1, 4 and 10 shown in Table 1. (It should be stressed that permittivity is a macroscopic value, thus the choice of this parameter is to a great extent arbitrary). The inspection of the data in the table reveals that:

Table 1. Dependence of energy differences (in kcal/mol) describing molecular and chiral recognition of decalin isomers by **2** on the force field and ϵ value

Force field	DDE	$\epsilon = 1$	$\epsilon = 4$	$\epsilon = 10$
AMBER	DDE_{mol}	-0.6	1.2	0.6
	DDE_{chir}	1.3	-0.2	1.1
CVFF	DDE_{mol}	0.5	0.6	0.3
	DDE_{chir}	0.8	-0.4	0.3

1. Different force fields do not yield the complex with same decalin isomer as the most stable.

2. Contrary to the experimental trends, the DDE_{chir} value characterizing chiral recognition is comparable or even greater than the corresponding DDE_{mol} value characterizing molecular recognition.

This means, that the results obtained by MM calculations are not reliable. This is not surprising since entropy factors, solvent effect, etc. are neglected in such calculations.

MD simulations in vacuum for the complexes of **5a**, **5b** and **6** with **2** [23] revealed that with the AMBER FF [24] they were unstable at 300 K and decomposed during 200 – 250 ps independently on the assumed ϵ value. For the CVFF [25], the complex with the *trans*-decalin is always less stable than those with the *cis*-iso-

mers. However, the sign of DDE_{chir} depends on assumed permittivity value. Therefore, we believe that MD simulations in vacuum can be used only for qualitative studies of molecular recognition.

The experimental data at our disposal did not contain quantitative values of DDE_{chir} for the complexes involving *cis*-decalin enantiomers [15, 26]. Therefore, further studies on the reliability of calculations of chiral recognition by CDs have been carried out in water for the complexes of α -pinene enantiomers **7** with α -CD **1** for which the energy difference between the complexes involving both enantiomers have been published [27]. The first simulations carried out for 3.5 ns yielded excellent agreement with the experimental value of energy difference. the calculations [16]. However, the lengthening of the simulation time to 5 ns yielded small incorrect preference of the complex with (*1R*, *5R*) enantiomer of pinene **7** [28].

Further lengthening up to 12 ns reverted this improper trend. It should be stressed that today MD simulations are carried out for few nanoseconds at best. We believe that considerably longer simulations should be carried out to obtain reliable results on chiral recognition by CDs.

REFERENCES

- 1a. Comprehensive Supramolecular Chemistry, vol. 3, J. Szejtli, Ed., Elsevier, Oxford, 1996.
- 1b. Saenger W. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 19, 344, 1980.
- 1c. Saenger W. in Inclusion Compounds, Atwood J.T., Davies J.R.D., McNicol D.D. Eds., vol. 2, Academic Press, London, 1984, p. 231; K. Harada, Trends in Phys. Chem., 1, 45, 1990.
- 1d. Dodziuk H. Modern Conformational Analysis. Elucidating Novel Exciting Molecular Structure, VCH Pulishers, New York, p. 219, 1995.
2. Ref. J. Szejtli in Ref. 1a, p. 189.
3. Breslow R., Dong S.D. Chem. Rev., 1998, 98, 1997; R. Breslow, Supramol. Chem., 6, 41, 1995.
4. Szejtli J. Cyclodextrin Technology, Kluver, Dordrecht, 1988; Cyclodextrins and Their Industrial Uses, D. Duchene, Ed., Edition du Sante, Paris, France, 1987; New Trends in Cyclodextrins and Derivatives, D. Duchene, Ed., Edition du Sante, Paris, France, 1991.
5. Koehler J.E.H., Hohla M., Richters M., Koenig W.A. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1992, 31, 319. 6. K. Bauer, D. Garbe, H. Surbung, Common Fragrances and Flavor Materials, VCH Publishers, New York, p. 51, 1990.
7. Tesla B. Chirality, 1, 7, 1989.
8. Ref. 1d, Chapter 5.
9. Inuoe Y., Kuan F.H., Takahashi Y. Carbohydr. Res., 1985, 135, C12; M. G. Usha, R. J. Wittebort, J. Am. Chem. Soc., 114, 1541, 1992.
10. Bright F.V., Camena G.C., Huang J. J. Am. Chem. Soc., 112, 1343, 1990; A. F. Bell, L. Hecht, L. D. Barron, Chem. Eur. J., 3, 1292, 1997; T. Steiner, W. Saenger, J. Am. Chem. Soc., 113, 5676, 1991.
11. Dodziuk H., Nowinski K. J. Mol. Struct., THEOCHEM, 110, 61, 1994.
12. Steiner T., da Silva A.M.M., Teixeira-Dias J.J.C., Mueller J., Saenger W. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 34, 1452, 1995. K. Harata, Chem. Commun.,

- 191, 1999.
13. Harata K., Uekama K., Otagiri M., Hirayama F. Chem. Lett., 1807, 1983; K. Harata, K. Uekama, M. Otagiri, F. Hirayama, Chem. Lett., 1807, 1983.
14. Dodziuk H., Sitkowski J., Stefaniak L., Sybilska D. Pol. J. Chem., 70, 1361, 1996.
15. Dodziuk H., Sitkowski J., Stefaniak L., Jurczak J., Sybilska D. J. Chem. Soc., Chem. Commun., 207, 1992.
16. Dodziuk H., Komiecki W., Lukin O., Sybilska D. J. Mol. Struct., 523, 205. NOE, 2000.
17. Ref. 1d, p. 90.
18. Ref. 1d, p. 94.
19. Lipkowitz K.B. Chem. Rev., 98, 1829, 1998.
20. Kocielski T., Sybilska D., Lipkowski J., Mediokritskaja A. J. Chromatogr., 351, 512, 1986.
21. Dodziuk H., Sitkowski J., Stefaniak L., Jurczak J., Sybilska D. Supramol. Chem., 3, 79, 1993.
22. Dodziuk H., Lukin O., Nowicki K.S. J. Mol. Struct. (THEOCHEM), 503, 221, 2000.
23. Dodziuk H., Lukin O. Pol. J. Chem., 74, 997, 2000.
24. Weiner S.J., Kollman P.A., Case D.A., Singh U.C., Ghio C., Alagona G., Profeta S., Weiner P. J. Am. Chem. Soc., 106, 765, 1984; S. J. Weiner, P. A. Kollman, D. T. Nguyen, D. A. Case, J. Comput. Chem., 7, 230, 1986; S. V. Homans, Biochem., 29, 9110, 1990.
25. Dauber-Ogothorpe P., Roberts V.A., Wolff J., Genest M., Hagler A.T. Protein: Structure, Function and Genetics, 4, 31, 1988.
26. Dodziuk H., Sitkowski J., Stefaniak L., Jurczak J., Sybilska D. Supramol. Chem., 3, 79, 1993.
27. Moeder C., O'Brien T., Thompson R., Bicker G. J. Chromatography A, 736, 1, 1996.
28. Dodziuk H., Lukin O. Chem. Phys. Lett., 327, 18, 2000.

Поступила 15.VI.2001

CYCLODEXTRINS CARBONATE ENTRAPPED IN POLYMERIC MEMBRANES: CATALYTIC BEHAVIOUR

A. GORDANO^{*}, F. TROTTA^{**}, C. MANFERTI^{**}, E. DRIOLI^{***}

^{*}Research Institute on Membrane and Modelling of Chemical Reactors,
IRMERC-CNR, I-87030 Rende, Italy

^{**}Dept. of Inorganic, Physical and Material Chemistry, University of Torino,
I-10125 Torino, Italy

^{***}Dept. of Chemical and Material Engineering, University of Calabria,
I-87030 Rende, Italy

Flat sheet membranes made of modified polyetheretherketone known as PEEK-WC, charged with O-octyloxycarbonyl β -cyclodextrins (β -CD) were prepared by the phase inversion method and characterized. Their catalytic behaviour for the p-nitrophenylacetate (PNPA) hydrolysis to p-nitrophenol (PNP) was investigated. The β -CD acyclic carbonate derivative seems to have an effective catalytic action when incorporated in the PEEK-WC membrane. The membranes were tested at different temperatures and substrate concentrations and the value of activation energy for the reaction was estimated.

Օ-օկտիլօքսիկարբոնիլ β -ցիկլոդեքստրինով (β -ՏԴ) մոդիֆիկացված պոլիէթերէթերկետոնի (PEEK-WC) հիման վրա ֆազային վերստիռն մեթոդով սինթեզվել և բնութագրվել են հարթ մեմբրաններ: Ուսումնասիրվել է ր-նիտրոֆենիլացետատի (PNPA) ր-նիտրոֆենոլ (PNP) հիդրոլիզի նրանց կատալիտիկ ակտիվությունը: Ցույց է տրվել, որ PEEK-WC մեմբրանում ընդգրկված β -ՏԴ-ի կարբոնատային ածանցյալը դրսևորում է էֆեկտիվ կատալիտիկ ակտիվություն:

На основе полиэфирэфиркетона (PEEK-WC), модифицированного О-октилоксикарбонил β -циклодекстрином (β -ЦД), фазоинверсионным методом синтезированы и охарактеризованы плоские мембраны. Изучена их каталитическая активность гидролиза р-нитрофенилацетата (PNPA) в р-нитрофенол (PNP). Показано, что карбонатное производное β -ЦД, включенное в PEEK-WC мембрану, проявляет эффективную каталитическую активность.

Cyclodextrins are a series of cyclic oligosaccharides produced from starch by the action of cyclodextrin glucosyltransferase. Cyclodextrins were first discovered by Villiers in 1891 as degradation products of potato starch. Cyclodextrins are composed of D-glucopyranose residues bonded by α -(1-4) linkages. Three well characterized and commercially available members of this family are α -, β -, and γ -cyclodextrins, made up of six, seven, and eight glucopyranose residues, respectively.

Within a cyclodextrin molecule, each D-glucopyranose residue assumes the C1 (chair) conformation. The molecular geometry of a cyclodextrin can be described as a truncated cone, a doughnut, or even a lampshade, with one opening being wider than other, and the molecule possessing a hydrophilic outer surface and hydrophobic inner cavity. All secondary hydroxyl groups (C2-OH and C3-OH) are on the wider end of the cavity whereas all primary hydroxyls (C6-OH) are on the narrower end.

This non-inverting, somewhat rigid structure may flex or compose, but not

collapse, and it can efficiently form molecular inclusion complexes with various organic and inorganic "guest" compounds.

Molecular inclusion compounds are formed when one molecule, commonly known as the "guest" inserts within the confines of the other, commonly known as the "host". A distinctive characteristic of the host molecule is that its binding sites are oriented along the same direction in space. The bond sites on the enclosed molecule, by contrast, diverge. Although no covalent bonds are formed between the host and the guest, lower energy forces hold the two molecules in a rigid crystalline structure which is easily disrupted to ensure timely release of the entrapped guest. In fact, the ability to reversibly form molecular inclusion complexes becomes the basis for almost all cyclodextrin applications.

Cyclodextrins are water soluble, although enhanced or diminished aqueous solubility can be achieved via chemical or structural modifications. β -cyclodextrins exhibit a remarkably lower solubility than do α - and γ -cyclodextrins. This characteristic stems from a rigid intramolecular hydrogen bonding network between the secondary hydroxyl group belt found on the wider aperture of the β -cyclodextrin molecule.

Cyclodextrins are modified chemically in order to alter their solubility behaviour and complexation properties, and to induce groups with certain specific functions. Derivatives that have a greater aqueous solubility than their parental cyclodextrins are desired in many applications. Cyclodextrins can also be chemically modified to produce derivatives that are much less water soluble than their parents. A reduced aqueous solubility is necessary, for example, in applications where a low residue of cyclodextrin is required.

In this work a *O*-octyloxycarbonyl β -CD derivative was used. The effect of the immobilised CD derivative in polymeric membrane on the rate of the hydrolysis reaction of PNPA to PNP was analysed. In aqueous basic solutions cyclodextrins cleave phenyl acetates by acyl transfer from the ester to an ionised hydroxyl group of the cyclodextrin. Catalytic activity of β -CD carbonate is a function of DS and of the strength of the alkaline medium. In homogeneous system the catalytic action of CD derivatives was found to decrease with increasing of the substitution degree [3]. Moreover the β -CD acyclic carbonate derivatives are not stable because of the hydrolysis of carbonate at basic pH, whereas the rate constant for the CD-catalysed reaction is maximal at a pH of 12 to 13 [1].

The most important characteristic of cyclodextrins is their ability to form inclusion complexes with a wide variety of guest compounds without formation of covalent bonds. Since the cavity diameter of a cyclodextrin varies with the number of glucose units in the ring, selecting an appropriately sized cyclodextrin to fit the geometric parameters of a guest compound is of primary importance in forming an inclusion complex.

It is important to keep in mind that complexation reaction between a cyclodextrin and a guest molecule is a rapid and reversible process in solution. Complexation reactions usually occur in presence of a solvent, typically water. Water favors the formation of a complex on the basis of hydrophobic interaction.

The breadth of industries which can benefit from cyclodextrin technology range

from agricultural and pharmaceutical, to chemical process industries and analytical and diagnostic, to foods, flavors, and cosmetics, essentially any industry which consumes organic based materials can benefit from cyclodextrins.

Membrane preparation and characterization was the first aim of the work, in order to evaluate the possibility to combine catalytic action of β -CD immobilised in polymeric matrix with membrane technology.

Membrane technology offer a wide range of applications, but also a great number of advantages with respect to other traditional techniques.

It is well known, however, that the properties of the membranes in the applications where they separate molecules which have very close molecular dimensions are widely influenced by the choice of the polymer. In this work a particular kind of PEEK, named PEEK-WC (poly(oxa-*p*-phenylene-3,3-phthalido-*p*-phenylene-oxy-phenylene), was used. The polymer is characterised by the presence of the cumbersome lattonic group that reduces the degree of cristallinity thus making it more soluble in some chlorohydrocarbon solvents and also in DMF and DMSO and, as a consequence, it is then possible to obtain PEEK-WC membranes that are now studied for many applications.

The β -CD acyclic carbonate derivative seems to be an efficient nucleophilic catalyst when incorporated in the PEEK-WC membrane [2]. It seems to posses a high nucleophilicity towards the reagent PNPA with exceptional lability of the intermediate on the reaction pathway leading to the formation of the product by a large rate acceleration. In any case, when the same reaction was carried out in a membrane reactor, even if without cyclodextrins, the reaction rate results higher with respect to the batch reaction.

The PNPA hydrolysis takes place with an inclusion complex in which the phenyl group of the ester stays in the hydrophobic cavity of the CD [1]. The efficiency of the ester cleavage is enhanced in the presence of immobilised membrane cyclodextrin since the PNPA orients its phenyl group into the cavity in geometries that are suitable for the acyl transfer [2].

In previous studies the effect of β -CD derivatives with different DS was investigated and the procedure of membrane preparation was optimised; by using β -CD carbonate with DS equal to 7 and in concentration of 7.5 wt% a conversion degree of 100% was reached [4].

In order to improve the catalysis the O-octyoxycarbonyl β -CD derivative was dispersed in the casting dope. In this way the CD carbonate catalytic activity in the membrane can be reached by the substrate with a better efficiency.

In this study the effect of some parameters on the catalytic activity of the membranes functionalised with β -CD has been examined. The membrane have been characterised and tested at different temperatures and substrate concentrations. The value of activation energy was estimated.

The reaction has been carried out at same temperatures and substrate concentrations, in the same membrane reactor on a membrane made only of PEEK-WC.

By using immobilised membrane β -CD, a significant improvement of reaction rate in comparison with the PEEK-WC membrane was observed.

Materials and Methods. PEEK-WC, poli (oxa-*p*-phenylene-3,3'-phthalido-*p*-phenylenoxa-*p*-phenylene-nexoxi-*p*-phenylene) was supplied from Chanchung Institute of Applied Chemistry, Academia Sinica. The polymer powder was washed with methanol at room temperature and then dried in a vacuum oven before membrane preparation.

β -cyclodextrin was supplied from Roquette Italia (Cassano, Spinola, Italy). Its *O*-octyloxycarbonyl β -CD derivative was synthesised according to the literature and the average degree substitution (DS 7) was determined via quantitative FT-IR analysis [5].

p-nitrophenylacetate and *p*-nitrophenol were purchased from commercial sources (Fluka Chemicals) and were used without further purification.

The membranes were prepared following the traditional phase inversion process [6] which permits the production of membranes with an asymmetric pore structure. The solvent was N,N-Dimethylformamide (DMF) and non solvent water.

PEEK-WC membranes. The purified polymer (15 wt%) was dissolved in DMF by magnetically stirring overnight to allow complete solution at room temperature. The solution was cast knife on a glass plate. The knife was supplied from Braive Instruments. The knife high was set at 250 mm and the time of initial evaporation in air, at room temperature, was 45 s. the cast film was immersed in a coagulation bath containing distilled water; the cast film were kept in water for 10 min and then transferred to fresh distilled water for 2 hours.

PEEK-WC/*O*-octyloxycarbonyl β -CD membranes. This membrane was prepared as above, using 7,5 wt% solution of CD derivative in the polymer solution. β -CD derivative was added after complete dissolution of the polymer and the solution was dissolved by magnetically stirring for a day or more to allow complete solution at room temperature.

O-octyloxycarbonyl β -CD derivative, insoluble in water until 60 °C about, was used instead of β -CD to prevent loss of CD during the membrane formation process.

To confirm the absence of β -CD derivative in the coagulation bath a thin layer chromatography (TLC) test was carried out with a solution with β -CD derivative in EtOH and a part of first coagulation bath solution. Ferric "orcinolo" was put on the layer of TLC and it is clear the presence of β -CD in the first solution and the absence in the second one.

In the casting solution the ratio PEEK-WC: β -CD derivative was 2:1. It was been supposed that after phase inversion process the ratio is the same and, after drying, all solvent is gone out of the membrane. A part of the utilised membrane of area 11,9 cm² has been dried and weighted (0,121 g). So the β -CD weight was 0,0403 g. the utilised membrane was of 133 cm² area, so the total β -CD weight was 0,45 g. The molar concentration of β -CD derivative immobilised in membrane in the active area has been determined and it was 0,152 M.

All membranes were stored in water.

Reactor equipment. The membrane reactor configuration is described in Figure 1.

A flat cell was used. The solution of PNPA in phosphate buffer, pH 8 permeated through the membrane with constant flow rate having a pressure difference as driving force, $DP = 0,01 \pm 0,002$ bar. The membrane area was 133 cm². The reactor calibration has been done at room temperature and with distilled water. Various tests at different temperatures have been carried out by using a thermostatic bath.

Reactor operation and analytical method. A standard solution of PNP 0,02 M in acetonitrile was prepared. In the typical experiment, $1,26 \cdot 10^{-4}$ M, $9,58 \cdot 10^{-5}$ M, $7,76 \cdot 10^{-5}$ M, $5,55 \cdot 10^{-5}$ M, $4,05 \cdot 10^{-5}$ M and $2,74 \cdot 10^{-5}$ M PMPA solutions in phosphate buffer were prepared. The solution was placed in the membrane reactor and the permeate analysis has been done about every 5 minutes.

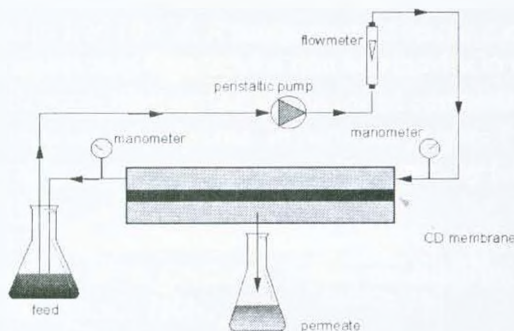


Figure 1. Membrane Reactor scheme.

Initial PNPA and PNP concentrations were determined spectrophotometrically at 299 nm and 401 nm, respectively, using a 1 cm quartz cell and a Shimadzu UV-160A UV-VIS recording spectrophotometer, at room temperature. The reference compartment contained a phosphate buffer. A calibration curve for PNPA and PNP in the phosphate buffer was made and the curves were approximated with a linear function, Figure 3.

To verify the effective catalysis of b-CD derivative, the same experimental tests have been carried out by using a PEEK-WC membrane in the membrane reactor.

Because hydrolysis of esters occurs spontaneously in alkaline solutions, also in the absence of CD an increase of PNP is observed.

The reaction rate has been determined by working at different temperatures (15, 20, 30, 40, and 55°C).

Results and discussion. Membranes. The different structures of phase inversion membranes are related to the polymer and CD concentrations in the casting solution [7]. The actual membrane formation process is usually a diffusion induced phase separation (DIPS) process.

The membrane forming system is composed of PEEK-WC, *O*-octyloxycarbonyl b-CD derivative, DMF as solvent and water as non solvent. All components are only miscible in a concentration range between 15 wt% PEEK-WC/2.5 wt% *O*-octyloxycarbonyl b-CD derivative and 15 wt% PEEK-WC/7.5 wt% *O*-octyloxycarbonyl b-CD derivative [4].

The different membrane structure, porosity and permeability properties, mainly depend upon diffusivities and the

ratio of solvent and non solvent exchange that are influenced by components concentration.

Both membranes show a linear dependence of water flux on the applied pressure gradient, at constant temperature.

Hydrolysis of PNPA in the bulk. Noted above, during the alkaline hydrolysis of PNPA an increase of PNP concentration was observed. In Figure 2 the reaction course in the bulk at different temperatures is shown.

Hydrolysis of PNPA in the membrane reactor. PNPA hydrolysis reaction is an ideal model reaction for its simple

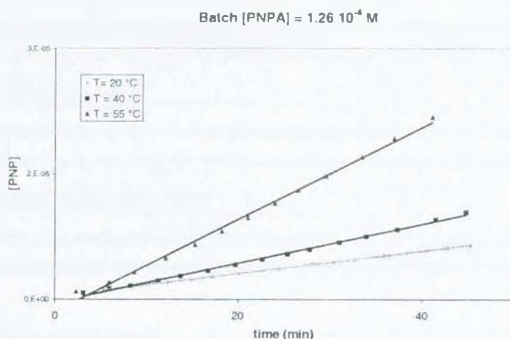


Figure 2. Reaction course in the bulk at different temperatures.

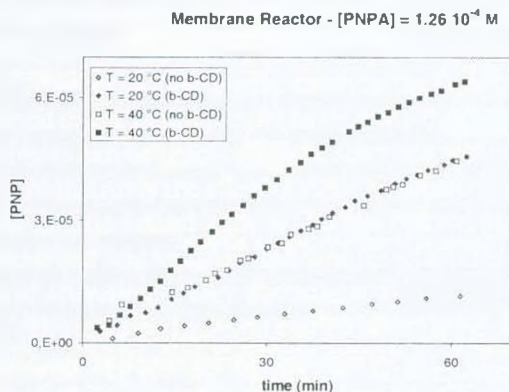


Figure 3. Reaction courses in the b-CD carbonate membrane reactor and in the same without b-CD derivative at 20 and 55 °C, for [PNPA] equal to $1.26 \cdot 10^{-4}$ M.

mechanism, widely investigated, to obtain information on the catalytic and selectivity properties of CDs [8,9,10].

Reaction course in the β -CD carbonate membrane reactor and in the same without β -CD derivative at 20 and 55°C for $[PNPA] = 1.26 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ are reported in Figure 3. It is clear that the reaction rate was significantly higher when the reaction was carried out in presence of β -CD.

The first step of the reaction mechanism of the CD catalysed hydrolysis of ester is the substrate inclusion into the CD cavity [11]. The second step is the nucleophilic attack of a secondary CD hydroxyl into the carboxyl group of the substrate and CD acylation. Following steps are the dissociation of the inclusion com-

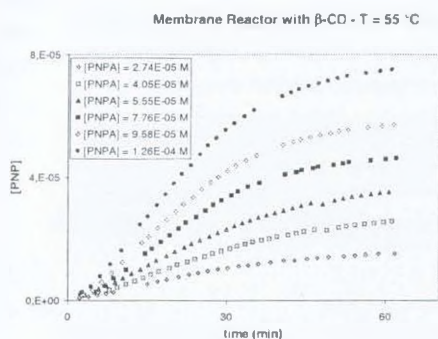


Figure 4. Reaction courses at 15, 20, 30, and 40 °C for initial $[PNPA]$ equal to $1.26 \cdot 10^{-4} \text{ M}$.

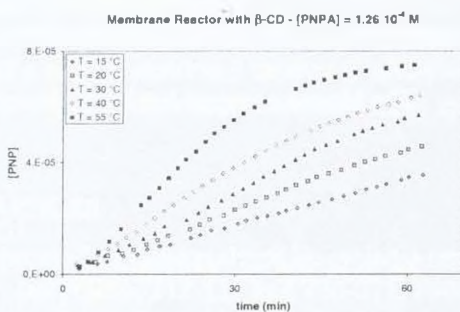


Figure 5. Comparison of reaction rate at 55 °C for initial $[PNPA]$ equal to $2.74 \cdot 10^{-5}$, $4.05 \cdot 10^{-5}$, $5.55 \cdot 10^{-5}$, $7.76 \cdot 10^{-5}$, $9.58 \cdot 10^{-5}$ and $1.26 \cdot 10^{-4} \text{ M}$.

plex and hydrolysis of the acylated CD. CD deprotonated secondary hydroxyl groups are the active species, while the primary ones are not involved.

In Figure 4 are reported the reaction courses at different temperatures for PNPA initial concentrations equal to $1.26 \cdot 10^{-4} \text{ M}$. A comparison of reaction rate at the same temperature (55°C) are reported in Figure 5.

The rate of the hydrolysis depends both on the PNPA initial concentration and the temperature at which the reaction is carried out. In particular, higher PNPA concentration and higher temperatures produce a higher reaction rate, by following a pseudo-first order kinetic [10].

Kinetic of reaction. β -CD carbonate derivatives catalysed the hydrolysis reaction acting as synthetic enzymes with lower costs and higher productivity. The reaction follows a pseudo-first order kinetic [10].

Initial rate, V_0 , values for the reaction carried out in β -CD carbonate reactor were determined.

The reaction has been schematised as follow:



here C, S, CS and P symbolise the catalyst (*O*-octyloxycarbonyl β -CD), substrate (PNPA), inclusion complex and product (PNP), respectively.

Two parameters define this kind of kinetic, The Michaelis constant, K_M , and the maximal velocity of the reaction, V_{max} , that occurs at high substrate concentrations when the CD is saturated.

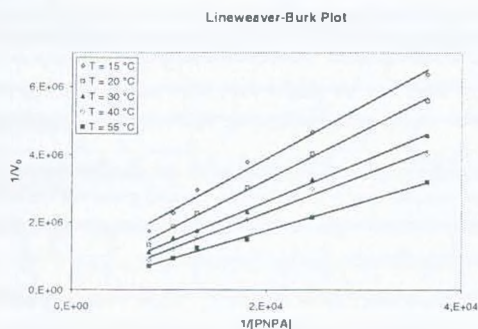


Figure 6. Lineweaver-Burk plot for the hydrolysis reaction carried out in the b-CD carbonate membrane reactor.

The kinetic constant has been obtained from this equation:

$$k_2 = \frac{V_{\max}}{[C]_T}$$

In literature the approximation of the b-CD determined kinetic to a first order kinetic is reported [12].

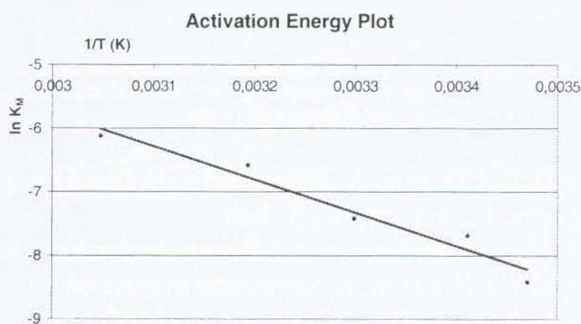


Figure 7. Estimation of the value of activation energy with Arrhenius equation.

At very high values of $[S]$, the initial velocity V_0 asymptotically approaches $V_{\max}$.

To determine the values of $V_{\max}$ and K_M , the Lineweaver-Burk or double reciprocal plot is used.

The Lineweaver-Burk plot for the hydrolysis reaction carried out in the b-CD carbonate membrane reactor is reported in Figure 6. The slope of the line is $K_M/V_{\max}$, the $1/V_0$ intercept is $1/V_{\max}$, and the extrapolated $1/[S]$ intercept is $-1/K_M$.

To estimate the value of activation energy, the Arrhenius equation has been applied (see Figure 7):

$$\ln k = \ln k_0 + \left(-\frac{E_{\text{act}}}{R} \right) \cdot \frac{1}{T}$$

Even if CD aren't enzymes and don't follow exactly a Michaelis-Menten kinetic, we can use this kind

of relation with good approximation.

Conclusions. In previous studies [4,11] the influence of pH, DS of CD and CD concentration on the trend of hydrolysis reaction of PNPA to PNP carried out in a b-CD carbonate membrane reactor has been examined.

In this study we worked in optimal conditions determined previously [4,11], the effect of temperature has been examined and the value of activation energy has been estimated.

When hydrolysis reaction was carried out in the b-CD derivative membrane reactor, we found a value of activation energy of 32,6 kJ/mol, significantly higher respect the value listed in literature [?]. The values of activation energy for the batch hydrolysis of PNPA with and without b-CD reported in literature results, respectively, in 36.4 and 45.2 kJ/mol.

In the membrane, the CD carbonate derivative shows to have more stability

because of their chemical resistance to alkaline attack. The entrapment of CD in the polymeric membrane optimises the interaction with the substrate, increases the chemical stability of the catalyst, allows the reuse of the catalytic membrane, in fact the membranes may be easily washed and reused without any loss of activity.

In the membrane the acyclic chains form bonds with the PEEK polymer so that the hydrophobic cavity is free and oriented to be more able for carrying out the catalytic action.

In conclusion, the use of a polymeric membrane functionalised with *O*-octyloxycarbonyl β -CD derivative to carry out the hydrolysis reaction of PNPA to PNP in phosphate buffer enhances the reaction rate with an enzyme-like behaviour, but improving productivity and stability and decreasing costs.

This study shows the performance of a novel design of catalytic membrane reactor, in which the specific properties of a non conventional catalyst immobilised in a polymeric membrane can promote and extend new applications of these systems.

REFERENCES

1. *Szejtli J.* Cyclodextrin inclusion complexes: Reaction catalysed by cyclodextrin, in *Cyclodextrin Technology*, Kluwer, Dordrecht, 112-117 and 366-371, 1988.
2. *Drioli E., Natoli M., Koter I., Trotta, F.* An Experimental Study on a β -Cyclodextrin Carbonate Membrane Reactor in PNPA Hydrolysis. *Biotechnology & Bioengineering*, 46, 415-420, 1995.
3. *Fujita K., Shinoda K., Imoto T.* Selectivity variation in hydrolysis of phenil acetates by simple modifications of β -cyclodextrin. *Tetrahed. Lett.*, 21, 1541-1544.
4. *Natoli M., Pagliero C., Trotta F., Drioli E.* A Study of Catalytic β -Cyclodextrin Carbonate Membrane Reactor Performance in PNPA Hydrolysis. ???
5. *Trotta, F. Moraglio G., Marzona M., Maritano S.* Acyclic Carbonates of β -Cyclodextrin. *Gazz. Chim.*, 123, 559, 1993.
6. *Kesting R.* *Synthetic Polymeric Membranes* 2nd ed., 7, Wiley, New York, 1985.
7. *Kimmerle K., Strathmann, H.* Analysis of the Structure-Determining Process of Phase Inversion Membranes. *Desalination*, 79, 237-249, 1990.
8. *Fujita K., Akihiro S., Taiji I.* Hydrolysis of phenil acetates with capped β -cyclodextrins. *Bioorg. Chem.*, 4, 237-249, 1980.
9. *Kitaura Y., Bender M. L.* Ester hydrolysis catalized by modified cyclodextrins. *Bioorg. Chem.*, 4, 237-249, 1975.
10. *Van Etten R. L., Sebastian J. F., Clowes G. A., Bender M. L.* Acceleration of phenyl ester cleavage by cycloamylose. A model of enzymatic specificity. *J. Am. Chem. Soc.*, 89, 3242-3252, 1967.
11. *Saenger W.* *Cyclodextrin Inclusion Compounds in Research Industry*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 19, 344-362, 1980.
12. *Bertrand M.* Tesis, University of Lille, 1993.

Поступила 15.VI.2001

Биолог. журн. Армении, 3-4 (53), 2001

УДК 576.8:615.33:577.486:615.425

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЧАЙНОГО ГРИБА И ЕГО МИКРОФЛОРЫ

В.Б. ГОГИНЯН

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

Чайный гриб - микрофлора - антиоксидантная активность

В последние годы значительно возрос интерес к изучению процессов окислительного стресса и его роли в жизнедеятельности человека, особенно, при сердечно-сосудистых заболеваниях, разнообразных инфекциях, развитии злокачественных новообразований, процессах преждевременного старения и других патологических явлениях [1, 2, 7, 8].

В настоящей работе изучены антиоксидантные свойства народного лечебного средства - чайного гриба (*Medusomyces gisevii*), а именно его микрофлоры и культуральной жидкости. Чайный гриб - сложная микробная ассоциация, находящаяся в естественном симбиозе дрожжей и уксуснокислых бактерий (УКБ). Как сопутствующая микрофлора в нем встречаются молочнокислые (МКБ), спорообразующие и другие бактерии. Культуральная жидкость чайного гриба применяется в основном для профилактики и терапии заболеваний желудочно-кишечного тракта, обладает антимикробным и иммуностимулирующим свойствами, содержит витамины, органические кислоты, дубильные вещества, белки, кофеин, алкалоиды, глюкозиды, ферменты и другие вещества [3].

Нами была изучена антиоксидантная активность двух штаммов *Medusomyces gisevii* - московского (М) и ереванского (Е) и 29 штаммов дрожжей и УКБ, выделенных из чайного гриба.

Материал и методика. В качестве антиоксидантов исследовались 7-, 14- и 21-суточные культуральные жидкости (КЖ) образцов чайного гриба, полученные в результате настаивания культур в слабом растворе чая, содержащем 5% сахарозы, а также выделенные из них микроорганизмы: дрожжи, выращенные на среде Гансена, уксуснокислые бактерии, выращенные на среде для УКБ, МКБ, выращенные на среде МРС [10], и бациллы, выращенные на рыбобептонной среде.

Об антиоксидантной активности (АОА) микрофлоры чайного гриба и его культуральной жидкости судили по скорости перекисного окисления липидов (ПОЛ). ПОЛ определяли по конечному продукту - малоновому диальдегиду (МДА), количество которого измеряли по интенсивности окраски триметилового комплекса, содержащего одну молекулу МДА и две молекулы тиобарбитуровой кислоты (ТБК).

Определение скорости ПОЛ в гомогенате мозговой ткани крысы проводили в Fe - индуцируемой системе по модифицированному методу. Неферментативное стимулирование ПОЛ в Fe-аскорбат - и ферментативное в Fe-НАДФН - зависимых системах проводили по модифицированному методу [2, 5, 6, 9].

Мозг крысы (самец, массой 180-200 г) после декапитации гомогенизировали в 20 мМ фосфатном буфере (рН 7,4) в соотношении 1г сырого мозга в 100 мл буфера. Суспензия или тканевый гомогенат содержал около 0,5-1,0 мг/мл белка, количество которого определяли по биуретовому методу [4].

Состав реакционной смеси Fe-зависимой системы:

контрольной пробы: 1 мл суспензии; 0,3 мл 0,1мМ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ (соль Мора); 0,7 мл фосфатного буфера (рН 7,4).

опытной пробы: 1 мл суспензии; 0,3 мл 0,1мМ соли Мора; 0,1 мл антиоксиданта; 0,6 мл фосфатного буфера (рН 7,4).

Состав реакционной смеси Fe-аскорбат стимулируемой системы:

контрольной пробы: 1 мл суспензии; 0,3 мл 0,8 мМ аскорбиновой кислоты; 0,3 мл 12×10^{-6} М соли Мора; 0,4 мл фосфатного буфера (рН 7,4).

опытной пробы: 1 мл суспензии; 0,3 мл 0,8 мМ аскорбиновой кислоты; 0,3 мл 12×10^{-6} М соли Мора; 0,1 мл антиоксиданта; 0,3 мл фосфатного буфера (рН 7,4).

Состав реакционной смеси Fe-НАДФН стимулируемой системы:

контрольной пробы: 1 мл суспензии; 0,3 мл 12×10^{-6} М соли Мора; 0,3 мл 1мМ НАДФН; 0,3 мл 2×10^{-4} мМ пирогосфата Na; 0,1 мл фосфатного буфера (рН 7,4).

опытной пробы: 1 мл суспензии; 0,3 мл 12×10^{-6} М соли Мора; 0,3 мл 1мМ НАДФН; 0,3 мл 2×10^{-4} мМ пирогосфата Na; 0,1 мл антиоксиданта.

Реакционные смеси инкубировали при 37° на водяной бане в течение 30 мин. Затем реакцию останавливали, добавляя 2 мл смеси, содержащей 0,375% ТБК, 15% ТХУ в 250 мМ растворе HCl. Пробы кипятили 15 мин и охлаждали. Образовавшийся осадок отделяли центрифугированием. Интенсивность изменения окраски измеряли спектрофотометрическим методом при длине волны 535 нм. Количество МДА в нмолях определяли, используя коэффициент экстинкции $\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ и рассчитывали на 1 мг белка за 1 мин по формуле:

$$C = D \frac{100000}{1,56 \cdot A \cdot T}, \quad \text{где}$$

C - количество МДА, нмоль/мин/мг белка;

D - показатель оптической плотности;

A - количество белка в гомогенате, мг/мл;

T - время инкубации, мин.

Процент ингибирования ПОЛ определяли по формуле: % ингибир. = $(C_k - C_{ин}) \times 100 / C_k$, где C_k - количество МДА контрольной пробы, нмоль/мин/мг белка; $C_{ин}$ - количество МДА испытуемой пробы, нмоль/мин/мг белка.

Результаты и обсуждение. Полученные данные позволяют заключить, что КЖ испытанных образцов чайного гриба обладают выраженными антиоксидантными свойствами (табл. 1 и 2).

Эти свойства лучше всего проявляются в 7-суточных КЖ. Так, КЖ

московского образца в Fe-зависимой системе проявляет АОА, составляющую 56,6% ингибирования ПОЛ, а КЖ ереванского образца в НАДФН и аскорбат-стимулируемых системах соответственно 50,0 и 79,0%. В дальнейшем АОА падает, по-видимому, вследствие повышения кислотности КЖ.

Таблица 1. Антиоксидантное действие культуральной жидкости чайного гриба (московский штамм, инкубация 24°)

Испытуемые образцы КЖ чайного гриба	Fe-зависимая система		
	D	МДА, нмоль	% ингибирования
7-суточная	0,26	793,5	56,6
14-суточная	0,46	1403,0	23,3
21-суточная	0,48	1465,0	20,0
Контроль (гомогенат мозга) (Fe-зависимая система)	0,6	1831,0	0

Таблица 2. Антиоксидантное действие культуральной жидкости чайного гриба (ереванский штамм, инкубация 24°)

Испытуемые образцы КЖ чайного гриба	НАДФН-зависимая			Аскорбат-зависимая		
	D	МДА, нмоль	% ингибирования	D	МДА, нмоль	% ингибирования
7-суточная	0,13	62,15	50	0,105	50,2	79
14-суточная	0,26	124,37	0	0,29	138,72	42
21-суточная	0,34	162,6	-	0,33	157,8	34
Контроль (гомогенат мозга)	0,26	124,37	0	0,5	239,2	0
Раствор чая + 5% сахарозы (Fe-зависимая система)	0,29	826,2	-			
Контроль (гомогенат мозга) (Fe-зависимая система)	0,19	541,3	0			

На 14-е сутки АОА КЖ московского образца в Fe-зависимой системе % ингибирования ПОЛ составил 23,3, а ереванского образца в НАДФН и аскорбат-стимулируемых системах - 0 и 42,0 соответственно.

На 21-е сутки АОА КЖ московского образца % ингибирования ПОЛ составил в Fe-зависимой системе 20,0, ереванского - в НАДФН и аскорбат-стимулируемых системах - 0 и 34,0 соответственно.

При микробиологическом анализе изученных образцов чайного гриба было выделено 29 культур микробов, в том числе, из ереванского - 8 дрожжей и 6 УКБ, а из московского - 9 дрожжей и 6 УКБ.

Выделенная и изученная в чистых культурах на антиоксидантную активность микрофлора образцов чайного гриба такими явными свойствами не обладает. Исследования показали, что антиоксидантная активность культур достаточно низкая, если сравнивать ее с АОА соответствующих питательных сред, на которых они были выращены, что можно объяснить сравнительно медленным ростом культур.

Таким образом, оценка культуральных жидкостей образцов чайного гриба выявила их достаточно высокую антиоксидантную активность на 7-е сутки инкубации с ее падением в последующие дни. Выделенная микрофлора образцов чайного гриба не обладает свойствами ингибирования процесса перекисного окисления липидов. Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что АОА микрофлоры чайного гриба проявляется только в ассоциированном состоянии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабижаев М.А., Лозовская Е.М., Макареева Е.Н., Люлькин Ю.А., Сапежинский И.И. Биохимия, 63, 5, 620-626, 1998.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., "Наука", 38-51, 1972.
3. Даниелян Л.Т. Чайный гриб - лечебное средство народной медицины, Ереван, "Айастан", 1993.
4. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика, М., "Мир", 1991.
5. Ernster L., Nordenbrand K. Mikromosomal lipid peroxidation. Methods in enzymology, 10, 574, 1967.
6. Fortney S.R., Linn W.S. Arch. Biochem. Biophys., 104, 241, 1964.
7. Gibson G.R., Rastall R.A., Roberfroid M.B. Prebiotics. In: Colonic Microbiota, Nutrition, and Health. Eds. G.R. Gibson, M.B. Roberfroid. Kluwer, Dordrecht, 101-124, 1999.
8. Halliwell B., Gutteridge I.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. Clarendon Press. Oxford, England, 1989.
9. Hochstein P., Ernster L. Biochem. Biophys. Res. Commun., 12, 338, 1963.
10. Man J.C. de, Rogosa M., Sharpe M.E. J. Appl. Bacteriol., 23, 130, 1960.

Поступила 03.IX.2001

ՖԱԲՐԻՑՅԱՆ ՊԱՅՈՒՍԱԿԻ ՀԻՍՏՈՔԻՄԻԱԿԱՆ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՄԱՍՆԱԿԻ ՀԵՊԱՏԵԿՏՈՍԻԱՅԻՑ ՀԵՏՈ

Ա.Ա. ՄԽԻԹԱՐՅԱՆ, Գ.ՅՈՒ. ՊՈՂՈՍՅԱՆ, Կ.Ա. ԶԻՎԱՆՅԱՆ

Երևանի պետական համալսարան, կենդանաբանության ամբիոն, 375025

Օրգանների հետվնասվածքային ռեգեներացիայի կարգավորման մեջ առաջնակարգ դեր են կատարում օրգանիզմի հոմեոստազն ապահովող համակարգերը, այդ թվում իմունիտետի համակարգը [5,7]: Գրականության մեջ տվյալներ կան ներքին օրգանների ռեգեներացիայի ակտիվության փոփոխությունների մասին իմունիտետի համակարգի այս կամ այն օրգանի ֆունկցիայի անբավարարության դեպքում [6], կան նաև տվյալներ իմունիտետի համակարգի ինտակտ օրգաններում տեղի ունեցող փոփոխությունների մասին որևէ ներքին օրգանի մասնահատումից հետո [1]: Դրանցում ցույց են տրված իմունիտետի համակարգի օրգաններում բջջային կազմի փոփոխությունները [2, 4], ընդ որում, նշվում է կենտրոնական և ծայրամասային օրգանների ռեակտիվ փոփոխությունների միմյանց նկատմամբ տրամագծորեն հակառակ բնույթը: Ողնաշարավորների լյարդի ռեգեներացիայի կարգավորման ուսումնասիրությանը նվիրված մեր աշխատանքներում բացահայտվել է մասնակի հեպատոկոմմիայից հետո մեկ ամսվա ընթացքում տնային հավերի ֆաբրիցյան պայուսակի ֆուլիկուլներում լիմֆոիդ շարքի բջիջների բազմացման գործընթացների նկատելի աշխուժացում [4]: Ներկայացվող հաղորդման մեջ բերվում են տվյալներ լյարդի ռեգեներացիայի ընթացքում ֆաբրիցյան պայուսակի ֆուլիկուլներում ցանցանման հենքի կառուցվածքային վերակառուցումների, բջիջներում սուկցինատդեհիդրոգենազի (ՍԴՀ) և ոչ սպեցիֆիկ էսթերազների ակտիվության փոփոխությունների վերաբերյալ:

Աշխատանքի նյութը և մեթոդները: Փորձերը կատարվել են 2-3 ամսական ճտերի վրա: Ընդհանուր ցավագրկան պայմաններում հեռացվել է լյարդի աջ բլթի մի մասը, որը կազմել է օրգանի զանգվածի 1/5-ը: Ուսումնասիրությունների համար նյութը վերցվել է վիրահատությունից 1, 3, 5, 10, 20, 30 օր անց, դրա մի մասը ֆիքսվել է Բուենի և Կարնուայի լուծույթներում և ենթարկվել ընդհանուր հյուսվածաբանական մշակման: Սիստամանակ կրիոստատում պատրաստվել են թարմ սառեցված կտրվածքներ, որոնց վրա, Նախլասի մեթոդով որոշվել է ՍԴՀ-ի, իսկ նավթիլացետատի կիրառմամբ ոչ սպեցիֆիկ էսթերազների ակտիվությունը: Ֆերմենտների ակտիվությունը գնահատվել է պայմանական միավորներով: Օրգանի ցանցանման հենքը ի հայտ է բերվել պարաֆինային կտրվածքները արծաթի նիտրատի օգնությամբ ըստ Ֆուտի մշակման միջոցով:

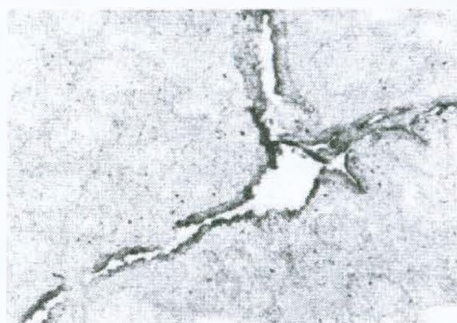
Հետազոտության արդյունքները և դրանց քննարկումը: Ֆաբրիցյան պայուսակը միայն թռչուններին հատուկ ավշային օրգան է, որին վերագրվում է իմունիտետի համակարգի կենտրոնական օրգանի դեր: Սակայն, ֆաբրիցյան պայուսակի կառուցվածքային և գործառութային յուրահատկություններն անբավարար են ուսումնասիրված, իսկ գրականության մեջ արտահայտվում է նաև այն միտքը, որ այդ օրգանը կարող է համարվել իմունիտետի համակարգի ծայրամասային օրգան [3]:

Հավերի 40 օրական ճտերի ֆաբրիցյան պայուսակի լործաթաղանթն ունի ծալքավոր կառուցվածք: Առաջնային ծալքերն ունեն կողմնային երկրորդային

ծալքեր, որոնց միջև նուր շարակցական հյուսվածքում, տեղավորված են տարբեր մեծության ավշային ֆոլիկուլներ: Յուրաքանչյուր ֆոլիկուլի մեջ տարբերում են ծայրամասային և կենտրոնական գոտիներ, որոնք իրարից առանձնացված են հիմային թիթեղիկով: Արծաթի նիտրատով մշակված միկրոպատրաստուկների վրա հիմային թիթեղիկի կազմում պարզորոշ երևում են ռետիկուլային թելերը: Միմյանց միահյուսվելով և, երբեմն, խրճեր կազմելով, դրանք ստեղծում են նուրբ ցանցանման կառուցվածք: Ֆոլիկուլի կենտրոնական մասը կազմված է տարբերակման տարբեր փուլերում գտնվող լիմֆոցիտներից, իսկ ծայրամասային շերտը պարունակում է գլխավորապես հասուն լիմֆոցիտներ: Հատկանշական է, որ ֆոլիկուլների այս շերտն, ի տարբերություն կենտրոնականի, պարունակում է նուրբ ցանցանման հենք կազմված ռետիկուլային թելերից (նկ. 1):



Նկ. 1. Ֆոլիկուլի ծայրամասային և կենտրոնական գոտիները ստուգիչ բոյունների ֆաբրիցյան պայուսակում: Իմպրեգնացիա արծաթի նիտրատով: Օր. 4, օկ. 10:



Նկ. 2. Սուկցինատդեհիդրոգենազի բարձր ակտիվությունը լորձաթաղանթների էպիթելում և ֆոլիկուլներում: Ըստ Նախլասի: Օր. 25, օկ. 10:

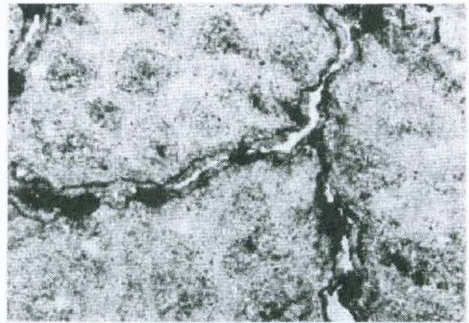
Լյարդի մասնահատումից հետո փորձի վաղ ժամկետներում (վիրահատությունից 1-5 օր անց) ֆաբրիցյան պայուսակի հիստոմորֆոլոգիան հանդես է բերում ռեակտիվ փոփոխություններ: Ուսումնասիրությունները հնարավորություն են տվել հայտնաբերել դրանք ցանցանման հենքում: Լյարդի մասնահատումից 1 օր անց նկատելի է դառնում ֆոլիկուլների միջուկային և կեղևային շերտերը միմյանցից անջատող արծաթասեր թիթեղիկի կտրտվածությունը: Ցանցանման հենքի կառուցվածքային փոփոխություններն իրենց առավելագույն արտահայտվածությանն են հասնում վիրահատությունից 10 օր անց:

Վիրահատությունից 20 օր անց նկատելի են դառնում ցանցանման հենքի վերականգնման երևույթները: Այդ ժամկետում ֆոլիկուլների միջուկային և կեղևային նյութերի միջև նկատելի է դառնում ամբողջական համատարած հիմային թիթեղիկը, կանոնավոր դասավորված արծաթասեր թելիկների նուրբ ցանցով: Կարելի է ենթադրել, որ ցանցանման հենքում տեղի են ունենում հարմարողական բնույթի վերափոխումներ ուղղված ակտիվորեն բազմացող բջիջների համար համապատասխան միկրոշրջապատի ստեղծմանը:

Սուկցինատդեհիդրոգենազի ակտիվությունը ստուգիչ թռչունների ֆաբրիցյան պայուսակի ֆոլիկուլների կենտրոնական և ծայրամասային գոտիներում բարձր է և կարող է զնահատվել 3 միավորով (նկ. 2): Ֆոլիկուլների կենտրոնական և ծայրամասային գոտիների միջև գտնվում են ֆերմենտային բարձր ակտիվությամբ տարբերվող բջիջներ, որոնք առանձնանում են մուգ շերտի

ծնով: Փորձի վաղ ժամկետներում վիրահատությունից 1-3 օր անց, ֆերմենտի ակտիվությունը ստուգիչի մակարդակից իջնում է (2 միավոր): Հաջորդ ժամկետում վիրահատությունից 10 օր անց, նկատվում է ՍԴՀ-ի ակտիվության բարձրացում: Փորձի ուշ ժամկետներում վիրահատությունից 20-30 օր անց, ՍԴՀ-ի ակտիվությունը վիրահատված թռչունների ֆաբրիցյան պայուսակի ֆոլիկուլներում շարունակում է բարձրանալ, բայց չի հասնում ստուգիչի մակարդակին:

Ոչ սպեցիֆիկ էսթրագենների ակտիվությունը ստուգիչ թռչունների ֆաբրիցյան պայուսակի ֆոլիկուլների կենտրոնական և ծայրամասային գոտիներում տարբեր է: Կենտրոնական գոտում ֆերմենտի ակտիվությունը կարելի է գնահատել 3 միավոր, իսկ ծայրամասային գոտում՝ 2 միավոր: Այդ գոտիների միջև հստակորեն զանազանվում է ոչ սպեցիֆիկ էսթրագենների առավել բարձր ակտիվությամբ տարբերվող բջիջների շերտը (նկ. 3):



Նկ. 3. Ոչ սպեցիֆիկ էսթրագենների բարձր ակտիվությունը լորձաթաղանթների էպիթելում և ֆոլիկուլներում: Օր. 25, օկ. 10:

Վիրահատությունից հետո վաղ ժամկետներում՝ 1-5 օր անց, ֆերմենտի ակտիվությունը իջնում է, ինչպես կենտրոնական, այնպես էլ ծայրամասային գոտում, և կարող է գնահատվել 1 միավոր: Վիրահատությունից 10 օր անց ոչ սպեցիֆիկ էսթրագենների ակտիվությունը ֆոլիկուլներում սկսում է բարձրանալ: Վիրահատությունից 30 օր անց ֆոլիկուլների կենտրոնական գոտում ոչ սպեցիֆիկ էսթրագենների ակտիվությունը հասնում է, իսկ ծայրամասային գոտում՝ գերազանցում է ստուգիչի մակարդակը:

Այսպիսով, մեր փորձերում ստացված տվյալները վկայում են 2-3 ամսական ճտերի մասնակի հեպատէկտոմիայից հետո ֆաբրիցյան պայուսակի ֆոլիկուլներում ռեակտիվ փոփոխությունների առկայության մասին:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Бабаева А.Г. Арсентьева В.В. Бюлл. эксп. биол. и мед., 112, 169-170, 1991.
2. Бабаева А.Г. Архив патологии, 55, 62-64, 1993.
3. Батчер Э.С., Вайсман И.Л. В кн. Иммунология, под ред. У. Пола, 1, 1987.
4. Бляхер М.С., Сидорова Н.М., Феодорова И.М., Бабаева А.Г. Бюлл. эксп. биол. и мед., 121, 301-303, 1996.
5. Долгушин И.И. Патол. физиол. и эксп. терапия, 6, 30-32, 1978.
6. Юдина Н.З. Клеточные основы регенерации у млекопитающих, 113-117, М., Наука, 1984.
7. Babaeva A.G. Recent Trends in Regeneration Research. Plenum Press NATO ASI, Ser A. 72, NY. London, 1989.

Ստացվել է 26.VII.2001

ВЛИЯНИЕ КАРБОФОСА НА ФИТОСЕИДНЫХ КЛЕЩЕЙ

К.П. ДИЛБАРЯН, Г.А. АРУТЮНЯН, А.В. КАЗАРЯН

Институт зоологии НАН Армении, 375014, Ереван

Фитосейдные клещи - карбофос

В стратегии борьбы с вредителями растений, и в частности с тетранихонидными клещами, основным является химический метод. Однако применение различных химических соединений зачастую представляет серьезную опасность для окружающей среды. Существенно также, что ряд препаратов подавляет естественные регулирующие механизмы в агроценозах, приводя к нарушению экологического равновесия. В связи с этим применение биологического метода с использованием резистентных к химическим препаратам естественных агентов будет способствовать подавлению в массе размножившихся вредителей, ограничению использования ядохимикатов, что в свою очередь уменьшит проникновение химических соединений во внешнюю среду.

Направление наших исследований предопределило то обстоятельство, что работы по выявлению резистентных рас хищных клещей в республике не проводились.

Материал и методика. В опытах применяли 50%-ный эмульгирующий концентрат карбофоса. Действующее вещество препарата - СО диметил - 1,2 дикарбэтоксизтилдитиофосфат - бесцветная маслянистая жидкость с характерным неприятным запахом. Применяется как контактный инсектицид и акарицид для борьбы с тлями, медяницей, трипсами, паутинными клещами на плодовых и полевых культурах. Карбофос - препарат имагоцидного действия [4]. Критерием токсичности препарата были величины $СК_{50}$ и $СК_{95}$. Определение токсикологических критериев осуществляли с использованием графического метода пробит-анализа Миллера-Тейтнера [3].

Определение состояло из последовательных операций: разведение препарата, обработка клещей и учет их смертности. Для определения $СК_{50}$ препарат испытывали в серии концентраций, вызывающих гибель от 5-10 до 90-95% клещей. Для определения этих концентраций ставили пробный опыт, оценивая чувствительность к препарату в концентрациях, взятых через порядок: 0,01; 0,001; 0,0001; 0,00001. Если, например, при концентрации 0,01% гибель клещей составляла 100%; при 0,001% - 97; 0,0001 - 36; а при 0,00001 - 0%, то диапазон концентраций препарата для определения $СК_{50}$ был следующим: 0,001 - 0,0005 - 0,00025 - 0,0001 - 0, 0005%. Препарат разводили только до получения рабочей жидкости самой высокой концентрации (в данном случае 0,001%), используя формулу:

$$X = \frac{K \cdot O}{D},$$

где X - количество исходного препарата, необходимое для приготовления нужного раствора с заданной концентрацией; K - заданная концентрация; O - заданный объем раствора;

Д - содержание действующего вещества в препарате.

В лаборатории контактную токсичность препарата определяли методом опрыскивания с использованием специального опрыскивателя конструкции Никитина и универсального садка конструкции Петрушова [5]. Смертность клещей определяли через 24ч после обработки. Для каждой концентрации брали 2-3 садка по 20-30 клещей в каждом. Два садка ставили в качестве контроля, т.е. ничем не обрабатывали, а через 24ч подсчитывали процент естественной гибели. Использовали следующие виды хищных клещей: *Amblyseius similis* Koch, 1839; *A. finlandicus* Oudemans, 1915; *Anthoseius bagdasarjani*, Wainstein et Arutunjan, 1967; *Phytoseius plumifer* Canestrini et Fanzago, 1876.

Результаты и обсуждение. Исследование влияния карбофоса на фитосейидных клещей было необходимо в связи с расширяющимся применением фосфорорганических препаратов и высокой биологической активностью препаратов этой группы. Результаты опытов по определению устойчивости клещей к карбофосу свидетельствуют о том, что степень чувствительности хищников зависит от их вида и дозы препарата. Так, при проверке партии клещей с применением диагностической концентрации, зарегистрировано наличие выживших особей уже при 0,005%-ной концентрации у *Ph. plumifer* и высокий уровень выживаемости *A. similis* при концентрации 0,0025%. Небольшой диапазон чувствительности *Ph. plumifer* и *A. similis* объясняется тем, что в этих партиях были примеси устойчивых форм, т.к. указанные клещи до постановки токсикологических опытов неоднократно подвергались воздействию химических препаратов, в результате чего, по-видимому, у них активизировалась защитная система организма. Этим и объясняется быстрое снижение летального действия карбофоса на *Ph. plumifer* и *A. similis*.

Таким образом, обработка клещей диагностирующей дозой препарата позволяет получить информацию о потенциальном возрастании устойчивости и определить процентное содержание резистентных клещей в опытах.

Обычно о развитии устойчивости судят по результатам сопоставления действия среднесмертельных концентраций препарата ($СК_{50}$ и $СК_{95}$), т.е. измеряют средний суммарный уровень устойчивости популяций. В этой связи был определен уровень устойчивости для *A. similis*. Именно этот вид интересовал нас, поскольку ранее был отмечен нами как перспективный для биологической защиты [1]. $СК_{50}$ и $СК_{95}$ для *A. similis* соответственно равны 0,00040 и 0,0032 (табл.1). В таблице для сравнения приводятся токсикологическая характеристика *A. similis* для ряда фосфорорганических

Таблица 1. Токсикологическая характеристика хищного клеща *Amblyseius similis*

Фосфорорганические препараты	$СК_{50}$	$СК_{95}$
	% д.в.	
Актелик	0,00013	0,0010
Карбофос	0,00040	0,0032
Рогор	0,00036	0,0022
Этафос	0,0053	0,131

препаратов.

Следует отметить, что среднесмертельная концентрация изменяется в зависимости от температуры, влажности и других параметров, однако это несущественно при регистрации первичного уровня устойчивости [2]. Таким образом, исследования такого рода позволяют разработать мероприятия по комплексной защите с таким расчетом, чтобы они содействовали защите и не мешали размножению полезных видов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Э.С., Дилбарян К.П. Биолог. журн. Армении, 34, 7, 676-681, 1981.
2. Бегляров Г.А., Зильберминц И.В., Петрушов А.З. Мат-лы 7 съезда ВЭО, 2, 23-24, Л., 1974.
3. Беленький М.В. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Изд. АН Латв.ССР, Рига, 1963.
4. Зильберминц И.В., Журавлева Л.М., Петрушов А.З., Фадеев Ю.П. Методические указания по рациональному использованию современных акарицидов в борьбе с резистентными популяциями паутиного клеща. 1-29, М., Колос, 1977.
5. Лившиц И.З., Митрофанов В.И., Рохас Л.А., Петрушов А.З. Методические рекомендации по изучению растительноядных клещей. 1-48, Ялта, 1986.

Поступила 18.IV.1997

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СРЕДСТВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ЯЩУРА В ОЧАГАХ И НЕБЛАГОПОЛУЧНЫХ ПУНКТАХ

Л.Л. СИМОНЯН*, С.Е. ПЕРСЕСЯН*, Г.Е. ВОСКАНЯН*, В.К. СПИРИН**,
Н.С. МАСЛОВА**, В.М. ЗАХАРОВ**

*Научный центр животноводства и ветеринарии МСХ Армении, 375005, Ереван

**Всероссийский научно-исследовательский институт защиты животных,
г. Владимир

Ящур — тип вируса — вакцина — антитела

В последние годы эпизоотическая ситуация по ящуру характеризуется сложностью и взрывоопасностью. Это обстоятельство обусловлено тем, что вирусы, которые циркулировали в Ближневосточном регионе, имели значительные антигенные отличия от производственных штаммов [6-8].

Вспышки ящура в Армении в 1996-97 гг., обусловленные заносами вируса из сопредельной Турции, получили широкое распространение, т.к. применяемые средства активной профилактики не сдерживали развития эпизоотического процесса. Осложняющим фактором являлось и то, что из-за ухудшения экономического положения не было достаточных средств для приобретения биопрепаратов и качественного проведения профилактических мероприятий [2].

Стало очевидным, что бессистемное, выборочное, ограниченное применение средств активной профилактики не дает должного эффекта. Даже в пограничных районах не удавалось создание большой прослойки (70-75%) популяции иммунных животных. Если учесть циркуляцию различных в антигенном отношении вирусов, то вероятность угрозы распространения инфекции велика [1, 5].

В сообщении представлены материалы по эпизоотической вспышке ящура типа О₁ в республике в 1996-97 гг. и эффективности проводимых превентивных мероприятий в очагах и неблагополучных пунктах.

Материал и методика. В работе использовали эпизоотические изоляты и производственные штаммы вируса ящура типа О.

Под наблюдением в производственных условиях находилось свыше 20 тыс. гол. крупного и 50 тыс. гол. мелкого рогатого скота. В лабораторных условиях было использовано 20 морских свинок массой 400-450 г, 120 взрослых белых мышей и 1200 мышат-сосунов.

Сбор данных и изучение эпизоотической обстановки, а также диагностические исследования проводили согласно соответствующим методикам [3, 4].

Анализ данных по изучению вакцинопрофилактики ящура проводили с учетом степени охвата и количества привитых животных, типа вакцины, причинно-следственных связей между количеством привитых и заболевших животных. Серомониторинг по оценке противовирусного иммунитета проводили методом определения активности сывороток в реакции диффузионной преципитации (РДП), реакции радиальной иммунодиффузии

(РРИД), реакции нейтрализации (РН). Типоспецифичность вируса ящура изучали в реакции связывания комплемента (РСК), индикация вируса с помощью полимеразно-цепной реакции проведена во ВНИИЗЖ.

Результаты и обсуждение. В июне 1996 года ящур был зарегистрирован в районах Ширакской зоны.

При исследовании патологического материала в РСК установлен тип вируса O_1 . Достоверно удалось выяснить, что занос вируса произошел из сопредельной Турции, так как первичные вспышки ящура отмечались в тех населенных пунктах, скот которых выпасался в непосредственной близости от инженерных сооружений погранвойск. Кроме того, согласно данным Международного эпизоотического бюро (МЭБ), в это время в соседних вилайетах Турции отмечались эпизоотические вспышки ящура.

Грубейшие нарушения в организации и проведении карантинных и профилактических мероприятий привели к широкому распространению заболевания. Первоначальные случаи вспышек ящура отмечались на непривитом поголовье крупного рогатого скота. Однако в ряде случаев установлена низкая противозооотическая активность применяемых серий вакцин.

При изучении иммунобиологических свойств выделенных изолятов установлено, что по одностороннему родству значение критерия r к производственному штамму O_{194} составляло 1,0, а к O_{1618} - 0,88.

Однако изучение двустороннего антигенного родства показало, что R с этими же штаммами составлял всего 12 и 13% соответственно, т.е. изолят значительно отличался от производственных штаммов. При исследовании вируса во Всероссийском НИИ защиты животных методом нуклеотидного секвенирования гена VP_1 — эпизоотического изолята были показаны различия филогенетического взаимоотношения изолята $O/1704$ Армения 97 с вакцинными и эпизоотическими изолятами, выделенными на территории бывшего СССР. Эти исследования подтвердили наши предположения, т.к. однократные прививки не сдерживали развития эпизоотического процесса и животные не противостояли заражению через 14-30 дней после однократной прививки бивалентной вакциной АО (сер. 1, 2).

Интересные данные были получены при исследовании сывороток крупного рогатого скота из хозяйств трех районов республики с помощью различных серологических реакций (табл. 1).

Несмотря на то что активность сывороток на 30-65 дни после однократной прививки (Арагатский, Мартунинский р-ны) была сравнительно высокой (1:16 — 1:180), животные не противостояли заражению. Только после проведенной ревакцинации с интервалом в 14 дней удалось локализовать распространение инфекции, при этом отмечались только единичные случаи ящура без генерализации процесса.

Подтверждение эффективности повторных прививок (сер.2) было получено в хозяйстве Советашен Арагатского района.

Молодняк крупного рогатого скота, который в количестве 280 голов находился на летних пастбищах, после однократной прививки заболел на 24-й день. Животные болели тяжело, их перегнали в хозяйство и распределили владельцам для "ухода и лечения". К этому времени в хозяйстве уже были проведены повторные прививки у коров и молодняка 3-6-месячного возраста.

Таблица 1. Результаты исследований сывороток крови крупного рогатого скота, отобранных из хозяйств Армении

NN п/п	Наименование хозяйства, характеристика и номера сывороток	РДП		РРИД		РН	
		тип		тип		тип	
		А	О	А	О	А	О
1.	Арагатский район -						
1.	65 день	1:2	ц	1:20	1:10	отр.	1:16
2.	после вакцинации	1:4	1:4	1:40	1:20	отр.	1:16
3.	(сер.1)	1:2	1:2	1:10	1:10	1:32	1:180
4.		1:2	1:2	1:10	1:10	1:180	1:180
5.		1:4	1:4	1:10	1:10	1:90	1:180
2.	Мартунинский район -						
6.	30 день после	ц	ц	1:5	1:5	1:32	1:180
7.	вакцинации (сер.2)	-	-	-	-	1:64	1:90
3.	Апаранский район -						
8.		1:2	1:2	1:20	1:20	1:90	1:128
9.	14 дней после	1:2	1:2	1:20	1:20	1:64	1:45
10.	ревакцинации (сер.1)	1:2	1:2	1:20	1:20	1:45	1:128
11.		1:4	у	1:20	1:10	1:128	1:180
12.		-	-	-	-	1:180	1:180

Это поголовье (870 голов) на 10-14-е дни после повторных прививок противостояло заражению при совместном содержании с больными животными.

Таким образом, в результате эпизоотологических наблюдений и лабораторных исследований установлено, что эпизоотические изоляты вируса ящура, выделенные в Армении в 1996-1997 гг., не соответствуют производственным (вакцинным) штаммам; однократные прививки крупного рогатого скота противоящурной бивалентной вакциной АО не сдерживали развитие эпизоотического процесса. Однако после двухкратных прививок у животных отмечались выраженный антителлогенез и защита против гетерологического штамма, что подтверждает широкий спектр иммунологического действия производственного штамма О₁₉₄.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурдов А.Н., Дудников А.И. Ящур. М.Агропромиздат, 320, 1990.
2. Захаров В.М. Современные аспекты ветеринарной патологии. Владимир, 1-13, 1998.
3. Методика по идентификации типов и вариантов вируса ящура и изучение краевой эпизоотологии, Владимир, 1970.
4. Рекомендации по методике эпизоотологического исследования, ВНИИВВиМ, Покров, 1975.
5. Peper X. Ящур. М., Колос, 431, 1971.
6. Donaldson A.I. Global FMD situation during 1997-1998 II 4th Mtg. OIE Sub-Commiss. FMD in South East Asia - Bang-Kok, 1-6, 1998.
7. Gasparri C.E. Advances in the eradication of FMD in the Americas II Proc.Int.Conf. on Perspect. Eradicat. FMD. Brasil, 11-12 July, 1996- Rio de Janeiro. 1-11, 1997.
8. Ozawa Y. FMD situation and programmes in Asia and Pacific II Proc. Int. Conf. on Perspect. Eradicat. FMD. Brasil, 11-12 July, 1996- Rio de Janeiro. 11-18, 1997.

Поступила 24.VII.2001

РАЗРАБОТКА И ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ИСПЫТАНИЕ ПРОТИВОЯЩУРНОЙ БИВАЛЕНТНОЙ ВАКЦИНЫ ОА (АРМЕНИЯ-98)

С.Г. БАРСЕГЯН*, С.Е. ПЕРСЕСЯН*, Э.С. БАГДАСАРЯН*, Г.Р. ПЕТРОСЯН*,
В.В. МИХАЛИШИН**, А.А. ГУСЕВ**

*Армяно-Российское совместное предприятие "Биопрепарат", Ереван
**Всероссийский научно-исследовательский институт защиты животных, г. Владимир

*Вирус ящура - производственный штамм - инфекционный титр -
иммунитет - вакцина*

В зонах стационарного неблагополучия по ящуру вакцинопрофилактика занимает ведущее место в общем комплексе противоэпизоотических мероприятий.

О высокой эффективности противоящурных вакцин, создающих напряженный и продолжительный иммунитет, сообщали многие авторы [1-3]. Эффективность вакцинации оценивается по защите животных от последующего заражения гомологичным вирусом.

Вирус ящура существует в виде нескольких антигенных типов и вариантов, и поэтому иммунизация не защищает животных от заражения гетерологическими вирусами [2, 4, 6].

В связи с этим актуальным является направление исследований в плане получения вакцин из полевых штаммов, исходя из конкретной эпизоотической ситуации.

В 1998 году из сопредельной Турции в Армению был занесен вирус типа А, который значительно отличался от производственного штамма А₂₂-550 и ранее выделенных эпизоотических изолятов [4-7].

Представлены экспериментальные исследования по изучению иммунобиологических свойств выделенного в Амасийском районе Армении изолята типа А и подготовке производственного штамма для изготовления противоящурной вакцины из лапинизированного вируса.

Вакцина прошла производственное испытание и в настоящее время используется для профилактики крупного и мелкого рогатого скота в хозяйствах Армении и Грузии.

Материал и методика. Проанализированы и обобщены материалы по течению болезни, мерам борьбы и профилактике при вспышке ящура типа А в хозяйствах Ширакской зоны Армении и Джавахетской зоны Грузии.

В работе использовали производственные и эпизоотические штаммы вируса ящура типа А, адаптированные на морских свинках, мышатах-сосунах и 2-3-дневных крольчатах.

Типоспецифичность вируса определяли в реакции связывания комплемента (РСК). Для изучения антигенного родства была получена гипериммунная сыворотка морских свинок. Постановку реакции и определение сравниваемых штаммов (r1, r2 и R) проводили в соответствии с методическими указаниями по выделению и идентификации штамма вируса ящура.

Для иммунизации животных применяли бивалентную вакцину АО (сер. 6, 7) из лапинизированного вируса и экспериментальную серию вакцины ОА (Армения-98) из культурального вируса, изготовленной во ВНИИЗЖ.

Оценку противовирусного иммунитета изучали путем определения напряженности и продолжительности иммунитета по вируснейтрализующей активности сывороток в реакции нейтрализации.

Результаты и обсуждение. В 1998 г. ситуация по ящуру в республике значительно осложнилась, что было связано с заносом из сопредельной Турции вируса ящура типа А на участки летних пастбищ Дарин-Дара Амасийского района. По данным Всемирной справочной лаборатории (Пербрайт), турецкие изоляты значительно отличались от вакцинных штаммов A_{22} , чем и объяснялись прорывы иммунитета среди вакцинированного скота в Западной Анатолии.

Аналогичная ситуация отмечалась и у нас. Первоначальные вспышки ящура были установлены среди крупного рогатого скота через 30-45 дней после прививки вакциной $A_{22}O_1$. Заболевание отмечалось в июле-августе. Отсутствие условий для изоляции больных животных и проведение карантинных мероприятий в условиях пастбищного содержания привели к широкому распространению инфекции в хозяйствах Ширакской зоны Армении и Джавахетской зоны Грузии. В этих условиях успех борьбы могли предопределить только массовые прививки животных. Однако только у овец после вынужденных прививок ящур не был установлен. На фоне двукратных прививок крупного рогатого скота в 30-40% случаев в хозяйствах угрожаемой зоны отмечались вспышки ящура. Только после трехкратных прививок вакциной $A_{22}O_1$ удалось локализовать очаги и предотвратить возможность заноса вируса в центральные районы республики.

Полевой материал в виде эпителия афт крупного рогатого скота был получен в хозяйстве Охчик Амасийского района. Исследования проведены совместно на базе ВНИИЗЖ как региональной справочной лаборатории МЭБ. Установлено, что антигенный спектр выделенного вируса значительно отличается от производственного штамма $A_{22}N550$ и эпизоотического штамма, выделенного в Иране в 1987 г. (R-8%). Несколько меньшими отличия были в сравнении с изолятами Турции (1997) и Ирана (1996) - всего 68%. Исследования методом прямого секвенирования с помощью полимеразно цепной реакции первичной структуры гена и белка VP также подтвердили значительные филогенетические различия изолята от всех ранее изученных штаммов, выделенных в различных странах мира.

Во ВНИИЗЖ из вируса нового варианта Армения-98, адаптированного к суспензионной культуре ВНК-21, была изготовлена вакцина, которая при испытании на крупном рогатом скоте показала достаточно высокую иммуногенность против гомологичного штамма [5].

В унисон вышеизложенному и у нас путем многократных пассажей на 2 - 3-дневных крольчатах также был получен производственный штамм вируса (инфекционный титр $7,8 \text{ ЛД}_{50/\text{мл}}$, активность в РСК 1:8), для производства лапинизированной вакцины. Все серии вакцины прошли производственный контроль и содержали более 7 ИМД₅₀ в одном мл по каждой валентности, т.е. гарантировали надежную защиту от заражения ящуром.

Титры вируснейтрализующих антител у крупного рогатого скота на 30-й день после вакцинации составили $5,5 \pm 0,08 \log_2$.

В дальнейшем профилактические прививки в Армении и Грузии проводились бивалентной вакциной ОА (Армения-98).

Результаты производственных наблюдений и широкого серомониторинга по оценке иммунного статуса у крупного рогатого скота различных возрастных групп и овец показали высокую противоз эпизоотическую эффективность вакцины. С 1999 г. ящур типа А в Армении и Грузии не регистрируется.

В 1999-2001 гг. на базе СП "Биопрепарат" в Табахмельской биофабрике было изготовлено 6 серий бивалентной вакцины (более 3 миллионов доз).

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено:

- выделенный в Амасийском районе изолят вируса ящура типа А по антигенному и иммунологическому спектрам является оригинальным в таксономическом отношении, новым, ранее неизвестным вариантом, получившим название А N1707, "Армения-98";

- прорывы иммунитета на однократно и двукратно привитом поголовье бивалентной вакциной $A_{22}O_1$ свидетельствуют о низкой противоз эпизоотической эффективности вакцины против гетерологичного штамма;

- противоящурная вакцина, изготовленная из вируса А (Армения-98), репродуцированного в организме 2 - 3-дневных крольчат при испытании в производственных условиях показала достаточно высокую иммуногенную активность и предотвратила эпизоотическую вспышку ящура в Армении и Грузии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурдов А.Н., Захаров В.М., Дудников А.И., Михалишин В.В. Ящур к новой стратегии борьбы с ящуром. Владимир, 4, 1, 58-63, 1992.
2. Бурдов А.Н., Дудников А.И. Ящур. Агропромиздат. М., 219, 1990.
3. Гусев А.А., Улюпов И.А., Михалишин В.В. Актуальные проблемы вет. вирусологии. Владимир, 2, 46-47, 1988.
4. Захаров В.М., Спиринов В.К., Маслова Н.С., Дрыгин В.В., Нерсисян С.Е. Современные аспекты ветеринарной патологии животных. Владимир, 38-41, 1998.
5. Михалишин В.В., Захаров В.М., Лезова Т.Н., Шапко Ж.А., Нерсисян С.Е., Гусев А.А. Современные аспекты ветеринарной патологии животных. Владимир, 68-71, 1998.
6. Barteling S. Safety control of foot-and-mouth disease vaccines. In: Europ. Comm. Control FMD. Pizburg, Rome, 1983.
7. Minutes of the Meeting on the Buffer Zone in CIS countries held in OIE 29 May, 1998.
8. Report of the Meeting of Express group on the New Variant of FMD virus type A in Iran and Turkey. Rome, FAO - 22 April 1998.

Поступила 24.VII.2001

ВЛИЯНИЕ БИОПСИХОСОЦИАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ НА ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ И СМЕРТНОСТЬ ОТ МОЗГОВОГО ИНСУЛЬТА

Л.Г. ГИМОЯН

2-ая клиническая больница, 375025, Ереван

Депривация - свет - стресс - инсульт

Наряду с основными эпидемиологическими факторами риска в возникновении и клиническом течении заболеваний определяющее значение имеют психологические и социальные факторы, влияние которых многократно усиливается при присоединении биологического компонента. Как известно, различают биологические и психологические стресс-факторы.

Армения конца 80-х и начала 90-х годов представляла собой арену воздействия многих психотравмирующих факторов: Карабахский конфликт, Сумгаит, землетрясение, война, блокада, потоки беженцев. В 1992-93 гг. к этим психологическим стресс-факторам добавился биологический – световая депривация.

Свет, как известно, является одним из мощнейших факторов окружающей среды, способствующих нормальному гомеостазу организма и его жизнедеятельности. Для развития патологии имеют значение сезонные изменения солнечного сияния, особенности спектрального состава солнечной радиации, зависимость от географической широты и часового пояса. Под световой депривацией (англ. deprivation - лишение, утрата) обычно в медицине и биологии понимают недостаток или лишение солнечного излучения. Она не может пройти бесследно для организма и прежде всего для психики. Световая депривация является одной из разновидностей сенсорной "перцептивной изоляции". Недостаточное поступление сенсорных стимулов нарушает работу трансцендентной ретикулярной системы, обеспечивающей нормальное функционирование как коры головного мозга, так и подкорково-стволовых образований, что ведет к развитию соматогенных и психогенных нарушений.

В медицинском словаре Стедмана [7] дается следующее определение сенсорной депривации: это недостаток или отсутствие *обычных, привычных* внешних стимулов и ощущений, как правило приводящих к физиологическому дистрессу и нарушению функции, если продолжается слишком долго.

В данной статье речь пойдет о воздействии на организм депривации электрического света, "веерных отключений", сопровождавшей энергетический кризис 1992-1994 гг. и приведшей к целому ряду других депривационных состояний: нарушению ритма сна и бодрствования, ограничению двигательной активности (человек был буквально прикован к источнику тепла и света), информационному голоду (отсутствовали теле- и радиовещание, газеты),

резкому ухудшению социально-экономических и бытовых условий.

Влияние световой депривации, “всерных” отключений света на психическое состояние людей описаны в работах Сукиасяна [6].

В литературе имеются указания на связь недостаточного поступления световых стимулов и депрессии. Известен метод лечения депрессии светотерапией. Известна связь свет — глаз — мозг. Есть сообщение о связи депрессии с левой лобной долей и более ее тяжелом течении у больных с локализацией инсульта в левом полушарии мозга [3].

Нашей целью было изучение влияния световой депривации 1992-1994 гг. на заболеваемость и смертность от мозгового инсульта (МИ).

Материал и методика. Обследовали 249 больных (121 мужчина и 128 женщин), лечившихся в 1993 г. в неврологическом отделении 2-й клинической больницы города Еревана (база кафедры неврологии ЕрГМУ), с верифицированным диагнозом мозгового инсульта клинически (неврологический статус, общие и биохимические анализы, ЭКГ, люмбальная пункция, реология крови и перекисное окисление липидов), параклинически (ЭЭГ, Эхо — ЭКГ, осмотры нейроофтальмолога, отоневролога, нейропсихолога, доплерография, у части больных КТ головного мозга).

Рассмотрены статистические данные о числе острых нарушений мозгового кровообращения со стационаров, поликлиник и станций скорой помощи (форма N1 и N2) за 1989 и 1993 гг. (годы наибольшего влияния травмирующих факторов — землетрясения и световой депривации), а также данные Министерства статистики и государственного регистра о причинах смерти населения. Смертность от МИ и от цереброваскулярных заболеваний (ЦВЗ) считали синонимами, как это принято в международной статистике.

В целях оценки уровня психосоциальных факторов риска с учетом рекомендаций экспертов ВОЗ использовали опросник САН (самочувствие, активность, настроение) [5].

Результаты и обсуждение. В психологическом статусе больных, госпитализированных в этот период, часто отмечались пониженный фон настроения, нарушение сна, памяти, тревога, заторможенность. 80% из них причиной заболевания считали отсутствие света и ухудшение социально-бытовых условий.

Больничная летальность (% смертельных исходов от общего числа больных) была значительно выше в 1993 г., чем в предыдущие и последующие годы. Значительно чаще наблюдались и тяжелее протекали такие формы осложнений, как повторный инсульт, инфаркт миокарда, сочетанные и смешанные поражения в разных бассейнах, грубые трофические нарушения, что говорит о значительном снижении иммунного статуса организма и совпадает с данными других исследований [3]. В литературе имеются указания на связь психических процессов с иммунным ответом. В эксперименте у мышей наблюдается отчетливое снижение иммунного ответа при воздействии условных раздражителей. У человека под влиянием психических факторов возможно снижение кожной гиперчувствительности замедленного типа и даже *in vitro* — активация лимфоцитов вирусом ветряной оспы — опоясывающего лишая. Однако механизмы взаимодействия головного мозга и иммунной системы до конца не выяснены [4].

Интересен факт, что в 1993 г. летальность при ишемических инсультах лево-полушарной локализации была в 2 раза выше, чем при право-полушарной. Возможно, характерный для право-полушарных больных “пе-

glect" (игнорирование) в некоторых случаях играет защитную роль, а может, иммунный статус организма имеет большую связь с доминантным полушарием головного мозга.

Структура ЦВЗ в Армении в 1989 и 1993 гг. представлена в таблице, где мы видим двух- трехкратное увеличение всех видов инсульта.

Таблица. Структура цереброваскулярных заболеваний

ЦВЗ	1989 г.	1993 г.
Субарахноидальное кровоизлияние (СК)	206	531
Кровоизлияния в мозг (КМ)	145	463
Ишемический инсульт (ИИ)	286	965
Острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) неуточненного характера	363	605
Транзиторные ишемические атаки (ТИА)	570	553
Дисциркуляторная энцефалопатия	2798	1193
Всего	4380	4550

Примечание. Диагноз ОНМК неуточненного характера, как правило, ставится в случае наступления смерти до 24 ч от начала заболевания.

Анализ смертности (число смертельных исходов на 100 тыс. населения) в 1993 г. выявил значительное увеличение коэффициентов общей смертности и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний на 20% и 30% соответственно по сравнению с 1989 г. Общее число смертельных исходов в 1993 г. возросло на 5507 случаев, из которых 3730 - от сердечно-сосудистых заболеваний. Число смертельных исходов от ишемической болезни сердца (ИБС) превышало на 531, от гипертонической болезни (ГБ) — на 530 и от ЦВЗ — на 1110, т.е. рост смертельных исходов от ЦВЗ превышал рост смертельных исходов от ГБ и ИБС вместе взятых [1].

Все вышеизложенное говорит о том, что присоединение к суммарному риску биологических и психических стресс-факторов в несколько раз увеличивает риск развития МИ, ухудшает его течение и прогноз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Здоровье и здравоохранение. Статист. сборник "Армения", 1999.
2. Куоян Л.А., Даниелян Э.Е. Сб. "Медицинские аспекты последствий землетрясения в Армении", 1998.
3. Масолов С.Н. Клиническое применение современных антидепрессантов. С-Пб., с. 465, 1995.
4. Мерк Шарп и Доум Руководство по медицине, 2, 47.
5. Оганов Р.Г., Александрова В.Ю., Суслова Е.А. Мед. наука Армении, 3-4, 1997.
6. Сукиасян С.Г. Стрессология. Наука о страдании, Ереван, 176-184, 1997.
7. Stedman's Medical Dictionary, 26 edition, 461, 1995.

Поступила 10.VII.2001

МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ

Л.В. ГЕВОРКОВА

Ереванский государственный медицинский университет им. М.Гераци, 375096

Плод - врожденные пороки - медико-генетический мониторинг - генетический регистр - факторы риска

Среди многих актуальных медицинских проблем особого внимания заслуживает проблема врожденной и наследственной патологии плода. По данным ВОЗ, 20% детской заболеваемости и инвалидности, а также 15-20% детской смертности вызваны пороками развития. Попытка решения этих чрезвычайно трудных задач стимулирует создание новых диагностических систем, технологии сохранения жизни, поиск новых методов восстановления утраченных функций и пр.

В связи с этим важное значение имеет оценка распространенности врожденных пороков развития. Их учет в конкретной экологической ситуации служит неотъемлемым элементом общей системы генетического мониторинга. Под генетическим мониторингом в широком смысле слова следует понимать систему наблюдения или контроля за наследственной изменчивостью. В более узком медицинском смысле генетическим мониторингом можно назвать контроль за частотой наследственных болезней или оценку наследственной патологии, с помощью которого можно решать разные теоретические и прикладные вопросы генетики человека [1-4].

Для организации любой конкретной системы мониторинга необходимо определить критерии для отбора врожденных пороков развития, подлежащих динамическому наблюдению, и очертить круг "модельных" форм; разработать систему информационного обеспечения мониторинга; создать систему учета и анализа частоты врожденных пороков развития. Решение последних двух задач возможно лишь с помощью использования современных программных средств, позволяющих осуществлять оперативный доступ к архивным материалам и получать требуемые данные в удобной для пользователя форме через Корпоративную сеть или Интернет. Полученные сведения будут способствовать разработке тех или иных профилактических мероприятий для снижения или предотвращения рождения неполноценных детей.

Все эти данные свидетельствуют об очевидной актуальности изучения этой проблемы с точки зрения определения роли и места различных этиологических факторов в возникновении врожденных пороков развития.

Материал и методика. С целью выявления комплекса внешних и внутренних факторов риска, имеющих наибольшую значимость для прогнозирования развития врожденных аномалий у детей, нами была создана компьютеризированная база данных проспективного генетического регистра, содержащего информацию о более чем 180 семей

с врожденными пороками развития. Исследование проводили на базе НИЦ ЕГМУ им. М.Гераци и Центра перинатологии, акушерства и гинекологии МЗ РА. Обработку данных методами математической статистики осуществляли с помощью программного средства SPSS, которое является специализированным пакетом программ, предназначенным для работы в среде операционных систем Windows 95/98 или NT.

Программа регистра обеспечивает регистрацию, хранение, поиск и статистический анализ генетической информации, что имеет немаловажное значение для прогнозирования потомства у супружеских пар, имеющих детей с пороками развития. В целом генетический регистр обеспечивает базу для осуществления регионального медико-генетического консультирования, способствуя повышению качества работы медико-генетической службы.

Результаты и обсуждение. Нами была изучена частота и структура выявленных врожденных пороков развития.

Учету подлежали только 19 нозологических форм пороков согласно перечню Международного регистра врожденных пороков развития. Было выявлено преобладание пороков развития ЦНС (анэнцефалия - 28,2 %, энцефалоцеле - 2,8 %, гидроцефалия - 15,3 %, спинномозговая грыжа - 9,1 %) и ЖКТ, включая дефекты передней брюшной стенки (4,6 %). С одинаковой частотой (2,3 %) встречались пороки мочеполовой системы и диафрагмальная грыжа. Пороки лицевого скелета, опорно-двигательного аппарата и врожденная патология сердца обнаружены у 3,4%, 2,9% и 2,8% детей соответственно. У 26 (14,7%) новорожденных пороки развития были множественными. Синдром Дауна был выявлен в 2 (1,1%) наблюдениях.

Особое внимание обращали на распределение по регионам республики отдельных нозологических форм врожденных пороков развития (рис.1). Распространенность врожденных пороков развития в городе Ереване была выше, чем в сельских районах. Не выявлено зависимости между временной вариабельностью частоты врожденных пороков развития и уровнем выбросов загрязняющих веществ в атмосферу.

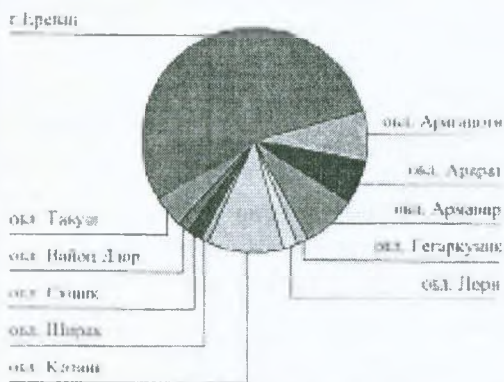


Рис. 1. Распределение врожденных пороков развития по регионам республики.

Необходимо учитывать, что данные литературы о значении того или иного фактора внешней среды и различных нарушений течения беременности в каузальном генезе врожденных пороков развития исключительно противоречивы, что связано главным образом с ретроспективным характером исследования, отсутствием адекватного контроля. В связи с этим при изучении анамнеза

особое внимание уделялось выяснению возможного влияния в период беременности каких-либо вредных профессиональных факторов, бытовых вредностей, пищевых контаминантов, лекарств и перенесенных женщиной острых инфекционных заболеваний в I триместре беременности.

Средний возраст беременных с врожденными пороками развития плода

составил $25,88 \pm 0,51$ лет, среди них женщин старше 30 лет было 47 (26,1%). Следует отметить, что в исследуемой группе чаще всего встречались врожденные пороки развития у детей от молодых родителей и первой беременности.

Возможное воздействие различных физических и химических факторов в период беременности установлено у 5,6 % матерей пробандов. Из вредных факторов внешней среды следует выделить пестициды, профессиональное влияние которых на организм сельских жительниц повышает риск развития дефектов нервной трубки у плода.

С наибольшей частотой из факторов риска встречались угроза прерывания беременности в различные сроки (13,9%), самопроизвольные выкидыши в анамнезе (15%), вирусные инфекции во время беременности (46,7%). Экстрагенитальная патология отмечалась у 37 (24,2%) беременных, анемия - у 50 (29,2%).

Таким образом, общепринятая группа риска беременных в отношении рождения у них детей с врожденной патологией была расширена за счет учета разработанных нами дополнительных факторов. Сравнительная характеристика этих факторов риска при врожденных пороках развития показывает, что отдельные нозологические варианты этой патологии характеризовались своим спектром критериев риска и могут быть использованы в диагностическом и прогностическом плане.

Анализируя вышеизложенное, мы пришли к следующим выводам:

1) исследование частоты и распределения врожденных пороков развития в разных регионах республики имеет определенное значение для изучения генетики врожденных пороков развития и медико-генетического прогнозирования;

2) своевременное выявление неблагоприятных факторов риска развития врожденных аномалий плода и формирование с их учетом группы риска беременных по рождению ребенка с пороками развития для своевременного проведения пренатальной диагностики и генетико-профилактических мероприятий способствует снижению данной патологии, уменьшению ее в структуре перинатальной заболеваемости и смертности;

3) перспективными являются дальнейшая разработка и внедрение программных средств в практическую деятельность перинатологии и медико-генетического консультирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамян Р.А., Геворкова Л.В. Мед.наука Арм., Ереван, 39, 106-111, 1999.
2. Бочков М.П., Жученко Н.А., Кирилова Е.А. и др. Рос.вест.перинат. и педиат., 2, 20-24, 1996.
3. Гинзбург Б.Г. Рос. вест. перинат. и педиат., 3, 58, 2000.
4. Крикунова Н.И., Назаренко Л.П., Пузырев В.П., Тихомирова Е.В. Рос. вест. перинат. и педиат., 2, 29-33, 1998.

Поступила 11.VIII.2001

ИНТЕНСИВНОСТЬ ДИНАМИКИ СМЕРТНОСТИ НАСЕЛЕНИЯ АРМЕНИИ В ЗОНЕ СПИТАКСКОГО ЗЕМЛЕТРЯСЕНИЯ

А.К. АЙРАПЕТАН

Ереванский государственный медицинский университет им. М.Гераци, 375025

Показатели смертности - структура смертности - причины смерти

Медико-демографические показатели, являясь одними из основных характеристик общественного здоровья, дают точное представление о его статике и динамике, позволяя рационально использовать имеющиеся ресурсы в целях сохранения здоровья населения [1]. Состояние здоровья населения достаточно точно отражает тенденции экономического развития и благосостояние страны. Смертность населения, ее уровень и причинная структура, как один из важных медико-демографических показателей, является наиболее объективным критерием оценки общественного здоровья. Процессы формирования здоровья населения, неотделимые от происходящих в стране перемен, протекают в условиях сложного и напряженного периода, который переживает наше общество за последнее десятилетие [2, 3]. Неоспоримо, что и у нас в республике за последние годы многие негативные тенденции социально-экономического характера повсеместно — как по городу, так и по селу - достигли крайне неблагоприятного уровня и наложили свой отпечаток и на качественные показатели здоровья, что особенно ощутимо отразилось в интенсивности роста уровня смертности населения в зоне Спитакского землетрясения.

Дифференцированный анализ обобщающих показателей, с детальным рассмотрением по отдельным административно-территориальным единицам, позволил установить различия в динамике уровня смертности и определить степень интенсивности темпа его изменений как по зоне бедствия в целом, так и ее регионам.

Материал и методика. Материалом исследования являются данные о генеральной совокупности числа умершего населения городских поселений и сельских местностей зоны Спитакского землетрясения за период с 1990 по 1999 гг., предоставленные демографическим отделом Национальной статистической службы РА. Обработка материала включает методы исследования по демографической и санитарной статистике.

Результаты и обсуждение. Исследование показало, что в целом по зоне землетрясения (табл.1) усредненный за 1990-98гг. показатель смертности населения был достоверно ниже республиканского, однако уровень смертности оказался достаточно высоким на сельских территориях Гугаркского (7.8) и Степанаванского регионов (9.1) с темпами приростов 18.2% и 37.9% соответственно.

В 1990г., по отношению к среднему значению по республике показатель в целом по зоне бедствия будучи существенно низким, определялся с

неблагоприятным уровнем на сельской территории Спитакского региона – 7.4 с темпом прироста 19.4%.

Таблица 1. Уровень и интенсивность динамики показателя смертности населения в зоне Спитакского землетрясения в 1990-98гг.

Годы	$P \pm m$		Уровень показ. смертности к респ. коэфф.		Интенсивность изменений к 1990г.	
	Респ.показ. смертности	Показатель смертности в зоне землетрясен.	при $t \geq 2.0$	Прир., убыль, %	при $t \geq 2.0$	Прир., убыль, %
в ср. за 9 лет	6.6 ± 0.04	6.3 ± 0.1	3.0	-4.5		
1990г.	6.2 ± 0.04	5.6 ± 0.1	6.0	-9.7		
1998г.	6.1 ± 0.04	6.1 ± 0.1		0.0	3.6	8.9

За исследуемые годы уровень смертности в зоне землетрясения с интенсивностью темпа прироста 8.9% достоверно повысился и был практически на одинаковом уровне со средним значением по республике. При этом имея положительный темп роста во всех без исключения городах зоны бедствия, показатель смертности достоверно оказался повышенным ($P < 0.05$) в г.Ванадзоре, составив 5.4 (против 4.6 в 1990г.) и г.Гюмри – 6.6 (против 5.9), с темпами приростов соответственно 17.4% и 11.9%, из коих последний выделен в группу городов с неблагоприятным уровнем смертности населения. Из числа сельских территорий интенсивный рост показателя ($P < 0.05$) был отмечен по Гугаркскому региону, от 5.7 до 8.8 в 1998г., с приростом 54.4% и также зачислен в неблагоприятную группу. В остальных сельских местностях исследуемые показатели, хотя и были статистически без значимых изменений в сравнении со среднереспубликанским коэффициентом, тем не менее в основном были установлены с приростами уровней.

Исследование показало, что за 1999г. в зоне землетрясения показатель смертности населения – 6.3 был на уровне среднереспубликанского коэффициента. За отмеченный год уровень показателя, продолжая иметь тенденцию роста (прирост 3.3%), по отношению к исходному в 1990г. уровню – 5.6, будучи достоверно увеличенный, был установлен к нему с еще большей интенсивностью темпа прироста, составившего 12.5%.

Из городских поселений зоны бедствия за исследуемый год уровень смертности статистически достоверно ($P < 0.05$) повысился и в г.Спитаке – с 3.8 до 5.1 (прирост 34.2%), а в остальных – в основном, уже значительно увеличенный за предыдущие годы, за этот год оказался без достоверных отличий г.Степанаван (прирост 13.0%), в г.Гюмри (прирост 7.6%), который весьма неблагоприятен по уровню смертности населения. Среди сельских местностей достоверный рост уровня показателя был отмечен по Степанаванскому региону – с 6.6 до 8.6 (прирост 30.3%), который как в среднем за период исследования, так и за 1999 определяется в числе неблагоприятных территорий. В остальных сельских территориях показатели

были статически без значительных отличий от среднего значения по республике ($P>0.05$), тем не менее прирост в Ахурянском регионе составил - 6.3%, в Гугарском - 9.5%, где надо отметить уровень смертности за этот год был существенно снижен ($P>0.05$).

Таким образом, за последнее десятилетие в целом по зоне бедствия интенсивный рост уровня смертности наблюдался в основном во всех ее регионах. В течение последнего десятилетия, характеризующегося социально-экономическим кризисом, в нашей республике продолжали развиваться резкие негативные явления в области медико-демографических процессов общественного здоровья, что нашло свое отражение в реструктуризации смертности населения. Последняя заключается в существенном и продолжающемся росте причин смерти VII класса – от болезней системы кровообращения (прирост 6.3%), прежде всего от ИБС и устойчивого роста причин смерти от болезней, протекающих с гипертонией. На достаточно высоком уровне продолжают оставаться причины смерти II класса – новообразования за счет злокачественных (прирост 9.9%). Особо выделяется рост причин смерти III класса от болезней эндокринной системы с приростом на 109.5%, прежде всего за счет интенсивного роста смертности от сахарного диабета (прирост 127.7%). На фоне снижения однако на достаточно высоком уровне остаются причины смерти XVII класса – несчастные случаи, травмы и отравления, также как и VIII – болезни органов дыхания, причин которого уровень смертности от которых с 1999г. вновь начал устанавливаться с положительной тенденцией и за отмеченный год был существенно повышен (прирост 19.0%).

Из вышеизложенного следует, что целенаправленная первичная профилактика и оздоровление населения по республике в целом и особенно в зоне землетрясения должны стать важнейшей задачей межотраслевого комплекса медико-социальных мероприятий по охране здоровья, что выходит за рамки отрасли здравоохранения, требующей при обязательном участии большого ее потенциала безотлагательного вмешательства прежде всего государственных структур и общественных организаций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галкин Р.А., Щепин В.О., Суслин С.А. Бюллетень НИИ социальной гигиены, экономики и управления здравоохранением им.Н.А.Семашко, РАМН, 2, 24-33, М., 2000.
2. Покровский В.И., Щепин О.П. Проблемы социальной гигиены и история медицины. "Медицина", 4, 8-13, М., 1995.
3. Щепин О.П. Вестник Российской академии медицинских наук, 6, 11, М., 1996.

Поступила 26.III.2001

ПОКАЗАТЕЛИ СМЕРТНОСТИ НАСЕЛЕНИЯ АРМЕНИИ ПО МЕДИКО-ГЕОГРАФИЧЕСКИМ ЗОНАМ РЕСПУБЛИКИ

А.П. АЙРИЯН, А.К. АЙРАПЕТЯН

Ереванский государственный медицинский институт им. М.Гераци, 375025

*Здоровье населения - показатели смертности - структура смертности -
причины смерти*

Как известно, многочисленные естественные и сложные социально-экономические факторы внешнего воздействия, прямо или косвенно объединяясь, комплексно влияют на организм человека. В настоящем известно не только о существовании закономерностей и взаимосвязи между окружающей средой и человеческим организмом, но и то, что в пределах отдельных географических территорий внешняя среда оказывает на организм человека относительно однообразное влияние и обладает характерными для данной местности региональными особенностями, что важно учесть для разработки конкретно для этих территорий мероприятий по охране здоровья населения, являющихся более эффективными, в сравнении с таковыми общего значения [1, 2]. При оценке состояния здоровья населения различных территорий и регионов большое значение имеют показатели смертности.

Впервые в Армении проведено углубленное научное исследование, посвященное проблеме смертности населения республики, на основе которого путем многостороннего анализа фактического статистического материала выявлены и освещены медико-социальные и региональные особенности уровня и причин смертности и дана социально-гигиеническая оценка этих показателей.

В настоящей работе проведен сравнительный анализ уровня смертности населения по медико-географическим зонам республики [1, 2], районированным нами с учетом физико-географических факторов, социально-экономических и хозяйственно-бытовых условий жизни, в пять основных зон с соответствующими подрайонами, каждая из которых в пределах нашей республики имеет относительно однотипный характер влияния на организм человека,

- | | |
|----------------------------|--|
| I-Центральная зона: | I ^а - Арагатский, I ^б - Предгорный подрайоны |
| II-Ширакская зона | |
| III-Северо-Восточная зона: | III ^а -Иджеванский, III ^б -Лорисский подрайоны |
| IV-Севанская зона | |
| V-Сюникская зона: | V ^а -Вайоц Дзорский, V ^б -Зангезурский подрайоны |

Материал и методика: Исследование проведено на основе собранного нами фактического статистического материала, предоставленного демографическим отделом Национальной статической службы РА о смертности населения по данным генеральной совокупности числа умерших за 1990-99гг. с учетом административных субъектов

республики, а именно 11 областей (марзов), включающих 48 городских поселений и 37 сельских местностей. С использованием методов исследования по демографической и санитарной статистике [4] определены уровни общих показателей смертности (Р) из расчета на 1000 жителей, вычислены средние ошибки (m) показателей, сравнительная оценка которых проведена с учетом статистической достоверности разности их значений по критерию Стьюдента (t), при условии $t \geq 2.0$, разность сравниваемых показателей достоверна ($P < 0.05$).

Результаты и обсуждение. При исследовании географии смертности населения по медико-географическим зонам за 1990-99гг. отличия территориальных показателей от среднереспубликанских позволили выделить их по уровню смертности в регионы: благоприятные - с низким уровнем показателя; умеренно благоприятные - на уровне среднереспубликанского показателя; неблагоприятные - с достаточно высоким уровнем показателя.

Как видно из приведенных данных (табл. 1), в среднем за период исследования по уровню смертности населения благоприятной оказалась IV-Севанская зона; умеренно благоприятными - I-Центральная и II-Ширакская; высокий уровень смертности населения был отмечен в целом по зонам III-Северо-Восточной, с превышением уровня на 9.1% и V-Сюникской - 6.1%. При этом по вышеотмеченным зонам выявлены различия по подрайонам, а именно в число благоприятных выделены I^б-Предгорный и III^б-Лориский; в V^а-Вайоцзорском подрайоне показатель оказался на уровне среднего по республике, тогда как показатели смертности с существенным превышением среднереспубликанского уровня наблюдались в подрайонах: I^а-Арагатском с темпом прироста на 3.0% и особенно в III^а-Иджеванском - 27.2%, V^б-Зангезурском - 10.6%.

Анализ интенсивности темпов изменений уровня изучаемых показателей в динамике сравниваемых лет показал, что в 1998г., по сравнению с 1990г., показатели смертности, будучи без значимых изменений в зонах - II-Ширакской и V-Сюникской к исходным уровням имели положительную тенденцию и были установлены с приростом соответственно 1.7% и 3.3%, из которых в последнем рост уровня смертности был отмечен за счет Зангезурского подрайона - 4.7%, тогда как в Вайоцзорском - был несколько снижен - на 3.6%. Статистически достоверно уровень смертности был повышен в целом по III-Северо-Восточной зоне, за счет III^б-Лориского подрайона, с приростом на 14.3%, тогда как в III^а-Иджеванском подрайоне, несмотря на статистически незначимое его изменение, показатель смертности также имел положительную тенденцию и был установлен с приростом к исходному уровню на 6.6%. Достоверное снижение показателей было отмечено в целом по IV-Севанской и I-Центральной зонам.

Анализ динамики показателей смертности населения по медико-географическим зонам за 1999г. показал статистически достоверное повышение их уровней во всех исследуемых зонах, за исключением III-Северо-Восточной, где он уже был высок.

Из приведенных данных видно, что в 1990г. все медико-географические зоны по уровню показателя смертности населения, будучи на уровне среднереспубликанского ($P > 0.05$), в 1999г. распределились следующим

Таблица 1. Уровни показателей смертности населения по
медико-географическим зонам республики в среднем за 9 лет и в сравниваемые годы

Годы	в ср. за 9 лет			1990г.			1998г.			Интенс.измен. в 1990-98гг.		1999г.			Интенс.измен. в 1998-99гг.	
Рес.п..см.	6.6±0.04			6.2±0.04			6.1±0.04					6.3±0.04				
Зоны, подр-ны	P±m	при t³2.0	Пр..уб. в %	P±m	при t³2.0	Пр..уб. в %	P±m	при t³2.0	Пр..уб. в %	при t³2.0	Пр..уб. в %	P±m	при t³2.0	Пр..уб. в %	при t³2.0	Пр..уб. в %
I	6.5±0.05		-1.5	6.3±0.05		1.6	6.0±0.05		-1.6	4.3	-4.8	6.2±0.05		-1.6	2.8	3.3
I ^a	6.8±0.06	2.8	3.0	6.4±0.06	2.8	3.2	6.2±0.06		1.6	2.5	-3.1	6.4±0.06		1.6	2.5	3.2
I ^b	5.6±0.10	10.0	-15.1	5.6±0.10	6.0	-9.7	5.1±0.10	10.0	-16.4	3.6	-8.9	5.6±0.10	7.0	-11.1	3.6	9.8
II	6.5±0.10		-1.5	6.0±0.10		-3.2	6.1±0.10		0.0		1.7	6.5±0.10		3.2	2.9	6.6
III	7.2±0.10	6.0	9.1	6.2±0.10		0.0	6.8±0.10	7.0	11.5	4.3	9.7	6.7±0.10	4.0	6.3		-1.5
III ^a	8.4±0.20	8.2	27.2	7.6±0.20	7.0	22.6	8.1±0.20	10.0	32.8		6.6	7.8±0.20	7.5	23.8		-3.7
III ^b	5.9±0.10	7.0	-10.6	4.9±0.10	13.0	-21.0	5.6±0.10	5.0	-8.2	5.0	14.3	5.6±0.10	7.0	-11.1		0.0
IV	6.2±0.10	4.0	-6.1	6.1±0.20		-1.6	5.5±0.10	6.0	-9.8	3.0	-9.8	5.8±0.10	5.0	-7.9	2.1	5.4
V	7.0±0.20	2.0	6.1	6.1±0.20		-1.6	6.3±0.20		3.2		3.3	7.2±0.20	4.5	14.3	3.2	14.2
V ^a	6.1±0.30		-7.6	5.6±0.30	2.0	-9.7	5.4±0.30	2.3	-11.5		-3.6	6.0±0.30		-4.8		11.1
V ^b	7.3±0.20	3.5	10.6	6.4±0.20		3.2	6.7±0.30	2.0	9.8		4.7	7.7±0.20	7.0	22.2	3.6	14.9

образом: умеренно благоприятными остались I-Центральная и II-Ширакская зоны, в последней из которых, однако, темп прироста составил 3.2%. III-Северо-Восточная и V-Сюникская зоны в целом оказались весьма неблагоприятными, с приростом показателя соответственно на 6.3% и 14.3%. Благоприятный уровень смертности оказался только в IV-Севанской зоне.

Из числа подрайонов по уровню показателя смертности благоприятными остаются I^б- Предгорный, III^б-Лориский и V^а-Вайоцдзорский. В 1990г. из числа неблагоприятных, в 1999г. I^а- Арабатский подрайон оказался умеренно благоприятным, тогда как III^а-Иджеванский был и остается с повышенным уровнем показателя смертности населения с приростом 23.8%. V^б-Зангезурский подрайон в исходном 1990 году будучи со средним уровнем показателя смертности, с приростом к среднему по республике на 9.8% в 1998г., а в 1999г. — на 14.3% оказался в числе неблагоприятных.

Таким образом, за последнее десятилетие во всех без исключения медико-географических зонах отмечено существенное повышение уровня смертности, что во многом можно объяснить сложными и напряженными социально-экономическими условиями и связанных с ними множеством негативных тенденций, достигших особенно за последние годы крайне неблагоприятных уровней и влиянием их на интенсивность роста смертности населения изучаемых регионов. Неблагоприятный уровень смертности по вышеотмеченным регионам требует принятия необходимых комплексных здравоохраненных мер по изучению причин и снижения ее высокого уровня среди местного населения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айриян А.П. Атлас перспективного развития сельского здравоохранения Армянской ССР, Ереван, изд. "Айастан", 65 с., 1970.
2. Айриян А.П. Медико-экологический Атлас Армении, М., "Медицина", 165 с., 1998.
3. Галкин Р.А., Щепин В.О., Суслин С.А. Бюллетень НИИ социальной гигиены, экономики и управления здравоохранением им. Н.А.Семашко, РАМН, М., 2, 24-33, 2000.
4. Миняев В.А., Вишняков Н.И., Юрьев В.К., Лучкевич В.С. Социальная медицина и организация здравоохранения, Санкт-Петербург, изд-во "Водолей", 1, 219 с., 1997.

Поступила 09.VIII.2001

СВЯЗЬ МЕЖДУ СТРУКТУРОЙ И ТОКСИЧНОСТЬЮ ХЛОРЗАМЕЩЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

В.С. ВОСКАНЯН, Ф.Р. ПЕТРОСЯН

Ереванский государственный экономический институт, 375025

“НП АОЗТ “Наирит”, 375007, Ереван

Хлорзамещенные соединения - токсичность - опасность - связь между структурой и токсичностью

Изучение взаимосвязи химической структуры и токсического действия имеет большое теоретическое и практическое значение, так как оно позволяет предсказать возможные токсические свойства ранее не изученных и вновь синтезируемых веществ, а также прогнозировать различные параметры токсичности, необходимые для гигиенического нормирования.

При этом под химической структурой понимается совокупность физических и химических характеристик веществ [1]. Многочисленными исследованиями установлена коррелятивная связь между физико-химическими показателями химических веществ и их токсическими свойствами [2, 4, 5, 7, 10].

Настоящее исследование посвящено изучению связи между структурой и токсичностью ранее не изученных хлорзамещенных соединений рядов бутана, применяемых в синтезе хлоропреновых каучуков.

Материал и методика. Токсикологические исследования проводили в лаборатории токсикологии НИЦ НПАОЗТ “Наирит” с целью разработки предельно допустимых концентраций (ПДК) в воздухе рабочей зоны и в атмосферном воздухе. Были изучены токсические свойства 9 хлорзамещенных соединений, являющихся целевыми, промежуточными и побочными продуктами синтеза хлоропреновых каучуков: 1-хлорбутадиен-1,3 (Л-хлоропрен, Л-ХП); 2,3-дихлорбутадиен-1,3 (ДХБД); 1,2,3-трихлорбутадиен-1,3 (ТХБД); 1,2,3-трихлорбутен-2 (1,2,3-ТХБ); 1,2,4-трихлорбутен-2 (1,2,4-ТХБ); 2,3,3-трихлорбутен-1 (2,3,3-ТХБ); 2,3,4-трихлорбутен-1 (2,3,4-ТХБ); 1,2,3,3-тетрахлорбутан (ТеХБан); 1,2,3,3,4-пентахлорбутен-1 (ПХБ). В ходе исследований были установлены среднесмертельные концентрации (LK_{50}), пороги однократного интегрального действия (Lim_{ac}), пороги хронического действия (Lim_{ch}), ПДК в воздухе рабочей зоны и на их основе рассчитаны коэффициенты возможности ингаляционного отравления (КВИО), зоны острого, хронического и биологического действия (Z_{oc} , Z_{ch} , Z_{bi}). При этом использованы 810 белых беспородных крыс массой 160-200 г и 270 белых мышей массой 17-20 г.

Физико-химические показатели исследуемых соединений (молекулярная масса, удельная масса, содержание хлора в молекуле, температура кипения, упругость паров, насыщающая концентрация, растворимость в воде, коэффициент распределения масло-вода, показатель преломления) были взяты из справочников. Корреляционный анализ показателей токсичности и физико-химических свойств проводили на ЭВМ ЕС-1046. Цифровой материал подвергали статистической обработке с применением корреляционно-дисперсионного анализа [6].

Результаты и обсуждение. Исследуемые вещества по LK_{50} и ПДК в основном высокотоксичные, реже умеренно токсичные (Л-ХП, ПХБ, ТеХБан) (табл. 1). По КВИО ДХБД является высокоопасным, остальные -

умеренно опасными соединениями, по Z_{ac} -ДХБД, 1,2,3-ТХБ и 2,3,4-ТХБ умеренно опасные, остальные- высокоопасные, по Z_{ch} -1,2,3-ТХБ и 1,2,4-ТХБ высокоопасные, остальные - чрезвычайно опасные, по Z_{bi} -2,3,4-ТХБ и ДХБД чрезвычайно опасные, ТХБД умеренно опасное, остальные высокоопасные соединения.

Таблица 1. Показатели токсичности и опасности хлорзамещенных соединений

№№ п/п	Название веществ	Показатели токсичности					Показатели опасности			
		ЛК ₅₀ , мг/м ³ , крысы	ЛК ₅₀ , мг/м ³ , мыши	Lim _{ac} , мг/м ³	Lim _{ch} , мг/м ³	ПДК _p , мг/м ³	КВНО	Z _{ac}	Z _{ch}	Z _{bi}
1.	Л-ХП	-	-	870	38.3	5.0	-	-	22.8	-
2.	ДХБД	2150	1680	45	1.6	0.1	115.5	37.3	32	1344
3.	ТХБД	445	633	69	5.4	0.1	4.1	6.5	14	82
4.	1,2,3-ТХБ	1595	1103	70	8.4	1.0	10.2	22.7	8.5	190
5.	1,2,4-ТХБ	385	522	34	3.3	0.1	23.2	8.5	10	117
6.	2,3,3-ТХБ	5426	3862	300	15	1.0	2.9	18	20	361
7.	2,3,4-ТХБ	1650	1170	49	0.5	0.1	110	34	100	2340
8.	ПХБ	-	-	2150	15	2.0	-	-	143	-
9.	ТеХБан	-	-	450	30	2.0	-	-	15	-

Примечание: * - насыщающие концентрации этих веществ не вызвали гибель животных, и соответственно отмеченные показатели опасности не могли быть определены.

Известно, что в гомологичных рядах токсичность возрастает с увеличением глубины хлорирования [7]. Судя по ЛК₅₀, это правило хорошо действует среди хлорбутадиенов (табл. 1): ТХБД токсичнее ДХБД и Л-ХП. Однако по показателям опасности ТХБД уступает ДХБД.

Среди хлорзамещенных бутенов более глубокохлорированный ПХБ по всем показателям токсичности и опасности уступает трихлорбутенам. Среди самих трихлорбутенов, отличающихся друг от друга лишь местоположением атомов хлора и кратной связи, по ЛК₅₀ 1,2,4-ТХБ в несколько раз токсичнее своих структурных аналогов. Аналогичные парадоксальные явления описаны и в литературе [2, 9].

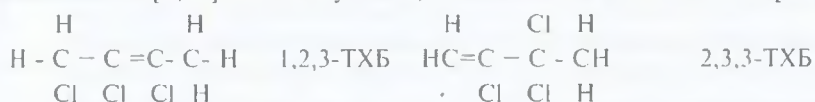
Для выявления причин перечисленных фактов проводили корреляционный анализ показателей токсичности и физико-химических констант. При этом установили хорошую корреляцию показателей токсичности хлорзамещенных бутадиенов с их молекулярной массой ($r=0,82-0,86$), содержанием хлора ($r=0,89-0,94$), удельной массой ($r=0,81-0,87$), упругостью паров ($r=0,93-0,97$), насыщающей концентрацией ($r=0,90-0,94$) и растворимостью в воде ($r=0,93-0,98$).

У четырех трихлорбутенов показатели токсичности и опасности хорошо коррелировали с удельной массой ($r=0,69-0,91$), температурой кипения ($r=0,67-0,87$), упругостью паров ($r=0,67-0,99$), коэффициентом распределения масло/вода и показателем преломления ($r=0,71-0,97$).

Однако анализ коррелятивной связи между токсичностью и физико-химическими показателями также не выявляет причину различной степени токсичности четырех трихлорбутенов, имеющих различное местоположение атомов хлора и кратной связи в молекуле. Данные литературы указывают на

важную роль места локализации галогена в молекуле в вопросе токсичности [2,11,12]. Известно также, что молекулы взаимодействуют с другими молекулами в основном своими терминальными группами [3].

Анализ структурных особенностей трихлорбутенов показывает, что у самого токсичного из них 1,2,4-ТХБ атомы хлора расположены у терминальных углеродов и находятся в аллильном положении к кратной связи, что, по литературным данным, также придает соединению высокую реакционную способность [3,11]. В молекуле 1,2,3-ТХБ только один атом хлора находится



в терминальном положении, а остальные два — внутри углеродной цепи, чем фактически можно объяснить его слабую токсичность по сравнению с 1,2,4-ТХБ.

Судя по структуре 2,3,4-ТХБ, у которого атом хлора в терминальной хлорметильной группе в неаллильном положении, он должен быть менее токсичен, чем первые два соединения. Однако по результатам наших исследований он токсичнее даже 1,2,3-ТХБ. Причиной высокой токсичности 2,3,4-ТХБ, видимо, является метаболическая активация его в организме. Показано, что это соединение, как ненасыщенное, метаболизируется энзимным путем. При этом атом хлора, локализованный у второго углерода, мигрирует через двойную связь к первому, образуя на этом конце молекулы вторую активную хлорметильную группу [8].

У наименее токсичного из трихлорбутенов — 2,3,3-ТХБ исходная молекула не содержит терминальных хлорметильных групп, хотя в организме он также подвергается метаболической активации, образуя у первого углерода хлорметильную группу. Однако атом хлора в этой группе оказывается в неаллильном положении, чем и обусловлена меньшая активность этого соединения по сравнению с 1,2,3-ТХБ, в молекуле которого терминальный атом хлора в аллильном положении. Немаловажную роль в малотоксичности 2,3,3-ТХБ играет и то обстоятельство, что в его молекуле в положении 3 имеются два атома хлора, которые являются в биологическом отношении пассивными галогенами [2].

Близкий по структуре с трихлорбутанами ПХБ, имея в молекуле по сравнению с ними на два атома хлора больше, а также две терминальные хлорметильные группы, уступает по всем токсикометрическим показателям трихлорбутенам. Слабую токсичность ПХБ, вероятно, можно объяснить как наличием в его молекуле в положении 3 двух атомов хлора, так и перегруппировкой атомов хлора в терминальное положение при метаболизме и ослаблением реакционной способности хлорметильных терминальных групп.

Слабую токсичность ТеХБан можно объяснить как его насыщенностью

(отсутствием кратной связи в молекуле), так и наличием всего одной хлорметильной терминальной группы, и то в неаллильном положении, а также нахождением в положении 3 двух атомов хлора.

Таким образом, исследуемые хлорзамещенные соединения, имеющие одинаковую длину углеродной цепи, но различную структуру молекул, отличающиеся по насыщенности, глубине хлорирования, местонахождением кратной связи и атомов хлора в молекуле, которые в целом обуславливают различные физико-химические характеристики, проявляют различную биологическую активность (токсичность и опасность). Важное значение в токсичности исследуемых трихлорбутенов имеют наличие и количество терминальных хлорметильных групп, их расположение по отношению к кратной связи (аллильность). Степень насыщенности и глубина хлорирования играют меньшую роль в биологической активности исследуемых хлорзамещающих соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Василенко Н.И., Халепю А.И.* В кн.: Профилактическая токсикология. Сб. учебно-метод. материалов. 1, 126-138, М., 1984.
2. *Гижларян М.С.* Автореф. докт. дисс., Киев, 1985.
3. *Лос К.* Синтетические яды. М., 1963.
4. *Люблина Е.И.* Гиг. тр. и проф. забол., 4, 37-40, 1973.
5. *Лященко В.И., Чекаль В.И.* Гиг. и сан., 1, 58-60, 1987.
6. *Мерков А.М., Поляков Л.Е.* Санитарная статистика Л., 1974.
7. *Филов В.А., Люблина Е.И.* В кн.: Основы общей пром. токсикол., 230-267, Л., 1976.
8. *Шахназарян Г.М.* Автореф. докт. дисс., Ереван, 1980.
9. *Экштат Б.Я., Федянина В.Н., Горбачев Е.М. и др.* В кн.: Сб. науч. тр. Моск. НИИ гигиены им. Ф.Ф.Эрисмана, вып. 23, 1, 50-51, 1977.
10. *Miller T.Z. et al.* J. Toxicol and Environm. Health, 12, 2-3, 245-253, 1983.
11. *Neudecker T. et al.* Biochem. Pharmac., 29, 2611-2617, 1980.
12. *Oettingen W.F.* Hallogenated hydrocarbons of industrial and toxicological importance. New York, 1964.

Поступила 08.VIII.2001

Биол. журн. Армении, 3-4 (53), 2001

УДК 637.1(091)

МАЦУН И ЮГОРД - АРМЯНСКИЕ НАЦИОНАЛЬНЫЕ КИСЛОМОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Л.Г. АКОПЯН, Л.М. ЧАРЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

Исторические сведения. Армения является традиционным регионом производства кисломолочных продуктов.

Во многих древних армянских рукописях описана подробная технология приготовления кисломолочных продуктов.

Армянское нагорье, средняя высота которого 1500-2000 м над ур.м., увенчано библейской горой Арарат. Рельеф и географическое расположение районов Армении сильно отличаются от таковых других регионов Закавказья.

С исторических времен Армения славилась обилием и разнообразием животноводческих продуктов. В V веке до н.э. один из участников похода греческой армии через Армению полководец-историк Ксенофонт об этом писал в своей книге "Анабасис" (V-IV вв. до н.э.) [14].

Армяне на протяжении многих веков готовили кисломолочное масло (мацнакарак) из мацуна, и в древние времена из югорда. Слово югорд - чисто армянского происхождения, что означает продукт, относящийся к маслу - "попутчик масла". Югорд состоит из частей слов - юг (масло) и орд - относящееся (назначение) [2].

В глубокой древности на среднегорных и высокогорных летних пастбищах Армянского нагорья кисломолочное масло в основном готовилось из югорда, а позднее - из мацуна. Слово мацун - индоевропейское слово - "mag", где "g" - знак нашей палатализации в армянском языке дал букву "ծ" [2].

Небезынтересно отметить, что название мацун произошло от армянского слова "мацунел", т.е. "сделать вязким", что в переводе означает заквашивать. Слово "мацун" в дальнейшем с несущественным изменением было заимствовано грузинами (мацони), турками (мажун), греками (мацул), англоязычными народами (мазол) и др. [5, 6].

Мацун является повседневной пищей армян. Его употребляют в свежем виде или готовят из него различные супы - мацнапур, мацнаспас, летом готовят мацнаджур: мацун разводится водой, добавляется немного соли и употребляется как освежающий напиток. Чтобы дольше сохранить мацун, его отцеживают в мешках из плотного материала. Выход отцеженного (камац) мацуна варьирует в пределах 25-30% от исходного количества. Более жирным и относительно густым получается "камац" мацун - мацун-паста, приготовленная из цельного буйволиного или овечьего молока, взятого к концу лактационного периода. "Камац" мацун готовят и в случае транспортировки его на дальние расстояния или употребления в лечебных целях. Мацун-пасту осенью на 3-4 суток кладут в свежую золу для максимального обезвоживания, затем плотно набивают в керамические кувшины, сверху заливают тонким слоем топленого масла. Хранят в прохладном месте. Вскрывают обычно зимой.

Томаст (տոմիստ). Хорошо обезвоженную мацунную пасту смешивают в соотношении 1:1 или 1:2 со свежим мацунным маслом, плотно набивают в глиняные кувшины и хранят в прохладном месте, как консервированный мацун.

Овкул (ոսկուլ). Освежающий продукт, готовят как томаст, но взамен мацунного масла здесь применяют свежий творог.

Мацунное масло (մածնիֆայրաթ). Из коровьего молока вначале готовят мацун, а затем его сбивают в кожаных, а позднее в глиняных маслобойках [7].

И.И. Мечников впервые дал научное обоснование полезных и лечебных свойств кисломолочных продуктов (кефир, кумыс, йогурт-йогурт). По его мнению, продукты жизнедеятельности множества видов микроорганизмов, обитающих в кишечнике человека и животных, всасываясь в кровь, вызывают систематическое отравление организма, что приводит к старению и преждевременной смерти [5]. Он впервые предложил использовать выделенную Григоровым и Козиди в 1905 г. болгарскую палочку *Lactobacterium bulgaricum* для приготовления лечебного продукта лактобациллина. В дальнейшем продукт из чистых культур *L. bulgaricum* и *Streptococcus thermophilus* получил широкое распространение во многих странах Европы и Америки под названием йогурт (йогурт - йогурт, ягурт, ягурд) [9].

Мацун и югорта как высокопитательные и лечебные кисломолочные продукты привлекают внимание многих отечественных и зарубежных исследователей. Было опубликовано множество работ относительно технологии [9], биохимии [11], микрофлоры [10] мацуна и югорда.

Интересно отметить, что в книге выдающегося армянского врача (бжшкәпет-магистрос) Амирдовлата Амасиаци "Непужное для неучей", которая является обобщением достижений армянской медицины и естествознания до XV в., в параграфе 725 во всех подробностях описывается кислое молоко - мацун. "Оно (по-армянски) называется тукат, а некоторые говорят, что это сыворо́тка мацуна из коровьего молока, т.е. (по-армянски) пахру мацни тан. Оно помогает при болезни, которая именуется дизентерией, а также при чахотке и воспалении печени и желудка. Устраняет вредное действие ядов. Если смешать с медом и смазать при болячке во рту у детей, то поможет. А если съесть кислое молоко или кислый мацун, то поможет людям с горячей натурой и усилит половое влечение. Сыворо́тка мацуна коровы и ее (кислое) молоко полезны для желудка, останавливают понос и вызывают аппетит, а также умеряют жар и делают тело упитанным. Если же человек захочет с их помощью избавиться от поноса, то он должен несколько дней кормить корову рисом или просом, или (сладкими) рожками, затем выдоить 400 драм* вечернего молока, прибавить 60 драм кислого молока и налить в посуду, а сверху примешать петрушки, руты, цитрона, мяты, кумина и мастики, завязать горлышко сосуда и оставить на ночь. Утром надо снять пенку, отцедить воду, к 30 драмам прибавить 1 драм железного шлама и выпить. Надо делать так в течение 3 дней. Остановит понос. А кто имеет белое витилиго и жалуется на колику и боли в пояснице пусть не ест мацуна" [дословно, 8].

Средневековые армянские ученые-врачи Мхитар Гераци (XII-XIII в.), Григорис (XII-XIII вв.) в своих сочинениях часто отмечают о пользе кисломолочных продуктов при различных заболеваниях [11, 16].

Многие армянские историки, философы, врачи в своих рукописях описывают традиционные кисломолочные продукты (Езник Кохбаци -IV-V в., Давид Анахт - V-VI в., Анания Ширакаци - VII в., Амам Арсвелци - IX в., Григор Магистрос -X-XI в. и др.) [4, 12].

Для повышения стойкости при хранении и рационального использования сливочных масел их подвергают термической обработке с получением чистого жира.

Маслоделие было развито в Армении, о чем говорят многочисленные свидетельства материальной культуры, обнаруженные на территории исторической Армении, топонимия отдельных районов [3, 12], занимающихся маслоделием, а также записки древних историков. Слово "караг" или "юг" (масло) имеет армянское происхождение, оно с небольшим изменением заимствовано соседними народами: грузинами (караки), турками и др. тюрко-язычными народами (кяра, яг) [6].

Интересно отметить, что в древних рукописях армянского народа (V-VI вв.) перечисляются свыше 12 разновидностей сыров, которые в основном были рассольными [11]. Об этом упоминает также древнеримский писатель и ученый Плиний Старший в своей энциклопедии "Естественная история" [1, 11].

Слово "панир" (сыр) в армянский лексикон перешло, по-видимому, из санскрита, являющегося одной из ветвей индоевропейской семьи языков, куда входит и армянский, что означает продукт, который можно есть с хлебом, заимствовано от армян афганцами (панир), курдами (панир), белуджами (панир), татарами (пенир), турками (пейшир, пендир) и другими народами [6].

Приготовление югорда. Югорд - самый распространенный кисломолочный продукт

* 1 драм = 2,942г

в США, Англии, Франции, Швеции, Дании и других западных странах [13].

В странах Балканского полуострова этот продукт готовили из овечьего молока на естественной закваске, в микрофлоре которой преобладала болгарская палочка. Повышенное содержание сухих веществ в овечьем молоке обуславливало получение продукта плотной консистенции. При производстве югорда из коровьего молока для получения такой же плотной консистенции в нем повышают содержание сухих обезжиренных веществ (до 10-15%), что достигается двумя способами: длительным выпариванием до уменьшения объема в 2-3 раза; добавлением сухого обезжиренного молока. Второй способ чаще применяется в современной технологии югорда.

Первоначально югорд готовили на чистых культурах болгарской палочки. В настоящее время его готовят на смешанной культуре *Str. thermophilus* и *L. bulgaricum*. Установлено, что в совместной культуре стрептококк и болгарская палочка лучше развиваются и образуют в молоке больше кислоты. Закваски обоих микроорганизмов культивируют как раздельно, так и совместно. Выпускают их также в виде таблеток.

Технологический процесс производства югорда состоит из следующих операций: отбора молока, нормализации его до требуемого содержания сухих веществ подсушением или добавлением сухого обезжиренного молока, пастеризации при 80-95° с выдержкой от 5 до 30 мин, охлаждения до температуры заквашивания (40-45°), розлива в мелкую тару (обычно с широким горлом), сквашивания при 40-45° и охлаждения до 3-5°.

При резервуарном способе выработки югорда молоко сквашивают в танке с автоматическим регулированием температуры и pH.

В Дании применяют метод постепенного снижения температуры югорда в бутылке в процессе сквашивания по этапам: первые 2 ч после заквашивания поддерживается температура 41-42°, в следующие 2 ч она снижается постепенно до 20°, затем в последующие 2 ч - до 4°. За это время происходит сквашивание молока и постепенное его охлаждение. После этого продукт готов к употреблению [13].

Югорд выпускают как в натуральном виде, так и с различными наполнителями - соками, сиропами, джемами. При сквашивании в бутылках или другой мелкой таре наполнители вносят во время заквашивания перед розливом, при резервуарном способе производства - после сквашивания перед перемешиванием и розливом в бутылки с готовым продуктом.

Готовый югорд должен иметь хорошо выраженный кисловатый вкус и типичный аромат, обусловленный высокой температурой пастеризации молока и образованием ароматических веществ в результате развития молочнокислых бактерий. Считается, что в формировании вкуса и аромата югорда участвуют *Str. thermophilus*, вырабатывающие диацетил, и болгарская палочка, образующая ацетальдегид. Выяснено, что наличие в сквашенном молоке ацетальдегида (около 0,005%) обуславливает характерный аромат югорда. Накопление ацетальдегида происходит, но-видимому, при совместном развитии стрептококков и палочек, так как чистые культуры тех и других дают лишь очень слабую реакцию на ацетальдегид. Цветная реакция на альдегид отсутствует, если молочнокислые палочки составляют 25% от микрофлоры югорда. При этом отмечается и отсутствие аромата [13].

Наилучшим соотношением стрептококков и палочек в готовом продукте считается 1:1, кислотность готового продукта должна составлять 85-90°Т. Сгусток должен быть ровным, плотным, без отделения сыворотки.

На качество югорда влияют качество молока, способ тепловой и механической обработки, состав и количество вносимой закваски, температура и длительность процессов сквашивания и охлаждения.

Как термофильные стрептококки, так и болгарская палочка, применяемые при выработке югорда, высокочувствительны к качеству молока, особенно к наличию в нем антибиотиков: 0,3 е.е./мл пенициллина в молоке резко снижает активность закваски. Имеются также сообщения о случаях лизиса термофильного стрептококка под действием фага.

Наилучшим режимом пастеризации признана температура 90-95° с выдержкой 5-15 мин. В молоке, подвергнутом более слабой тепловой обработке, микроорганизмы хуже развиваются и получается невыраженный вкус и слабый сгусток, а при более жесткой - изменяется вкус и снижается плотность сгустка.

Для получения требуемой плотности сгустка молоко перед пастеризацией гомогенизируют. Однако имеются наблюдения, согласно которым качество югорда из гомогенизированного молока быстрее снижается в процессе его хранения [13].

При использовании смешанной закваски, содержащей примерно равное количество болгарской палочки и термофильного стрептококка, для получения готового продукта с

таким же соотношением рекомендуется вносить в молоко 2-3% закваски.

Для получения продукта высокого качества не менее важное значение имеют температура и длительность сквашивания. Оптимальная температура сквашивания находится в пределах 40-45°. Дальнейшее повышение ее стимулирует интенсивное развитие палочек, а при температурах ниже 40° замедляется их размножение.

При внесении 2-3% закваски сквашивание длится 3-4 часа. pH в конце сквашивания должна находиться в пределах 4,7. При выдержке йогурда лишь до pH 5 он может иметь недостаточно выраженный вкус и слабый сгусток. Особенно важно немедленное охлаждение готового продукта, что более эффективно при использовании холодной воды. При воздушном охлаждении кислотность готового продукта может значительно возрасти. Поэтому способам охлаждения придается большое значение. Целесообразнее постепенное охлаждение в процессе сквашивания, как указывалось выше.

Основные сложности, возникающие при производстве йогурда, как правило, связаны с нарушениями молочнокислого брожения при наличии в молоке антибиотиков, а также с потерей активности болгарской палочки по известным причинам. Кроме того, наблюдается обсеменение продукта дрожжами, а также микрококками, вызывающими его горечь.

Нарушения, связанные с изменением консистенции (отделение сыворотки в процессе хранения, слабые сгустки), обычно обусловлены не микробиологическими, а технологическими причинами (способом тепловой обработки, режимом гомогенизации, качеством молока и др.) [13].

Приготовление мацуна. Основная микрофлора мацуна состоит из зернистых и незернистых палочковидных и кокковидных форм молочнокислых бактерий. В зависимости от возраста и температуры хранения в микрофлоре мацуна соотношение молочнокислых палочек и молочнокислых стрептококков составляет для свежих образцов 1:2, 1:3 (до однодневного возраста), двухдневных - 1:1, 1:2, 3-дневных и выше 1:0,5, 1:1. Дрожжи встречаются не во всех образцах, в основном в двух-, трехсуточном мацуне. В старых образцах мацуна встречаются несвойственные ему посторонние нежелательные микроорганизмы, в том числе *Bacterium coli*, *Oidium lactis*, *Mycoderma casei* и разные виды плесневых грибов, что свидетельствует о сильном загрязнении продукта [9].

Зернистые и незернистые молочнокислые палочки в мацуне отнесены к *Lactobacterium mazuni*, *L. lactis*, *L. bulgaricum*, очень редко (1%) *L. acidophilus* и др.; из кокковидных молочнокислых бактерий к *Str. thermophilus*, *Str. lactis*, *Str. diacetylactis*. В 12-часовом мацуне, как правило, количество кокковых форм примерно в 2-3 раза превышает палочковидные молочнокислые бактерии [9].

Интересно отметить, что в мацуне среднегорного и особенно высокогорного районов (1500-2800 м над ур.м.) дрожжи отсутствуют или встречаются редко, что, по нашему мнению, зависит от температуры среды [9]. В микрофлоре мацуна, взятого из образцов равнинных, низменных районов (800-1000, 1000-1500 м над ур.м.), дрожжи и уксуснокислые бактерии, которые, как правило, ухудшают органолептические свойства мацуна, встречаются чаще и в большем количестве [9].

Микрофлора и кислотность рыночного мацуна подвергаются существенным изменениям при хранении в течение месяца при температуре 17-20°. Титруемая кислотность мацуна до шестисуточного возраста повышается, а затем постепенно снижается и на 30-32-й день падает до 34°Т. Нами исследовано соотношение микроорганизмов мацуна в условиях хранения его при 4-8°. Установлено очень большое количество уксуснокислых бактерий, дрожжей, плесневых грибов (особенно молочный гриб - *Oidium lactis*). Несмотря на то что 30-40-дневный мацун (4-8°) сквашивает молоко, мацун получается очень низкого качества и с плохими органолептическими свойствами. Для использования испорченного, кислого, "бродящего" мацуна его разбавляют двух- или трехкратно водой, процеживают и используют для приготовления супа - мацанур, мацнаспас. Можно использовать его также для приготовления теста, смешивать с сыром, сливочным маслом, творогом и многими фруктами, наполнителями (например чабрецом), сахарами и т. д. [9].

Мацун готовят из коровьего, буйволиного, овечьего молока или их смеси. Мацун из буйволиного и овечьего молока бывает более кислым с плотной консистенцией, чем из коровьего молока. Консистенция мацуна из овечьего молока более тягучая. Химический состав мацуна в основном зависит от химического состава молока [20]. В процессе созревания молока снижается содержание молочного сахара в зависимости от интенсивности его сбраживания микрофлорой мацуна. Молоко, предназначенное для мацуна, кипятят, охлаждают до 40-42°, заквашивают естественной закваской (меран). Закваску вносят

примерно из расчета 1% от количества сквашиваемого молока. Посуду с заквашенным молоком заворачивают в матерiu и ставят в теплое место на 3-4 часа до образования сгустка, после чего выносят на холод для охлаждения и уплотнения сгустка [9].

Мацун готовился нами при низкой температуре заквашивания (28-30°) при выдержке 10-12 ч. Сгусток получался вязкий, сладкий (80°Т). Такой мацун как диетический продукт хорош для детей и взрослых, которые не могут употреблять умеренно-кислый мацун [10]. Хороший мацун получается при заквашивании при 35-39°. Через 5-7 ч сгусток получается плотный, ровный, без выделения пузырьков газа, однородный, с приятным кисломолочным вкусом и ароматом. Летом мацун заквашивают при низкой температуре (30-35°), зимой - при более высокой (35-40°). Для длительного сохранения или транспортировки из свежего мацуна готовят "камац" мацун, количество влаги в нем колеблется в пределах 30-35%, сухих веществ - соответственно 70-65%, титруемая кислотность зависит от кислотности жидкого мацуна. Кислотность процеженного мацуна ниже. Микрофлора "камац" мацуна в основном зависит от микрофлоры исходного продукта. "Камац" мацун долго сохраняется при 4-8° (до 6-12 месяцев) и заквашивает молоко, как жидкий мацун. Испорченный "камац" мацун тоже используется в пекарском деле, как описано выше. "Камац" мацун - очень вкусный продукт. Хранят его как в натуральном виде, так и с медом, сыром, маслом, творогом и т. д. Важное значение для приготовления мацуна имеет качество и количество закваски. Качественный мацун получается при использовании закваски из высокогорных районов Армении (от 2000-3000 м над ур. м.) [9, 10].

Несмотря на многочисленные исследования, касающиеся биохимии, микрофлоры, технологии производства мацуна, попытки выделения и подбора ассоциации микроорганизмов молочнокислых бактерий, получить стойкую бактериальную закваску для приготовления высококачественного мацуна на чистых культурах нами не удалось.

Мы долгие годы проводили разработки в этом направлении [10]. Хотя получался очень вкусный, с плотным сгустком мацун, однако он резко отличался от крестьянского мацуна. Поэтому молочные заводы Армении вынуждены систематически пользоваться мацунными заквасками крестьянских хозяйств горных районов Армении. Нередко им приходится брать новую мацунную закваску, так как имеющиеся быстро вырождаются, что плохо отражается на качестве выпускаемой продукции.

В связи с этим для приготовления производственной закваски мацуна взятые из горных районов Армении свежие мацунные закваски (было взято 100-150) лиофилизировали методом, разработанным нами [10]. Полученные восстановленные сухие закваски по физиолого-биохимическим, культуральным, микробиологическим свойствам не очень отличались от жидких заквасок мацуна.

Сотрудники лаборатории бродильных микроорганизмов Института микробиологии НАН Армении впервые разработали и рекомендовали для производства и транспортировки мацуна использовать сухие закваски.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Սաւր Սերաւտազի*. XV դ Գիրք բժշկական արհեստի, Երևանի Մետրոպ Սաշտոցի անվ. Սատենադարան, 413, 7749 և 6:
2. *Սծաղյան Դ. Դ.* Հայերեն արմատական բառարան: հ.գ. - 1977, հ.դ. - 1979:
3. *Գուլբանյան Վ. Դ.* Պատմա-բանասիրական հանդես, 1, 265, Երևան, 1966:
4. Հայկական սովետական հանրագիտարան, հ. 1-12, 1974-1986:
5. *Տահուկյան Գ.* Հայոց լեզվի պատմություն, 136, 307, 309, 374, Երևան, 1987:
6. *Տահուկյան Գ.* Հայերենը և հնդեվրոպական լեզուները, Երևան, 1970:
7. *Բաղրևի Մ.* Կարնագիտություն, կար և կարնաբերքներ, Կենետիկ. 1901:
8. *Амировлат Амасиаци* XV век. Печужное для неучей. Пер. С.А.Вартанян. Москва "Наука", 1990.
9. *Ерзинкян Л.А.* Биологические особенности некоторых рас молочнокислых бактерий. Изд. АН Арм.ССР, Ереван, 1971.
10. *Ерзинкян Л.А., Акопян Л.Г., Чарян Л.М. и др.* А.с. СССР N 1836908, 1993.
11. *Карагулян М.С.* Виды молочных продуктов, производимых в крестьянских хозяйствах Армении, Ереван, 1989.
12. *Кафадарян К.Г.* Город Двин и его раскопки. I, Ереван, 1952.
13. *Королева Н.С.* Техническая микробиология кисломолочных продуктов. Изд. "Пищевая промышленность", М., 1966.
14. *Ксенофонт.* "Анабасис" (на арм. языке), Ереван, 1970.
15. *Мечников И.И.* Акад. собр. соч. 15. Изд. АМН СССР, М., 1962.
16. *Мхитар Гераци.* XII век. Утешение при лихорадках, Ереван, 1955.

Поступила 01.X.1999

INVESTIGATION OF "ILLUSTRATED PHARMACEUTICAL DICTIONARY" (ms. N 6594 OF MASHTOTS MATENADARAN)

S.A. VARDANIAN

Institute of Ancient Manuscript, 375009, Yerevan

Medicine is an inseparable part of ancient Armenian culture and its roots come from deep in the past. The pharmacy was one of the most favourite branches of Ancient and Medieval Armenian medicine. Relying on folk medicine and its sources, it accumulated the experience and knowledge of many generations of Armenian physicians on the curative properties of plants and animals as well as minerals.

In the rich collection of Armenian medical manuscripts of Mashtots Matenadaran - Institute of Ancient Manuscripts there are a lot of pharmaceutical dictionaries of simple drugs, so called "dehagitarans". They were created during VI-XVIII-th centuries by the known and anonymous Armenian scholars beginning from the famous "Galen's Dictionary" ("Bark Galianosi", by John Greppin, New York, 1985) and completed by the "Armenian Flora" (1794-1818) of remarkable botanist Stepanos Shahrmanian (still unpublished).

The process of development of medieval Armenian medical and pharmaceutical dictionaries reaches its peak in the works of medieval Armenian physician Amirdovlat Amasiatsi and especially in his book "Useless for Ignoramuses" (1478-1482), which is a voluminous encyclopedic dictionary of simple drugs. The Armenian text was in 1926 first published in Vienna by Karapet Basmadjian. The Russian translation with vast investigation, commentaries and indices was published by Stella Vardanian in 1990 in Moscow. In its 3378 entries "Useless for Ignoramuses" contains an immense information about the medicinal plants, animals and minerals of historical and modern Armenia, which is of great interest for modern medicine and pharmacy.

During XV-XVIII-th centuries these traditions of great Armenian physician and philologist Amirdovlat Amasiatsi were elaborated by a number of his pupils and successors from medieval Armenian medical schools (Amasian, Sebastian, New Julfan, etc.). They created a lot of dictionaries of simple and complex drugs, which still remain out of the sphere of scientific investigation and publication. Among them the unique "Illustrated Pharmaceutical Dictionary" of Mashtots Matenadaran is of great interest (ms. N 6594). It was first described by Stella Vardanian in her paper "On the Medieval Armenian Dehagitarans - the encyclopedic Dictionaries of Medicinal Drugs" (in the annual: Памятники культуры. Новые открытия, Ленинград, 1984). "Illustrated Pharmaceutical Dictionary" was composed at the end of XVII c. by an anonymous Armenian scholar, who belonged to the successors of Amirdovlat Amasiatsi.

This dictionary in its 1320 entries contains important data about the medicinal flora, fauna and minerals of Armenia. Although a part of these data were close related to that of "Useless for Ignoramuses", there are also new materials about medicinal remedies used for treatment of infectious and allergic fevers, heart diseases, benign and malignant tumours, which is of practical interest for modern medicine. For example, the hedge mustard - *Sisymbrium officinale* Scop. in "Useless for Ignoramuses" was called "strong remedy against the carcinoma", while in "Illustrated Pharmaceutical Dictionary" besides the antitumour properties there is information about its effectiveness by treatment of heart diseases, which is confirmed by modern medicine. There is also the direct correlation between the data of Medieval and modern medicine on the antitumour activity of *Peucedanum officinale*, *Colchicum autumnale*, some species of *Vinca* L., etc.

"Illustrated Pharmaceutical Dictionary" with its 315 coloured pictures of medicinal plants, animals and minerals represents also the significant value for the investigation of scientific book miniature in Medieval Armenia.

The medical, pharmaceutical, philological and wide cultural aspects of this important monument of Medieval Armenian medicine are of great interest. It is necessary to decipher the corrupted and non-corrupted Armenian, Greek, Arabic, Persian and Turkish medical and botani-

cal terms of this Medieval pharmacognosy and find their modern equivalents. On hand of these data, we believe, it will be possible to reveal some important medicinal remedies now fast forgotten by modern science.

The world wide increasing interest to the classical Ancient and Medieval as well as folk medicine demands the investigation of Armenian experience. Armenia always was a cultural link between West and East, an intellectual bridge for information exchange between their medical systems. In Armenian medical manuscripts besides the data of Greek and Arabic authors there are also original materials on the treatment of cancer, allergies, hormonal disturbances, nervous and heart diseases, which present a serious problem for modern medicine.

Today the increasing danger of medicinal allergies turns the attention towards natural remedies used in the traditional Armenian medicine. For example, *Bolus armena*, the favourite mineral remedy of folk medicine, used for treatment of some skin diseases (carcinomas, allergies, etc.) was thoroughly described in Medieval Armenian medical books. Due to these data now arose a great interest to *Bolus armena* and the necessity of its investigation in modern laboratories and clinics. On the other hand the comparison of materials from Medieval Armenian pharmacognosies with Greek, Arabic and Persian sources will elucidate the question of cultural and scientific influences and relations between the different medical systems of East and West in Ancient period and Middle Ages.

The publication of Armenian text of "Illustrated Pharmaceutical Dictionary" with parallel English translation, and commentaries both in Armenian and English is now intended. Up to the present time the information on the Medieval Armenian medical manuscripts was inaccessible for English reader. Below are quoted some extracts from Armenian text of "Illustrated Pharmaceutical Dictionary" with parallel English translation and commentaries.

«Լադան. ազգ մն է դուստսի մեկ ծառ է. տերևն սևալոյն է. տաք է յառաջի դարաճան. ոմանք ասացեր են. թէ Բ դար(ա)ջան է. զորութիւնն այն է, որ մազն կու բուսցնէ. և թէ գնոչ փորն տղան մեռնի. կես դրամ տուր հանէ մեռած տղան»:

1. Լադան (հունարեն *ladanon*, հայերեն լադան կամ լատան, ըստ Յ. Աճառյանի «Հայերեն արնատական բառարանի», ունի ասորական ծագում) լադանաբեր կիստի և *Cistus ladaniferus* L. (*Cistaceae*) անուշահոտ խեմն է:

2. Դուստս հունարեն *cistos* անվան աղավաղված արաբացված ձևն է:

Ամիրդովլաթ Ամասիացին գրում է. «Ինքն մանանայ է. եւ խոտ մի կայ դայրսուս անուն. այնոր ծառին վերայ կանկանի»: Ապա նա նկարագրում է վերոհիշյալ բուժական հատկություններից բացի լադանի հակաբորբոքային. ցավազրկող և կապող ներգործությունը: Հետաքրքրական է, որ նրա կողմից առաջարկված լադանի բուժական դոզան երկու անգամ ավելի բարձր է. քան այն, որ նշված է «Պատկերազարդ դեղագիտարանում» [2,3,5,8,10]:

"Ladan. It is a species of ghoosooos. It is a tree with black leaves, its nature is warm in the first degree. Some people say it is warm in the second degree. It stimulates the growth of hairs. If the foetus is perished in the mother's womb, give her half a dram of ladan, and it drives out the dead foetus from the uterus".

1. Ladan (Greek - Ladanon, Armenian - Ladan or Latan, according to H. Atsharian's "Ethymological Dictionary" of Assyrian origin) is identified with gum-cistus - *Cistus ladaniferus* L. (*Cistaceae*).

2. "Ghoosooos" is corrupted arabized form of Greek *cistos*.

Amirdovlat Amasiatsi in "Useless for Ignoramuses" writes: "It is mananay (manna). There is a plant called ghaysus, and latan falls out on its tree". Further he describes besides these two above-mentioned activities of gum-cistus a lot of its other medicinal properties (astrigent, antiinflammatory, anaesthetic, etc.). It is interesting that the medicinal dose of gum-cistus recommended by Amasiatsi is twice higher than in "Illustrated Pharmaceutical Dictionary" [2, 3, 5, 8, 10].

«Լաճվարդ գոյնըն (հայ) քարի նմանի. տաք է. չոր. կորդունկն չորայցնէ. սաւղան վարէ»:

Լաճվարդ (հայերեն ձևը ծագում է պարսկերենից) կապույտ գույնի թանկարժեք քար և *Lapis lazuli*, որը, ըստ արդի տվյալների, պարունակում է հայուին ալյումոսիլիկատ, պիրիտ և կալցիտ: Դիսկորիդեսն այն նույնացնում է *chrysocolla*-ի հետ (բառացի ոսկու տախիմ): Վերջինս հետազայում արաբների մոտ սկսեց ընկալվել որպես բորակ - *Borax*: Լաճվարդը հաճախ նույնացվում էր հայկական քարի - *Lapis armeniacus*-ի հետ (վերջինս լաճվարդի տարատեսակներից մեկն է): Սակայն հույն. հայ և արաբ հեղինակներից շատերը. այդ թվում «Պատկերազարդ դեղագիտարանի» հեղինակը, անվերապահորեն չէին ընդունում այդ կարծիքը: Այսպես օրինակ. Դիոս-

կորիզները հիշատակելով, որ *chrysocolla* ի երեք տեսակներից (հայկական, մակեդոնական, կիպրոսյան) ամենալավը հայկականն է, այն տարբերում է բուն հայքարից կամ *Armenion* ից: Բիրու-նին գրում է. «Հայկական քարի գույնը նման է լավարդի գույնին, հենց այդ պատճառով էլ այն կոչվում է *Armaniyakun*»: Իբն Բայթարը բերում է երկու կարծիքն էլ: Ամիրդովլաթ Ամասիացին գրում է, որ լավարդի բնությունը նման է հայքարի բնությանը և որ այն կարող է օգտագործվել վերջինիս փոխարեն: Լավարդի վերոհիշյալ բուժիչ հատկություններից բացի, որոնք նշված են «Պատկերազարդ դեղագիտարանում», Մխիթար Հերացին և Ամիրդովլաթ Ամասիացին հիշատակում են սրա օգտակարության մասին տեղերի և քաղցկեղային վերքերի բուժման համար: Իբն Սինան չանդրադառնալով հայքարի ու լավարդի առնչությունների հարցին, հաստատում է վերջինս օգտակար լինելը գորտնուկների բուժման գործում [2, 6, 9]:

“Latjivard. Its colour is similar to the (Armenian) stone. It is hot and dry. It dries warts. It drives out black bile”.

Armenian term Latjivard (Persian by origin) is identified with *Lapis lazuli*. According to modern data, it contains alumosilicate hauiyn, pyrites and calcite. It was identified by Dioscorides with *chrysocolla* (literally “gold-glue”). The latter was interpreted by Arabic authors as borax. Latjivard often was identified with one species - *Lapis armeniacus*, although many Greek, Arabic and Armenian scholars (among them the author of “Illustrated Pharmaceutical Dictionary”) disputed their identity. Dioscorides describes three species of *chrysocolla* (Armenian, Macedonian, Cyprian) and differentiates it from *Lapis armeniacus*. Al-Biruni in “Saidana” writes “The colour of Armenian stone is like the *Lapis lazuli*, therefore it is called *Armaniyakun*”. Ebn Baithar in his Pharmacognosy cites the both opinions. Amirdavlat Amasiatsi in “Useless for Ignoramuses” writes that latjivard’s nature is similar to the *Lapis armeniacus* and that it can substitute the latter. Besides the medicinal properties of *Lapis lazuli*, which were described in “Illustrated Pharmaceutical Dictionary”, Mekhitar Heratsi and Amirdovlat Amasiatsi mention a lot of others, among them the therapeutic action by fevers and cancerous lesions. Omitting the question of identity of latjivard with *Lapis armeniacus* Ibn Sina in his “Canon” also states that *Lapis lazuli* extirpates the warts [2, 6, 9].

«Լայեայ. ինքն խոտ է. տերևներն նման է փալուտի. տերև կաթով է փորն կու լուծել. և թէ գինով խմել, կարճախարին և պուվային կծածին (օգտել). յատն (ինմադաշտանը) բանայ. օգտ ակոյաջաութեան. խոցն աղէկ առնէ»:

«Լայեայ» արաբերեն տերմինը արաբական աղբյուրներում և Ամիրդովլաթի մոտ նույնացվում է կաղնչանի մի տեսակի հետ և *Euphorbia triaculeata* Forsk: Սակայն սրա բուսաբանական նկարագրությունը և բուժական ներգործությունը, ըստ «Պատկերազարդ դեղագիտարանի», չեն համապատասխանում վերոհիշյալ աղբյուրների տվյալներին: Այսպես, օրինակ, «Պատկերազարդ դեղագիտարանում» նրա տերևները համեմատվում են փշակաղնու և *Quercus ballota* Desf. հետ. մի համեմատություն, որը շատ հեռու է ճշմարտությունից: Հնարավոր է, որ այստեղ «լայեայի» անվան տակ նկարագրած լինի մեկ այլ բույս գոնջախտը - *Petasites officinalis* Moench., որի տերևներն իրոք որոշ նմանություն ունեն փշակաղնու տերևների հետ: Դեռևս Իբն Բայթարը նկատել էր, որ այդպիսի խառնաշփոթություն տեղի է ունեցել Գալենի «Պարզ դեղանյութերի մասին» գրքի արաբերեն թարգմանության մեջ: Այդ մասին է խոսում նաև այն փաստը, որ արաբական բոլոր աղբյուրներում և Ամիրդովլաթ Ամասիացու մոտ նշված է «լայեայի» թունավոր ազդեցությունը ձկների վրա, մինչդեռ «Պատկերազարդ դեղագիտարանում» այն խորհուրդ է տրվում օգտագործել որպես հակաբույս, նաև վերքեր դարձանող, ցավազրկող ու հորմոնալ ներգործությամբ օժտված դեղամիջոց: Այս առումով հետաքրքրություն են ներկայացնում Դիոսկորիդեսի տվյալները գոնջախտի վերաբերյալ, որը նույնպես նշում է բույսի օգտակարությունը քաղցկեղային վերքերի բուժման համար: Նկատելի է նաև, որ “Materia medica” ի այս բաժնում *Petasites* ից բացի, նկարագրված են մի շարք բույսեր նույնանման բուժական սպեկտրով (հակաթույներ և հակաքաղցկեղային դեղամիջոցներ) [1, 3, 5, 7, 9, 10]:

“Layey. It is a plant. Its leaves are like the belote oak and contain milk. It causes diarrhoea. Diluted in wine, it aids strings by the scorpion and tarantula. It brings the mense. It helps with toothache and heals wounds.”

Arabic term layey or laghiay in Arabic medical literature and by Amirdovlat Amasiatsi is commonly identified with *Euphorbia triaculeata* Forsk. However the botanical description of plant and its medicinal properties in “Illustrated Pharmaceutical Dictionary” differ from the data of other sources. For example its leaves are considered to be similar to the belote oak - *Quercus*

ballota Desf. This statement is very far from the truth. Probable there is confusion with the description of another plant - *Petasites officinalis* Moench., which, according to Ebn Baithar, took place in Arabic translation of Galen's Simple. Furthmore the spectrum of medicinal action of layeay, according to "Illustrated Pharmaceutical Dictionary", significantly differs from that mentioned in other Arabic pharmacognosies. Instead of layeay's toxic influence on fishes, noticed in fast all Arabic sources and by Amirdovlat, in "Illustrated Botanical Dictionary" it is recommended as antidote by stings of insects, as anaesthetic, hormonal drug and for healing the wounds. Compare the last property of "layeay" with the action of petasites against the cancerous wounds noticed in "Materia medica". It is interesting that Dioscorides describes here a lot of other plants used as antidotes and anticancerous drugs [1, 3, 5, 7, 9, 10].

LIST OF PUBLICATIONS

1. Արեղյան Ս., Հովհաննիսյան Լ., Տեր-Պողոսյան Ս. Լատին ռուս հայերեն բժշկական բառարան, Երևան, 1951:
2. Ամիրդովլատ Ամասիացի. Անգիտաց անպէտ, հսր. Կ. Բաւմաջլանի, Չիքեննա, 1926:
3. Амирдовлат Амасиаци. Ненужное для неучей, Комментированный перевод С.Варданян, М., 1990.
4. Бируни. Избранные произведения, 4, "Сайдапа", исследование, перевод, примечания У. Каримова, Ташкент, 1974.
5. Ибн Сина. Канон врачебной науки, в 5 томах, Ташкент, 1954-1961.
6. Տէյրանյան Բ. Կ истории арминйакуна. Изв. АН. Арм. ССР. Науки о земле, 35, 1982.
7. Bedevian A. Illustrated Polyglottic Dictionary of Plant Names, Cairo, 1936.
8. Carnoy A. Dictionnaire Etymologique des noms grecs de plantes, Louvain, 1959.
9. Des Pedanios Dioskurides aus Anazarbos Arzneimittellehre in fünf Büchern, übersetzt und mit Erklärungen versehen von Prof. Dr. J. Berendes, Stuttgart, 1902.
10. Ebn Baithar. Grosse Zusammenstellung über die Kräte der bekannten einfachen Heil- und Nahrungsmittel, aus dem arabischen übersetzt und erläutert von Dr. J. Sontheimer, Stuttgart, 2 Bde, 1840-1842.
11. Mechithar's des Meisterarztes aus Her "Troost bei Fiebern", aus dem Mittelarmenischen Cbersetzt and erlutert von Dr. med. Ernst Seidel, Leipzig, 1908.
12. Smith H. Gemstones, London, 1972.

Поступила 30.V.2000

*Ավանդադրված հոդվածների ռեֆերատներ՝
Рефераты депонированных статей**
Abstracts of deponated articles****

Биол. журн. Армении, 3-4 (53), 2001

УДК 576.8:095.3

**ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТА *BACILLUS THURINGIENSIS* С
ПОВЫШЕННОЙ ИНСЕКТИЦИДНОЙ АКТИВНОСТЬЮ/
Մախասյան Ա.Մ. - Институт микробиологии НАН Армении - Абовян,
2001 - 5 с., табл. 1 - Библиограф. 6 назв. - Арм. - Деп. 11.06.01
N 58 - БЖА 2001**

Получен мутантный штамм с высоким показателем энтомоцидности из *Bacillus thuringiensis* с использованием нитрозогуанидина (НТГ) в концентрации 0,01%. При действии мутагена интенсивность образования спор и кристалловидных токсинов варьировала в зависимости от экспозиции НТГ. Оптимальное спорообразование и токсинообразование наблюдались при обработке НТГ в течение 60-105 мин (до 90%).

Полученный мутант 647 А-75 отличался от исходного штамма морфологией и рядом физиолого-биохимических свойств. Электронно-микроскопические исследования мутантного штамма (увеличение x 5000) показали измененную и увеличенную форму токсинов.

Токсины исходного штамма имели правильную ромбовидную форму, размером 2,3-1,6 мк. Величина кристалловидных токсинов мутанта значительно превосходила размеры токсинов исходного штамма и составляла 3,5-2,1 мк. При этом форма токсина была ассиметричной.

Испытания полученного мутанта на гусеницах тутового шелкопряда показали высокую энтомоцидную активность, превосходящую исходную вдвое.

Ստացվել է բարձր միջատասպան ցուցանիշով *Bacillus thuringiensis*-ի մուտանտ շտամ 0,01% նիտրոզոգուանիդինի օգտագործմամբ (ՆՏԳ): Ստացված մուտանտի փորձարկումը թթենու չերամի թրթուրների վրա ցույց է տվել բարձր միջատասպան ակտիվություն, որը նախնականին գերազանցել է երկու անգամ:

The mutant strain with high entomocide index from *Bacillus thuringiensis* by application of nitrosoguanidin (NTG) in concentration 0.01% has been obtained. The testing of mutant obtained on silkworm showed the high entomocide activity exceeding the initial twice.

**ИЗОЭНЗИМЫ ОКСИДАЗЫ D-АМИНОКИСЛОТ У
ASPERGILLUS NIGER R-3 / Оганесян С.П. - Ереванский
государственный университет - Ереван, 2001 - 4с. - Библиограф.
9 назв. - Рус. - Деп. 23.07.01 N 59 БЖА 2001**

Определение молекулярной массы полученных нами нативных изоферментов оксидазы D-аминокислот методом гель-фильтрации на колонке с сефадексом G-200 (1,6 x 90 см), уравновешенной 0,05 М фосфатным буфером, pH 8,3, показало, что изоэнзимы не отличаются по своей молекулярной массе, которая равна 187000 Да.

Литературные данные относительно молекулярной массы оксидазы D-аминокислот, выделенной из других объектов, очень разнообразны. В частности известно, что нативный фермент из штамма плесневых грибов *Aspergillus niger*, индуцированного к DL-фенилаланину, имеет молекулярную массу 200000. Высокая молекулярная масса, а также имеющиеся в литературе многочисленные данные о субъединичной структуре фермента из различных источников обусловили последующие исследования структуры очищенных нами изоэнзимов.

Была проведена серия экспериментов с использованием метода электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия. Оба изофермента мигрировали в геле одной полосой с молекулярной массой равной 46700 Да.

Сравнивая молекулярные массы нативного фермента и субъединиц, можно сказать, что оксидаза D-аминокислот из *A. niger* R-3 имеет тетрамерную структуру, с молекулярной массой субъединиц равной 46700 Да. Надо отметить, что фермент, полученный из других объектов, в основном состоит из двух субъединиц, исключение составляет фермент из дрожжей *Trigonopsis variabilis*, нативная молекулярная масса которого равна 170000 Да, а масса субъединиц - 42000.

Таким образом, оксидаза D-аминокислот из *A. niger*, очевидно, состоит из четырех субъединиц с молекулярной массой каждой 46700 Да.

Aspergillus niger R-3-ի D-ամինաթթվային օքսիդազի 2 իզոէնզիմների յուրաքանչյուրի մոլեկուլային զանգվածը կազմել է 187000 Да, որը որոշվել է հելֆիլտրացիայով (G-200) և իոնփոխանակային քրոմատոգրաֆիայով (ДЭАЭ А-25) рН 8,3: Դոդետилֆատի առկայությամբ էլեկտրոֆորեզով անջատված իզոէնզիմների ենթամիավորների մոլեկուլային զանգվածը կազմել է 46700 Да: *A. niger* R-3 բորբոսասնկի D-ամինաթթվային օքսիդազն ունի տետրամեր կառուցվածք:

From the extract of *Aspergillus niger* R-3 have been isolated two isoenzymes with molecular weights 187000Da by gel filtration on sephadex G-200 and chromatography sephadex A-25 (pH 8,3). The each subunit of isoenzyme have molecular weight 46700 Da. The results obtained suggest that the D-amino acid oxidase has tetraunit structure.

**АКТИВНОСТЬ ОКСИДАЗ D- И L-АМИНОКИСЛОТ У
ASPERGILLUS NIGER R-3 / Оганесян С.П. - Ереванский
государственный университет - Ереван, 2001 - 4с. - Библиограф.
10 назв. - Рус. - Деп. 23.07.01 N 60 -БЖА 2001**

Значение оксидаз D- и L-аминокислот в азотном обмене клетки до конца не выяснено. В настоящее время возрос интерес к исследованию оксидазы D-аминокислот в связи с обнаружением D-аминокислот у различных водных и наземных животных. На основании низкой активности и нефизиологического значения рН (10) роль оксидаз L-аминокислот в образовании аммиака отрицается. Однако сейчас стало ясно, что этот фермент индуцирует апоптоз в некоторых клеточных линиях, генерирующих H_2O_2 .

В то время как оксидаза D-аминокислот широко исследована в качестве маркерного фермента пероксисом, оксидаза L-аминокислот практически не изучена.

Методом изопикнического центрифугирования в градиенте 0,5M сахарозы и 15%-ного перколла нами были разделены субклеточные подфракции из надосадка, свободные от ядерных фракций (митохондрии, пероксисомы, лизосомы). В полученных подфракциях исследованы каталаза, оксидазы D- и L-аминокислот, б-N-ацетилглюкозаминидаза, сукцинат- и изоцитрат-дегидрогеназы.

Установлено, что при уменьшении концентрации источника азота в питательной среде в четыре раза биосинтез оксидазы D-аминокислот в бесклеточном экстракте увеличивается в три и более раза при полном отсутствии активности оксидазы L-аминокислот.

Для образования оксидазы L-аминокислот в пероксисомах *Aspergillus niger* R-3 оптимальной является среда, содержащая 0,5% D-глюкозы и L-аланина в количестве 1/4 от нормы источника азота.

В пероксисомах *A. niger* R-3 становится возможным обнаружение оксидазы L-аминокислот, так как они обеспечивают оптимальное микроокружение для проявления активности фермента.

Հետազոտվել է *Aspergillus niger* R-3 բորբոսասնկի D- և L-ամինաթթվային օքսիդազ ֆերմենտների ակտիվությունը: *A. niger* R-3-ի անբջիջ բամվածքներում հայտնաբերվել է D-, բայց ոչ L-ամինաթթվային օքսիդազների ակտիվություն: Իզոպիկնիկ ցենտրիֆուգման միջոցով (14000g) 0.5M սախարոզի և 15% պերկոլի զրադիենտում անջատված պերօքսիսոմներում հայտնաբերվել է ինչպես D-, այնպես էլ L-ամինաթթվային օքսիդազների ակտիվություն:

In the extract of *Aspergillus niger* R-3 were found out the activity of D-amino acid oxidase, but not activity of L-amino acid oxidase. The subcellular structures (peroxisomes) of the fungus were separated by isopycnic centrifugation at 14000g in a discontinuous gradient of 0.5 M sucrose containing 15% percoll. In peroxisomal fractions were found out the activity of D- and L-amino acid oxidases.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА НАКОПЛЕНИЕ БИОМАССЫ ДРОЖЖЕЙ, НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА И ВЫЯВЛЕНИЕ АКТИВНОЙ ФРАКЦИИ ЭКСТРАКТА, СТИМУЛИРУЮЩЕЙ РОСТ ДРОЖЖЕЙ / Агаджанян А.А., Агаджанян А.Х., Чубарян С.В., Давтян М.А. - Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, - Ереван, 2001 - 4 с. - Библиогр. 5 назв. - Рус. - Ден. 27.07.01 N 61 - БЖА 2001

Исследовали влияние некоторых растительных экстрактов на дрожжи *Candida guilliermondii*, на накопление их биомассы и содержание в них свободного пролина. Установлено, что при добавлении экстрактов растительных смесей в питательную среду роста дрожжей заметно увеличивается их биомасса по сравнению с контрольным вариантом. Причем, увеличение добавленного экстракта коррелирует с увеличением биомассы дрожжей. Выявлена четко выраженная обратная корреляция между накоплением биомассы дрожжей и содержанием в них свободного пролина.

Установлено, что под действием указанных экстрактов происходит заметное снижение содержания в дрожжевых клетках таких незаменимых аминокислот, как тир, вал, мет, лей, изолей. Уменьшение уровня свободных аминокислот является результатом стимулирования метаболических процессов в клетках дрожжей под действием экстрактов лекарственных растений.

Факторы, стимулирующие рост дрожжей, обнаружены в 16-20 фракциях, полученных при гельфильтрации на сефадексе G-150, что свидетельствует о том, что стимуляторы роста элюируются с колонки довольно медленно.

Հետազոտվել է բուսական սպիտակուսների ազդեցությունը *Candida guilliermondii* խմորասնկերի աճի, կենսազանգվածի կուտակման և ազատ պրոլինի պարունակության վրա, ինչպես նաև հայտնաբերվել է սպիտակուսների առկայությանը, որը խթանում է խմորասնկերի աճը: Հաստատվել է, որ բուսական սպիտակուսների ազդեցությամբ տեղի է ունենում խմորասնկերի կենսազանգվածի եռակի կուտակում: Սահմանվել է կորելյացիա խմորասնկերի կենսազանգվածի կուտակման և ազատ պրոլինի քանակության միջև: Խմորասնկերի աճը խթանող գործոնները հայտնաբերվել են ֆիլտրացիայի շնորհիվ ստացված 16-20-րդ ֆրակցիաներում և իրենցից ներկայացնում են ցածրամոլեկուլյար միացություններ:

The influence of extracts of some plants on growth yeasts *Candida guilliermondii*, accumulation of the biomass, as well as on the amount of the free proline has been studied. Exposure of active fraction, which stimulates growth of yeasts, has also been investigated. It is defined that under the influence of plant extracts, the biomass of the yeast increases three times. A back correlation has been found between the accumulated biomass of yeasts and the free proline in them. Factors stimulating growth of yeasts is shown in gel fractions 16-20, acquired upon gel filtration and are lowpolymeric joining.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА ПРОЛИНА ДРОЖЖЕЙ *CANDIDA GUILLIERMONDII* / Агаджанян А.А., Агаджанян А.Х., Мартиросян М.С. - Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, - Ереван, 2001 - 5 с. - Библиограф. 11 назв. -Рус. -Деп. 27.07.01 N 62 - БЖА 2001

Установлено, что биомасса дрожжей увеличивается под действием экстрактов тысячелистника, полыни горькой и зверобоя в 2; 1,8 и 3 раза соответственно, в то же время активность ферментов биосинтеза пролина уменьшается в 2,5; 3,4 и 7,6 раза. При гель-фильтрации бесклеточного экстракта контрольных дрожжей на сефадексе G-150 выявлены по два четко разграниченных пика активности орнитинтрансаминазы (ОТ) и пирролин-5-карбоксилат редуктазы (П5КР). Под действием экстракта тысячелистника резко подавляется активность обоих изоэнзимов ОТ и П5КР, причем активность второго, низкомолекулярного изоэнзима ОТ, по сравнению с другим, подавляется значительно более чем в 2 раза.

Вектор изменения активности изоэнзимов ферментов биосинтеза пролина (ОТ и П5КР) дрожжей под действием экстрактов тысячелистника и полыни горькой почти одинаков. Однако характер изменения активности изоэнзимов ОТ и П5КР дрожжей под действием экстракта зверобоя значительно отличается от таковой у тысячелистника и полыни горькой. В частности, сравнительно слабо происходит подавление активности первого изоэнзима ОТ экстрактов зверобоя, в то время как активность первого изоэнзима П5КР уменьшается более чем в 2,5 раза.

Դեղաբույսերի մզվածքների ազդեցությամբ (հազարատերևուկ, օշինդր դառը, սրժիռնդ) կտրուկ ճնշվում է խմորասնկերի *Candida guilliermondii* պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտների ակտիվությունը, միաժամանակ եռակի անգամ ավելանում նրանց կենսազանգվածը: Հայտնաբերվել է պրոլինի կենսասինթեզի ֆերմենտների օրնիթինտրանսամինազի (ОТ) և պրոլին-5-կարբօքսիլատ ռեդուկտազի (Պ5ԿՐ), երկուական իզոէնզիմներ, որոնց ակտիվությունը նույնպես ճնշվում է ուսումնասիրված մզվածքների ազդեցությամբ:

In yeasts *Candida guilliermondii* activity of proline biosynthesis enzymes strongly fall by influence of some medicinal plant extract (milfoil, absinth and st.-John's-wort). Simultaneously, yeast biomass increases three times. Two isoenzymes of ornithine transaminase (OT) and pyrroline-5-carboxilate reductase have been discovered. The activity of these isoenzymes is depressed by influence of indicated extracts.

ФЕРМЕНТЫ КАТАБОЛИЗМА ПРОЛИНА И РЕГУЛЯЦИЯ ИХ АКТИВНОСТИ В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ САЗАНА *CYRPINUS CARPIO* / Минасян З.С., Агаджанян А.Х., Давтян М.А. - Ереванский государственный университет, кафедра биохимии, - Ереван, 2001 - 8 с. - Библиограф. 11 назв. -Рус. -Деп. 27.07.01 N 63 - БЖА 2001

Изучена активность пролиноксидазы (ПО) и пирролин-5-карбоксилат дегидрогеназы (П5КД) в различных органах сазана. Самая высокая активность ферментов окисления пролина обнаружена в сердце, а наименьшая - в жабрах. В период откладки икринок в печени самок активность ПО и П5КД возрастает в 20 раз. Очевидно, при физиологических изменениях организма происходит перестройка метаболических процессов, и пролин интенсивно включается в обменные процессы через глутамат, пополняя энергетические потребности организма наряду с циклом Кребса. Установлено, что цитрат, цитруллин и адениловые нуклеотиды во всех изученных органах, за исключением жабер, значительно стимулируют активность ферментов катаболизма пролина. В жабрах цитрат и АТФ оказывают ингибирующее влияние на активность ПО и П5КД, более того, в присутствии АМФ полностью подавляется процесс окисления пролина. Комплекс цитрат + АТФ в почках стимулирует активность указанных ферментов более чем в 10 раз. Этот факт можно использовать для препаративного получения ПО и П5КД из почек рыб. Совместное применение цитруллина и адениловых нуклеотидов приводит к подобному кооперативному эффекту на активность ферментов катаболизма пролина.

Ուսումնասիրվել է պրոլին օքսիդազի (ՊՕ) և պիրոլին-5-կարբօքսիլատ դեհիդրոգենազի (Պ5ԿԴ) ակտիվությունը ծածան ձկան տարրեր օրգաններում: Համեմատած մյուս օրգանների հետ սրտում ֆերմենտները ցուցաբերում են բարձր ակտիվություն: Ձվադրման շրջանում էգերի լյարդում պրոլինի օքսիդացմանը մասնակցող ֆերմենտների ակտիվությունը բարձրանում է շուրջ 20 անգամ: Բոլոր ուսումնասիրված օրգաններում, բացի խոիկներից, ցիտրատը և ադենիլալին նուկլեոտիդները զգալի խթանում են ՊՕ-ի և Պ5ԿԴ-ի ակտիվությունը: Երկվամներում ցիտրատ + ԱԵՖ կոմպլեքսը խթանում է նշված ֆերմենտների ակտիվությունը ավելի քան 10 անգամ: Նման կոոպերատիվ էֆեկտ դրսևորվում է ցիտրուլլինի և ադենիլնուկլեոտիդների համատեղ օգտագործման ժամանակ ծածան ձկան մյուս բոլոր օրգաններում:

Activation of proline oxidase (PO) and pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase (P5KD) in the organs of sazan have been investigated. The activity of the proline degradation enzymes in the liver increases 20 times during postponement of hardroe. The citrate, citrulline and adenilic nucleotids stimulate the activity of PO and P5KD in all the organs, except the gills. The complex of citrate and ATF in the kidney stimulates the activity of the mentioned enzymes over 10 times. A similar cooperative effect is manifested by the complex citrulline and nucleotidamine in all the organs of sazan.

**НОВЫЙ ПУТЬ БИОСИНТЕЗА ПРОЛИНА У ФАСОЛЕВОЙ
ЗЕРНОВКИ *ACANTHOSCELIDES OBTECTUS* SAY / Агаджанян
А.Х., Мартиросян М.С. - Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии, - Ереван, 2001 - 4 с. - Библиограф. 3 назв. -
Рус. - Деп. 27.07.01 N 64 -БЖА 2001**

Нами обнаружен фермент орнитинциклаза, неспецифичный к орнитину и превращающий как орнитин, так и ряд аминокислот в пролин на всех стадиях метаморфоза фасолевой зерновки *Acanthoscelides obtectus* Say. Активность фермента довольно высока у жуков и низка у куколок. D-форма орнитина не является субстратом для фермента, более того, его присутствие в виде рацемата несколько подавляет активность фермента. Окисленные нуклеотиды (НАД⁺, НАДФ⁺) не являются обязательными кофакторами орнитинциклазы. Они могут быть успешно заменены другими соединениями, содержащими в своем составе как пуриновые, так и пиримидиновые азотистые основания.

Замена орнитина мочевиной и гуанидинуксусной кислотой не влияет на интенсивность биосинтеза пролина, тогда как замена орнитина аргинином и цитруллином приводит к заметному усилению биосинтеза пролина. Создается впечатление, что гуанидиновые группы имеют важное значение для интенсивного протекания биосинтеза пролина в присутствии нуклеотидов и азотистых оснований.

Таким образом, обнаруженная Костиловым и Лейлок у *Clostridium sporogenes* орнитинциклаза, по-видимому, не является ферментом, специфичным в отношении орнитина, а роль НАДФ⁺ могут выполнять любые пуриновые и пиримидиновые основания.

Հայտնաբերվել է օրնիտին ցիկլազա ֆերմենտը լոբու ընդակերի *Acanthoscelides obtectus* Say. կերպարանափոխման տարբեր փուլերում, որը յուրահատուկ չէ օրնիտինի նկատմամբ և իրականացնում է պրոլինի կենսասինթեզը ինչպես օրնիտինից, այնպես էլ մի շարք այլ միացություններից: Պրոլինի կենսասինթեզն ընթանում է ոչ միայն օքսիդացված (NAD⁺, NADP⁺), այլև վերականգնված նուկլեոտիդների մասնակցությամբ, ինչպես նաև այլ պուրինային և պիրիմիդինային նուկլեոտիդների առկայությամբ:

The enzyme which turns ornithine and other amino acids into proline at all stages of metamorphosis of the haricot beetle *Acanthoscelides obtectus* Say has been detected. Biosynthesis of proline proceeds with participation of oxidized (NAD⁺, NADP⁺) and reduced nucleotides. The process needs purine and pyrimidine bases.

Լրատու • Хроника • Chronics

Биолог. журн. Армении, 3-4 (53), 2001

УДК 301:351.854

**АКТУАЛЬНОСТЬ ГЕНДЕРНОЙ И МОЛОДЕЖНОЙ ПРОБЛЕМЫ ПРИ
ОСУЩЕСТВЛЕНИИ РЕФОРМ В СИСТЕМЕ АКАДЕМИИ НАУК**

Յ. Ա. ՕԳԱՆԵՍՅԱՆ

Отделение Естественных наук НАН Армении, 375019, Ереван

*"Женская догадка обладает большей точностью,
чем мужская уверенность."*

Р. Киплинг

Вопросы равенства мужчин и женщин, а также вовлечения женщин в развитие науки и техники чрезвычайно важны для обеспечения устойчивого развития людских ресурсов и занимают важное место в проблемах взаимодействия науки и общества, общества и природы.

Ни одна из нынешних мировых проблем, таких как бедность, разрушение окружающей среды, насилие, социальные проблемы, этнические конфликты и т.д. не могут быть решены без полномасштабного участия женщин, которые, являясь важным компонентом трудовых ресурсов, слишком часто лишены возможности участвовать в процессе принятия решений.

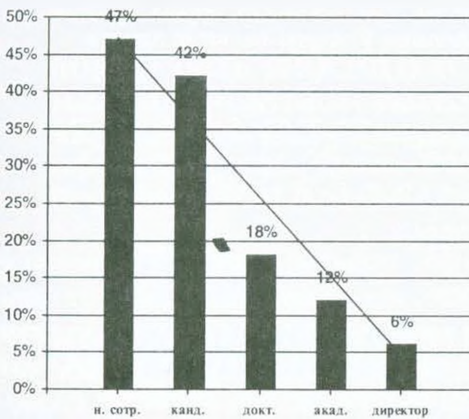
Поскольку современное общество отводит мужчинам и женщинам разные роли и ожидает от них разных моделей поведения, у мужчин и женщин формируются разные системы ценностей и разное мировоззрение. Мужчина стремится к успеху, руководству, контролю и независимости; интересы женщины сводятся к уходу за детьми, их воспитанию, родственными отношениям и личной жизни.

Если женщины не будут работать в сфере естественных наук и технологий, то ценности, которые ассоциируют с ними, будут слабо представлены в области научного и технологического развития.

На сегодняшний день женщинам, прокладывающим свой путь в науке, приходится сталкиваться не только с различными трудностями культурного и социального характера, связанными с тем, что семья и окружающая среда играют важную роль в ее жизни.

Анализ некоторых статистических данных в Отделении естественных наук НАН РА (химических, биологических и медико-биологических наук) показал, что в Армении нет проблем в вопросах доступа женщин к образованию и к научно-исследовательской работе (рис. 1). Согласно этим данным, процент женщин-научных сотрудников составляет 47, а женщин-кандидатов наук - 42. Однако проблемы появляются при подъеме вверх по иерархической лестнице: так процент женщин-докторов наук уже 18, женщин-академиков - 12 и женщин-директоров учреждений - 6. Очень часто труд женщин-ученых используется как составляющая для подъема и успеха ученых-мужчин.

Относительно молодежной проблемы можно отметить снижение потенциала молодых ученых, который составляет всего 20% от общего числа научных сотрудников Отделения. Это происходит в основном из-за сокращения государственного бюджетного финансирования научной сферы, что привело к резкому снижению престижа научного труда среди молодежи, оттоку молодых ученых из научно-технической сферы, их эмиграции.



всего находят применение в экономике спустя годы или даже десятилетия, поэтому целесообразно сочетание со вторым путем, начинающимся с национальных потребностей и дальнейшей ориентировкой научных исследований на них.

Известно, что реформа науки начинается с реформы системы образования: в этой связи необходимо учесть.

1. подготовка молодых специалистов в академической среде имеет двойное преимущество, заключающееся в том, что персонал и учащиеся получают необходимое оборудование для проведения экспериментов и у учащихся есть преподаватели, которые продолжают деятельность в своих областях специализации и находятся в курсе новейших достижений.

2. Краткосрочный подход к фундаментальным исследованиям и преподаванию естественных наук - это близорукий подход.

К сожалению, правительство склонно строить свой подход на 2- или 3- годичных курсах, опыт показывает.

Доступ к научным знаниям является частью права на образование и информацию, которое принадлежит всем. Новые обязательства перед наукой влекут новые обязательства в отношении научного образования, без которого ни одна страна не может создать необходимые уровни эндогенного научного потенциала - источника мощного интеллектуального резерва, без которого нельзя понять сложную систему взаимоотношений между обществом и природой.

Если нам не удастся решить гендерные проблемы и проблемы молодых ученых в сфере науки, науки в интересах мира, науки в целях развития, науки в интересах справедливого и демократического общества, мы не только потеряем возможность улучшить условия жизни, но и рискуем нанести необратимый ущерб нашей стране.

При осуществлении реформ особое внимание следует уделять мерам, способствующим разрушению гендерных стереотипов, подготовке организационных мер в сфере образования молодежи с целью более ясного понимания гендерных проблем и содействия доступу женщин-ученых на должности высокого уровня - как дополнительному рычагу обеспечения устойчивого развития.

Без молодых ученых, способных идти новым путем, а не полагающихся на известные методы, стремящихся к оригинальным идеям, подкрепленным вескими аргументами, способных изучать массу информации и отметить то, что не обосновано - нет завтрашнего дня науки, нет будущего. Это должно понять наше правительство.

Со стороны ученых расширяется поиск новых источников финансирования с помощью международных фондов и грантов. Однако фундаментальные исследования должны поддерживаться правительством, потому что они важны для любого государства, которое хочет добиться устойчивого развития. Фундаментальные исследования чаще

Поступила 15.IV.2001

Памяти Седы Аршавировны Симонян

Первого августа 2001 года скоропостижно от инсульта ушла из жизни Седя Аршавировна Симонян (в девичестве Бабалян), одна из ведущих микологов республики. Не стало крупного профессионала, внесшего неоценимый вклад в изучение микофлоры Армении, прекрасного человека.

Пристрастие к микологии Седы Аршавировны в прямом смысле впитала в себя с молоком матери - Дарья Николаевны Тетеревниковой-Бабалян, основоположницы этого раздела науки в Советской Армении. Пересхав в конце 20-х годов прошлого столетия из Ленинграда на родину своего мужа, Аршавира Абгаровича Бабаляна, в дальнейшем широкоизвестного фитопатолога. Дарья Николаевна вместе с ним, не только воспитала целую плеяду микологов и фитопатологов, но вырастила в качестве таковых дочь Седу и внучку Рипсима Хачатурян, таким образом оказавшись во главе микологической династии.



Седя Аршавировна родилась 28 апреля 1929 года в Ленинграде. В 1946 году она с золотой медалью окончила в Ереване среднюю школу, а затем с красным дипломом биологический факультет Ереванского государственного университета. В школьные годы, вторая половина которых совпала с Великой Отечественной войной, родители тем не менее обеспечили своей дочери внешкольное изучение французского и немецкого языков. В дальнейшем она с легкостью освоила английский и на всех трех языках не только свободно изъяснялась, но и читала подлинники научной и художественной литературы. Безукоризненное знание русского и родного армянского языков при этом по праву ставило ее в ряды полиглотов. Широкий языковый спектр способствовал высокому качеству научных исследований и имел немаловажное значение для общения с коллегами во время различных зарубежных поездок, а в частности во время пребывания в Индии, Алжире и на Кубе, где она сопровождала своего мужа, крупного инженера-механика Льва Арташесовича Симоняна, исполнявшего контрактные работы. На Кубе Седя Аршавировна выучила и испанский язык, поступила в качестве консультанта в университет и руководила аспирантами.

В области микологии Седя Аршавировна имела два основных пристрастия - мучинисторосые грибы и грибная флора культурных декоративных насаждений, оставаясь верной им в течение всей трудовой деятельности.

В 1955 году, по окончании аспирантуры при Ботаническом институте АН АрмССР, она защитила кандидатскую диссертацию на тему "Мучинисторосые грибы (семейство *Erysiphaceae*) Армянской ССР", которая была опубликована под этим же названием в двух томах Трудов Ботанического института АН АрмССР. В дальнейшем, практически до конца активной научной деятельности, изучением мучинисторосых грибов республики были охвачены представители всего порядка *Erysiphales*, что легло в основу обширной итоговой монографии "Мучинисторосые грибы Армении (порядок *Erysiphales*)", 1994 год, Ереван. Издание последней в качестве VII тома "Микофлоры Армении" Седя Аршавировна осуществила самостоятельно, благодаря поддержке фонда Сороса по биоразнообразию.

Докторскую диссертацию Седя Аршавировна защитила в 1976 году. По ее материалам в 1981 году вышла в свет монография "Микофлора ботанических садов и дендропарков Армянской ССР", истоки которой восходят к дипломной работе и монографии, изданной в 1963 году - "Грибные паразиты растений ботанических садов Армянской ССР".

Совместно с Д.Н.Тетеревниковой-Бабалян, С.А.Симонян впервые освещает фитоценотическую роль микромицетов. Эта работа нашла продолжение в работах многих микологов СССР.

Интерес представляют исследования Седы Аршавировны с А.М.Барсегяном, посвященные консортивным взаимоотношениям микромицетов и высших цветковых

растений, результаты которых опубликованы в журнале "Микология и фитопатология" (1971, № 5, 6), а также в ряде других статей о фитоценологической роли микромицетов.

Совместно с украинским микологом В.П.Гелюттой на основе комплексных данных была разработана новая система рода *Leveillula* и описан ряд новых видов этого рода.

Всего перу Седы Аршавириной принадлежат около 140 публикаций, научная ориентация которых затрагивает систематику, флористику, фитоценологию, фитопатологию. Микофлористические исследования важны не только в теоретическом аспекте. Они были использованы при решении вопросов, связанных с защитой растений от болезней.

В процессе своей почти полувековой научной деятельности Седя Аршавирина создала в стенах Института ботаники ИАН Армении богатую микологическую гербарную коллекцию, известную под международным индексом EREM.

Топография научной биографии Седы Аршавириной связана преимущественно с Институтом ботаники ИАН Армении, куда после пройденной там же аспирантуры она в 1957 году была зачислена младшим научным сотрудником. С 1960г. по 1969г. Седя Аршавирина, не отрываясь от научной деятельности в Институте, проработала ученым секретарем бюро Биологического отделения АН АрмССР. В 1969г. вновь вернулась в Институт ботаники, на должность старшего научного сотрудника. В 1982г. там была создана группа микологии, которую возглавила Седя Аршавирина, при этом с 1989г. на должности главного специалиста. В 1991г. Седя Аршавирина по состоянию здоровья вышла на пенсию. Однако она не прекращала научного общения с коллегами, в том числе и зарубежными, среди которых пользовалась широкой известностью и большим авторитетом. В эти годы, как и ранее, она также принимала активное участие в советах по присуждению ученых степеней при Институте ботаники и Институте микробиологии Национальной Академии Наук, и в совете при Сельскохозяйственной Академии Армении.

Где бы ни работала Седя Аршавирина, она везде вызывала к себе глубокое уважение коллег. Это было взаимно. Обходительность и уважительность в общении с людьми, абсолютная воспитанность, корректность, порядочность, принципиальность, доброжелательность, сочетающиеся с широким размахом научной и общей эрудиции, оказывали облагораживающее действие на окружающих.

В лице Седы Аршавириной мы потеряли истинного интеллигента. Горечь невосполнимой утраты и память о светлом образе навсегда останутся в сердцах друзей и коллег.

В.Е. Аветисян

Л.Л. Осипян

ԲՈՎԱՆՂԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Օրիգինալ հոդվածներ

Վարդանյան Ն.Ա., Գասպարյան Ա.Վ., Հակոբյան Վ.Պ. Ծծմբի և երկաթի օքսիդացումը թերմոաքցիդոֆիլ բակտերիաների կողմից միքսոտրոֆ պայմաններում	3
Գանին Պ.Գ., Կոմարով Ե.Վ. z- պոտենցիալի, ճարպաթթուների և ն-ալկանների սուրմիկրոնային կաթիլների դերը սուբստրատի տրանսպորտի մեխանիզմում դեպի ալկանյուրացնող շաքարասնկերի բջիջներ	10
Պետրոսյան Ռ.Ա., Պետրոսյան Ա.Ռ., Ղազանյան Ն.Լ., Աֆրիկյան Է.Գ. Մանրենթի ադինեզիայի էկոլոգա-բժշկական և ֆիզիկա-քիմիական տեսակետները պոլիմերային նյութերի կենսաքայքայման ժամանակ	17
Կարաբեկով Բ.Պ., Հովսեփյան Ա.Ա., Հախալյան Ա.Խ., Քելեշյան Ա.Ղ., Ջուրաբյան Ա.Ա. Ամինաթթուների որոշ ածանցյալների ազդեցությունը <i>Bacillus thuringiensis</i> -ի բակտերիոֆագերի լիտիկ ակտիվության վրա	24
Կարաբեկով Բ.Պ., Հովսեփյան Ա.Ա., Հախալյան Ա.Խ., Քելեշյան Ա.Ղ., Ջուրաբյան Ա.Ա. Բակտերիոֆագ-բակտերիալ բջիջ հարաբերությունների ուսումնասիրությունը միջատահիվանդածին <i>Bacillus thuringiensis</i> համակարգում	32
Պարոնյան Ա.Խ. Հայաստանի տարբեր աղուտներից մեկուսացված ալկալոֆիլ ծծմբային ֆոտոսինթեզող բակտերիաներ	41
Էլիազյան Ա.Ա., Պարոնյան Ա.Խ. Ֆոտոսինթեզող բակտերիաների ամինոազիլազային ակտիվության մասին	46
Հակոբյան Լ.Հ., Հադյան Լ.Ս. Կաթնաթթվային բակտերիաների պահպանման եղանակների մասին	51
Հարությունյան Ս.Հ., Ասլանյան Ա.Գ., Ալեքսանյան Ն.Ս., Ստեփանյան Թ.Հ., Մաթևոսյան Ֆ.Ս. Հացաբույսերի պալարաբակտերիաներով վարակման հնարավորության մասին	59
Սամվելյան Գ.Ա. Էթիլ սպիրտի ազդեցությունը շաքարասնկերի մեծբրանային կառուցվածքի անկայունության վրա	63
Հովհաննիսյան Հ.Գ., Հովհաննիսյան Ա.Ս. <i>Լոն</i> մուտացիաների ամբողջական ճնշումը <i>Escherichia coli</i> K-12-ի մոտ ջրոմոնոմային մասնիկի միջոցով	68
Համբարձումյան Ն.Ս., Նալբանդյան Ն.Հ., Թաթոսյան Ա.Գ., Հակոբյան Ժ.Ի. V-SRC օնկոգեն տրանսկրիպցիան և էքսպրեսիան <i>Escherichia coli</i> բջիջներում	75
Արզումանյան Ա.Ն., Բազուկյան Ի.Լ., Պոպով Յու.Գ. Բակտերիական լամնազային գեն կրող <i>Helianthus tuberosus</i> L. տրանսգեն բույսերի ստեղծումը	81
Աղաքանյան Ա.Խ., Մոլաի Ռադ Ս.Բ., Դավթյան Ս.Ա. <i>Pisum sativum</i> L. ոլոռի սերմերի արգինազի իզոնեգիմային սպեկտրը և ֆիզիկա-քիմիական հատկությունները	87
Աղաքանյան Ա.Խ., Մոլաի Ռադ Ս.Բ., Դուկասյան Ջ.Գ., Աղաքանյան Ա.Ա. Որոշ ազդակների ազդեցությունը <i>Pisum sativum</i> L. ոլոռի ծլող սերմերի ազատ պրոլիմի կուտակման վրա	92
Ղազարյան Վ.Հ., Խաչատրյան Ռ.Ֆ. Էտիլ ազդեցությունը որոշ ծառատեսակների ջրային ռեժիմի վրա	98
Սարգսյան Վ.Է. Երևանի կանաչ գոտու պայմաններում հատված ծառերի կոճղաշվային ծանրաբեռնվածության ազդեցությունը տերևային մակերեսի զարգացման և ջրային ռեժիմի վրա	102
Գասպարյան Գ.Հ., Գրիգորյան Ռ.Ս., Սարգիսյան Ն.Կ., Սայադյան Ա.Վ., Դաբադյան Է.Յու., Մովսեսյան Վ.Տ. Հոմոլոգ բջիջների բազմացման կոնտակտային խթանումը կաթնասունների բջիջների կուլտուրաներում	107

Համառոտ հաղորդումներ

Լիկոդոսյան Վ.Գ. Ազոտֆիքսող նոր բացիլներ հացազգիների արմատային համակարգում	111
Լիկոդոսյան Վ.Գ., Բաղդասարյան Ի.Բ. Տարբեր դիագնոստիկների փոխարարելիության ու ազոտի ֆիքսման ակտիվության մասին	114
Չովհաննիսյան Չ.Գ. Կապտուլային բազմաշաքարների գերարտադրության և 1 պրոֆագի ինդուկցիայի սուպրեսիան <i>Escherichia coli</i> K-12-ի <i>lon</i> շտամի մոտ	118
Ղարիբյան Ջ.Վ., Խուդավերդյան Ն.Վ., Դանիելյան Ի.Ս., Սիարդյան Ա.Ս., Կարապետյան Օ.Գ. Սոռոջ մարդկանցից անջատված <i>Escherichia coli</i> ՂՆԹ-ի մեթիլացման առանձնահատկությունները և նրա ազդեցությունը ուռուցքային ՂՆԹ-ի վրա	121
Ջամինյան Ա.Ս., Մուրադյան Լ.Գ., Ավալյան Ռ.Է., Արախանյան Լ.Խ. Գարու էնդոմիկ տեսակի մոտ աճի ծայրահեղ պայմանների տարբերակումը ըստ մորֆոանատոմիական ցուցանիշների	124
Փոստոյան Ա.Ռ. <i>Trypanosoma vivax</i> Ziemann, 1905 կենսունակության պահպանումը տզերի մոտ	128
Ղազարյան Ա.Պ., Ղազարյան Պ.Ա. Գլիցերոֆոսֆատի և գլիցերինի փոխանակության խանգարումները սրտամկանում սիրտ-թոքային անբավարարվածության ժամանակ ..	130
Չարությունյան Յու.Ա., Ղազարյան Ա.Պ. Սուր խոլեցիստիտով հիվանդների բուժման արդյունավետության գնահատման որոշ կենսաքիմիական ցուցանիշներ	133
Չարությունյան Յու.Ա. Լեղապարկի սուր բորբոքման ժամանակ ֆոսֆոլիպազ A_2 -ի ակտիվությունը լյարդում	137
Բախչինյան Ա.Ջ., Չակոբջանյան Է.Ս. Լյարդի և փայծաղի մակրոֆագերի կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ փոփոխությունների համեմատական բնութագիրը հակազենային խթանման ժամանակ	139
Կարապետյան Մ.Ա. Քիմիոթերապիան և բնական կիլերների ակտիվությունը բրջախտի ժամանակ	142

Ավանդներ

Աղաբալյան Ա.Ս. Իմունոմոդուլատորները և օրգանիզմի ոչ սպեցիֆիկ դիմադրողականությունը	146
Կարապետյան Վ.Է. Տարասեռ գենների արտահայտումը <i>Escherichia coli</i> -ի բջիջներում	151

Լրացում

Ռախա Չովհաննեսի Պապանյան	
--------------------------------	--

Биолог. журн. Армения, 1-2 (53), 2001

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

Варданян Н.С., Гаспарян А.В., Аюбян В.П. Окисление серы и железа штаммами термоацидофильных бактерий в миксотрофных условиях	3
Ганин П.Г., Комаров Е.В. Роль z-потенциала, жирных кислот и субмикробных капель n-алканов в механизме транспорта субстрата в клетки алканутилизирующих дрожжей	10
Петросян Р.А., Петросян А.Р., Казанчян Н.Л., Африкян Е.К. Эколого-медицинские и физико-химические аспекты адгезии микроорганизмов при биоповреждении полимерных материалов	17

Карабеков Б.П., Овсепян А.С., Чахалян А.Х., Келешян С.К., Зурабян А.С. Влияние некоторых производных аминокислот на литическую активность бактериофагов <i>Bacillus thuringiensis</i>	24
Карабеков Б.П., Овсепян А.С., Чахалян А.Х., Келешян С.К., Зурабян А.С. Взаимоотношения в системе фаг-клетка у энтомопатогенных бактерий <i>Bacillus thuringiensis</i>	32
Паронян А.Х. Алкалофильные серные фотосинтезирующие бактерии из содовых солончаков Армении	41
Элиазян А.А., Паронян А.Х. Об аминокислотной активности фотосинтезирующих бактерий	46
Акопян Л.Г., Чарян Л.М. О способах хранения молочнокислых бактерий	51
Арутюнян С.А., Асланян С.Г., Алексанян Н.М., Степанян Т.У., Матевосян Ф.С. О возможности инфицирования клубеньковыми бактериями злаковых культур	59
Самвелян Г.А. Влияние этилового спирта на структурную лабильность мембран дрожжей	63
Оганесян Г.Г., Оганесян С.С. Полная супрессия проявления <i>lon</i> мутаций <i>Escherichia coli</i> K-12 хромосомным фрагментом	68
Амбарцумян Н.С., Налбандян Н.Г., Татосян А.Г., Акопян Ж.И. Онкоген V-SRC: транскрипция и экспрессия в клетках <i>Escherichia coli</i>	75
Арзуманян А.Н., Базулян И.Л., Попов Ю.Г. Конструирование трансгенных растений <i>Helianthus tuberosus</i> L. с бактериальным геном леваназы	81
Агаджанян А.Х., Молаи Рад М.Б., Давтян М.А. Изозимный спектр и физико-химические свойства аргиназы в семенах гороха <i>Pisum sativum</i> L.	87
Агаджанян А.Х., Молаи Рад М.Б., Гукасян Дж.Г., Агаджанян А.А. Влияние некоторых эффекторов на накопление свободного пролина в прорастающих семенах гороха <i>Pisum sativum</i> L.	92
Казарян В.О., Хачатрян Р.Ф. Влияние обрезки на водный режим некоторых древесных растений	98
Саркисян К.Ш. Влияние порослевой нагрузки на развитие листовой поверхности и водный режим срубленных деревьев в условиях зеленого кольца г. Еревана	102
Гаспарян Г.Г., Григорян Р.М., Саркисян Н.К., Саядян А.В., Дабагян Э.Ю., Мовсесян В.Т. Контактная стимуляция размножения гомологичных клеток в культурах клеток млекопитающих	107

Краткие сообщения

Никогосян В.Г. Новые азотфиксирующие бациллы из корневой системы злаковых ...	111
Никогосян В.Г., Багдасарян И.Б. О взаимодействии и активности азотфиксационных различных диатрофов	114
Оганесян Г.Г. Супрессия сверхсинтеза капсульных полисахаридов и индукции профага 1 у <i>lon</i> штамма <i>Escherichia coli</i> K-12	118
Гарибян Д.В., Худавердян Н.В., Даниелян И.С., Агаронян А.С., Карапетян О.Г. Особенности метилирования ДНК <i>Escherichia coli</i> , выделенной у здоровых людей и ее влияние на опухолевую ДНК	121
Заминян С.С., Мурадян Л.Г., Авалян Р.Э., Абрамян Л.Х. Идентификация экстремальных условий произрастания по морфоанатомическим показателям у эндемичного вида ячменя.	124
Постоян С.Р. Сохранение жизнеспособности <i>Trypanosoma vivax</i> Ziemann, 1905 в клещах	128
Казарян А.П., Казарян П.А. Нарушение обмена глицерофосфата и глицерина в миокарде при легочно-сердечной недостаточности	130

Арутюнян Ю.А., Казарян П.А. Некоторые биохимические критерии оценки эффективности лечения больных острым холециститом	133
Арутюнян Ю.А. Активность фосфолипазы A_2 в печени при остром холецистите	137
Бахшиян М.З., Акопджанян Э.С. Сравнительная характеристика структурных и функциональных изменений макрофагов печени и селезенки при антигенной стимуляции	139
Каралян М.А. Химиотерапия и активность естественных киллерных клеток при туберкулезе	142

Обзоры

Агабалян А.С. Иммуномодуляторы и неспецифическая резистентность организма ...	146
Карапетян В.Е. Экспрессия гетерологичных генов в клетках <i>Escherichia coli</i>	151

Хроника

Раиса Оганесовна Папанян	158
--------------------------------	-----

Biolog. J. Armenia, 1-2 (53), 2001

CONTENTS

Original articles

Vardanyan N.S., Gasparyan A.V., Hachobyan V.P. Sulphur and iron oxidation by thermoacidophilic bacteria under mixotrophic conditions	3
Ganin P.G., Komarov E.V. Role of z-potential, fat acids and n-alkanes submicrone drops in substrate transport mechanism into alkane-utilizing yeast cells	10
Petrosyan R.A., Petrosyan A.R., Ghazanchyan N.L., Afrikan E.G. Ecological, medical and physico-chemical aspects of microbial adhesion in biodeterioration of polymeric materials	17
Karabekov B.P., Hovsepyan A.S., Chakhalyan A.Kh., Qeleshyan S.K., Zurabyan A.S. Effect of some amino acid derivatives on lytic activity of the bacteriophages in <i>Bacillus thuringiensis</i>	24
Karabekov B.P., Hovsepyan A.S., Chakhalyan A.Kh., Qeleshyan S.K., Zurabyan A.S. Interrelation within the phage-cell system in entomopathogenic bacteria of <i>Bacillus thuringiensis</i>	32
Paronyan A.Kh. Alkalophilic sulfur photosynthetic bacteria from soda salted soils of Armenia	41
Eliazyan A.A., Paronyan A.Kh. On aminoacylase activity of photosynthetic bacteria	46
Akopyan L.G., Charyan L.M. On methods of preservation of lactic acid bacteria	
Harutyunyan S.H., Aslanyan S.G., Alexanyan N.M., Stepanyan T.H., Matevosyan F.S. On possibility of infection of cereals with root nodule bacteria	59
Samvelyan G.A. Effect of ethanol on structural lability of yeast membranes	63
Hovhannisyanyan H.G., Hovhannisyanyan S.S. Full suppression of <i>lon</i> mutations expression in <i>Escherichia coli</i> K-12 by a chromosomal fragment	68
Ambartsumian N.S., Nalbandyan N.G., Tatosyan A.G., Akopian J.I. Oncogene V-SRC transcription and expression in <i>Escherichia coli</i> cells	75
Arzumanyan A.N., Bazukyan I.L., Popov Yu.G. Construction of transgenic plants <i>Helianthus tuberosus</i> L. with bacterial levanase gene	81
Aghadjanian A.Kh., Molaei Rad M.B., Davtian M.A. Isoenzyme spectrum and	

physico-chemical peculiarities of arginase in suds of pea <i>Pisum sativum</i> L.	87
Aghadjanian A.Kh., Molaee Rad M.B., Gookasian J.G., Aghadjanian A.A. Effect of some effectors on free proline accumulation in germinating suds of pea <i>Pisum sativum</i> L.	92
Kazaryan V.O., Khachatryan R.F. Influence of the pruning on the water relationships of some wood plants	98
Sarkisyan K.Sh. The influence of verdure load on the development of leaf litter and water regime of cut trees under the conditions of green ring of Yerevan	102
Gasparyan G.H. Grigoryan R.M., Sarkisyan N.K., Sayadyan A.V., Dabagian E.Yu., Movsessyan V.T. Contact stimulation of homologous cell proliferation in mammalian cell cultures	107

Short communications

Nikoghosyan V.G. Nitrogen-fixing new bacilli in root system of cereals	111
Nikoghosyan V.G., Bagdasaryan I.B. On the activity and relationship of nitrogen fixation of various diazotrophs.	114
Hovhannisyan H.G. Suppression of overproduction of capsular polysaccharides and induction of prophage 1 in <i>lon</i> strain of <i>Escherichia coli</i> K-12	118
Garibian D.V., Khudaverdian N.V., Danielian I.S., Agaronian A.S., Karapetian O.G. Peculiarities of DNA methylation of <i>Escherichia coli</i> isolated from healthy persons and its influence on tumor DNA	121
Zaminian S.S., Mouradian L.G., Avalian R.E., Abramian. L.Ch. The identification of extremal growth conditions by morpho-anatomical indexes of endemic species of barley	124
Postoyan S.R. Maintenance of viability of <i>Tripanosoma vivax</i> Ziemann, 1905 in mites	128
Kazarian A.P., Kazarian P.A. Impairment of the metabolism of glycerophosphate and glycerol in myocardium at cardio-pulmonary insufficiency	130
Aroutunyan Yu.A., Ghazaryan P.A. Some biochemical criteria for evaluation of efficiency of therapy in patients with acute cholecystitis	133
Aroutunyan Yu.A. Phospholipase A ₂ activity in liver at acute cholecystitis	137
Bakhshinyan M.Z., Hakobjanyan E.S. Comparative characteristic of structural and functional changes of macrophages of liver and spleen at antigen stimulation	139
Karalian M.A. Chemotherapy and natural killer cells activity at tuberculosis	142

Reviews

Agabalian A.S. Immunomodulators and nonspecific resistance of organism	146
Karapetyan V.E. Expression of hybrid genes in <i>Escherichia coli</i>	151

Chronics

Raisa H. Papanyan	158
-------------------------	-----

ԲՈՎԱՆՂԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Օրիգինալ հոդվածներ

Վարդանյան Ն.Ա., Հակոբյան Վ.Պ. Թերմոտոլերանտ <i>Leptospirillum</i> -ման բակտերիաները և նրանց դերի գնահատումը պիրիտի օքսիդացման մեջ	167
Պարոնյան Ա.Խ., Աֆրիկյան Է.Գ. <i>Spirulina</i> միկրոօրգանիզմի և ֆոտոտրոֆ բակտերիաների համատեղ աճեցման մասին	173
Կարաբեկով Բ.Պ., Հովսեփյան Ա.Ա., Հախալյան Ա.Խ., Քելեշյան Ս.Ղ., Միքայելյան Ն.Է., Ավետյան Ս.Վ. <i>Bacillus thuringiensis</i> -ի բակտերիցինների՝ քլորիցինների ուսումնասիրությունը	178
Գյուլխասյան Ս.Ա. Ականջի աղմուկների բուսաբուժության կենսաբանական տեսակետները	185
Փեփոյան Ա.Զ. <i>Salmonella derby</i> ՈւՍ-կայուն և ՈւՍ-զգայուն շտամների ազատ ռադիկալային պրոցեսների ինտենսիվության դիմամիկան	191
Դանիելյան Լ.Թ., Ավագյան Ա.Զ. Բակտերիցիդինի ազդեցությունը պոլիորոգ-տիֆով հիվանդ ճտերի իմունաբանական հակազդման վրա	197
Աղաջանյան Ա.Է., Հովհաննիսյան Գ.Ժ., Հարությունյան Զ.Գ., Բրուտյան Ռ.Ա. Կուլտուրալ հեղուկից գլուտամինաթթվի անջատման հիմնական տեխնոլոգիական պարամետրերի որոշումը	202
Բաբայան Ժ.Ռ., Շաքարյան Գ.Գ., Դանիելյան Լ.Թ., Ալեքսանյան Յու.Թ. Հակաբիոտիկա- և քլորամինակայուն մանրէների զգայունությունը բակտերիցիդին "Hongo"-ի նկատմամբ	208
Մարտիրոսյան Ս.Ա., Աղաջանյան Ա.Խ. Լորու ընդակերի պրոլին-օքսիդազան և պիրուլին-5-կարբօքսիլատ դեհիդրոգենազան և նրանց ռեգուլյատոր հատկությունները	213
Աղաջանյան Ա.Խ., Մինասյան Զ.Ա., Դավթյան Ս.Ա. <i>Cyprinus carpio</i> ծածան ձկան տարբեր օրգաններում պրոլինի կենսասինթեզին մասնակցող ֆերմենտները	218
Մանուկյան Զ.Ա., Մանուկյան Կ.Լ., Ժամհարյան Դ.Գ., Դարազորյան Կ.Գ. Մկների մեյոթոզատոմայի և ֆիբրոբլաստների բջիջների ԴՆԹ-ից ՈՒՄ-ինդուցված պիրիմիդինային դիմերների արտամղումը	225
Միրզոյան Ա.Ա., Սայադյան Ա.Վ. Հայաստանի փուփուլաթիթեռները (<i>Lepidoptera</i> , <i>Notodontidae</i>)	230
Ամիրյան Ա.Լ. Ատաֆիլին-բզեզների տարատեսակները Ս.Ա. Յաբլոկով-Խնձորյանի և Հայաստանի կենդանաբանության ինստիտուտի հավաքածուներում	234
Հարությունյան Է.Ա., Դիլբարյան Վ.Պ., Դազարյան Ա.Վ. Ոչխարի թուխ հարուցիչ <i>Psoroptes equi</i> var. <i>ovis</i> (Hering) տիզը <i>Psoroptidae</i> Can., 1892 (<i>Sarcoptiformes</i> : <i>Acaridae</i>) ընտանիքից Հայաստանի Հանրապետության տարածքում	240
Խաչատրյան Մ.Գ. Արարատյան որդան կարմրի օօցիտ-օժանդակ բջիջներ համակարգի բջիջների դիֆերենցման որոշ առանձնահատկություններ	245
Հարությունյան Ռ.Ա., Քոչարյան Ռ.Գ., Անտոնյան Ա.Շ. Բրդածակույթի տարբեր պիզմենտացիայով ոչխարների դիմացկունությունը միջավայրի ջերմաստիճանային գործոնի նկատմամբ	250
Քանայան Ռ.Գ., Գյուլբաջյան Թ.Ա., Շիրինյան Է.Ա. ԳԱԿԹերզիկ նյութի՝ Օ-սուլֆոնեթանոլամինի մասնակցությունը նյութափոխանակման ադապտացիոն պրոցեսներում	254
Ղազարյան Ռ.Վ. Էլեուտերակոկի ազդեցության տակ իմունային գործոնների փոփոխությունների կոռելցիան իմոբիլիզացիոն սթրեսի ենթարկված շների մոտ	261

Գյուլիսանդանյան Ա.Վ., Գյուլիսանդանյան Գ.Վ., Ղուկասյան Վ.Վ. Զլորին e_6 -ի կողմից ֆոտոսենսիբիլիզացված էրիտրոցիտների K ⁺ -թափանցելիությունը և հենմուլիզ	266
Երվանդյան Ա.Գ., Սիմոնյան Ե.Շ., Նեբիշ Ա.Ա., Բեզլարյան Ս.Ա., Հարությունյան Ռ.Ս., Սնիսյան Գ.Լ. Միկրոգամետոֆիտային համակարգը և միջավայրի աղտոտման ինդիկացիան (Հաղորդում I)	272
Սարգսյան Կ.Ա. Ծխախոտի քանակական որոշ հատկանիշների ֆենոտիպական կորելյացիաները	277
Ղողզիուկ Է. Ցիկլոդեքստրիններով մոլեկուլար և խիրալ ճանաչումը	282
Ջորդանո Ա., Տրոտտա Ֆ., Սանֆերտի Ս., Դրիոլի Է. Պոլիմերային մեմբրաններում ընդգրկված ցիկլոդեքստրինների կարբոնատներ. կատալիտիկ վարքագիծ	288

Համառոտ հաղորդումներ

Գոգինյան Վ.Բ. Թեյի սնկի և նրա միկրոֆլորայի հակաօքսիդանտային հատկությունները	296
Մխիթարյան Ա.Ա., Պողոսյան Գ.Յու., Ջիվանյան Կ.Ա. Ֆաբրիցյան պայուսակի հիստոքիմիական ուսումնասիրությունը մասնակի հեպատոկլոմոֆայից հետո	300
Դիլբարյան Կ.Պ., Հարությունյան Գ.Ա., Կազարյան Ա.Վ. Ֆիտոսենիդ տզերի վրա կարբոֆոսի ազդեցությունը	303
Սիմոնյան Լ.Լ., Ներսեսյան Ս.Ե., Ոսկանյան Գ.Ե., Սպիրին Վ.Կ., Մասլովա Ս.Ս., Ջախարով Վ.Մ. Դաբադի սպեցիֆիկ պրոֆիլակտիկայի միջոցների արդյունավետությունը օջախներում և անբարեհաջող վայրերում	306
Բարսեղյան Ա.Գ., Ներսեսյան Ս.Ե., Բաղդասարյան Է.Ս., Պետրոսյան Գ.Ռ., Սիխալիչին Վ.Վ., Գուսև Ա.Ա. Հակադաբադային երկվալենտային ՕԱ վակցինայի (Հայաստան-98) մշակումը և արտադրական փորձարկումը	309
Գիմոյան Լ.Գ. Կենսահոգեբանասոցիալական գործոնների ազդեցությունը ուղեղային ինտուիտի հիվանդության և մահացության վրա	312
Գևորգովա Լ.Վ. Ջարգացման բնածին արատների բժշկա-գենետիկական մոնիտորինգ	315
Հայրապետյան Ա.Վ. Հայաստանի բնակչության մահացության դինամիկան Սպիտակի աղետի գոտում	318
Հայրիյան Ա.Պ., Հայրապետյան Ա.Վ. Հայաստանի բնակչության մահացության ցուցանիշները հանրապետության բժշկաաշխարհագրական գոտիներում	321
Ոսկանյան Վ.Ա., Պետրոսյան Ֆ.Ռ. Զլորտեղակայված միացությունների կառուցվածքի և թունավորության միջև կապը	325

Գիտության պատմություն

Հակոբյան Լ.Գ., Հարյան Լ.Ս. Մածուն և յուղորդ հայկական ազգային կաթնաթթվային մթերքներ	329
Վարդանյան Ա.Ա. «Պատկերազարդ դեղագիտարանի» (Մաշտոցի Մատենադարանի N 6594 ձեռագրի) ուսումնասիրությունը	334

Ավանդադրված հոդվածների ռեֆերատներ

Սալիսասյան Ա.Մ. <i>Bacillus thuringiensis</i> -ի բարձր միջատասպան ակտիվությամբ մուտանտի ստացումը	338
Հովհաննիսյան Ա.Պ. <i>Aspergillus niger</i> R-3-ի Թ-ամինաթթվային օքսիդազի իզոնեգիմները	339
Հովհաննիսյան Ա.Պ. <i>Aspergillus niger</i> R-3-ի D- և L-ամինաթթվային օքսիդազների ակտիվությունը	340
Սղաքանյան Ա.Ա., Սղաքանյան Ա.Խ., Չուբարյան Ս.Վ., Դավթյան Ս.Ա. Որոշ դեղաբույսերի մզվածքների ազդեցությունը շաքարասնկերի կենսազանգվածի կուտակման, պրոլիֆի քանակության վրա և շաքարասնկերի աճը խթանող մզվածքի ակտիվ ֆրակցիայի հայտնաբերումը	341

Աղաքանյան Ա.Ա., Աղաքանյան Ա.Խ., Մարտիրոսյան Մ.Ս. Որոշ դեղաբույսերի ձգվածքների ազդեցությունը <i>Candida guilliermondii</i> շաքարասնկերի պրոլիմի կենսասինթեզի ֆերմենտների ակտիվության վրա	342
Մինասյան Ջ.Ս., Աղաքանյան Ա.Խ., Դավթյան Մ.Ս. Պրոլիմի կատարողիզմի ֆերմենտները և նրանց ակտիվության կարգավորումը <i>Cyprinus carpio</i> սազան ձկան տարբեր օրգաններում	343
Աղաքանյան Ա.Խ., Մարտիրոսյան Մ.Ս. Պրոլիմի կենսասինթեզի նոր եղանակը <i>Acanthoscelides oblectus</i> Say լոբու ընդակերի մոտ	344

Լրվում

Չովիաննիսյան Է.Ա. Գենդերային և երիտասարդական պրոբլեմների արդիականությունը ակադեմիական սիստեմի վերակառուցման ընթացքում	345
Սեդա Արշավիրի Սիմոնյանի հիշատակին	347

Биол. журн. Армении, 3-4 (53), 2001

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

Варданян Н.С., Акопян В.П. Термотолерантные <i>Leptospirillum</i> -подобные бактерии и оценка их роли в окислении пирита	167
Паронян А.Х., Африкян Э.К. О совместном выращивании микроводоросли <i>Spirulina</i> и фототрофных бактерий	173
Карабеков Б.П. , Овсепян А.С., Чахалян А.Х., Келешян С.К., Микаелян Н.Э., Аветян С.В. Исследование тюринцинов-бактерицинов <i>Bacillus thuringiensis</i>	178
Гюлхасян С.А. Биологические аспекты фитотерапии ушных шумов	185
Пепоян А.З. Динамика интенсивности свободно-радикальных процессов УФ-резистентных и УФ-чувствительных штаммов <i>Salmonella derby</i>	191
Даниелян Л.Т., Авакян А.Д. Влияние бактерицидина на иммунологическую реактивность цыплят, больных пуллорозом-тифом	197
Агаджанян А.Е., Оганесян Г.Ж., Арутюнян Д.Г., Брутян Р.А. Определение основных технологических параметров выделения глутаминовой кислоты из культуральной жидкости	202
Бабаян Ж.Р., Шакарян Г.Г., Даниелян Л.Т., Алексанян Ю.Т. Чувствительность антибиотико- и хлораминорезистентных микроорганизмов к бактерицидину «Hongo»	208
Мартirosян М.С., Агаджанян А.Х. Пролиноксидаза и пирролин-5-карбоксилат дегидрогеназа фасолевого зерновки и их регуляторные свойства	213
Агаджанян А.Х., Минасян З.С., Давтян М.А. Ферменты биосинтеза пролина в различных органах сазана <i>Cyprinus carpio</i>	218
Манукян З.М., Манукян К.Л., Жамгарян Г.Г., Карагезян К.Г. О выщеплении УФ-индуцированных пиримидиновых димеров из ДНК клеток нейробластомы и фибробластов мыши	225
Мирзоян С.А., Саядян А.В. Хохлатки (<i>Lepidoptera</i> , <i>Notodontidae</i>) Армении	230
Амирян А.Л. Типы жуков-стафилинов (<i>Coleoptera</i> , <i>Staphylinidae</i>) в коллекциях С.М.Яблокова-Хнзоряна и Института зоологии НАН Армении	234
Арутюнян Э.С., Дилбарян К.П., Казарян А.В. Возбудитель чесотки овец - клещ <i>Psoroptes equi</i> var. <i>ovis</i> (Hering) из семейства <i>Psoroptidae</i> Can., 1892 (<i>Sarcoptiformes: Acaridae</i>) на территории Армении	240

Хачатрян М.Г. Некоторые особенности дифференцировки клеток в системе ооцит-вспомогательные клетки Араратской кошенили	245
Арутюнян Р.А., Кочарян Р.Г., Антонян А.Ш. Устойчивость ягнят с разной пигментацией шерстного покрова к действию температурного фактора среды	250
Камалян Р.Г., Гюльбазян Т.А., Ширинян Э.А. Участие ГАМКергического препарата О-сульфозетаноламина в процессах метаболической реакции	254
Казанджян Р.В. Коррекция элеутерококком изменений, происходящих в защитных факторах при иммобилизационном стрессе у собак	261
Гюльханданян А.В., Гюльханданян Г.В., Гукасян В.В. К ⁺ -проницаемость и гемолиз эритроцитов, фотосенсибилизированных хлорином е ₆	266
Ервандян С.Г., Симонян Е.Г., Небиш А.А., Бегларян С.А., Арутюнян Р.М., Снхчян Г.Л. Микрогаметофитная система и индикация загрязнения среды (1 сообщение)	272
Маркарян В.А. Фенотипические корреляции некоторых количественных признаков у табака	277
Додзиук Э. Молекулярное и хиральное распознавание циклодекстринами	282
Джордано А., Тротта Ф., Манферти С., Дриоли Э. Включенные в полимерные мембраны карбонаты циклодекстринов: каталитическое поведение	288

Краткие сообщения

Гогинян В.Б. Антиоксидантные свойства чайного гриба и его микрофлоры	296
Мхитарян А.А., Погосян Г.Ю., Дживанян К.А. Гистохимическое изучение фабрициевой сумки после частичной гепатэктомии	300
Дилбарян К.П., Арутюнян Г.А., Казарян А.В. Влияние карбофоса на фитосейидных клещей	303
Симонян Л.Л., Нерсисян С.Е., Восканян Г.Е., Спирин В.К., Маслова Н.С., Захаров В.М. Эффективность средств специфической профилактики ящура в очагах и неблагополучных пунктах	306
Барсегян С.Г., Нерсисян С.Е., Багдасарян Э.С., Петросян Г.Р., Михалишин В.В., Гусев А.А. Разработка и производственное испытание противоящурной бивалентной вакцины ОА (Армения-98)	309
Гимоян Л.Г. Влияние биопсихосоциальных факторов на заболеваемость и смертность от мозгового инсульта	312
Геворкова Л.В. Медико-генетический мониторинг врожденных пороков развития	315
Айрапетян А.К. Интенсивность динамики смертности населения Армении в зоне Спитакского землетрясения	318
Айриян А.П., Айрапетян А.К. Показатели смертности населения Армении по медико-географическим зонам республики	321
Восканян В.С., Петросян Ф.Р. Связь между структурой и токсичностью хлорзамещенных соединений	325

История науки

Акопян Л.Г., Чарян Л.М. Мацун и югорт - армянские национальные кисломолочные продукты	329
Варданян С.А. Изучение "Иллюстрированного фармацевтического словаря" (рукопись N 6594 Матенадарана Маштоца)	334

Рефераты депонированных статей

Малхасян А.М. Получение мутанта <i>Bacillus thuringiensis</i> с повышенной инсектицидной активностью	338
---	-----

Оганесян С.П. Изоэнзимы оксидазы D-аминокислот у <i>Aspergillus niger</i> R-3	339
Оганесян С.П. Активность оксидаз D- и L-аминокислот у <i>Aspergillus niger</i> R-3	340
Агаджанян А.А., Агаджанян А.Х., Чубарян С.В., Давтян М.А. Влияние экстрактов некоторых лекарственных растений на накопление биомассы дрожжей, на содержание пролина и выявление активной фракции экстракта, стимулирующей рост дрожжей	341
Агаджанян А.А., Агаджанян А.Х., Мартиросян М.С. Влияние экстрактов некоторых лекарственных растений на активность ферментов биосинтеза пролина дрожжей <i>Candida guilliermondii</i>	342
Минасян З.С., Агаджанян А.Х., Давтян М.А. Ферменты катаболизма пролина и регуляция их активности в различных органах сазана <i>Cyprinus carpio</i>	343
Агаджанян А.Х., Мартиросян М.С. Новый путь биосинтеза пролина у фасолевой зерновки <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say	344

Хропика

Оганесян Э.А. Актуальность гендерной и молодежной проблемы при осуществлении реформ в системе Академии наук	345
Памяти Седы Аршавири Симонян	347

Biolog. J. Armenia, 3-4 (53), 2001

CONTENTS

Original articles

Vardanyan N.S., Hakobian V.P. Thermotolerant <i>Leptospirillum</i> -like bacteria and evaluation of their role in pyrite oxidation	167
Paronyan A.Kh., Afrikan E.G. On the joint cultivation of microalgae <i>Spirulina</i> and phototrophic bacteria	173
Karabekov B.P., Hovsepyan A.S., Chakhalyan A.Kh., Geleshyan S.K., Mikaelyan N.E., Avetyan S.V. Research of thuricines-bacteriocines of <i>Bacillus thuringiensis</i>	178
Gyulkhasyan S.A. Biological aspects of phytotherapy of ear noises	185
Pepoyan A.Z. Dynamics of intensity of free radical processes in UV-resistant and UV-sensitive <i>Salmonella derby</i> strains	191
Danielyan L.T., Avakyan A.J. The influence of bactericidin on immunological reactivity of chickens with pullorosis-typhoid	197
Aghajanyan A.E., Oghanisyan G.J., Haroutunyan J.H., Brutyan R.A. Determination of the basic technological parameters of glutamic acid extraction from cultural liquid	202
Babayan J.R., Shakaryan G.G., Danielyan L.T., Alexanian Yu.T. Sensibility of antibacterial and chlororesistant microorganisms to bactericidin "Hongo"	208
Martirosyan M.S., Agadjanyan A.Kh. Proline oxidase and pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase of haricot beetle and their regulatory properties	213
Agadjanyan A.Kh., Minasyan Z.S., Davtyan M.A. The enzymes of proline biosynthesis in different organs of sazan <i>Cyprinus carpio</i>	218
Manukyan Z.M., Manukyan K.L., Jamharyan H.G., Karageuzyan K.G. The excision of UV-induced pyrimidine dimers from DNA of mouse neuroblastoma and fibroblasts cells	225
Mirzoyan S.A., Sayadyan A.V. <i>Lepidoptera</i> and <i>Notodontidae</i> of Armenia	230
Amiryan A.L. Types of staphylinidae-beetles in the collections of Iablokoff-Khznorian and Institute of Zoology of NAS of Armenia	234

<i>Arutunyan E.S., Dilbaryan K.P., Kazaryan A.V.</i> The mite <i>Psoroptes equi</i> var. <i>ovis</i> (Hering) from the family of <i>Psoroptidae</i> Can., 1892 (<i>Sarcoptiformes: Acaridae</i>) agent of the madge of the sheeps in the territory of the Armenian Republic	240
<i>Khachatryan M.G.</i> Some peculiarities of cell differentiation processes in the oocyte-auxiliary cells system of Ararat cochineal	245
<i>Harutyunyan R.A., Kocharyan R.G., Antonyan A.Sh.</i> Stability of sheeps with different pigmentation of the woolen cover to action of environmental temperature factor	250
<i>Kamalyan R.G., Gulbajazyan T.A., Shirinyan E.A.</i> The participation of the GABAergic substance O-sulfoethanolamine in the processes of the metabolic adaptation	254
<i>Kazandjyan R.V.</i> Correction of the immune factor changes by eleuterococce in dogs under the immobilized stress	261
<i>Gyulkhandanyan A.V., Gyulkhandanyan G.V., Gukasyan V.V.</i> K ⁺ -permeability and hemolysis of erythrocytes photosensitized with chlorin e ₈	266
<i>Yervandyan S.G., Simonyan E.G., Nebish A.A., Beglaryan S.A., Aroutiounian R.M., Snkhchyan G.L.</i> Microgametophyte system and indication of environmental mixtures (I report)	272
<i>Margarian V.A.</i> Phenotypic correlations among certain quantitative characters in tobacco ...	277
<i>Dodziuk H.</i> Molecular and chiral recognition by cyclodextrins	282
<i>Gordano A., Trotta F., Manfredi C., Drioli E.</i> Cyclodextrins carbonate entrapped in polymeric membranes: catalytic behaviour	288

Short communications

<i>Goginyan V.B.</i> Antioxidant properties of tea fungus and its microflora	296
<i>Mkhitarian A.A., Poghosyan G.Yu., Jivanian K.A.</i> Histochemical study of the bursa of fabricius after the partial hepatectomy	300
<i>Dilbaryan K.P., Arutunyan G.A., Kazaryan A.V.</i> Carbophose influence on phytoseiid mites	303
<i>Simonyan L.L., Nersesyan S.E., Voskanyan G.E., Spirin V.K. Maslova N.S., Zakharov V.M.</i> Efficiency of specific prophylactic of aphthosa in focus and unsuccessful stations	306
<i>Barseghyan S.G., Nersesyan S.E., Baghdasaryan E.S., Petrosyan G.R., Mikhlishin V.V., Gusev A.A.</i> Development and production test of antiaphthosal bivalent vaccine OA (Armenia-98)	309
<i>Gimoyan L.G.</i> The influence of the biopsychosocial factors on the morbidity and mortality of the stroke	312
<i>Gevorkova L.V.</i> Medico-genetic monitoring of congenital defects	315
<i>Hayrapetyan A.K.</i> Mortality rate of the Armenian population in the zone of Spitak earthquake	318
<i>Hayriyan A.P., Hayrapetyan A.K.</i> The indices of mortality in Armenian population according to medico-geographical regions	321
<i>Voskanyan V.S., Petrosyan F.R.</i> The connection between poisoning and structure of chlorinlocated combinations	325

History of Science

<i>Akopyan L.G., Charyan L.M.</i> Armenian national acid milk products matsoon and yughord ...	329
<i>Vardanian S.A.</i> Investigation of "Illustrated pharmaceutical dictionary" (ms. N 6594 of Mashtots Matenadaran)	334

Abstracts of deponated articles

<i>Malkhasyan A.M.</i> Obtention of mutant <i>Bacillus thuringiensis</i> with high insecticide activity ...	338
---	-----

<i>Hovhannisyan S.P.</i> Isoenzymes of D-amino acid oxidase of <i>Aspergillus niger</i> R-3	339
<i>Hovhannisyan S.P.</i> Activity of oxidases of D- and L-amino acid of <i>Aspergillus niger</i> R-3	340
<i>Agadjanyan A.A., Agadjanyan A.Kh., Chubaryan S.V., Davtyan M.A.</i> Effect of extracts of some medicinal plants on accumulation of biomass, amount of proline and exposure of active fraction stimulating growth of yeasts	341
<i>Agadjanyan A.A., Agadjanyan A.Kh., Martirosyan M.S.</i> Effect of some medicinal plants on activity of proline biosynthesis enzymes in yeasts <i>Candida guilliermondii</i>	342
<i>Minasyan Z.S., Agadjanyan A.Kh., Davtyan M.A.</i> The enzymes of proline catabolism and regulation of their activity in different organs of sazan <i>Cyprinus carpio</i>	343
<i>Agadjanyan A.Kh., Martirosyan M.S.</i> New way of proline biosynthesis in haricot beetlefly <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say	344

Chronics

<i>Hovhannesian E.A.</i> Actual interest of problems of gender and youth during realization of reform in academical system	345
To memory of S.A. Simonyan	347

1500/13

Сдано в набор 25.XI. 01 г. Подписано к печати 26. XII. 01 г. ВФ 02824
Бумага офсет 1. Печать офсетная. Усл. печ. лист 4.5. Усл. печ. лист 4.9
Тираж 250.

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

Издательство "Эдит Принт", Туманяна 12.