

դամ: Արածեցումը վատթարացնում է նաև բույսերի զինհրատիվ բաղմացումը, որի հետևանքով փոխվում է համակեցություն հասակային հարաբերակցությունը, որտեղ հիմնականում գերակշռում են ծեր անհասաները:

QUANTITY AND AGE COMPOSITION OF ALPINE CARPET COMMUNITIES OF THE MOUNTAIN ARAGATS

A. N. ZIROYAN, S. A. BALOYAN

On the forbidden plot the amount of plants is 7920—8528 and on the grazing plot — 4400—5024 plants/s. m. As a result of intensive grazing the seed resumption gets worse and consequently decreases the amount of plants on a unit area, increases the number of old plants and the population, in general, becomes regressive.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агабабян Ш. М. Горные сенокосы и пастбища. 341, М., 1959.
2. Агабабян Ш. М. Пробл. ботаники, 9, 212—218, 1967.
3. Агабабян Ш. М., Вонсеян Л. В. Пробл. ботаники, 8, 273—281, 1966.
4. Асланян Ш. Г. Изв. АН АрмССР, биол. и с-х науки, 9, 12, 41—48, 1956.
5. Магакьян А. К. Растительность Армянской ССР. 276, М.—Л., 1941.
6. Магакьян А. К. Тр. Ереванского зооветеринарного института, 8, 261—329, 1944.
7. Наринян С. Г. Бот. журнал, 47, 5, 767—771, 1962.
8. Наринян С. Г. Пробл. ботаники, 8, 231—245, 1966.
9. Работнов Т. А. Пробл. ботаники, 1, 465—483, 1950.
10. Шур-Багдасарян Э. Ф. Тр. Ин-та почвоведения и агрохимии, 2, 377—386, 1963.
11. Шур-Багдасарян Э. Ф. Тр. Ин-та почвоведения и агрохимии, 4, 405—421, 1968.
12. Шур-Багдасарян Э. Ф. Тр. Ин-та почвоведения и агрохимии (серия эрозии почв), 7, 109—159, 1973.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVII, № 6, 1984

УДК 579.222.3:579.253.44:577.112.382.6

БИОСИНТЕЗ L-ВАЛИНА АУКСОТРОФНЫМИ МУТАНТАМИ SERRATIA MARCESCENS АЗЛ-Р28

А. О. АРМАНДЖЯН, М. Г. ОГАНЕСЯН

У DL-4-азалайцинрезистентного мутанта *Serratia marcescens* АЗЛ-Р28, продуцирующего аминокислоты L-валин и L-лейцин, под действием нитрозогуанидина были индуцированы различные мутации к ауксотрофности. Мутация к лейцин-зависимости приводит к снижению уровня биосинтеза валина, и наоборот, потребность в валине сопровождается утратой лейцинпродуцирующей активности. В то же время потребность в изолейцине приводила к более чем двухкратному увеличению уровня синтеза L-валина. В результате проделанной работы удалось отселекционировать активный продуцент L-валина.

Ключевые слова: DL-4-азалайцин, ауксотрофные мутанты, аналогрезистентные мутанты, валин, лейцин.

Микробиологический синтез свободных аминокислот (глутаминовой кислоты, лизина, валина, лейцина, пролина, орнитина и др.) в настоящее время представляет собой важную область микробиологической промышленности. Валин—одна из незаменимых аминокислот, входящая в состав почти всех белков. Этим обусловлена необходимость разработки промышленных методов ее получения, в том числе путем микробиологического синтеза [6, 7, 13].

В процессе роста и развития нормальных микробных клеток, как правило, не накапливается избытка метаболитов, в том числе и аминокислот. Благодаря гибким внутриклеточным механизмам регуляции синтез последних осуществляется координированно, лишь в количествах, необходимых для жизнеобеспечения микроорганизма. В противоположность нормальным, у мутантных штаммов микроорганизмов в результате генетических повреждений и обусловленных этим нарушений нормальных путей метаболизма синтезируется избыток аминокислот, который выделяется из клеток и накапливается в культуральной жидкости [1, 4, 10]. Ранее сообщалось, что регуляторные, аналогрезистентные мутанты *S. marcescens* накапливают в культуральной жидкости (КЖ) значительные количества валина и лейцина [2].

В настоящей работе изучалось влияние мутаций к аукоотрофности на способность регуляторных мутантов *S. marcescens* накапливать в культуральной жидкости l-валин и l-лейцин.

Материал и методика. Объектом исследования был штамм *S. marcescens* АЗЛ-Р28, синтезирующий одновременно значительные количества валина и лейцина. Штамм АЗЛ-Р28 получен как спонтанный, устойчивый к DL-4-азалаецину мутант от дикого штамма *S. marcescens* ATCC 9986. Аукоотрофные мутанты получены обработкой N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидином в концентрации 100 мкг/мл, в цитратном буфере (рН 5,5) в течение 30 минут. Отбор мутантов проводился по Ледербергу [12]. Потребность в факторах роста определялась по Холлидею [9].

Способность к накоплению аминокислот определялась после ферментации в колбах Эрленмейера емкостью 250 мл в течение 72 ч при 30° на поступательных качалках (140 колебаний/мин) на модифицированной среде Кисуми [11] при объеме ферментационной жидкости 10 мл. Содержание аминокислот в КЖ определялось методом бумажной хроматографии в системе n-бутанол—вода—уксусная кислота (4:5:1). Проявителем служил ингибрил. Пятна элюировали в системе этанол—вода—хлористый калий. Количество аминокислот определялось колориметрически [5].

Питательными средами для выращивания бактерий служили мясо-пептонный бульон (МПБ), минимальная среда Девиса [8]. Основную минимальную среду (ОС) для идентификации аукоотрофных мутантов готовили на основе среды Девиса с добавлением необходимых факторов роста: DL-аминокислоты (40 мкг/мл), L-аминокислоты (20 мкг/мл), азотистые основания (5 мкг/мл), витамины (1 мкг/мл). Среда уплотнялась добавлением 1,2% агар-агара. В качестве ферментационной среды для определения аминокислоту продуцирующей активности мутантов служила среда Кисуми [11]. Значение рН всех сред 7,0—7,3.

Результаты и обсуждение. Дополнительная мутация к аукоотрофности нередко приводит к значительному повышению аминокислоту продуцирующей активности аналогрезистентных мутантов [3, 11]. С целью проверки влияния дополнительных мутаций к аукоотрофности на DL-4-азалаецинустойчивый штамм *S. marcescens* АЗЛ-Р28 суспензия этой культуры в логарифмической фазе роста обрабатывалась нитрозогуанидином, и из ее рассева методом отпечатков выделялись мутанты.

В табл. 1 приведены частоты встречаемости этих мутантов в рассевах после обработки нитрозогуанидином.

Таблица 1

Частота встречаемости ауксотрофных мутантов при индуцированном нитрозогуанидином мутагенезе

Исходный штамм	Проверено бактериальных клеток	Обнаружено ауксотрофов	Частота выхода ауксотрофов на 10^{-4} клеток
АЗЛ-Р28 <i>S. marcescens</i>	7920	74	9,3

Таким способом было выделено и идентифицировано, по Холлидею, 40 ауксотрофных мутантов, классификация которых приведена в табл. 2.

Таблица 2

Классификация ауксотрофных мутантов штамма *S. marcescens* АЗЛ-Р28 по потребностям в факторах роста

Класс ауксотрофных мутантов	Количество мутантов	Число классов	Доля, %
Моноауксотрофы	17	9	42,5
Диауксотрофы	8	4	20,0
Полиауксотрофы	5	2	12,5
Неидентифицируемые	10	0	25,0
Всего	40	15	100,0

Число классов ауксотрофов определялось по количеству потребностей. Например, 17 моноауксотрофных мутантов нуждались для нормального роста в 9 различных соединениях. Из общего количества ауксотрофных мутантов отбирались те, которые нуждались в лейцине, изолейцине и валине.

Влияние ауксотрофных мутаций на биосинтетическую активность исходного штамма определялось в условиях колбочной ферментации. Усредненные результаты серийных ферментаций лейцин-, изолейцин- и валинзависимых мутантов по определению их способности накапливать в КЖ аминокислоты приведены в табл. 3.

Таблица 3

Влияние ауксотрофных мутаций на биосинтез L-валина и L-лейцина у штамма *S. marcescens* АЗЛ-Р28

Наименование культуры	Генотип	Накопление L-валина, %	Накопление L-лейцина, %
Исходный штамм АЗЛ-Р28	azi^R прототроф	100	100
Л-6	azi^R, leu^-	83	0
Л-10	azi^R, leu^-	56	0
Л-11	azi^R, leu^-	сл*	0
И-15	azi^R, ile^-	185	сл
И-19	azi^R, ile^-	212	сл
И-20	azi^R, ile^-	228	сл
В-114	azi^R, val^-	0	0

Сл.*—следовые количества.

Было обнаружено, что потребность в лейцине приводит к снижению валинпродуцирующей активности исходной аналогрезистентной культуры АЗЛ-Р28. Ауксотрофность по изолейцину приводит практически к утрате лейцинпродуцирующей способности штамма АЗЛ-Р28 с одновременным двухкратным увеличением биосинтеза валина. Валинзависимый мутант утрачивает способность к биосинтезу валина и накоплению в КЖ лейцина.

Проделанная работа позволила отселекционировать продуценты l-валина, по уровню синтеза аминокислот более чем вдвое превосходящие исходную аналогрезистентную культуру *S. marcescens* АЗЛ-Р28.

Армянский филиал Всесоюзного научно-исследовательского института генетики и селекции промышленных микроорганизмов
(филиал ВНИИгенетика)

Поступило 15.II.1983 г.

L-ՎԱԼԻՆԻ ԿԵՆՍԱՍԻՆԹԵԶԸ *SERRATIA MARCESCENS* АЗЛ-Р 28-ի ԱՌԻՔՍՈՏՐՈՓՅ ՄՈՒՏԱՆՏՆԵՐԻ ՄԱՏ

Ա. Հ. ՀԱՐՄԱՆՅԱՆ, Մ. Գ. ՕԳԱՆԵՍՅԱՆ

l-վալին և l-լեյցին արտադրող *S. marcescens* АЗЛ-Р28 DL-4 ազալեյցինեկայուն մուտանտի մոտ նիտրոզոգուանիդինի ազդեցությամբ մակաթվի են աուքսոտրոֆոսթյան տարրեր մուտացիաներ: Լեյցինային մուտացիան հանգեցնում է վալինի կենսասինթեզի մակարդակի իջեցմանը և, ընդհակառակը, վալինային մուտացիան ուղեկցվում է լեյցին արտադրելու ակտիվության կորստով: Միաժամանակ իզոլեյցինի նկատմամբ պահանջն առաջացնում է l-վալինի սինթեզման մակարդակի ավելի քան կրկնակի ավելացում: Կատարված աշխատանքի շնորհիվ հաջողվել է ստանալ l-վալինի ակտիվ պրոդուցենտ:

L-VALINE BIOSYNTHESIS BY *SERRATIA MARCESCENS* AZL-R28 AUXOTROPH MUTANTS

A. H. HARMANJIAN, M. G. OGANESSIAN

Several auxotroph mutations have been induced in l-valine and l-leucine, producing DL-4-azaleucine-resistant *Serratia marcescens* AZL-R28 strain. After nitrosoguanidine treatment several auxotroph mutants have been isolated. Leucine auxotrophs decrease the level of valine biosynthesis, whereas valine-dependent mutants have no leucine producing activity. On the other hand, isoleucine auxotrophs have approximately 2fold higher level of l-valine biosynthetic activity. The active l-valine producing strain has been isolated.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арманджян А. О. Тез. докл. Юбилейная сессия, посвящ. 60-летию установления Советской власти в Армении, 13, 1980.
2. Арманджян А. О., Квачко Т. В., Оганесян Г. Г. Тез. докл. VI съезда Всесоюз. микробиол. общ-ва, Рига, 4, 15, 1980.

3. Степанов А. И. Цитология и генетика, 4, 9, 365—371, 1975.
4. Зайцева З. М. В сб.: Успехи микробиологии, 11, 152—174, М., 1976.
5. Кара-Мурза С. Н., Тимохина Е. А., Жданова Н. И. Прикладная биохимия и микробиология, 17, 6, 813—819, 1981.
6. Патент Японии, 53—25034, 1978.
7. Chattopadhyay S. P., Banerjee A. K. Z. allg microbiol, 18, 4, 243—254, 1978.
8. Davis B. D., Mingoll E. S. J. Bacteriol, 60, 17—18, 1950.
9. Holliday R. Nature, Lond., 3, 987, 1956.
10. Kisumi M., Komatsubara S., Chibata J. Amino Acid and Nucl. Acid., 20, 178, 1968.
11. Kisumi M. In: Genetics of Industrial microorganisms, Academia, Prague, 267—287, 1973.
12. Lederberg J., Lederberg Z. M. J. Bacteriol, 63, 399, 1952.
13. Takayasu T., Fumiro J., Kubota K., Momose H. Amino Acid and Nucl. Acid., 32, 30—33, 1976.

«Биолог. ж. Армения», т. XXXVII, № 6, 1984

УДК 613.63.546.77

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПО ОРГАНАМ МОЛИБДЕНА И НЕКОТОРЫЕ СТОРОНЫ ЕГО БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА КРЫС

А. А. ПЕТРОСЯН, Т. Г. КАРАПЕТЯН, Н. П. МАНУКЯН,
А. Г. ГАСПАРЯН, Л. О. ЧАЛКАДРЯН

Показано, что ингаляционная заправка крыс пылью молибдена в разные сроки приводит к максимальному накоплению элемента в сердечной мышце, затем в почках и селезенке. С 10-х суток до конца заправки (4 месяца) максимальный уровень его обнаруживается в легких. Через месяц после прекращения заправки концентрация молибдена снижается во всех изученных органах, хотя и в этот срок в селезенке, легких и в сердечной мышце обнаружены высокие концентрации элемента. Это указывает на относительно прочную связь части молибдена с биоструктурами этих органов. Показано также достоверное снижение концентрации ДНК в печени и изменение молярного содержания азотистых оснований.

Ключевые слова: молибден, распределение по органам.

Вопросы, связанные с изучением распределения металлов по органам и тканям организма, механизмов связывания их с биокомпонентами клетки, степени их фиксации, а также изыскание средств, ускоряющих их выведение из организма, представляют определенный научно-практический интерес. Это в полной мере относится и к молибдену, о биологической активности которого при поступлении в организм в избыточных количествах имеются разные мнения [1, 2, 7, 8]. Ранее нами было изучено распределение и выведение молибдена при различных путях однократного поступления в организм разных видов животных. Однако, чтобы судить о депонировании элемента в том или ином органе, скоростях выведения его, а также о прочности его фиксации в биосубстратах, необходимы данные о повторных и длительных поступлениях элемента в организм. В данном сообщении приводятся результаты изучения этих