

78.4-8/2
1990



საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР
PROCEEDINGS OF THE ACADEMY OF SCIENCES
OF THE GEORGIAN SSR

ბიოლოგიის
სერია
СЕРИЯ
БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1990 N5

თბილისი • თბილ
ТБИЛИСИ • ТОМ
TBILISI • VOL.

16

СПИСОК РАЗДЕЛОВ БИОЛОГИИ,
ПО КОТОРЫМ ПРИНИМАЮТСЯ СТАТЬИ

Теоретическая биология
Физиология человека и животных (норм. и патол.)
Морфология
 Анатомия
 Эмбриология и гистология
 Цитология
 Патологическая морфология
Биохимия
Фармакология
Ботаника (экспер. и теорет.)
Физиология растений
Зоология (экспер. и теорет.)
Энтомология
Паразитология
Гельминтология
Палеобиология
Биогеоценология
Экология
Микробиология
Вирусология
Иммунология
Генетика
Радиобиология
Биофизика
Молекулярная биология
Бионика и биокibernетика

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე

(Сакартвелოს ССР მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე,
ბიოლოგიის სერია)

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР



ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 16, № 5
Том

ჟურნალი დაარსებულია 1975 წლის იანვარში
Журнал основан в январе 1975 года
გამოდის წელიწადში 6-ჯერ
Выходит 6 раз в год

თბილისი
ТБИЛИСИ

„მეცნიერება“
«МЕЦНИЕРЕБА»

• 1990

სარედაქციო კოლეგია:

მთავარი რედაქტორი ვ. ოკუჯავა

მთავარი რედაქტორის მოადგილე თ. ონიანი

სწავლული მდივანი გ. ბეკაია

ლ. გაბუნია, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, გ. კანდელაკი,

კ. ნადარეიშვილი, გ. ნახუცრიშვილი, გ. სანაძე, ბ. ყურაშვილი, თ. ქანიშვილი,

ნ. ჯავახიშვილი

პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор В. М. Окужава

Зам. главного редактора Т. Н. Ониани

Ученый секретарь Г. Л. Бекаия

Л. К. Габуня, Н. А. Джавахишвили, М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки,
Б. Е. Курашвили, К. Ш. Надарейшвили, Г. Ш. Нахуцришвили, Г. А. Санадзе,
Г. Д. Туманишвили, Т. Г. Чанишвили

Ответственный секретарь С. Р. Лабадзе

EDITORIAL BOARD:

Editor-in-Chief V. M. Okujava

Associate Editor T. N. Oniani

Editorial Secretary G. L. Bekaiia

T. G. Chanishvili, N. A. Djavakhishvili,

L. K. Gabunia, G. V. Kandelaki, B. E. Kurashvili,

K. Sh. Nadareishvili, G. Sh. Nakhutsrishvili,

G. A. Sanadze, G. D. Tumanishvili, M. M. Zaalishvili

Executive Secretary S. R. Labadze

© Известия АН ГССР

Серия биологическая, 1990

რედაქციის მისამართი:

380060, თბილისი-60, კუტუზოვის ქ. 19,

ტელ. 37-86-78

Адрес редакции:

380060, Тбилиси-60, ул. Кутузова, 19,

тел. 37-86-78

СОДЕРЖАНИЕ — შიგნადაცხადი — CONTENTS

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| И. М. Айвазашвили, Д. Э. Гелиташвили-Папидзе. Особенности общего поведения, а также формирование поведения в лабиринте у крыс, подвергнувшихся облучению в период раннего постнатального онтогенеза | 293 |
| ი. აივაზაშვილი, დ. გელიტაშვილი-პაპიძე. ზოგადი ქცევისა და ლაბირინთში ქცევის გამოწვევების თავისებურებანი პოსტნატალური ონტოგენეზის ადრეულ პერიოდში | |
| I. M. Aiva zashvili, D. E. Gelitashvili-Papidze. The peculiarities of acquisition of general behaviour and maze learning in rats subjected to irradiation | |
| И. А. Кобаидзе. Биоаминергическая иннервация зрительной системы | 298 |
| ი. კობაიძე. მხედველობითი სისტემის ბიოამინერგული ინერვაცია | |
| I. A. Kobaidze. Bioaminergic innervation of the visual system | |
| М. Ш. Пирихалайшвили. Связь переднего бугра четверохолмия и ядер претектальной области с ипсилатеральной корой больших полушарий у кошки | 303 |
| მ. ფირცხალაიშვილი. კატის ოთხგორაკის წინა ბორცვისა და პრეტექტალური უბნის ბირთვების კავშირის დიდი ტვინის იფსილატერალური ჰემისფეროს ქერქთან | |
| M. Sh. Pirikhalaishvili. Connections of the superior colliculus and pre-tectal nuclei to the ipsilateral cerebral cortex in the cat | |
| Н. В. Курашвили, П. В. Пахуридзе. Некоторые вопросы иммунологии трихомоноза | 309 |
| ნ. ყურაშვილი, ფ. ფახურაძე. ტრიქომონოზის იმუნოლოგიის ზოგიერთი საკითხები | |
| N. V. Kurashvili, P. V. Pakhuridze. Some questions of immunology of trichomoniasis | |
| Г. С. Аваков. Флора Елтуры: опыт определения возраста по процентным соотношениям отпечатков листьев разных морфологических типов | 314 |
| გ. ავაკოვი. ელტურის ფლორა: ასაკის განსაზღვრის ცდა სხვადასხვა მორფოლოგიური ტიპის ფოთლის ანაბეჭდების პროცენტული თანფარდობით | |
| G. S. Avakov. The flora of Eltura: An attempt of age determination by percentage of leaf imprints of various morphological types | |
| Т. Г. Габисония, И. Г. Чиракадзе, Д. П. Чиквиладзе, М. А. Чиджавадзе, Л. А. Чиковани, Т. С. Иосебашвили, Т. Г. Чанишвили, Н. Д. Петриашвили, Т. С. Кереселидзе. Распространение R-плазмид в госпитальных штаммах Proteus | 318 |
| ტ. გაბისონია, ი. შირაქაძე, დ. ჩიქვილაძე, მ. ჩიჯავაძე, ლ. ჩიქოვანი, თ. იოსებაშვილი, თ. ჭანაშვილი, ნ. პეტრიაშვილი, თ. კერესელიძე. R-პლაზმიდების გავრცელება პროტეუსის ჰოსპიტალური შტამებში. | |
| T. G. Gabisonia, I. G. Chirakadze, D. P. Chikviladze, M. L. Chijavadze, L. A. Chikovani, T. S. Iosebashvili, T. G. Chanishvili, N. D. Petriashvili, T. S. Kereselidze. Spreading of R-plasmids in proteus hospital strains | |
| Н. В. Аладашвили, М. Я. Ткешелашвили, Э. М. Метревели, В. Ш. Берикашвили, Д. А. Долидзе. Получение кормовых добавок микробиологической конверсией отходов сельского хозяйства и пищевой промышленности | 325 |



6. ალადაშვილი, მ. ტყეშელაშვილი, ე. მეტრეველი, ვ. ბერიკაშვილი, ჯ. დოლიძე. სოკოს მეურნეობის და კვების მრეწველობის ანარჩენებიდან მიკრობიოლოგიური კონვერსიის გზით ცხოველური საკვების დანამატის მიღება

N. V. Aladashvili, M. I. Tkeshelashvili, E. M. Metreveli, V. Sh. Berikashvili, D. A. Dolidze. To obtain additional fodder through microbiological conversion of agricultural and food industry wastes by micromycetes

M. A. Darsavelidze, T. P. Kratasyuk, T. G. Chanishvili, J. S. Karanadze, L. D. Peremitina, V. F. Malisheva, N. A. Kapirina, A. A. Berillo. Разработка стандартной системы для определения литической активности псевдомонасы бактериофага

330

მ. დარსაველიძე, ტ. კრატასიუკი, თ. ჩანიშვილი, ჯ. კარანაძე, ლ. პერემიტინა, ვ. მალიშევა, ნ. კაპირინა, ა. ბერილო. პიოციანული ბაქტერიოფაგის ლიზისური აქტივობის განსაზღვრის სტანდარტული სისტემის დამუშავება

M. A. Darsavelidze, T. P. Kratasyuk, T. G. Chanishvili, J. S. Karanadze, L. D. Peremitina, V. F. Malisheva, N. A. Kapirina, A. A. Berillo. The elaboration of standard system for the determination of lytic activity of pseudomonas aeruginosa bacteriophage

T. T. Beriashvili. Гибридный некроз и гетерозис у пшеницы

336

ტ. ბერიშვილი. ჰიბრიდული ნეკროზი და ჰეტეროზისი ზორბლებში.

A. P. Egiazarova, G. V. Mikadze, M. M. Melikishvili, T. M. Eristavi, V. A. Mkhchian. Изменение конформации реконструированного актомиозина под влиянием тропомиозина

341

ა. ეგიზაროვა, გ. მიქაძე, მ. მელიქიშვილი, თ. ერისთავი, ვ. მხჩიანი. რეკონსტრუირებული აქტომიოზინის კონფორმაციის ცვლილება ტროპომიოზინის თანამყოფობისას

A. R. Egiazarova, G. V. Mikadze, M. M. Melikishvili, T. M. Eristavi, V. A. Mkhchian. The change of reconstructed actomyosin conformation under the influence of tropomyosin

G. V. Tivadze, M. D. Kandelaki, G. I. Danelia. Адсорбция фузикоццины и транспорт гидрофобных ионов на бислойной липидной мембране

347

გ. ტივაძე, მ. კანდელაკი, გ. დანელია, ფუზიკოცინის ადსორბცია და ჰიდროფობულ იონთა ტრანსპორტი ბისრულ ლიპიდურ მემბრანაზე.

G. V. Tivadze, M. D. Kandelaki, G. I. Danelia. Adsorbition of fusisococcin and transport of hydrophobic ions on bilayer lipid membrane

Краткие сообщения

შოკლე წერალები

Short Communications

I. L. Amaglobeli. Влияние артериальной гипертензии на химическую чувствительность дорсомедиального ядра гипоталамуса

354

ი. ამაღლობელი. არტერიული ჰიპერტენზიის გავლენა ჰიპოთალამუსის დორსომედიალური ბირთვის ქიმიურ მგრძობებლობაზე.

I. L. Amaglobeli. The effect of chemical stimulation of dorsomedian nuclei of hypothalamus on the functional state of the heart in arterial hypertension

P. I. Shonia. Значимость вентрикуло-атриальной проводимости при парной электростимуляции желудочков

357

რ. შონია. რეტროგრადული გამტარებლობის როლი გამაიშვიათებელი ელექტროსტიმულაციის დროს

R. I. Shonia. The role of the ventriculo-atrial conduction in VVP pacing

УДК 612.821

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ*

**ОСОБЕННОСТИ ОБЩЕГО ПОВЕДЕНИЯ, А ТАКЖЕ
ФОРМИРОВАНИЕ ПОВЕДЕНИЯ В ЛАБИРИНТЕ У КРЫС,
ПОДВЕРГНУВШИХСЯ ОБЛУЧЕНИЮ В ПЕРИОД РАННЕГО
ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА***

И. М. Айвазашвили, Д. Э. Гелиташвили-Папидзе

Институт физиологии им. Н. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 06.04.89

19.4.89

Опыты проводились на белых беспородных крысах. Установлено, что однократное локальное облучение головы у крыс на пятый день постнатальной жизни рентгеновыми лучами (доза 7,0 Гр) вызывает существенное нарушение деятельности центральной нервной системы животного. Оно проявляется как в комплексе патологических отклонений в общем физическом развитии животного, так и в расстройстве его общего поведения. Большинство нарушений у животных исчезают полностью в среднем на 35-й день постнатальной жизни. Кроме того, облучение вызывает существенное замедление у животных формирования поведения в лабиринте эстакадного типа. Высказывается предположение, что эффекты облучения в наших опытах обуславливались нарушением нормального хода миелинизации центральной нервной системы животного.

К настоящему времени накопилась большая литература, посвященная вопросам действия ионизирующей радиации на общее поведение и высшую нервную деятельность животных [1, 2, 3, 5, 7, 8]. Однако многие вопросы все еще не решены и ряд положений остается дискуссионным. Так, на сегодняшний день вопрос о радиочувствительности высшей нервной деятельности взрослого животного остается предметом дискуссий. Что касается растущих организмов, то показано, что степень функциональных и структурных нарушений центральной нервной системы зависит от срока нанесения, дозы и характера об-

лучения. Причем эти исследования касаются, главным образом, изучения поведения и высшей нервной деятельности животных, облученных в антенатальном периоде [1, 3, 4, 6]. Менее систематически изучалось влияние облучения на те же функции мозга на ранних стадиях постнатального онтогенеза.

Исходя из этого, в настоящей работе изучались скорость формирования поведения в лабиринте, а также поведение в условиях открытого поля у крыс, подвергнувшихся облучению в раннем периоде постнатального развития.

МЕТОДИКА

Опыты проводились на беспородных белых крысах. На 5-й день пост-

натальной жизни производилось изолированное облучение рентгеновыми лучами головы животного (остальная часть тела экранировалась свинцовой пластинкой толщиной 6 мм). Подопытные животные (шесть крыс одного помета) облучались на специальной установке типа РУТ-11. Условия

* Авторы выражают благодарность члену-корреспонденту АН СССР А. И. Ройтбаку и члену-корреспонденту АН ГССР К. Ш. Надарейшвили за интерес, проявленный к этой работе, и ценные указания.

облучения: напряжение — 260 кВ; сила тока — 15 мА, фильтр — АЛ — 1 мм + Си 0,5 мм, мощность дозы — 7,0 Гр в течение 5 мин при расстоянии 30 см. Контрольная группа, также состоявшая из шести крыс того же возраста, находилась в тех же условиях, но не подвергалась облучению. Доза и день облучения были выбраны на основе литературных сведений, согласно которым у крысят облучение на 5-й день постнатальной жизни дозой 7,0 Гр/мин вызывает задержку процесса миелинизации центральной нервной системы [9].

Поведение вырабатывалось у крыс в лабиринте эстакадного типа (рис. 1). Он состоял из планок, шириной 12 см, длиной 70 см, установленных

бежки по кратчайшему пути лабиринта. Регистрировалось время, затраченное на прохождение лабиринта. Измерение начиналось с момента укладки крысы на стартовую площадку и продолжалось до тех пор, пока она не достигала цели — спускалась по лестнице в ящик. Каждый отрезок лабиринта был пронумерован так, что запись номеров во время передвижения животного к цели позволяла фиксировать и траекторию пути передвижения. Для исключения обонятельных меток путь лабиринта после каждого его прохождения крысой тщательно очищался слабым раствором спирта.

Методом открытого поля у крыс регистрировались двигательная и эмо-

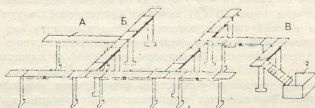


Рис. 1. Лабиринт эстакадного типа: А — стартовое отделение; Б — лестница; Г — ящик-гнездо

в виде мостиков на стойке, высотой 30 см. Крыс сажали на стартовую площадку (мостик А) и обучали бегать по таким мостикам, находить лестницу и затем спускаться по ней в ящик-гнездо, в котором обычно находились животные во время экспериментов. За каждый опытный день животное испытывалось в лабиринте три раза с интервалом 2—3 мин. Критерием прочности, выработанного навыка считались 3 последовательные по-

циональная активность. Открытое поле было разделено на 16 маленьких квадратов. Лампочка (75 В) с высоты 1,5 м освещала открытое поле в центре. Поведенческие параметры записывали в течение 3 мин: регистрировались число заходов в центре поля и пересечения квадратов, вертикальная стойка, продолжительность груминга и неподвижности животного, а также количество дефекации (шариков-большосов) и урикации.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Облучение рентгеновыми лучами вызывало у подопытных животных целый комплекс патологических отклонений в физическом развитии, которые особенно четко проявлялись в процессе роста животного. Облученные крысы существенно отставали от контрольных сверстников по размерам и массе тела. Так, на 25-й день жизни (т. е. на 20-й день после облу-

чения) масса подопытных крысят в среднем составляла 24 г, а масса контрольных — 23 г. Следует отметить, что существенная разница по данным показателям между животными наблюдалась и в возрасте 3-х месяцев. К этому возрасту масса контрольных животных составляла 110 г, а облученных — 85 г. Облученные животные прозревали несколько позже,



чем интактные: полное прозревание у крысят контрольной группы наступало на 12—14-й, а у опытных на 17—18-й день постнатальной жизни. У облученных крыс наблюдалась также задержка развития шерстного покрова на голове — в области облучения. Он появлялся у животных только с одномесячного возраста.

Кроме того, животные, подвергшиеся облучению, выглядели более вялыми и малоподвижными. Наблюдались весьма существенные дефекты в локомоции, они плохо стояли на ногах, передвигались с трудом, пошатывались, иногда перемещались «прыжками», тонус мышц задних конечностей был сильно понижен, при локомоции задние конечности располагались в стороны. При вертикальной стойке они держались на ногах непрочны, часто падали. Умывательно поведение (груминг), по сравнению с интактными животными, также было изменено: умывались они только одной лапой (левой или правой), опираясь при этом не только на задние конечности, как обычно, но и на свободную переднюю конечность.

Тестирование животных в открытом поле на 25-й день постнатального развития также выявило существенное различие в поведении животных. В частности, у облученных животных двигательная или локомоторная активность (судя по числу пересечения квадратов открытого поля) оказалась значительно сниженной, в среднем они пересекали в 6 раз меньше квадратов, чем контрольные. Кроме того, продолжительность полной неподвижности у облученных была во много раз больше, чем у контрольных. Таким образом, облучение вызывало резкое снижение поведенческой активности животных. Что касается показателей эмоционального состояния, количества дефекации (шариков-большов) и урикации, то достоверной разницы между животными не отмечалось.

Указанные нарушения (расстройства локомоции и других поведенческих параметров), по-видимому, следует приписать поражению центральных механизмов функциональной системы двигательного и вестибулярного анализаторов, вызванным действием ионизирующей радиации. Однако, следует отметить, что все изменения,

возникшие у крыс после облучения на 35-й день жизни в среднем исчезли полностью, за исключением тех, которые наблюдались в размере и массе тела. Они у облученных животных, как уже говорилось выше, отмечались и в возрасте 3-х месяцев.

Выработка поведения в лабиринте у крыс была начата на 35-й день жизни животных, т. е. через месяц после облучения. На первом этапе выработки крысы обучались спускаться по лестнице лабиринта (с мостика В) в гнездо. Крысята, впервые посаженные на последний мостик лабиринта, обычно задерживались на некоторое время и, обнаружив лестницу, спускались по ней в ящик медленно. После пяти испытаний время, затраченное на спуск, стабилизировалось, и животные быстро начинали спускаться вниз (контрольные — 9—20 с, а подопытные — 12—20 с).

На втором этапе крысята обучались находить кратчайший путь к гнезду со среднего мостика (мостик Б). В этом случае контрольные животные быстро, уже с третьего испытания, находили прямой, кратчайший путь до гнезда, и на прохождение всего пути они затрачивали в среднем 28 с. У подопытных животных вначале, при первых попытках, поиски цели были длительными и преобладали случайные, хаотические побежки в разные тупики лабиринта: часть животных даже возвращалась обратно на стартовую площадку. Но если в процессе поисковых движений они оказывались на последнем мостике лабиринта, т. е. вблизи от цели, то быстро поворачивались в сторону лестницы и спускались по ней в ящик. Со второго и третьего испытания движения осуществлялись целенаправленно, но с частыми задержками и заходами в разные тупики лабиринта, в результате чего животные более, чем в три раза медленнее находили путь к гнезду. В среднем они затрачивали на это 90 с.

На третьем, завершающем, этапе крысы обучались уже находить кратчайший путь к гнезду со стартового отделения лабиринта, с мостика А. Опыты проводились в течение трех дней. Большинство контрольных животных в конце первого дня опытов полностью справлялись с задачей, они уже с первых же испытаний на-

ходили путь к цели, хотя он был сложным и, соответственно, время, затраченное на прохождение лабиринта, было большим. На второй день путь движения к цели постепенно укорачивался и с третьего испытания крысы бегали уже по кратчайшему пути, т. е. выбирали оптимальную траекторию передвижения. Время прохождения всего лабиринта при этом составляло в среднем 9—10 с. Тестирование облученных крыс в этих же условиях опыта дало существенную разницу. В первый день опытов поведение крыс было замедленным, хаотичным, с многочисленными ошибками (заходами в разные тупики лабиринта). Время прохождения лабиринта до цели было у них в четыре раза больше, чем у контрольных. На

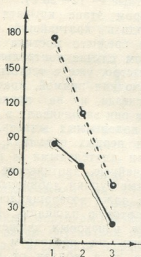


Рис. 2. Время прохождения лабиринта облученными и контрольными крысами: сплошная линия—контрольная, пунктирная—опытная группы; на оси абсцисс — опытные дни, ординат — время в с

второй день также отмечались хаотические побежки в разные стороны лабиринта. Крысы все еще с трудом находили путь к гнезду. Наблюдалась персеверация — навязчивое посещение одних и тех же тупиков лабиринта. Иногда они пытались прыгнуть с лабиринта. При этом отмечались частые урикации и дефекации, что указывало на нарастание эмоционального напряжения животного. На третий

день работы побежки по лабиринту уже стали целенаправленными. Как только крыс помещали в стартовое отделение лабиринта, они тут же начинали двигаться вперед в сторону гнезда. Однако все еще наблюдались «ошибки» и в результате время побежки всего лабиринта до цели было значительно большим, чем у контрольных и составляло в среднем 50—60 с (рис. 2).

Таким образом, сравнение результатов трехдневных опытов показало, что у облученных крыс формирование поведения в лабиринте происходило явно медленнее, чем у контрольных. Однократное локальное облучение головы у крыс на 5-й день постнатальной жизни рентгеновыми лучами (в дозе 7,0 Гр) вызывает существенное нарушение деятельности центральной нервной системы животного. Оно проявляется как в комплексе патологических отклонений в общем физическом развитии животного, так и в расстройстве его общего поведения. Большинство из этих нарушений у животных впоследствии, в среднем на 35-й день постнатальной жизни, исчезают полностью. Некоторые изменения в физическом развитии (изменения в размере и массе тела) наблюдаются и в поздней стадии постнатальной жизни, в возрасте 3-х месяцев. Кроме того, облучение в раннем постнатальном онтогенезе вызывает также расстройство высшей нервной деятельности животного, что, в частности, выражается в существенном замедлении у них формирования поведения в лабиринте. Механизмы перечисленных изменений требуют дальнейшего изучения. Однако уже сейчас можно высказать определенное предположение: не исключено, что в наших опытах эффекты облучения обуславливались нарушением нормального хода миелинизации центральной нервной системы животного [9].



საქართველოს
მეცნიერებათა
აკადემიის

ЛИТЕРАТУРА

1. Айрапетянц М. Г. Нарушение высшей нервной деятельности, вызванное антенатальным лучевым воздействием, «Наука», М., 1967.
2. Воеводина О. Н. Отдаленные результаты воздействия лучей Рентгена на высшую нервную деятельность собаки, «Медицина», Л., 1967.
3. Гольдберг М. Б. В кн.: Исследование нейрэмбриологического эффекта радиации (Под ред. проф. Пионтковского), «Наука», М., 1966.
4. Коломейцева И. А. Тр. Ин-та ВНД АН СССР, серия патофизиологии, 10, 71—81, 1962.
5. Ломонос П. И. Вестник рентгенологии и радиологии, 4, 30—36, 1953.
6. Пионтковский Н. А. Функция и структура мозга животного, облученного ионизирующей радиацией в антенатальном периоде, «Наука», М., 1964.
7. Семагин В. И., Антипов В. В. Компенсаторные возможности высшей нервной деятельности при облучении эмбрионов, «Наука», М., 1978.
8. Furchtgott E., Echels M., Openshaw J. Muze M. J. Comp. Physiol. Psychol., 51, 178—180, 1958.
9. Roitbak A. I. Neuroglia, Fisher-Verlag, Iena, 1983.

ზოგადი ძვევისა და ლაბირინთში ძვევის გამომუშავების თავისებურებანი კოსტნატალური ონტოგენეზის ადრეულ პერიოდში დასხივებულ თაგვებში

ი. აივაზაშვილი, დ. გელიტაშვილი-პაპიძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

უჯიშო თეთრ ვირთაგვებზე ჩატარებული ცდების შედეგად დადგენილია, რომ კოსტნატალური ონტოგენეზის მეხუთე დღეზე ვირთაგვების თავის რენტგენის სხივით ერთჯერადი, ლოკალური, დასხივება (დოზა 700 რენტგენი) იწვევს პათოლოგიურ გადახარათა მთელ კომპლექსს ცხოველის არა მარტო ფიზიკურ განვითარებაში, არამედ მის ზოგად ქცევაშიც. ცვლილებათა ძირითადი ნაწილი ცხოველებს

კოსტნატალური სიცოცხლის 35 დღეზე მთლიანად უჭრებათ. გარდა ამისა, დასხივება საგრძნობლად ანელებს აგრეთვე ცხოველის ინდივიდუალური ქცევის გამომუშავებას ესტაკადური ტიპის ლაბირინთში. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ჩვენს ცდებში დასხივების შედეგად გამოწვეული ცვლილებები განპირობებული უნდა იყოს ცენტრალური ნერვული სისტემის მიელინინიზაციის პროცესის შეფერხებით.

THE PECULIARITIES OF ACQUISITION OF GENERAL BEHAVIOUR AND MAZE LEARNING IN RATS SUBJECTED TO IRRADIATION IN THE PERIOD OF EARLY POSTNATAL ONTOGENESIS

I. M. AIVAZASHVILI, D. E. GELITASHVILI - PAPIDZE

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The experiments were carried out on albino rats. It has been established that a single local X-radiation (dose 7.0 Gy) of the rat's head on the 5th day of postnatal life evokes a number of pathological deviations in the animal's physical development, as well as the disturbances in its general behaviour. The majority of disturbances completely di-

appear on the 35 th day of postnatal life. In addition, the exposure evokes in animals a considerable delay in the acquisition of behaviour in the maze. It may be supposed that in our experiments the effects of X-radiation depend on the disturbance of myelination of the central nervous system.

УДК 612.82.615.015.44

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

БИОАМИНЕРГИЧЕСКАЯ ИННЕРВАЦИЯ ЗРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

И. А. Кобаидзе

Тбилисский государственный университет им. И. Джавахидови

Поступила в редакцию 06.02.89

Изучалось влияние электрического раздражения синего пятна (СП) и дорсального ядра шва (ДЯШ) на нейрональную активность латерального колленчатого тела (ЛКТ) и первичной зрительной области коры больших полушарий (поле 17). Было показано, что СП понижает порог возбудимости релейных нейронов ЛКБ и, таким образом, способствует поступлению сигналов в эти нейроны. СП аналогично действует и в отношении новой коры — облегчая активность пирамидных нейронов и способствуя поступлению к ним информации. Влияние ДЯШ оказалось противоположным — его электрическая стимуляция тормозит нейронную активность зрительной системы.

Исследование биогенных аминов в различных тканях животных и особенно в структурах центральной нервной системы (ЦНС) в последнее десятилетие приобрело широкий размах. Большое внимание к биогенным аминам объясняется тем, что они выполняют в организме важные и уникальные регуляторные функции. Уже на уровне низших позвоночных отмечаются две основные функции биогенных аминов: медиаторная и гормональная. Особенно значительно проявляются эти функции у млекопитающих.

Самыми крупными моноаминергическими структурами головного мозга являются СП и ядра шва. Они имеют обширные связи со многими отделами ЦНС, в том числе прямыми, моносинаптические — со структурами промежуточного и переднего мозга. Были высказаны предположения, что эти структуры участвуют в таких функциональных проявлениях, как цикл бодрствование—сон [6], процессы обучения, эмоциональная реактивность, стресс, адаптация к экспериментальным условиям среды [1], общая двигательная активность, сексуальные мотивации [5]. Очевидно, что

вышеперечисленные данные не исчерпывают все пути и возможности участия указанных ядер в регуляции различных физиологических систем организма, поэтому они продолжают оставаться предметом исследований многих экспериментаторов.

Данные о функциональных взаимоотношениях СП и ДЯШ с проекционными областями новой коры больших полушарий весьма малочисленны. Имеются предположки, что норадренергические и серотонинергические структуры играют немаловажную роль в деятельности зрительной системы. Серотонин способствует угнетению зрительных стимулов; при его истощении возникают зрительные галлюцинации [3]. После введения серотонина вышеописанный феномен быстро устраняется. Эти и другие факты указывают на то, что норадренергические и серотонинергические структуры должны играть немаловажную роль в нормальном функционировании передачи, восприятия и переработки зрительной информации и, следовательно, знание их значения в активности зрительной системы представляет определенный научный интерес.

Исследования велись на половозрелых кошках весом 2,5—4,5 кг. в условиях острого опыта. Животные оперировались под кеталаровым (15 мг/кг) наркозом и фиксировались в стереотаксическом станке. Для раздражения структур головного мозга применяли биполярные константные электроды с фабричной изоляцией. Вживление их происходило стереотаксическим методом. Спонтанная и вызванная активность нейронов зрительной коры регистрировалась внеклеточно при помощи стеклянных микроэлектродов, заполненных раствором хлористого натрия (3 моль/л). Сенсорные реакции нейронов ЛКТ и зрительной коры вызывались либо стимуляцией оптического тракта, ли-

бо диффузным освещением сетчатки с помощью мерцающего света. В ходе операции и в послеоперационный период особое внимание уделялось обезболиванию животного. В целях анестезии мягких тканей применяли 2% раствор новокаина. Эвтаназия животного производилась введением латентных доз нембутала.

В конце каждого опыта производили коагуляцию мозговой ткани пропусканием через отводящий (вольфрамовый) и раздражающий электроды постоянного тока силой 0,6 мА, длительностью 40 с. После фиксации мозга в растворе формалина проводили гистологическую проверку местоположения электродов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Были исследованы 230 нейронов поля 17, которые реагировали на раздражение вышеуказанных структур, среди них встречаются как спонтанноактивные, так и спонтаннонеактивные, так называемые «молчащие»

на, в случае же, когда на нейроне преобладает количество β -адренорецепторов, электрическое раздражение СП вызывает торможение нейрона. В наших опытах около 40% нейронов поля 17 реагируют на раздра-

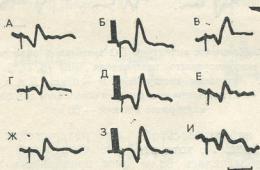


Рис. 1. Изменение амплитуды первичных ответов зрительной области коры после кондиционирующего раздражения СПМ (Б, Д, З — 5В, 50 Гц). Интервалы между Б и В — 0,5 с, Д — Е — 1 с, З — И — 2 с; моменты раздражения обозначены артефактами; калибровка времени — 50 мс

нейроны. Как известно, характер влияния СП на разные нервные комплексы значительно зависит от вида адренорецепторов иннервируемой клетки [2]. Если на нейроне преобладают α -адренорецепторы, то раздражение СП дает облегчение данного нейро-

жение СП. В подавляющем большинстве случаев наблюдалось учащение спонтанных разрядов нейрона (около 70%). Встречаются и такие нейроны, спонтанная активность которых подавляется на фоне стимуляции СП.

На спонтанную активность нейронов зрительной коры раздражение ДЯШ также оказывает неодинаковое влияние. Различное влияние зависит от функциональной неоднородности корковых нейронов. В отличие от СП, ДЯШ в большинстве случаев тормозяще действует на зрительные нейроны. По нашим данным раздражение ДЯШ вызывало торможение спонтанной активности 75% изученных нейронов зрительной коры; в 25% — отмечалось облегчение спонтанной ритмики.

Также изучалось изменение первичных ответов зрительной коры под влиянием раздражения СП и ДЯШ. Выяснилось, что кондиционирующая стимуляция СП вызывала усиление первич-

По характеру ответных реакций на фотостимуляцию (ФТС) нейроны зрительной коры можно разделить на две группы. Первую группу составляют нейроны, которые в ответ на ФТС генерируют тонические реакции: общее повышение или понижение частоты спонтанной активности. Вторая группа нейронов на вышеуказанное раздражение генерирует сложные «специфические» ответы с разным распределением разрядов во времени. Такое деление правомерно еще потому, что эти группы по-разному реагируют на кондиционирующие раздражения СП и ДЯШ. Раздражение СП вызывало усиление ответных реакций нейронов первой группы на ФТС, т.е., если сенсор-

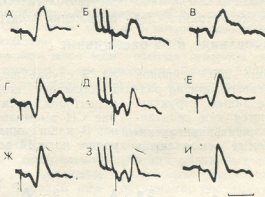


Рис. 2. Изменение амплитуды ПО зрительной области коры после кондиционирующего раздражения ДЯШ (Б, Д, З, —6В, 15Гц). Интервалы между Б и В — 0,5 с, Д и Е — 1 с, З и Е — 2 с; моменты раздражения обозначены артефактами; калибровка времени — 50 мс

ных ответов (ПО); наблюдалось облегчение обеих фаз (рис. 1), хотя отрицательная фаза облегчалась больше. Этот факт можно объяснить теми данными литературы [4], согласно которым восходящие аксоны СП оканчиваются на апикальных дендритах пирамидных нейронов новой коры, возбуждение которых выражается в отрицательной фазе ПО. В отличие от СП, раздражение ДЯШ вызывало в основном торможение ПО коры (рис. 2), при том одинаково угнетались обе фазы ответа. Следует отметить, что характер влияния указанных структур на ПО в некоторой степени изменчив; он может оказаться противоположным при удвоении интенсивности раздражения.

Раздражения вызывали облегчение спонтанной ритмики, то оно сильнее проявлялось после предварительной стимуляции СП, если же сенсорное раздражение тормозило спонтанную активность нейрона, то кондиционирующее раздражение СП углубляло это торможение.

Кондиционирующее раздражение ДЯШ в основном, обуславливало торможение вызванных ответов зрительных нейронов, при этом сильнее угнетались тонические ответы. Специфические ответы оказывались более устойчивыми при активировании ДЯШ.

По паттерну спонтанной и вызванной активности нейроны ЛКТ делят-ся на две группы. Такое деление ос-



новано в зависимости от функции нейронов — их рассматривают как релейные нейроны и интернейроны. Релейные нейроны отвечали 1—5 спайк-потенциалом относительно короткой латентности на одиночную стимуляцию оптического тракта и коротколатентным одиночным спайк-потенциалом на антидромное раздражение оптической радиации.

ся на фоне полного подавления спонтанной ритмики. С помощью антидромных раздражений удалось установить, что в основном нейроны, которые облегчали спонтанную активность, являются релейными.

Здесь же коснемся характера влияния ДЯШ на активность нейронов ЛКТ. Оказалось, что это влияние более однозначное (рис. 3). Для нейро-

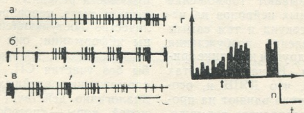


Рис. 3. Кондиционирующее раздражение ДЯШ, вызывающее торможение нейрона; моменты ФТС обозначены точками, раздражения ДЯШ — артефактами (4В, 100 Гц); Г — гистограмма 10-кратного повторения данного опыта на данном нейроне. Калибровка времени — 400 мс

Среди изученных нейронов были и спонтанноактивные и «молчащие» нейроны. Отметим, что «молчащие» нейроны в ЛКТ встречались более часто, чем в зрительной коре (поле 17).

нов ЛКТ ДЯШ является тормозящей структурой, что особенно четко выражается на релейных нейронах.

В настоящее время известно, что одной из главных функций ЛКТ яв-

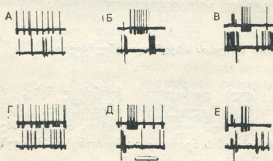


Рис. 4. Одновременная запись двух нейронов ЛКТ: А, Г — спонтанная активность, Б, Д — ответы нейронов на ФТС; В, Е — кондиционирующее раздражение СП (4В, 100 Гц). На осциллограммах: верхняя запись — интернейрон; нижняя — релейный нейрон; моменты раздражения обозначены артефактами; калибровка времени — 200 мс

На раздражение СП спонтанную активность меняли около 45% изученных нейронов. На раздражение СП не наблюдалось никаких специфических ответов, которые обычно генерируют-

ляется отбор тех сенсорных сигналов, которые следует передавать дальше. Установлено, что таламус человека в обычных условиях получает во много раз ($\approx 10^6$ бит/с) большую ин-

формацию, чем проекционные области коры головного мозга. В этом сложном процессе фильтрации, наоборот, участвует механизм возвратного торможения, который генерирует гиперполяризационный потенциал постсинаптической мембраны в релейных нейронах именно в тот момент, когда поступает информация от внешней среды. Этот своеобразный механизм работает как самоотключатель, благодаря которому вставочные интернейроны вызывают торможение таламо-кортикальных нейронов на несколько сот миллисекунд и тем самым блокируют проведение возбуждения то в одном, то в другом канатике зрительной радиации. В наших опытах было обнаружено, что ДЯШ и, особенно СП, эффективно влияют на продолжительность возвратного торможения: стимуляция СП вызывает сокращение длительности возвратного тор-

можения (рис. 4), а ДЯШ, наоборот, углубляет его. Такие изменения непременно должны сказываться на таламо-вертикальной импульсации, облегчая или тормозя ее. Таким путем СП и ДЯШ, видимо, принимают участие в фильтрации афферентных сигналов на уровне ЛКТ.

Таким образом, тормозя интернейроны, СП как бы «очищает» релейные нейроны от фонового торможения. Следовательно, понижается порог возбуждмости релейных нейронов и, в конечном счете, наверное возрастает количество поступающей в эти нейроны информации; они же получают и такие сигналы, которые не поступили бы без участия СП. Уменьшая фазы торможения релейных нейронов, СП аналогично действует и в отношении новой коры — способствует, по всей вероятности, усилению входной информации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Громова Е. А., Семенова Т. П. Поисковая активность, мотивация, сон. «Элим», Баку, 1981.
2. Dahlhof C., Ablad B., Waldak B. В кн.: Освобождение катехоламинов из ад-ренигических нейронов, „Медицина“, М., 1982, 82—95.
3. Dixit B. N., Bucley I. P. Life sci., 6, 755—758, 1967.
4. Fuxe K., Acta Physiol., 64, Suppl., 247, 37—85, 1965.
5. Mabry P., Campbell B. A. Brain Res., 49, 381—391, 1973.
6. Satoh T., Eguchi K., Watabe R. Physiol. and Behav., 22, 4, 741—745, 1979.

მხედველობითი სისტემის ბიოამინერგული ინერვაცია

ი. კობაიძე

ივ. ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რ ე ზ ი უ მ ე

ლურჯი ლაქისა (ლლ) და ნაკერის დორსალური ბირთვის (ნდბ) ელექტრული გაღიზიანებით გაირკვა, რომ ლლ ად-ვეილებს მხედველობის სისტემის ნეირონების აქტივობას თალამუსისა და ახალი

ქერქის დონეზე, რითაც ხელს უწყობს ინფორმაციის გატარებას, ხოლო ნდბ, პირიქით, იწვევს მხედველობის სისტემის ნეირონების შეკავებას.

BIOAMINERGIC INNERVATION OF THE VISUAL SYSTEM

I. A. KOBALDZE

I. Javakhishvili Tbilisi State University, USSR

S u m m a r y

The influence of electrical stimulation of locus coeruleus (LC) and the dorsal raphe nucleus (ndr) on the neuronal activity of the visual system was studied.

LC stimulation was shown to facili-

tate the activity of the visual neurons on the level of thalamus and neocortex providing thereby transmission of information, while ndr, on the contrary, caused their inhibition.

УДК 611.815

ГИСТОЛОГИЯ

СВЯЗЬ ПЕРЕДНЕГО БУГРА ЧЕТВЕРОХОЛМИЯ И ЯДЕР ПРЕТЕКТАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ С ИПСИЛАТЕРАЛЬНОЙ КОРОЙ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ У КОШКИ

М. Ш. Пирцхалайшвили

Тбилисский государственный педагогический институт им. Сулхан-Саба Орбелиани

Поступила в редакцию 26.12.88

Методом люминесцентного выявления ретроградного аксоплазматического транспорта примулина выявлена определенная топическая организация прямой связи переднего бугра четверохолмия (ПБЧ) и ядер претектальной области с темными ассоциативными (5, 7, 21) полями и с зоной Клэра—Бишопа (С—В). В передних отделах темной ассоциативной области коры (поле 5) и зоны С—В преимущественно представлены латеральные участки претектальных ядер и задне-латеральная часть ПБЧ, а в заднем отделе (поле 21) — медиальные участки претектальных ядер и передне-медиальная часть ПБЧ. В первичных зрительных (17, 18, 19) полях претектальные ядра и ПБЧ представлены без признаков топической организации.

По имеющимся литературным данным часть экстрагеникулярной зрительной информации без переключения в задне-латеральном таламусе поступает в различные по функциональной значимости корковые поля (1, 5, 6, 7, 10). Современные нейронатомические методы и электрофизиологические исследования выявляют сохранение определенной ретино-топической организации связей на различных уровнях как ретино-гени-

куло-кортикальной, так и ретино-текто-таламо-кортикальной (экстрагеникулярной) зрительных систем [9, 11, 12, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 23, 24].

Целью настоящего исследования являлось выявление организации прямых связей основного подкоркового образования экстрагеникулярной зрительной системы ПБЧ и ядер претектальной области с различными корковыми полями.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на половозрелых кошках, которым в стерильных условиях под нембуталовым наркозом (45 мг/кг) производили инъекции примулина (ЧЛА, Шосткинский завод химреактивов). Инъекции производились в поля зрительной, темной и латеральной супрасильвиевой области коры больших полушарий, в которых выявлена определенная топическая организация проекций таламических образований геникулярной — дорсальное ядро наруж-

ного коленчатого тела (НКТд) и экстрагеникулярной (ядра задне-латерального таламического комплекса) зрительных систем [3, 4, 8, 21]. Локализация каждой инъекции дается на рис 1. Для инъекции приготавливали водный раствор насыщенного при 37°C красителя, который вводили в объеме 0,5—1,5 мкл стеклянной микропипеткой 2—3 порциями по всей толще коры. По истечении 48—72 ч наркотизированных животных перфузировали 10%-ным формалином

на физиологическом растворе. Мозг извлекали и оставляли на ночь в 5%-ном формалине на 30%-ном водном растворе сахарозы в холодильнике (+4°C). Фронтальные срезы ипсилат-

воздухе. После заключения в 30%-ный водный раствор глицерина срезы просматривали в люминесцентном микроскопе «Люам-ИЗ» применяя систему светофильтров СС 15-6 и ЖС

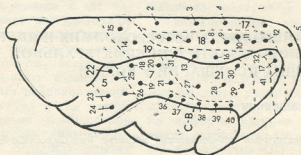


Рис. 1. Схематическое изображение локализации мест инъекций примулина в различные корковые поля

терального полушария толщиной 30 мкм получали на замораживающем микротоме, собирали в воду, натягивали на стекла и просушивали в

18 ЖЭС 19. Примулинсодержащие нейроны дают яркое желтое свечение цитоплазмы [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех случаях инъекций примулина в корковые поля меченые клетки обнаруживаются в области претектальных ядер и в слоях ПБЧ. После введения примулина в пределы первичных зрительных полей (17, 18 и 19) в претектальных ядрах и в ПБЧ метятся единичные крупные клетки. Распределение люминесцирующих клеток в обоих мозговых образованиях равномерное. Некоторое нарастание числа и скопление инициальных нейронов в задне-латеральной части переднего холма отмечается в случаях инъекций передней части поля 19 (случаи И 14, И 15). Самое большое число меченых клеток в ПБЧ отмечается в случаях инъекций задних частей поля 17 (случаи И 1, И 5), области представительства *area centralis*.

После инъекций маркера в кору 18 и 19 полей в претектальных ядрах и в ПБЧ уменьшается мечение крупных клеток и нарастает число меченых клеток средних и малых размеров. В случаях инъекций задней части поля 19 (И 32, И 17, И 41) почти полностью отсутствует метка в крупных клетках и метятся, главным образом,

клетки средних размеров в передне-медиальной части ПБЧ. Каких-либо признаков топической организации в распределении клеток в ядрах претектальной области, проецирующихся в 17, 18 и 19 корковые поля, не обнаружено.

В проекциях же от претектальных и тектальных клеток к передней и средней супрасильвиевой извилине (5, 7, 21 поля) отмечается выраженная топическая организация. Инъекции передней части супрасильвиевой извилины (случаи И 23, И 24) метят клетки малых и средних размеров (рис. 2А), в основном по области субоптического ядра — NSO (рис. 4а) и, в меньшей степени, в латеральной части ядра оптического тракта (Not) и заднего претектального ядра (Ppt). Более равномерное распределение меченых клеток отмечается после введения маркера в кору центральных участков средней супрасильвиевой извилины (случаи И 27, И 21 и И 20).

После введения примулина в задние отделы (рис. 2Р) средней супрасильвиевой извилины (случаи И 29, И 30) меченые клетки занимают,

главным образом, передне-медиальные участки ядра оптического тракта (Not) и заднего претектального (Ppt) и заднего претектального (Ppt). Меченые клетки, обнаруженные в ядрах претектальной области, во всех экспериментах характеризу-

сильвиевой извилины (рис. 3А,Р). Меченые клетки средних и малых размеров встречаются во всех слоях ПБЧ, большее их число занимает область оптического слоя (SO), уменьшаясь дорсально от него в поверхно-

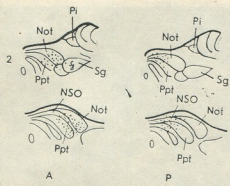


Рис. 2. Схематическое изображение распределения инициальных нейронов в ядрах претектальной области после введения примулина в переднюю (А) и заднюю (Р) области теменных ассоциативных полей

ются слабым свечением по сравнению с таковыми нейронов основных слоев дорсального ядра НКТд и ядер задне-латерального таламического комплекса.

стином сером слое (SGS). Меньшее число таких нейронов отмечается также вентральнее от SO, в промежуточном сером (SGJ) слое. При смещении мест инъекций в супрасиль-

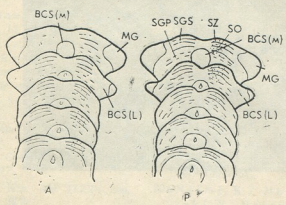


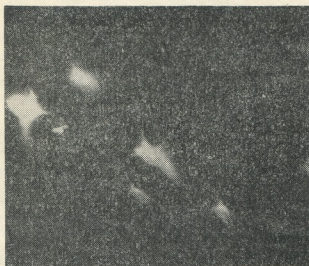
Рис. 3. Схематическое изображение распределения инициальных нейронов в ПБЧ после введения примулина в переднюю (А) и заднюю (Р) области теменных ассоциативных полей

Существенная разница в распределении меченых клеток отмечается также в ПБЧ после инъекций маркера в передние и задние части супра-

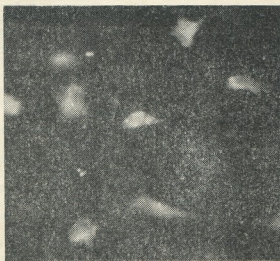
виевой извилины меняется локализация примулин-содержащих клеток в переднем холме, но при этом сохраняется их послойное распределение.

Так, в случаях инъекций в передние части супрасильвиевой извилины (случаи И 23, И 24) меченые клетки средних и малых размеров располагаются в задне-латеральной части ипсилатерального ПБЧ (рис. 4б), а

инициальных нейронов в ядрах претектальной области и по слоям ПБЧ отмечается после инъекций маркера в кору зоны С—В. Смещение мест инъекций в передне-заднем направлении в пределах зоны С—В вызывает



а



б

Рис. 4. Инициальные нейроны: а) субоптического ядра (NSO), дающие проекцию в переднюю часть поля 5; б) задне-латеральной части ипсилатерального ПБЧ, дающие проекцию в переднюю часть супрасильвиевой извилины; Об. 10 х; ок. 6х

в случаях задних инъекций (случаи И 28, И 29, И 30) — в передне-медиальных участках ПБЧ.

Подобная картина расположения

изменение топографии меченых нейронов в претектальных ядрах и в ПБЧ в таком же порядке, как это описывалось в случаях инъекций в



пределах супрасильвиевой извилины. Однако при инъекциях в зону С—В метилось гораздо меньшее число клеток.

Таким образом, методом выявления ретроградного аксоплазматического транспорта примулина нами подтверждается сложившееся в литературе представление [5, 6, 7], что нейроны ПБЧ и претектальной области в большей степени связаны с теменными ассоциативными (5, 7, 21) полями и в меньшей — с первичными (17, 18, 19) зрительными полями. Кроме того, распределение проекционных нейронов в ПБЧ и в ядрах претектальной области обнаруживает признаки определенной топической организации связей указанных образований с теменными ассоциативными полями и с зоной С—В. Инъекции маркера в переднюю часть супрасильвиевой извилины (поле 5) метят клетки в латеральной части претектальных ядер и задне-латеральных участках ПБЧ. После инъекции в задние части суп-

расильвиевой извилины (поле 21) меченые клетки занимают медиальную часть претектальных ядер и передне-медиальные участки ПБЧ. Подобная картина локализации инициальных нейронов в ядрах претектальной области и по слоям ПБЧ характерна для проекции в зону С—В.

Таким образом, распределение проекционных нейронов в подкорковых образованиях экстрагеникулярной зрительной системы обнаруживает признаки топической организации. Сопоставление результатов собственных исследований с данными литературы [15, 17, 22, 23] выявляет, что участки представительства в ПБЧ и претектальных ядрах верхней и нижней частей сетчатки (нижнего и верхнего поля зрения) в свою очередь проецируются в передние и задние части теменных ассоциативных полей и зоны С—В, что свидетельствует о сохранении основной ретинотопической организации в указанных проекциях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бирючков Ю. В. Экспериментальное исследование проводящих путей периферического отдела зрительного анализатора, Автореф. канд. дисс., М., 1963.
2. Отеллин В. А., Мешкенайте В. И., Рыбаков В. Л. *Арх. анат.*, 80, 1, 26—29, 1981.
3. Пирцхалайшвили М. Ш. *Изв. АН ГССР, сер. биол.*, 12, 3, 155—161, 1986.
4. Пирцхалайшвили М. Ш. Эфферентные системы связей дорсального ядра наружного коленного тела и образований экстрагеникулярной зрительной системы у кошек, Автореф. канд. дисс., Л., 1987.
5. Тотибадзе Н. К., Канделаки Р. А. *Изв. АН ГССР, сер. биол.*, 3, 5, 430—434, 1977.
6. Ханаева З. С., *Сообщение АН ГССР*, 85, 2, 429—430, 1977.
7. Ханаева З. С. *Изв. АН ГССР, сер. биол.*, 4, 1, 12—23, 1978.
8. Berson D., Graubiel A. *Progr. in Brain Res.*, 58, 229—238, 1983.
9. Bullier J., Kennedy N., Salinger W. J. *Comp. Neurol.*, 228, 2, 309—328, 1984.
10. Crosby E., Humphrey T., Lauer E. *Correlative anatomy of the nervous system*, New York, MacMillan, 1962.
11. Glickstein M., Miller J., King K. *Anat. Res.*, 151, 5, 353—357, 1965.
12. Glickstein M., King R., Miller J., Berkley M. J. *Comp. Neurol.*, 130, 1, 55—75, 1967.
13. Guillery R. W. J. *Comp. Neurol.*, 130, 3, 197—222, 1967.
14. Nollander N., Vonegas N. J. *Comp. Neurol.*, 173, 3, 519—539, 1977.
15. Kawamura S. *Exp. Neurol.*, 45, 2, 451—461, 1974.
16. Laties M. A., Sprague J. M. J. *Comp. Neurol.*, 127, 1, 35—70, 1966.
17. Naito J. J. *Comp. Neurol.*, 251, 3, 376—387, 1986.
18. Niimi K., Inoshita N. *Proc. Jap. Acad.*, 47, 664—669, 1971.
19. Niimi K., Kadota M., Matsushita Y. *Brain Behav. Evol.*, 18, 1—6, 114—139, 1981.
20. Niimi K., Matsuoka N., Yamazaki Y., Matsumoto N. *Brain Behav. Evol.*, 18, 1—6, 114—139, 1981.
21. Sherk N. J. *Comp. Neurol.*, 247, 1, 1—32, 1986.
22. Tusa R. I., Palmer L. A., Rosenquist A. C. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 1—52, 1975.
23. Updyke B. V. J. *Comp. Neurol.*, 173, 1, 81—122, 1977.
24. Updyke B. V. J. *Comp. Neurol.*, 201, 3, 477—506, 1981.

ა. შირსხალაიშვილი

სულხან-საბა ორბელიანის სახელობის სახელმწიფო პედაგოგიური ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

პრიმულინის რეტროგრადული აქსო-
პლაზმური ტრანსპორტის მეთოდით ვა-
მოვლენილ იქნა ოთხგორაკის წინა ბორ-
ცვისა და პრეტექტალური უბნის ბირთვე-
ბის პირდაპირი კავშირების გარკვეული
ტოპიკური ორგანიზაცია თხემის ასოცია-
ციურ ველებთან (5, 7, 21) და კლერ-ბი-
შოპის (C—B) ზონასთან. თხემის ასოცია-
ციური უბნის (ველი 5) და C—B-ის ზო-
ნის წინა ნაწილებში უპირატესად ოთხგო-
რაკის წინა ბორცვის უკანა-ლატერალური

და პრეტექტალური ბირთვების ლატერა-
ლური უბნებია წარმოდგენილი, ხოლო
თხემის ასოციაციური უბნის უკანა ნა-
წილში (ველი 21) — ოთხგორაკის წინა
ბორცვის წინა-მედიალური და პრეტექტ-
ალური ბირთვების მედიალური უბნები.
მხედველობის პირველად ველებში (17, 18,
19) აღნიშნული ქერქქევა წარმონაქმნე-
ბი ტოპიკური ორგანიზაციის ნიშნების გა-
რეშეა წარმოდგენილი.

CONNECTIONS OF THE SUPERIOR COLLICULUS AND PRETECTAL
NUCLEI TO THE IPSILATERAL CEREBRAL CORTEX IN THE CAT

M. Sh. PIRTSKHALAISHVILI

Sul Khan-Saba Orbeliani State Pedagogical Institute, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

Using primulin retrograde transport
luminescent method, the organization of
the direct connection of the pretectal
nuclei and superior colliculus (CS) to the
parietal cortex association areas (5, 7,
21) and to the Clare-Bishop (C-B) zone
was studied. In the anterior parts of the
parietal association cortical regions (area
5) and in the anterior part of the C-B

zone mainly the lateral parts of the
pretectal nuclei and postero-lateral parts
of CS are represented, while to the pos-
terior parts (area 21) project the medial
parts of the pretectal nuclei and antero-
medial parts of CS. In the primary visual
areas (17, 18, 19) the pretectal nuclei and
CS are represented without any signs of
topical organization.

УДК 576.893.161.21 : 612.017

ПАРАЗИТОЛОГИЯ

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ИММУНОЛОГИИ ТРИХОМОНОЗА

Н. В. Курашвили, П. В. Пахуридзе

Тбилисский институт усовершенствования врачей МЗ СССР
Тбилисский государственный медицинский институт

Поступила в редакцию 15.02.89

Даются результаты изучения клеточного и гуморального иммунитета у 160 женщин (85 больных трихомонозом и 15 здоровых). Исследования показали, что при остром или хроническом трихомонозе в периферической крови женщины не меняется общее количество Т- и В-лимфоцитов. Не изменяется динамика соотношения различных популяций Т-лимфоцитов (ОТК4, ОТК8 и К), не отмечаются явления супрессии; соотношение $\frac{ОТК4}{ОТК8}$ остается в пределах нормы. Не меняется и содержание IgG AM.

Содержание же общего неспецифического IgE в начале заболевания снижается, увеличиваясь в дальнейшем до высоких уровней. Специфический IgE по реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ по Праустниц—Кюнстеру) не выявлен.

При паразитарных заболеваниях наблюдаются три феномена: влияние паразита на ответ хозяина — снижение ответа к гетерогенным антигенам, иммунодепрессия; гиперпродукция неспецифического белка IgE при снижении содержания других классов Ig; продуцирование аутоантител и образование иммунных комплексов.

Все три феномена при различных инвазиях выражены с разной интенсивностью и изучены не во всех случаях паразитарного заболевания [2], в частности только начинают исследоваться вопросы иммунитета при трихомонозе.

Практикуемый за последние 10 лет метод подсчета Т- и В-лимфоцитов

для установления иммунного статуса организма в норме и патологии уже становится рутинным, дающим «разочаровывающие результаты в отношении большинства клинических целей» [1]. Метод не имеет успеха как неспецифическая клеточная реакция для решения частных, специфических вопросов при любой инфекции. Однако подсчет Т- и В-лимфоцитов с установлением взаимного балансируемого соотношения их субпопуляций может дать убедительную характеристику иммунного статуса организма. В настоящей статье предлагаются результаты изучения клеточного и гуморального иммунитета при трихомонозе женщин.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Состояние Т- и В-систем иммунитета изучено нами на 100 женщинах (85 больных трихомонозом и 15 здоровых доноров).

Кровь (10 мл) брали из локтевой вены у тех больных, которые дали культуральное выделение *T. Vaginalis*, и исследовали однократно, добавляя 25 Е гепарина. Лимфоциты из периферической крови выделяли центрифугированием в градиенте плотно-

сти фиколла-верографина и по Джондал [3]; определяли в них процентное соотношение Т-лимфоцитов — методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана Е-РОК и В-лимфоцитов — методом комплементарного розеткообразования с бычьими эритроцитами ЕАС-РОК. Количественное определение субпопуляций Т-лимфоцитов проводили с использованием высокоспецифических моноклональных

мышинных антител ОТК4, ОТК8 и НК датской фирмы «Dakopatts» и конъюгированного с флюоресценцией мышинного анти-γ-глобулина. На препарат исследуемых лимфоцитов наносили соответствующие моноклональные антитела (МКАТ), затем конъюгат и рассматривали его в радиоиммунофлюоресцентном микроскопе Люман-ИЗ.

Содержание IgG AM производили методом радиальной иммунодиффузии по Манчини с соавт. [4]. Определение проводилось радиоиммуносорбентным тестом (радиоаллергосорбентный тест — РАСТ) с применением тест-набора Phadebas IoE-Test шведской фирмы «Фармация». Активность дисков считывали на гамма-счетчике фирмы ЛКБ—«Валлак» (Швеция—Финляндия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Инвазия *T. vaginalis* ни в начале болезни (10-й день болезни), ни в последующие периоды (1—1,5 месяца болезни) не меняет процентное соотношение Т- и В-лимфоцитов. Болезнь как будто совершенно не затрагивает систему иммунитета, если по этим данным можно судить об иммунном состоянии организма (табл. 1).

личество и нормальных киллеров, которым придают важную роль в удалении чужеродных антигенов (табл. 2).

Создается впечатление, что инвазия *T. vaginalis* и нахождение чужеродного, патогенного паразита в организме в течение 1—1,5 месяцев не затрагивает Т- и В-систему иммунитета.

Таблица 1

Общее количество Т- и В-лимфоцитов у женщин, больных трихомонозом

| Контингент обследованных | Т-лимфоциты | В-лимфоциты |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| До 15 дня заболевания | N=37 Разброс=42—60 a=1908,000 M= 51,568 m= 1,297 b= 7,886 v= 15,294 | N=37 Разброс=14—38 a= 927,000 M= 23,769 m= 1,102 b= 6,880 v= 28,947 |
| После 15 дня заболевания, 1—1,5 месяца | N=48 Разброс=28—60 a=2312,000 M= 048,167 m= 1,324 b= 9,175 v= 19,049 | N=48 Разброс= 7—38 a=1054,000 M= 24,042 m= 0,861 b= 05,964 v= 24,808 |
| Контроль Здоровые (доноры) | N=15 Разброс=42—60 a= 790,000 M= 52,667 m= 1,970 b= 7,631 v= 14,490 | N=15 Разброс=14—42 a= 339,000 M= 22,660 m= 1,129 b= 4,372 v= 19,345 |

Не наблюдается также особых изменений со стороны количественного состава субпопуляций ОТК4, ОТК8 и К; ни разу не отмечено явлений супрессии; соотношение $\frac{\text{ОТК4}}{\text{ОТК8}}$ во всех случаях не было уменьшено (по сравнению с контролем). Не менялось ко-

Гуморальный иммунитет, т. е. динамика IgG—АМЕ, вообще не изучены при трихомонозе. Лишь в 80-х годах начинается углубленное исследование иммунитета при паразитарных заболеваниях, в том числе при трихомонозе. Изучается возможность применения иммуноферментного и радиоим-

Содержание в периферической крови у женщин, больных трихомонозом, различных популяций Т-лимфоцитов

| Контингент | Содержание Т-лимфоцитарных клеток в % от общего количества лимфоцитов | | | |
|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| | ОТК 4 | ОТК 8 | ОТК 4 / ОТК 8 | Н К |
| Группа больных с продолжительностью 1—1,5 месяца | N=32 Разброс=18—32 a=721,000 M=22,531 m=0,524 v=13,146 b=2,962 | N=32 Разброс=8,0—16 a=445,000 M=13,906 m=0,424 v=17,266 b=2,401 | N=32 Разброс=1,3—3,3 a=52,400 M=1,637 m=0,072 v=24,758 b=0,405 | N=31 Разброс=1,0—7,0 a=156,000 M=4,875 m=0,425 v=49,360 b=2,406 |
| Контроль (доноры) | N=15 Разброс=18—24 a=312,000 M=22,800 m=0,571 v=10,627 b=2,210 | N=15 Разброс=10—14 a=188,000 M=12,533 m=0,363 v=11,230 b=1,407 | N=15 Разброс=1,4—2,0 a=24,900 M=1,660 m=0,062 v=14,544 b=0,241 | N=15 Разброс=2,0—7,0 a=63,000 M=4,200 m=0,312 v=28,741 b=1,207 |

мунологического анализа и получены положительные результаты обнаружения специфических Ig. Однако, оказывается, что *T. vaginalis* имеет общность антигенов с другими трихомонадами, специфические Ig реагируют перекрестно, а иммуноблоттинг вообще снимает иммунологическую реакцию.

Особо стоит вопрос об IgE: он нормально присутствует в сыворотке человека (от 0 до 560 Е/мл). При паразитарных, аллергических и других заболеваниях его количество резко поднимается. Поэтому тщательно отбирался контингент, который мы исследовали на содержание IgE в сыворотке: из разработки исключались женщины, больные гонореей, гельминтозами, аллергическими заболеваниями. Показатели уровня Ig у женщин, больных трихомонозом, приведены в табл. 3.

При трихомонозе не претерпевает особых изменений содержание в сыворотке крови IgGAM — оно не отличается от контрольных. Что касается общего, неспецифического IgE, то его количество снижается в первые дни болезни, а через 15 дней уровень его значительно возрастает и у некоторых превышает норму в 2—4—9 раз. Это установлено нами впервые (табл. 4).

Можно ли этот тест применить как скрининг при трихомонозе? Конечно, нет! Это неспецифический, общий IgE, а искать надо специфический IgE.

Мы попытались установить наличие специфического IgE в сыворотке с высоким содержанием общего IgE — титром 2400 Е/мл в реакции кожной пассивной ГЗТ по Праустниц-Кюнстеру. 5 мл этой сыворотки вводили прямо в сердце 5 морским свинкам.

Таблица 3

Динамика содержания общего IgE у женщин, больных трихомонозом

| Статистический показатель | Уровень общего IgE | | |
|---------------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|
| | норма | до 10 дня болезни | более 15 дней болезни |
| Число наблюдений | 15 | 16 | 24 |
| колебания | 2—450 | 10—53 | 89—910 |
| M ± | 101,54 ± 20,77 | 31,54 ± 3,34 | 357,8 ± 43,2 |
| Ж ± | 80,40 | 13,37 | 211,9 |
| P к норме | | 0,001 | 0,001 |
| P к 10 дням | | | 0,001 |

Показатели уровня Ig у женщин, больных трихомонозом

| Классы Ig | Статистические показатели уровня Ig | | |
|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | норма (доноры) | до 10 дня болезни | более 15 дней болезни |
| IgG, мг ⁰ /л | N=15 Колебания=1000—1750 a=19320,000 M=1288,000 m= 58,741 b= 227,503 v= 17,663 | N=16 Колебания=980—1770 a=21656,000 M= 1353,500 m= 42,521 b= 1,17085 v= 12,566 | N=24 Колебания=990—1780 a=32450,000 M= 1352,083 m= 39,305 b= 192,557 v= 14,241 |
| IgA, мг ⁰ /л | N=15 Колебания=218—317 a=3979,000 M= 265,267 m= 10,366 b= 40,149 v= 15,135 | N=16 Колебания=204—300 a=4200,000 M= 262,500 m= 6,965 b= 27,862 v= 10,614 | N=24 Колебания= 240—338 a= 6379,000 M= 265,792 m= 8,852 b= 43,367 v= 16,316 |
| IgM, мг ⁰ /л | N=15 Колебания= 83—138 a=1585,000 M= 105,667 m= 6,351 b= 24,596 v= 23,277 | N=16 Колебания=90—140 a=1812,000 M=113,250 m= 4,520 b= 18,079 v= 15,964 | N=24 Колебания=80—140 a=2400,000 M= 100,000 m= 4,009 b= 19,640 v= 19,640 |

Через 15 мин в кожу по бокам ввели 0,2 мл лизата и 0,5 г осадка после центрифугирования 4-дневной культуры *T. vaginalis*. За кожной реакцией наблюдали 24, 48 и 72 ч. Никаких кожных реакций ГЗТ не наблюдалось. Таким образом, специфические IgE не присутствуют в сыворотках с высоким титром общего IgE.

Появление иммуносупрессина и умеренное повышение уровня IgE могут

быть обусловлены множеством предполагаемых факторов, среди которых особенно выделяются антигенные вариации, неоднородность множества поверхностных антигенов паразита, генетическая закодированность иммунного ответа на антиген паразита и, наконец, ограниченный контакт с иммунной системой хозяина из-за локального полостного обитания паразита.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ackers I. P. Иммунологические аспекты инфекционных заболеваний (под редакцией Дж. Дика), «Медицина», М., 1982, 121—128.
2. ВОЗ, доклад № 84, Женева, 1981.
3. Jondaš M. J. Exp. Med., 136, 207—208, 1972.
4. Mancini G. В кн.: Лабораторные методы исследования в клинике, «Медицина», М., 1987, 292—298.

ტრიქომონოზის იმუნოლოგიის ზოგიერთი საკითხები

ბ. უზრაშვილი, ფ. შახშრიძე.

სსრ განმრთელობის სამინისტროს თბილისის ექიმთა დახელოვნების ინსტიტუტი თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილია 100 ქალის (85 ტრიქომონოზით ავადმყოფი და 15 განმრთელი) უჯრედოვანი და პუმორული იმუნიტეტი. გამოირკვა, რომ მწვავე და ქრონიკული

ტრიქომონოზით დაავადებულთა პერიფერიულ სისხლში არ იცვლება T და B ლიმფოციტების საერთო რაოდენობა, ასევე როგორც T ლიმფოციტების OTK4, OTK8



და NK პოპულაციებს შორის დინამიკა და შეფარდება. არ აღინიშნება სუბრესის მოვლენები. $\frac{OTK4}{OTK8}$ და IgGAM შემცველობა სისხლში ნორმის ფარგლებშია. არ იცვლება IgGAM შემცველობა სისხლში.

დაავადების საწყის პერიოდში საერთო არასპეციფიკური IgE შემცველობა დაიჭიმება ითებულა, ხოლო შემდგომში აღინიშნება მომატება მაღალ დონეზე. პრაუსტნიციკ-უნსტერის ჰიპერმგრძობლობის შენელებული რეაქციით სპეციფიკური IgE არ იქნა გამოვლენილი.

SOME QUESTIONS OF IMMUNOLOGY OF TRICHOMONIASIS

N. V. KURASHVILI, P. V. PAKHURIDZE

Tbilisi State Institute of Advanced Medical Training, USSR

Tbilisi State Medical Institute, USSR

S u m m a r y

The results of cellular and humoral immunity study of 100 women are presented, 85 suffered from trichomoniasis and 15 were healthy persons. In acute or chronic trichomoniasis the total quantity of T and B lymphocytes in the women's peripheral blood was shown to remain unchanged. The dynamics of correlation of different population of T lymphocytes OTK4, OTK8 and NK did not change

either. The phenomenon of suppression was not marked and the ratio of OTK4 and OTK8 was within the standard limits. The content of Ig GAM appeared to be within the normal ranges. The content of total nonspecific IgE reduced at the initial stage of the disease and then increased to high levels.

The specific IgE did not manifest itself as a delayed hypersensitivity reaction.

УДК 561:551.782.1

ПАЛЕОБИОЛОГИЯ

ФЛОРА ЕЛТУРЫ: ОПЫТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОЗРАСТА ПО ПРОЦЕНТНЫМ СООТНОШЕНИЯМ ОТПЕЧАТКОВ ЛИСТЬЕВ РАЗНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ТИПОВ

Г. С. Аваков

Институт палеобиологии им. А. Ш. Давиташвили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 16.09.1988

Изучены отпечатки листьев из местонахождения у с. Елтура в бассейне р. Малая Лиахви, в третичных отложениях, не содержащих фауны моллюсков. Возраст их определяется по процентному содержанию листьев ксерофитного типа (миртоидных — 6,2% и миркоидных — 5,6%), влажного вечнозеленого леса (лавровых — 24,8% и дождевых — 45%) и листопадных умеренного климата (3,7%). Флора Елтуры близка к среднемиоценовой флоре Меджуды, где содержание листопадных составляет 4,5% и отличается от сарматских флор Грузии с резко повышенным (в среднем около 35%) содержанием листьев последнего типа, вследствие чего возраст флоры Елтуры устанавливается как среднемиоценовой.

Елтура — село, лежащее в ущелье того же названия у правого притока реки Малая Лиахва. Через него проходит полоса третичных (палеогеновых и неогеновых) отложений, которые здесь имеют тектонический контакт с надвинутыми на них меловыми отложениями. На правом борту ущелья представлены неогеновые отложения, из которых выделяются конгломераты миоплиоценовой душетской свиты, образующие крутой уступ в склоне, а остальные миоценовые образования, состоящие главным образом из мягких пород, сильно задернованы, часто скрыты под оползнями, так что по немногим их выходам, если они не содержат никакой фауны, невозможно определить их возраст.

В одном из таких небольших обнажений оказалось скопление отпечатков листьев. Вмещающая порода — зеленовато-серая песчаная глина — не имеет, кроме них, иных указаний на возраст. Установить же ее положение в разрезе также невозможно из-за оползней, которые искажают картину естественного залегания и сам блок с флороносным слоем, по-видимому, лежит не на своем месте. Точка эта находится с северной стороны села, примерно в 500 м от последне-

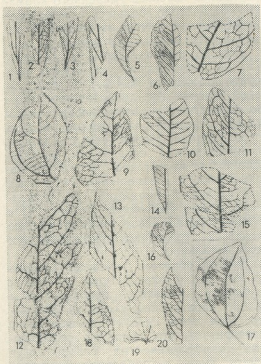
го дома, на краю широкой поперечной ложбины, в крутом обрывчике высотой около 10 м.

Таким образом, чтобы установить возраст флоры приходится основываться исключительно на ее составе. Здесь следует обратить внимание на следующее обстоятельство. Возрастные пределы, в которые может укладываться эта флора, по общим геологическим данным не могут выходить за пределы миоцена. На существующих геологических картах здесь показаны сарматский ярус, а также майкоп. Но по литологическим признакам флороносный слой совсем не похож на майкопские отложения и, следовательно, определение возраста сводится к решению проблемы — сармат или средний (или нижний) миоцен.

По таким признакам как цвет, зернистость, характер слоистости породы и в то же время цвет и характер сохранности отпечатков листьев, этот флороносный слой сильно напоминает некоторые флороносные слои на реке Меджуде (в 10 км по прямой на ювосток от этого места). Флора Меджуды [1] по фаунистическим данным относится к среднему миоцену — частью к караганскому горизонту со

спаниодонтеллами, частью к фолადовым слоям конкского горизонта. Естественно предположить, что флора Елтуры одновозрастна с меджудской, но было бы лучше иметь и другие доказательства, на тот случай, если их литологические особенности окажутся переходящими и в сармат.

Среди добытых при раскопках отпечатков удалось определить следующие



Образцы листьев во флоре Елтуры: миркоидные: 2—обр. №131а, 3—обр. №131б, 4—обр. № 90, 5—обр. № 71, 14—обр. №1; миртоидные: 6—обр. № 61; листопадные муссонного климата: 9—обр. № 5 (Cfr. *Sapium sebiferum* Roxb.), 15—обр. № 33, 17—обр. № 133 (*Meriania vsatii* Avak.); лавровые: 1 обр. № 102—*Cinnamomum lanceolatum* (Ung.) Heer, 13—обр. № 100; дождевые: 7—обр. № 119, 8—обр. № 196 (*Cinnamomum scheuchzeri* Heer), 10—обр. № 31, 11—обр. № 51, 12—обр. № 36, 18—обр. № 204; листопадные умеренного климата: 16—обр. № 81а (Cfr. *Rosaceae* indet.), 19—обр. № 1 (*Smilax sagittifera* Heer), 20—обр. № 48 (*Salix varians* Goepf.).

щие растения (в скобках—число отпечатков): *Smilax cf. sagittifera* Heer (1), *Salix varians* Goepf. (4), *Castanopsis deceni* (Web.) Kr. et Weyl. (1), Cfr. *Rosaceae* indet. (1), *Cinnamomum scheuchze-*

ri Heer (2), *C. lanceolatum* (Ung.) Heer (4), *C. polymorphum* (Ung.) Heer (4), *C. sp.* (11), *Meriania vsatii* Avak. (*Me-lastomaceae* (2), *Apocynaceae* gen. indet. (1), Cfr. *Sapium sebiferum* Roxb. (*Euphorbiaceae* (1).

В этом списке примечательна *Meriania vsatii*, описанная во флоре Меджуды еще раньше. Остальные растения имеют довольно большое вертикальное распространение — от палеогена до плиоцена — и установить более точный возраст по ним невозможно. Для такой цели этот список явно недостаточен. Даже присутствие неизвестного ранее листа, похожего на *Sapium*, не исправляет положения.

Этот список, однако, далеко не исчерпывает всех образцов коллекции. Так как порода, содержащая отпечатки, очень сильно пронизана трещинами, то получить целые отпечатки трудно; большинство их представлено лишь фрагментами, которые часто не дают возможности сделать достоверное определение.

Тем не менее, эти неопределимые остатки могут быть использованы для получения данных о физиономическом облике флоры. Морфологические особенности листьев отражают условия обитания. Во влажном тропическом и субтропическом климате пластинка листа у деревьев имеет форму овала с цельным или, реже, зубчатым краем и с оттянутым «капельным» острием — форма так называемого «дождевого» леса. В более сухом климате пластинка листа приближается по форме к так называемому «лавровому» типу, образцом которого может быть лист обыкновенного лавра. В жестколистных лесах листья вечнозеленых деревьев и кустарников имеют ксероморфный облик в виде небольших листочков различной формы, миртоидной (похожей на мирт) — овальной, с зубцами или без них, а также вытянутых в длину — типа мирки или эвкалиптов (миркоидный тип).

Кроме того, выделяется формация сухих листопадных лесов, называемых муссонными, листья которой по форме пластинки в общем сходны с дождевыми, но отличаются более тонкой консистенцией, чем приближаются к листопадным деревьям умеренного климата.

Все эти типы листьев распознать гораздо легче, чем произвести с полной уверенностью таксономическое определение, тем более, что листьям тропических деревьев в сильной степени свойственна конвергенция. В каждой ископаемой флоре можно подсчитать и установить с большей или меньшей точностью процентное содержание листьев каждого типа. А так как известно, что в течение третичного времени происходила постепенная бореализация климата, то, сравнивая эти данные по разным флорам, можно иметь основу для стратиграфических построений.

Разумеется, что чем многочисленнее коллекции, тем более достоверные данные могут быть получены.

Из 205 отпечатков, изученных в местонахождении Елтура, 28 поддаются более или менее полному таксономическому определению, а остальные могут быть лишь отнесены к одной из перечисленных морфологических групп, распределяясь по ним следующим образом: миртоидные — 6,2% (10 отпечатков); миркоида цельнокрайняя — 5% (8 отпечатков); с зубчатым краем — не найдены; лавролистная — 24,8% (40 отпечатков); дождевые — 45% (73 отпечатка) всего 69,8% (из них 20 отпечатков типа *Cinnamomum*); листопадные тропическо-субтропические (муссонные) — 3% (5 отпечатков, в их числе *Cf. Sapindum*); листопадные умеренного климата (*Smilax* и *Salix*) — 3,7% (6 отпечатков).

Соотношение это показывает преобладание формации влажного вечнозеленого леса, что весьма характерно для флоры Меджуды, где этот показатель в среднем равен 52%. С флорой Меджуды сближает также низкий процент листопадных умеренного климата, в среднем 4,5% [1]. Отличие заключается в очень большом содержании миркоиидных листьев на

Меджуде, правда, оно непостоянно в различных флороносных слоях. Миркоида встречается от 62 до 12%, составляя в среднем 43%. Причина этого, возможно, заключается в каких-то местных палеогеографических и тафономических условиях.

В сарматских флорах Грузии, как можно судить по опубликованным данным, содержание отпечатков летнезеленых деревьев умеренного климата несравненно больше. Приводимые ниже данные взяты из описаний видов в цитированных трудах.

Так, во флорах сармата Абхазии [2] на листопадные умеренного климата приходится 43,4%. В гондвандской флоре [3], признаваемой ныне за сарматскую, эта цифра равна 22,4%. Разница, как видно, весьма существенная. Можно сказать, что на границе между средним и верхним миоценом произошли очень резкие изменения в соотношении основных растительных формаций. В сарматской флоре Восточной Грузии [4] в общем списке видов гораздо больше деревьев умеренного климата, чем всех остальных.

Таким образом, следует сделать вывод, что флора Елтуры тяготеет к среднему миоцену, приближаясь к флоре караганских слоев на Меджуде. При этом следует, по-видимому, оговориться, что подобные соотношения морфологических типов могут иметь лишь региональное значение. Действительно, на Северном Кавказе, в сарматской флоре Армавира содержание листопадных умеренного климата, если судить по данным о количестве образцов, приведенных в работе Е. Ф. Кутузкиной [5], превышает 90%. К югу от Кавказского хребта даже в плиоценовых флорах нет такого — например, в понте Кодора [6] оно равно 35,2%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аваков Г. С. Миоценовая флора Меджуды, «Мецниереба», Тбилиси, 1979.
2. Колаковский А. А., Шакрыл А. К. Труды Сухумского ботанического сада, XXII, 1976, 98—169.
3. Узнадзе М. Д., Цагарели Е. А. Сарматская флора устья реки Дзидза, «Мецниереба», Тбилиси, 1979.
4. Узнадзе М. Д. Труды Геол. ин-та АН ГССР, сер. геол., 8 (13), 1955, 1—57.
5. Кутузкина Е. Ф. Палеоботаника, 5, Труды Ботанического ин-та АН СССР, 8, 1964, 145—239.
6. Колаковский А. А. Плиоценовая флора Кодора, Изд-во АН ГССР, Сухуми, 1964.

ელტურის ფლორა: ასაკის განსაზღვრის ცდა სხვადასხვა
მორფოლოგიური ტიპის ფოთლის ანაბეჭდების პროცენტული
თანაფარდობით

2. აბაჯრი

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ლ. დავითაშვილის სახელობის
პალეობიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილია ფოთლის ანაბეჭდები
სოფ. ელტურის მიდამოებში, მდინარე პა-
ტარა ლიახვის აუზში, მოლუსკური ფა-
უნით დაუთარილებელ მესამეულ ნალე-
ჭებში. ამიტომ მათი ასაკი განისაზღვრება
სხვადასხვა მორფოლოგიური ტიპის ფოთ-
ლების პროცენტული შემადგენლობით.
ელტურის ფლორა ახლოსაა მეჭუდის შუა-
მიოცენურ ფლორასთან, სადაც ფოთოლ-

მცენთა შემადგენლობა 4,5% და გან-
სხვავდება საქართველოს სარმატული
ფლორებისაგან, სადაც ამ უკანასკნელი
ტიპის ფოთლების შემადგენლობა მკვეთ-
რად მომატებულია (საშუალოდ დაახლო-
ებით 35%), რის გამოც ელტურის ფლო-
რის ასაკი დადგენილია როგორც შუამიო-
ცენური.

THE FLORA OF ELTURA: AN ATTEMPT OF AGE DETERMINATION
BY PERCENTAGE OF LEAF IMPRINTS OF VARIOUS
MORPHOLOGICAL TYPES

G. S. AVAKOV

L. Sh. Davitashvili Institute of Palaeobiology, Georgian Academy of
Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

Leaf imprints from a location near
the village of Eltura in the river Little
Liakhvi basin in tertiary deposits free of
the mollusk type fauna have been studied.
That is why their age is determined by
percentage of xeromorphic type leaves
(myrtoid 6,2% and myricoid 5,6% types),
moist evergreen forest (69,8%) and de-
ciduous summergreen forests of moderate
climate (3,7%). The flora of Eltura is

close to the Middle Miocene flora of the
Medjuda river where percentage of the
deciduous is 4,5% and differing from the
Sarmatian floras of Georgia in which the
content of leaves of the latter type is
much higher (about 35% on the average).
As a result the age of the flora of Eltura
is established as going back to the Mid-
dle Miocene.

УДК 579.252.55

МИКРОБИОЛОГИЯ

РАСПРОСТРАНЕНИЕ R-ПЛАЗМИД В ГОСПИТАЛЬНЫХ ШТАММАХ PROTEUS

Т. Г. Габисония, И. Г. Чиракадзе, Д. П. Чиквиладзе,
М. Л. Чиджавадзе, Л. А. Чиковани, Т. С. Иосебашвили,
Т. Г. Чанишвили, Н. Д. Петриашвили, Т. С. Кереселидзе

*ИПО «Бактериофаг» им. Г. Г. Элиава, Тбилиси
Тбилисский государственный медицинский институт*

Поступила в редакцию 09.11.89

Установлено, что госпитальные штаммы протей, выделенные из двух стационаров г. Тбилиси, характеризуются высокой резистентностью к антибиотикам широкого профиля. Методами элиминации и конъюгации выявлены конъюгативные и неконъюгативные плазмиды, которые детерминируют резистентность к стрептомицину, хлорамфениколу, тетрациклину, гентамицину, карбенициллину, канамицину и принадлежат к группам несовместимости T, I, M, N. Штаммы протей содержат также плазмиды IncP1 группы, имеющие широкий круг хозяев.

В настоящее время грамотрицательные бактерии начинают занимать ведущее положение в общей структуре внутрибольничных инфекций, вытесняя стафилококковые инфекции на второй план [1—3]. В 6—10% случаев инфекций, вызываемых грамотрицательными бактериями, этиологическая роль принадлежит протее [6].

Инфекции, вызванные протеем, являются частой причиной летальных исходов при трансплантации органов (в частности почек), а также при оперативных вмешательствах на сердце. Протей нередко обуславливает суперинфекцию у больных, особенно вожоговых, урологических, онкологических и хирургических клиниках, причем такие инфекции характеризуются длительностью и тяжестью течения и могут закончиться летальным исходом. Особую роль в возникновении внутри-

больничной инфекции играют бактерии *Proteus* с широким спектром устойчивости к антибиотикам. Высокая лекарственная устойчивость госпитальных штаммов *Proteus* часто обусловлена наличием в клетках бактерий факторов резистентности к антибиотикам (R-плазмид) [12]. Протей обладает более высокой устойчивостью к антибиотикам (кроме синегнойной палочки), чем другие грамотрицательные бактерии.

Это является характерной и важной особенностью данного вида и создает существенные трудности при лечении вызываемых им инфекций.

Целью данной работы явилось изучение распространенности R-плазмид у штаммов протей, классификация обнаруженных плазмид и определение их роли в формировании госпитальных штаммов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал для бактериологических исследований брали стерильным тампоном из ран, с ожоговой поверхности и других мест в зависимости от профиля больных. Материал засекали на сахарный бульон, кровяной агар, среду Эндо или Плоскирева. Из выросших колоний получали чистые культуры микроорганизмов и идентифицировали их общепринятыми методами по морфологическим, культуральным, биохимическим и другим

свойствам, позволяющим отнести их к тому или иному виду [5, 9]. Чувствительность к антибиотикам штаммов протей определяли методом индикаторных дисков (метод бумажных дисков) и методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде [7, 8]. Конъюгативный перенос R-плазмид проводили по методу [4, 14]. Классификацию плазмид, выявленных в госпитальных штаммах *Proteus*, проводили в системе штам-

мов *E. coli* с использованием тестерных плазмид, а также в системе тестерных штаммов *P. aeruginosa* PAO.

Для выявления плазмидной ДНК из штаммов протей были применены методы [11, 12]. Элиминацию маркер-

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение чувствительности к антибиотикам штаммов протей, выделенных в 1985—89 гг., показало широкое распространение множественно-резистентных форм этого возбудителя. Всего было изучено 85 штаммов протей. К *P. vulgaris* были отнесены 60 штаммов, к *P. mirabilis* — 20 штаммов, к *P. morgani* — 5 штаммов. Установлено, что штаммы проявили резистентность в отношении 1—4 антибиотиков в 3,5—9,7%, к 5 антибиотикам — в 11,5%, к шести — в 18,5%, к семи — в 14,4%, 8—10 — в 10,9—8,2%.

Штаммы протей, выделенные в 1985—86 гг. в Республиканском ожоговом центре (45 штаммов), оказались наиболее резистентными к Рс, Ар и Ем (100%); в отношении других антибиотиков штаммы были устойчивы — Sm (88,3%), Cm (84,5%), Km (75,2%), Сb (60,1%), Gm (55,2%).

Штаммы, выделенные в эти же годы в Закавказской ж/д больнице № 2 (15 штаммов), показали почти одинаковую картину устойчивости к антибиотикам: в 100% случаев были резистентны к Рс, Ар, Ем, в 93,0% — к Cm и Sm, в 73,2% — к Тс, в 66,0% — к Сb и Gm соответственно (табл. 1).

Проводя сравнительный анализ распространенности признаков устойчивости к лекарственным препаратам, в частности к антибиотикам, нами был изучен спектр антибиотикоустойчивости штаммов протей, полученных из указанных двух стационаров г. Тбилиси в 1987—89 гг. в Республиканском ожоговом центре были выделены 15, а в Закавказской железнодорожной больнице № 2 — 10 штаммов протей. Спектр резистентности для штаммов протей из Республиканского ожогового центра был следующим: к пенициллину, ампициллину, эритромицину, стрептомицину, тетрациклину в 100% случаев, к хлорамфениколу устойчивы были 93,1% штаммов, к канамицину — 93,1%, к карбенициллину — 86,3%, к гентамицину — 80,3%.

Все штаммы, выделенные в ожоговом центре, оказались резистентны к Рс, Ар, Ем, Sm, Km, Тс и Cm. 90% штаммов проявили устойчивость к Сb, 80,0% — к Gm (табл. 2).

Изучение спектра антибиотикоустойчивости штаммов протей, выделенных в 1985—86 гг. и 1987—89 гг., показало, что по спектру резистентности они весьма похожи, однако диапазон устойчивости к антибиотикам у штаммов, выделенных в 1987—89 гг. заметно увеличился (особенно это относится к антибиотикам, наиболее часто применяемым для лечения заболеваний, вызванных грамотрицательными микроорганизмами).

Для изучения распространения R-плазмид в клинических штаммах протей все 85 штаммов были подвергнуты элиминации Акридином Оранжевым. Маркеры резистентности теряли 55% штаммов, при этом наиболее часто к Тс и Сb (100—86,9% соответственно), несколько реже к Gm и Km (76%), к Cm (56%), Sm (87,2%).

Для выяснения природы генетического контроля высокой лекарственной устойчивости госпитальных штаммов *Proteus* изучалась их способность передавать детерминанты резистентности при конъюгации в полнауксτροφные штаммы МЛ 4262 (РАО) и J 53. Нами были отобраны 47 штаммов протей, которые несли маркеры резистентности. При скрещивании между донорными и реципиентными штаммами было установлено, что все взятые штаммы протей содержат конъюгативные R-плазмиды. В состав плазмид входят гены, детерминирующие устойчивость к стрептомицину (72,7%), хлорамфениколу (61%), тетрациклину (80%), гентамицину (53%), карбенициллину (63%), канамицину (72%).

Резистентность штаммов протей к Рс, Ар, Ем, Lm и клафорану, по всей вероятности, обуславливается хромосомными генами, так как в полученных трансконъюгантах передача де-

Чувствительность к антибиотикам штаммов *Proteus*, выделенных в двух клинических стационарах г. Тбилиси в 1985—86 гг.

| Место выделения | Количество штаммов | Устойчивость штаммов <i>Proteus</i> к отдельным антибиотикам | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------|-----|------|-----|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | | Pc | | Ap | | Em | | Km | | Cm | | Sm | | Tc | | Cb | | Gm | |
| | | абс. | % | абс. | % | абс. | % | абс. | % | абс. | % | абс. | % | абс. | % | абс. | % | абс. | % |
| Республиканский ожоговый центр | 45 | 45 | 100 | 45 | 100 | 45 | 100 | 34 | 75,2 | 38 | 84,5 | 40 | 88,3 | 40 | 88,3 | 27 | 60,1 | 25 | 55,2 |
| Закавказская железнодорожная больница № 2 | 15 | 10 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 14 | 93,1 | 14 | 93,1 | 13 | 86,3 | 11 | 73,2 | 10 | 66,0 | 9 | 60,0 |
| Всего | 60 | 60 | 100 | 60 | 100 | 60 | 100 | 48 | 84,1 | 52 | 88,8 | 53 | 87,3 | 51 | 80,7 | 37 | 63,0 | 34 | 57,6 |

Примечание: Здесь и в табл. 2: Pc—пенициллин, Sm—стрептомицин, Tc—тетрацилин, Cm—хлорамфеникол, Em—эритромицин, Km—канамицин, Ap—ампициллин, Cb—карбенциллин, Gm—гентамицин

Таблица 2

 Чувствительность к антибиотикам штаммов *Proteus*, выделенных в двух клинических стационарах г. Тбилиси в 1987—1989 гг.

| Место выделения | Количество штаммов | Устойчивость штаммов <i>Proteus</i> к отдельным антибиотикам | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|------|
| | | Pc | | Ap | | Em | | Km | | Cm | | Sm | | Tc | | Cb | | Gm | |
| | | аб. | % | аб. | % | аб. | % | аб. | % | аб. | % | аб. | % | аб. | % | аб. | % | аб. | % |
| Республиканский ожоговый центр | 15 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 14 | 93,1 | 14 | 93,1 | 15 | 100 | 15 | 100 | 13 | 86,3 | 12 | 80,3 |
| Закавказская железнодорожная больница № 2 | 10 | 10 | 100 | 10 | 100 | 10 | 100 | 10 | 100 | 10 | 100 | 10 | 100 | 10 | 100 | 9 | 90,0 | 8 | 80,0 |
| Всего | 25 | 25 | 100 | 25 | 100 | 25 | 100 | 24 | 96,5 | 24 | 96,5 | 25 | 100 | 25 | 100 | 22 | 86,1 | 20 | 80,1 |

терминантов устойчивости к указанным антибиотикам выявлена не была.

Характеризуя конъюгативные плазмиды, выделенные в Республиканском ожоговом центре из протейных штаммов больных, надо отметить, что они несут детерминанты резистентности к стрептомицину, канамицину, тетрациклину и относятся к группам несовместимости T, J, M, N (табл. 3), то есть

Известно, что плазмиды IncPI группы имеют широкий круг хозяев, они распространены в бактериях семейства Enterobacteriaceae *E. coli*; *Providencia* spp; *Klebsiella* spp; *Proteus* spp; *Salmonella* spp; *Shigella* spp; *Serratia marcescens*) и принимают участие в формировании госпитальных штаммов, которые могут вызвать внутрибольничные инфекционные вспышки.

Таблица 3

Плазмиды, обнаруженные в штаммах *Proteus* и принадлежащие к группе несовместимости *E. coli*

| Место выделения | Плазмиды | Характеристика | Группа несовместимости | Мол. масса (в МД) | Частота конъюгационного переноса |
|-------------------------------------------|----------|---------------------------|------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Республиканский ожоговый центр | pJ378 | Km Sm Tra ⁺ | J | 33,0 | 10 ⁻⁴ |
| | pMT36 | Sm Tc Tra ⁺ | M | 38,0 | 10 ⁻³ |
| | pNK20 | Sm Tc Km Tra ⁺ | N | 49,0 | 10 ⁻⁴ |
| | pTK31 | Km Tb Tra ⁺ | T | 53,0 | 10 ⁻³ |
| Закавказская железнодорожная больница № 2 | pJ33 | Km Sm Tra ⁺ | J | 33,0 | 10 ⁻³ |
| | pM37 | Sm Tc Tra ⁺ | M | 38,0 | 10 ⁻⁴ |
| | pN31 | Sm Tckm Tra ⁺ | N | 49,0 | 10 ⁻³ |
| | pTG30 | Km Tc Tra ⁺ | T | 53,0 | 10 ⁻³ |

группе плазмид *E. coli*. Однако после скрещивания клинических штаммов протей с тестерными штаммами синегнойной палочки было установлено,

Конъюгативные плазмиды, обнаруженные в госпитальных штаммах *Proteus*, выделенных от больных в Закавказской железнодорожной больнице

Таблица 4

Плазмиды, обнаруженные в штаммах *Proteus* и принадлежащие к группе несовместимости *P. aeruginosa*

| Место выделения | Плазмиды | Характеристика | Группа несовместимости | Мол. масса (в МД) | Частота конъюгационного переноса |
|-------------------------------------------|----------|------------------------------|------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Республиканский ожоговый центр | pRT23 | Km Cb Tc Gm Tra ⁺ | IncPI | 37,0 | 10 ⁻⁴ |
| | pRT28 | Km Cb Tc Gm Tra ⁺ | IncPI | 35,0 | 10 ⁻⁴ |
| Закавказская железнодорожная больница № 2 | pRT39 | Km Cb Tc Gm Tra ⁺ | IncPI | 37,0 | 10 ⁻³ |
| | pRT107 | Km Cb Tc Gm Tra ⁺ | IncPI | 35,0 | 10 ⁻⁴ |

что штаммы протей содержат и плазмиды группы IncPI, которые принадлежат к группе несовместимости плазмид синегнойной палочки.

№ 2, также несут плазмиды, принадлежащие к группам несовместимости T, J, M, N. В указанных штаммах протей также распространены и плаз-

миды группы несовместимости IncPI (табл. 4).

Полученные данные указывают на то, что в клинических стационарах г. Тбилиси распространены штаммы протей, которые содержат плазмиды, принадлежащие как к группе несовместимости E. coli, так и к группе несовместимости P. aeruginosa.

При изучении плазмидного состава госпитальных штаммов транскоъюганты, полученные в скрещиваниях клинических изолятов со штаммами ML 4262 и J 53, исследовали по методу Экхардта на наличие плазмид.

В ожоговом центре в штаммах протей были обнаружены некоъюгативные R-плазмиды, несущие резистентность к тетрациклину с молекулярными массами 7,2 МД, а также плазмиды, определяющие резистентность к стрептомицину — молекулярная масса 5,8 МД.

В штаммах Proteus из Республиканского ожогового центра выделены коъюгативные плазмиды с молекулярным весом 33,0 и 38,0 МД. Эти плазмиды несут устойчивость к стрептомицину, канамицину, тетрациклину и относятся к группе несовместимости J, M, обозначены как pJ378 и pMT36 соответственно. Плазмиды с молекулярными массами 49,0; 53,0 МД соответственно относятся к группе несовместимости N, T и обозначены как pNK20, pTK31 соответственно. Однако, как было ранее сказано, в штаммах Proteus обнаружены плазмиды, которые относятся к группе несовместимости IncPI, имеют молекулярные массы 37,0; 35,0 МД и детерминируют устойчивость к тетрациклину, канамицину, карбенициллину, гентамицину. Обозначены нами как pRT23, pRT28 соответственно (табл. 4).

В штаммах протей Закавказской

железнодорожной больницы №2 были выявлены коъюгативные плазмиды с молекулярными массами 33,0; 38,0; 49,0; 53,0 МД, они принадлежат к группам несовместимости J, M, N, T соответственно. Обозначены как pJ33, pM37, pN131, pTG30 соответственно. В штаммах Proteus, как и в случае штаммов из Республиканского ожогового центра, обнаружены R-плазмиды с молекулярными массами 37,0; 35,0 МД, они детерминируют устойчивость к тетрациклину, канамицину, карбенициллину, гентамицину, обозначены как pRT39 и pRG107 соответственно и принадлежат к группе несовместимости IncPI.

Таким образом, представленные результаты указывают на широкую распространенность R-плазмид лекарственной устойчивости в госпитальных штаммах протей, выделенных в клинических стационарах г. Тбилиси. Показано, что штаммы Proteus, выделенные в различное время, могут содержать R-плазмиды с одинаковыми молекулярными массами и детерминировать одинаковые фенотипические признаки. Интересной особенностью выявленных R-плазмид является и то, что они принадлежат к тем группам несовместимости, которые среди других видов бактерий имеют широкий круг хозяев. Поэтому представленные результаты могут служить примером возможного использования выявленных нами R-плазмид протей в качестве эпидемиологического маркера. Совокупность приведенных данных свидетельствует о целесообразности изучения плазмидного состава штаммов Proteus, выделенных при госпитальных инфекциях как для выявления резервуара инфекции, так и путей ее распространения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абаджиева А. Н., Даниленко В. И., Навашии С. М. Антибиотики, 1, 65—75, 1985.
2. Бекбергенов Б. М., Сперанская О. Н., Гельфанд Б. Р., Ухин А. В., Топазова Е. Н. Антибиотики, 3, 220—224, 1986.
3. Бекбергенов Б. М., Гельфанд В. И., Сперанская О. Н., Подачин П. В. Антибиотики, 3, 227—230, 1987.
4. Боронин А. М., Анисимова Л. А. Антибиотики, 9, 678—695, 1984.
5. Краткий определитель бактерий Берги. «Медицина», М., 1982.
6. Миныхин В. В., Кравцова В. И., Цыганенко А. Я. ЖМЭИ, 3, 48—52, 1989.
7. Навашии С. М., Блатун Л. А. Антибиотики, 7, 516—520, 1982.



8. Навашии С. М., Фомина И. П. Рациональная антибиотикотерапия, «Медицина», М., 1982.

9. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследований (под ред. Биргера М. О.) М., 1982.

10. Clewel D. B., Gagi G., Dunnely I. M., Schults S. K., J. Bacteriol., 117, 283—292, 1974

11. Eckhardt T. J. Plasmid., 1, 584 — 588, 1978.

12. Hedges R. W., Datta N., Coltze J. N. J. Gen. Microb., 77, 2, 249—259, 1973.

13. Odakura Y., Tanaka T., Yumoto M., Inabuku Z., Mitsuhashi S. Jap. Microbiol., 17, 21—28, 1973.

14. Sagai H., Kremery V., Hasuda K., Lyobe S., Knothe H., Mitsuhashi S. Jap. J. Microbiol., 19, 6, 427 — 432, 1975.

15. Tapati D. G., Tapati B. O., Mitra A., Sujata G., Mahamada B. Ind. J. Experim. Biol., 18, 478—480, 1980.

R-პლაზმიდების გავრცელება პროტეუსის ჰოსპიტალურ შტამებში

ბ. ზაბისონია, ი. შირაკაძე, დ. ჩიქვილაძე, მ. ჩიქვაძე, ლ. ჩიქვაძე, თ. იოსავანი, თ. იოსავანი, თ. ვანოშვილი, ნ. კახიანი, თ. კახიანი

გ. ელიავას სახელობის სს „ბაქტერიოფაგი“, თბილისი
 თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი,

რ ე ზ ი ე მ ე

წინამდებარე სამუშაოში შესწავლილია 1985—1989 წლებში ქ. თბილისის კლინიკური სტაციონარებიდან გამოყოფილი პროტეუსის შტამების მგრძობელობა ანტიბიოტიკების მიმართ. ნაჩვენებია პოლირეზისტენტული ფორმების ფართო გავრცელება. სხვა და სხვა წლებში გამოყოფილი პროტეუსის შტამების რეზისტენტობის სპექტრი სამკურნალო პრეპარატების მიმართ მსგავსია, მაგრამ 1987—1989 წლებში შესწავლილი პროტეუსები ხასიათდებიან განსაკუთრებული რეზისტენტობით გენტამიცინის, კარბენიცილინის, კანამიცინისადმი. დადგენილია, რომ ჰოსპიტალური შტამები შეიცავენ როგორც კონიუგაციურს, ასევე არაკონიუგაციურ პლაზმიდებს, ამათგან 55% შტამებისა შეიცავს კონიუგაციურ R-პლაზმიდებს, რომლებიც შეუთავსებლობის სხვადასხვა ჯგუფებს მიეკუთვნებიან. ეს პლაზმიდები განა-

პირობებენ მდგრადობას სტრეპტომიცინის, ქლორამფენიკოლის, ტეტრაციკლინის, გენტამიცინის, კარბენიცილინის, კანამიცინის მიმართ. მათი შეუთავსებლობის ჯგუფებია T, J, M, N, მოლეკულური მასები 53,0; 33,0 38,0; 49,0 MD შესაბამისად. პროტეუსის ჰოსპიტალურ შტამებში გამოვლენილი იქნა პლაზმიდები, რომლებიც მიეკუთვნებიან IncP1 შეუთავსებლობის ჯგუფს. არაკონიუგაციურ პლაზმიდებს აქვთ მოლეკულური მასა: 7,2 და 5,3 MD და განსაზღვრავენ რეზისტენტობას ტეტრაციკლინის, სტრეპტომიცინის მიმართ. ჩატარებული გამოკვლევების საფუძველზე დადგენილია, რომ არაკონიუგაციური და კონიუგაციური R-პლაზმიდები მონაწილეობას ღებულობენ ჰოსპიტალური შტამების ფორმირებაში.

SPREADING OF R-PLASMIDS IN PROTEUS HOSPITAL STRAINS

T. G. GABISONIA, I. G. CHIRAKADZE, D. P. CHIKVILADZE, M. L. CHIJAVADZE
 L. A. CHIKOVANI, T. S. IOSEBASHVILI, T. G. CHANISHVILI,
 N. D. PETRIASHVILI, T. S. KERESLIDZE

G. G. Eliava Industrial Amalgamation of „Bacteriophage“ Tbilisi, USSR
 Tbilisi State Medical Institute

S u m m a r y

The sensitivity to antibiotics of proteus strains, isolated in 1985 - 89 was studied. A total of 85 proteus strains

were examined and wide spreading of polyresistant forms of this pathogene was shown.



Study of the spectrum of antibiotic sensitivity of proteus strains showed that the strains, isolated in 1985—89 resemble each other in the spectrum of resistance, but the range of resistance increases with respect to gentamycin, canamycin, carbenicillin, etc. It was established that proteus hospital strains have conjugative and nonconjugative plasmids, which refer to different groups of incompatibility. It was shown that 55% of proteus strains have conjugative R-plasmids, determining stability to streptomycin, gentamycin, carbenicillin, tetracycline, canamycin, chloramphenicol, refer to T, J, M, N groups

of incompatibility and have molecular masses 53.0; 33.0; 38.0; 49.0 MD, respectively. In proteus strains plasmids belonging to Inc-P1 group of incompatibility were found. Proteus strains also have nonconjugative R-plasmids that determine stability to tetracycline and streptomycin and have molecular masses 7.2 and 5.8 MD, respectively. Thus, study of proteus hospital strains, isolated in two clinics of Tbilisi, has shown that conjugative and non-conjugative plasmids of resistance take part in the formation of proteus-hospital strains.

УДК 663.15/008.8/

МИКРОБИОЛОГИЯ

ПОЛУЧЕНИЕ КОРМОВЫХ ДОБАВОК МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ КОНВЕРСИЕЙ ОТХОДОВ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Н. В. Аладашвили, М. Я. Ткешелашвили, Э. М. Метревели,
В. Ш. Берикашвили, Д. А. Долидзе

Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 30.05.89

Для получения кормовых добавок отобраны штаммы рода микромицетов *Aspergillus terreus* и *Aspergillus oryzae*, подобраны отходы сельского хозяйства и пищевой промышленности. Установлен оптимальный возраст посевного материала, питательная среда, температура выращивания, время культивирования для максимального выхода биомассы с высоким содержанием белка. В результате проведенной работы получены нетоксичные биомассы мутантных штаммов *A. terreus* AT-490 и *A. oryzae* 3—9—15 с содержанием сырого протеина до 35%.

Интенсификация животноводства связана с созданием прочной кормовой базы и зависит от ресурсов кормового белка. По данным ФАО ООН мировой кормовой дефицит к 2000 году составит 22 млн т. Наиболее реальной и экономически оправданной возможностью увеличения производства кормового белка является организация его промышленного производства путем микробиологического синтеза [3, 5].

При изыскании возможных путей получения кормовых добавок микро-

биологической конверсией лигно-целлюлозного сырья — отходов сельского хозяйства и пищевой промышленности — были выбраны грибы, так как только они способны конверсировать отходы подобного вида [2, 4].

Целью данной работы было получение кормовых добавок микробиологической конверсией отходов чайной промышленности, цитрусовой муки, кукурузных кочерыжек, обрезков виноградной лозы, помидорных отжимов с использованием микромицетов *A. terreus* и *A. oryzae*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Субстратами для исследований служили высушенные и молотые отходы чайной промышленности, помидорные отжимы, цитрусовая мука, кукурузные кочерыжки, обрезки виноградной лозы.

Для выявления наилучшего продуцента белка проведена селекция нетоксичных и непатогенных микроскопических грибов — продуцентов целюлаз и амилаз из коллекции культур микроорганизмов лаборатории

биотехнологии Института биохимии растений АН ГССР.

Культуру *A. terreus* выращивали на 7%-ном сусло-агаре в течение 14 суток при 40°, а *A. oryzae* при 30° в течение 13 суток на той же питательной среде. Для получения биомассы *A. terreus* суспензию гриба засекали в питательную среду следующего состава (г/л): NaNO_3 — 3,0; KH_2PO_4 — 2,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,5; а в качестве субстрата вносили один из отходов, в частности — отходы чайной



04.035730

промышленности — 1%, помидорные отжимы — 7%, обрезки виноградной лозы — 6%, цитрусовую муку — 4%, кукурузные кочерыжки — 3%. Для получения биомасс *A. oryzae* суспензию гриба засевали в питательную среду, в состав которой входят (г/л): NaNO_3 — 12; MgSO_4 — 0,65; KH_2PO_4 — 1,3, KCl — 0,5, FeSO_4 — 0,02; в качестве субстрата вносили один из отходов, в частности — отходы чайной промышленности — 3%, помидорные отжимы — 5%, обрезки виноградной лозы — 1,0%, цитрусовую муку — 4%, кукурузные кочерыжки — 6%.

Грибы культивировали глубинным способом (*A. terreus* при 40°, а *A. oryzae* — 30°) в 150 мл питательной среде в конических колбах емкостью 750 мл, на качалке с 200 об/мин в течение двух суток. После окончания срока культивирования содержимое колб центрифугировали в течение 20 мин. Осадок сушили лиофильно.

Отбор штаммов — продуцентов белка проводили по признаку накопления наибольшего количества сырого протеина в биомассе. Определение сырого протеина проводили по методу Неслера [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного скрининга были отобраны штаммы *A. terreus* AT-490 и *A. oryzae* 3—9—15.

Для максимальной утилизации грибами отходов сельского хозяйства и пищевой промышленности и накопления наибольшего количества сырого протеина в биомассах первоначально необходимо было установить количество вносимых отходов. Оказалось, что при внесении в питательную среду отходов чайной промышленности в количестве 1%, обрезков виноградной лозы — 6%, цитрусовой муки — 4%, кукурузных кочержек — 3%, помидорных отжимов — 7% для гриба *A. terreus* выход биомассы составлял 70%, а сырого протеина накапливалось 38, 28, 30, 40, 35% соответственно. При выращивании гриба *A. oryzae* 3—9—15 было выявлено, что в питательную среду необходимо вносить отходов чайной промышленности — 3%, помидорных отжимов — 5%, обрезков виноградной лозы — 1%, кукурузных кочержек — 6%, цитрусовой муки — 4%, выход биомассы составлял 70%, а сырого протеина накапливалось 36, 32, 22, 25, 30 соответственно.

При вариации вносимых количеств отходов выход биомасс не превышал 40%, а содержание сырого протеина колебалось от 14 до 20%.

Учитывая тот факт, что условия культивирования существенно влияют на рост грибов, были изучены влияния температуры, pH среды, источников азота, фосфора и длительность времени культивирования.

При изучении влияния температуры на накопление биомассы и белка в ней было установлено, что для *A. terreus* оптимальная температура — 40°, а для *A. oryzae* — 30°. Изменение величины температуры как в одну, так и в другую сторону понижает как содержание белка в биомассе, так и выход.

Существенное влияние на накопление белка в биомассе оказывает источник азота питания. Штаммы *A. terreus* и *A. oryzae* выращивали на среде, в которой источником углерода был один из отходов; из минеральных источников азота были использованы разные соли (в концентрации 0,05% по азоту): азотнокислый натрий и калий, сернистый и хлористый аммоний. Наиболее высокое содержание сырого протеина наблюдается при использовании в качестве источника азота NaNO_3 (табл. 1).

Штаммы грибов *A. terreus* и *A. oryzae* хорошо усваивали разнообразные фосфорные соединения. В среду с источником углерода (один из отходов), источником азота (азотнокислый натрий) вносили одно- и двузамещенный фосфорнокислый калий, однозамещенный фосфорнокислый натрий и двузамещенный фосфорнокислый аммоний в количестве 0,045% по фосфору. Для накопления биомассы до 60% и сырого протеина не меньше 25% наиболее оптимальным оказался однозамещенный фосфорнокислый калий (табл. 2).

Влияние разных источников азота на накопление сырого протеина в биомассах грибов *A. terreus* и *A. oryzae*, выращенных на разных отходах

| Источник азота | Содержание сырого протеина в % | | | | | | | | | |
|--------------------------------------------------|--------------------------------|------------------|-------------------|------------------|--------------------------|------------------|-------------------|------------------|----------------------|------------------|
| | отходы чайной промышленности | | помидорные отжимы | | обрезки виноградной лозы | | цитрусовая мука | | кукурузные кочерыжки | |
| | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> |
| Na NO ₃ | 38 | 36 | 28 | 32 | 35 | 22 | 30 | 30 | 40 | 25 |
| NH ₄ NO ₃ | 25 | 30 | 20 | 23 | 21 | 15 | 22 | 22 | 27 | 19 |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | 24 | 26 | 19 | 24 | 20 | 14 | 20 | 24 | 25 | 20 |
| (NH ₄) ₂ HPO ₄ | 25 | 28 | 19 | 26 | 18 | 11 | 19 | 20 | 25 | 18 |
| NH ₄ Cl | 20 | 27 | 16 | 20 | 18 | 13 | 19 | 25 | 24 | 15 |
| KNO ₃ | 29 | 30 | 20 | 24 | 20 | 15 | 22 | 25 | 32 | 19 |

Таблица 2

Влияние различных источников фосфора на накопление сырого протеина в биомассах грибов *A. terreus* и *A. oryzae*, выращенных на разных отходах

| Источники фосфора | Содержание сырого протеина в % | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|--------------------------------|------------------|--------------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|----------------------|------------------|
| | отходы чайной промышленности | | обрезки виноградной лозы | | цитрусовая мука | | помидорные отжимы | | кукурузные кочерыжки | |
| | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> |
| KH ₂ PO ₄ | 36 | 35 | 25 | 32 | 28 | 23 | 33 | 30 | 38 | 27 |
| K ₂ HPO ₄ | 30 | 28 | 20 | 25 | 20 | 20 | 25 | 19 | 30 | 20 |
| NaH ₂ PO ₄ | 30 | 28 | 20 | 22 | 19 | 15 | 24 | 20 | 30 | 20 |
| (NH ₄) ₂ HPO | 28 | 29 | 19 | 20 | 19 | 18 | 22 | 25 | 29 | 18 |

Таблица 3

Аминокислотный состав белка биомассы *A. terreus* и *A. oryzae*, выращенных на помидорных отжимах, и яичного белка (г на 100 г истинного белка)

| Аминокислоты | Концентрация аминокислот (г/100 г белка) | | |
|-----------------------|------------------------------------------|------------------------------|--------------|
| | белок гриба <i>A. terreus</i> | белок гриба <i>A. oryzae</i> | яичный белок |
| Лизин | 1,4 | 1,8 | 6,4 |
| Треонин | 4,8 | 6,6 | 5,1 |
| Валин | 4,2 | 3,2 | 7,3 |
| Метионин | 2,8 | 2,4 | 3,1 |
| Изолейцин | 5,6 | 5,1 | 6,6 |
| Фенилаланин | 3,4 | 1,3 | 5,8 |
| Лейцин | 4,9 | 5,2 | 8,8 |
| Гистидин | 3,0 | 4,8 | 2,4 |
| Аспарагиновая кислота | 10,8 | 9,8 | 9,0 |
| Глутаминовая кислота | 17,2 | 18,7 | 16,0 |
| Серин | 7,6 | 8,2 | 8,5 |
| Пролин | 4,6 | 9,8 | 8,1 |
| Глицин | 3,8 | 4,7 | 3,6 |
| Аланин | 8,0 | 3,9 | 7,4 |
| Тирозин | 2,4 | 6,9 | 4,2 |



С целью подбора оптимального исходного рН среды были испытаны разные значения рН от 2,5 до 6,5 с интервалом 0,5. Установлено, что в процессе роста культуры рН сдвигается в щелочную сторону. Даже при исходном значении рН среды 2,5 к концу культивирования он достигает 7,5. Наибольший выход биомассы и сырого протеина наблюдается при исходном значении рН 4,5.

этом наблюдается и наибольшее накопление сырого протеина. В дальнейшем уменьшается вес биомассы, соответственно и содержание сырого протеина, что вызвано лизисом клеток.

Таким образом, в результате проведенных исследований подобраны питательные среды и условия культивирования, позволяющие получать биомассы грибов *A. terreus* и *A. oryzae* со

Таблица 4

Химический состав биомасс грибов *A. terreus* и *A. oryzae*, выращенных на разных отходах (в %)

| Отходы | лага | | Сырой белок | | Углеводы | | Зола | | Липиды | | Нуклеиновые кислоты | |
|--------------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|---------------------|------------------|
| | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> | <i>A. terreus</i> | <i>A. oryzae</i> |
| Чайной промышленности | 4 | 3 | 38 | 36 | 7 | 8 | 3 | 3 | 10 | 10 | 1,5 | 1,0 |
| Помидорные отжимы | 3 | 3 | 35 | 32 | 7 | 13 | 4 | 4 | 16 | 14 | 1,5 | 1,5 |
| Обрезки виноградной лозы | 5 | 4 | 28 | 22 | 12 | 7 | 5 | 3 | 8 | 10 | 2,0 | 1,0 |
| Цитрусовая мука | 4 | 4 | 30 | 30 | 16 | 12 | 5 | 3 | 12 | 8 | 1,5 | 2,0 |
| Кукурузные кочерыжки | 3 | 3 | 40 | 25 | 12 | 10 | 4 | 4 | 10 | 12 | 1,5 | 1,5 |

возраст посевного материала также влияет на накопление белка в биомассе. При использовании в качестве посевного материала 14-суточной культуры *A. terreus* и 13-суточной культуры *A. oryzae* достигается максимальное накопление биомассы и сырого протеина.

В течение 7 суток глубинного культивирования штаммов *A. terreus* и *A. oryzae* было выявлено, что биомассы грибов интенсивно накапливаются в течение первых 2—3 суток; при

средним выходом 65—70% и с содержанием белка 30—40%.

Анализ аминокислот, входящих в состав белка, показал, что гидролизаты содержат более 15 аминокислот, среди них все незаменимые аминокислоты (табл. 3).

Определение кормового достоинства микробных биомасс, полученных на отходах сельского хозяйства и пищевой промышленности, основывалось на химическом анализе. В таблице 4 приведены данные этих анализов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Данилова Н. С. С/х биология, 3, 6, 908—912, 1973.
2. Егоров Н. С., Олескин А. В., Сализов В. Д. Биотехнология. Проблемы и перспективы, «Высшая школа», М., 1987, 147—149.
3. Лобанок А. Г. Биотехнология — сельскому хозяйству, «Ураджай», Минск, 1988, 12—15.
4. Manfredi Engene T. World Biotechnology Pert. Proc. Conf. San-Francisco, N. Y., London, 1986, 91—97.
5. Котов В. Б., Вакулов В. А. Биотехнология, 3, 5, 1987, 36.

სოფლის მეურნეობის და კვების გრძელვადიანი ანარჩენებიდან მიკრობიოლოგიური კონვერსიის გზით ცხოველური საკვების დანამატის მიღება

ნ. ალადაშვილი, მ. ტყეშელაშვილი, ე. მეტრეველი, ვ. ბერიკაშვილი, ვ. დოლიძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მეცნარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ცხოველური საკვების დანამატის მიზნად არჩეულია მიკრომიცეტების შტამები *Aspergillus terreus*, *Aspergillus oryzae*. შერჩეულია სოფლის მეურნეობისა და კვების მრეწველობის ანარჩენები.

ცილით მდიდარი ბიომასის მისაღებად დადგენილია ჩასათესი მასალის ასაკი, სა-

კვები არე, ზრდის ტემპერატურა, კულტივირების ხანგრძლივობა.

ჩატარებული სამუშაოს შედეგად მიღებულია მუტანტური შტამების *A. terreus* AT-490, *A. oryzae* 3—9—15 არატოქსიური ბიომასები, რომლებშიც ნედლი პროტეინის შემცველობა 35% აღწევს.

TO OBTAIN ADDITIONAL FODDER THROUGH MICROBIOLOGICAL CONVERSION OF AGRICULTURAL AND FOOD INDUSTRY WASTES BY MICROMYCETES

H. V. ALADASHVILI, M. I. TKESHELASHVILI, E. M. METREVELI, V. Sh. BERIKASHVILI, D. A. DOLIDZE

Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The strains of the genera *Aspergillus terreus* and *Aspergillus oryzae* micromycetes were chosen to obtain additional fodder. The agricultural and food industry wastes were collected. The optimal age of sowing material, nutrient medium, growth temperature, cultivation time for

maximum yield of biomass with a high protein content were established. As a result, nontoxic biomass of the mutant strain of *Aspergillus terreus* AT-490 and *Aspergillus oryzae* 3—9—15 containing up to 35% of raw protein has been obtained.

УДК 576.858.9

МИКРОБИОЛОГИЯ

РАЗРАБОТКА СТАНДАРТНОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПНОЦИАНЕУС БАКТЕРИОФАГА

М. А. Дарсавелидзе, Т. П. Кратасюк, Т. Г. Чанишвили,
Ж. С. Капанадзе, Л. Д. Перемитина, В. Ф. Малышева,
Н. А. Капырина, Э. А. Берилло

НПО «Бактериофаг» им. Г. Г. Элиава, Тбилиси
ГИСК им. Л. А. Тарасевича МЗ СССР, Москва

Поступила в редакцию 10.01.89

Излагаются результаты экспериментальной работы по получению стандартного пноцианеус фага и изучению его физических и биологических свойств. Полученный препарат соответствует параметрам биологического стандарта: имеет высокую литическую активность, широкий диапазон действия и стабильно сохраняет эти свойства в процессе хранения (срок наблюдения 3 года).

Изучена возможность использования лиофилизированных культур *P. aeruginosa* при контроле активности пноцианеус бактериофага. Применение для титрования фага лиофилизированной взвеси бактерий одной и той же серии высушивания и определенной концентрации позволяет стандартизовать методику титрования.

Разработана стандартная система (эталонный фаг и коллекция стабилизированных штаммов), предназначенная для контроля литической активности коммерческих серий пноцианеус бактериофага, что в свою очередь способствует повышению их качества и унификации.

Известно, что одним из способов совершенствования выпускаемых биологических препаратов является оценка их активности параллельно со стандартным образцом. Для ряда препаратов накоплен большой опыт стандартизации, имеются международные или национальные эталоны [4].

Несмотря на возросший интерес к практическому использованию фаговых препаратов, вопросы их стандартизации разработаны в меньшей степени [5, 6, 7].

Существующая технология произ-

водства лечебно-профилактического препарата пноцианеус бактериофага не всегда обеспечивает получение стандартной готовой продукции как по активности, так и по диапазону литического спектра. Предусмотренные документацией методы испытания активности производственных серий фага не обеспечивают достаточной их унификации.

Поэтому целью нашего исследования являлась разработка стандартной системы контроля коммерческих серий, представляющей собой эталонный фаг и коллекцию стабилизированных штаммов *P. aeruginosa*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

При выполнении данной работы нами были использованы 350 свежыведенных штаммов *Ps. aeruginosa*, полученных из лаборатории по изучению производственных штаммов НПО «Бактериофаг».

Исходным материалом для получе-

ния поливалентного пноцианеус бактериофага служили: новые фаги *P. aeruginosa*, выделенные из сточных вод г. Тбилиси в 1983—1984 гг., и маточная раса, полученная из отдела биологического контроля НПО «Бактериофаг».

Общие методы работы с фагом заимствованы из книги Д. М. Гольдфарба [2].

В качестве стабилизатора при лиофилизации экспериментальных серий фага были использованы следующие криопротекторы*: полиэтиленоксид-400 (ПЭО-400); полиэтиленгликоль-400 (ПЭГ-400); диметилсульфоксид (ДМСО) — в концентрации 0,25 М; сахарозо-желатиновая среда (С — 90%, Ж — 10%) и 20%-ный пептон Дифко. Криопротекторы смешивали с фильтратом фага в равных количествах (1:1), кроме среды СЖ (9:1), и разливали в ампулы по 1 мл.

Лиофилизацию фагов проводили в аппаратах «ТГ-15» (ГДР) с предварительным замораживанием в течение 24 ч (-40°C). Общая продолжительность сушки 48 ч, максимальная температура в аппарате 35°C . Ампулы запаивали под вакуумом 200 мк.

Для работы содержимое ампулы с сухим фагом растворяли в 1 мл питательного бульона, затем готовили последовательные десятикратные разведения до 10^{-7} , в объеме 4,5 мл

бульона и 0,5 мл предыдущего разведения фага.

При высушивании штаммов *P. aeruginosa* в качестве защитной среды была использована сахарозо-желатиновая среда (С — 10%, Ж — 1%). Концентрация лиофилизированной микробной массы (разлитой по 1 мл в ампулы) составляла 10 млрд микробных тел в 1 мл.

Лиофилизацию штаммов проводили в аппарате «LZ-9» при следующем режиме: температура замораживания -40°C , длительность — 3 ч, максимальная температура в аппарате 35°C , продолжительность сушки 36 ч, вакуум при запаивании 200 мк.

Для работы содержимое ампулы с высушенной культурой растворяли в 1 мл питательного бульона. Концентрация микробных тел после 10-кратного разведения составляла 1 млрд в 1 мл. Полученную бактериальную взвесь в количестве 0,03 мл добавляли в пробирки с разведениями бактериофага. Предварительный пересев культур на агаровые среды не производили.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для получения активного лечебно-профилактического пиоцианеус бактериофага, который послужил бы основой для создания стандартного препарата были тщательно изучены штаммы *P. aeruginosa*. Все взятые для экспериментальной работы штаммы обладали типичными морфологическими, культуральными и ферментативными свойствами. Из числа изученных культур было отобрано 28 штаммов-«воспитателей», предназначенных для приготовления поливалентного пиоцианеус бактериофага. Отбирались штаммы, обеспечивающие высокий выход фаговых частиц, а также с учетом их географического распространения.

Пассированием пиоцианеус фагов, выделенных из сточных вод, на гомологичных штаммах в жидкой питательной среде было получено 30 рас фагов. Совместное разноеживание на штаммах-«воспитателях» (отдельно

пассированных на свежeweделенных штаммах) различных клонов пиоцианеус фагов позволило получить поливалентную жидкую маточную расу с широким спектром, стабильно лизирующую 93% имеющихся у нас штаммов *P. aeruginosa*.

С целью повышения устойчивости фага, а также учитывая требования ВОЗ, предъявляемые к стандартным препаратам, было проведено его лиофильное высушивание. Для отработки режима лиофилизации и выбора наиболее оптимальной концентрации и вида криопротектора, в предварительных опытах проведено высушивание небольших объемов фаголизата. После чего активность каждого варианта изучалась методом Аппельмана. Контролем служил исходный фильтрат пиоцианеус фага. Результаты исследования активности фага, высушенного с различными стабилизаторами, представлены в табл. 1.

Как видно из приведенного материала, образцы бактериофага с криопротекторами: 20%-ный пептон Дифко, сахарозо-желатиновая среда (СЖ), ПЭО-400, ПЭГ-400 после

* Криопротекторы: ПЭО - 400, ПЭГ - 400 в ДМСО любезно предоставлены И. П. Высеканцевым (Институт проблем криобиологии и криомедицины АН УССР, Харьков)

Литическая активность лиофилизированных пиоцианеус бактериофагов

| Наименование культуры <i>P. aeruginosa</i> | До высушивания | Титры бактериофагов После высушивания с добавлением разных защитных сред | | | | | |
|-----------------------------------------------|------------------|-----------------------------------------------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | 20% пептон Дифко | ПЭО-400 | ПЭГ-400 | ДМСО | среда СЖ: | |
| | | | | | | С—90%, Ж—10%; | С—9%, Ж—1% |
| Ленинград 1308 | 10 ⁻⁸ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ |
| Ленинград 1317 | 10 ⁻⁸ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ |
| Баку 279 | 10 ⁻⁸ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁶ |
| Благовещенск 290 | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻³ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁵ |
| Уральск 276 | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻³ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ |
| Куйбышев 286 | 10 ⁻⁸ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁶ |
| Горький 440 | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻³ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁵ |
| Казань 254 | 10 ⁻⁸ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁶ |
| Троицк 323 | 10 ⁻⁸ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ |
| Вологда 160 | 10 ⁻⁸ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻³ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ |

лиофилизации полностью сохраняли активность, а при использовании ДМСО наблюдалось падение титра фага. Однако в процессе хранения у образцов бактериофагов, высушенных с добавлением криопротекторов ПЭО-400 и ПЭГ-400, наблюдалось значительное снижение активности (табл. 2). Поэтому в качестве стабилизато-

ции при режиме, отработанном в предварительных опытах.

Лиофилизированный пиоцианеус бактериофаг, предлагаемый нами в качестве стандартного образца, представлял собой сухую массу белого цвета. Остаточная влажность не превышала 1,4%. Колебания веса сухого вещества в ампулах составляли от

Таблица 2

Изучение литической активности лиофилизированных пиоцианеус бактериофагов в процессе хранения при 4 и 37°С в течение 1 года

| Использованный штамм <i>P. aeruginosa</i> | Титры бактериофагов (по Аппельману) | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------------------|-------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|------------------|-----|------|
| | Среда СЖ | | 20% пептон Дифко | | | | ПЭО-400 | | ПЭГ-400 | | | |
| | исходный | через 1 год | исходный | через 1 год | | исходный | через 1 год | исходный | через 1 год | | | |
| | | | | 4°С | 37°С | | | | 4°С | 37°С | 4°С | 37°С |
| Ленинград 1308 | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | — | — | 10 ⁻⁵ | — | — |
| Ленинград 1317 | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | — | — | 10 ⁻⁶ | — | — |
| Баку 279 | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻² | — | 10 ⁻⁶ | — | — |
| Благовещан. 290 | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ | — | — | 10 ⁻⁶ | — | — |
| Уральск 276 | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻¹ | — | 10 ⁻⁶ | — | — |
| Куйбышев 286 | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻¹ | — | 10 ⁻⁶ | — | — |
| Горький 440 | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻¹ | — | 10 ⁻⁶ | — | — |
| Казань 254 | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | — | — | 10 ⁻⁶ | — | — |
| Троицк 323 | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | — | — | 10 ⁻⁶ | — | — |
| Вологда 160 | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁶ | — | — | 10 ⁻⁶ | — | — |

ра при лиофилизации жидкого пиоцианеус бактериофага была выбрана наиболее оптимальная сахарозо-желатиновая среда (сахароза—90%, желатина—10%). Фильтрат экспериментального фага смешивали со средой СЖ в соотношении 9:1 и разливали в ампулы по 1 мл. Содержимое ампул подвергали лиофилиза-

ции, что свидетельствовало о точности расфасовки препарата. Лиофилизированный фаг легко растворялся (1—2 мин) в дистиллированной воде, физиологическом растворе или питательном бульоне и после растворения представлял собой прозрачную жидкость.

Результаты исследования лиофилизированного пиоцианеус бактериофага свидетельствовали о его высокой активности как в бульоне — 10^6 — 10^7 (метод Аппельмана), так и на твердой питательной среде — 4×10^7 — 5×10^8 (метод Грациа; титр препарата по Аппельману был выше минимального, предусмотренного требованиями документации (ТУ 42. № 566-74 для коммерческих серий пиоцианеус бактериофага, проходной титр 10^4).

Не менее важным было установить диапазон литической активности стандартного образца пиоцианеус бактериофага в отношении свежeweделенных штаммов *P. aeruginosa*, циркулирующих в различных географических зонах страны. Титры пиоцианеус бактериофага на 177 штаммах *P. aeruginosa* составляли 10^5 — 10^7 , на 138 штаммах 10^4 — 10^5 , на 35 штаммах 10^2 — 10^3 (по Аппельману), титр по Грациа составлял соответственно: 4×10^7 — 3×10^8 , 3×10^5 — 5×10^6 , $2 + 10^3$ — 4×10^4 .

Полученные данные позволили заключить, что бактериофаг, предлагаемый нами в качестве стандартного образца, обладает высокой литической активностью в отношении штаммов *P. aeruginosa* и имеет широкий спектр литического действия.

При решении вопроса использования лиофилизированного бактериофага в качестве стандартного образца необходимо было оценить его отношение к воздействию повышенных температур, поскольку применение этого теста дает представление о стабильности препарата [11].

Изучение термостабильности разработанного препарата проводили путем прогревания его при 60, 75 и 100°C в течение часа. Оказалось, что приготовленный нами препарат характеризовался высокой терморезистентностью. Даже после кипячения образцов (100°C) в активном состоянии сохранялось от 14 до 25% фаговых частиц.

Для оценки стабильности препарата ампулы с фагом выдерживали в течение ряда лет при 4 и 37°C , после чего определяли литическую активность. Титры препарата после 1 года хранения мало отличались от исход-

ных показателей и не зависели от температурного режима (табл. 2). После 3 лет хранения титр был выше минимального (10^4), предусмотренного техническими условиями на выпускаемый пиоцианеус бактериофаг.

Результаты опытов полностью подтверждаются данными ряда авторов [1, 7, 10], отмечающих высокую эффективность использования лиофилизации как метода хранения бактериофагов.

Таким образом, характеристика лиофилизированного пиоцианеус бактериофага позволила оценить его как высокоактивный и терморезистентный препарат с широким диапазоном действия, минимальной влажностью и точно расфасованный. Все отмеченные параметры дали возможность считать, что приготовленный фаг удовлетворяет требованиям, предъявляемым к эталонным биологическим препаратам.

Одним из элементов стандартной системы контроля пиоцианеус бактериофага является набор штаммов *P. aeruginosa* со стабильными свойствами.

По данным ряда исследователей [3, 8, 9] лиофилизированные штаммы сохраняют морфологические, антигенные и вирулентные свойства в течение длительного срока. Нами была изучена возможность использования лиофилизированных культур *P. aeruginosa* при титровании пиоцианеус бактериофага без предварительного высева на агаровые среды.

Анализ полученных результатов позволил установить высокую фагочувствительность и идентичность показателей активности пиоцианеус бактериофага при титровании на агаровых и лиофилизированных культурах в течение 3-х лет наблюдения.

Использование стандартной системы (эталонный пиоцианеус фаг и стабилизированные штаммы *P. aeruginosa*) при контроле активности коммерческих серий обеспечит объективную оценку препарата, что, в свою очередь, будет способствовать повышению качества продукции.



1. Беляева И. А. Труды Харьковского НИИ вакцин и сывороток, 25, 1957, 381—389.
2. Гольдфарб Д. М. Бактериофагия, Медгиз, М., 1961.
3. Данилова М. В., Надирова И. М., Кудрявцев В. И. Методы хранения коллекционных культур микроорганизмов, М., 1967, 119—127.
4. Дзагуров С. Г. Материалы научной конференции ГИСК им. Л. А. Тарасевича, М., 1970, 26—32.
5. Капанадзе Ж. С. Труды ТбилНИИВС, VI, 1967, 251—257.
6. Малышева В. Ф. Разработка референс системы для определения литической активности дизентерийного бактериофага. Автореф. канд. дисс., 1981.
7. Переметина Л. Д., Беридзе Э. А., Малышева В. Ф. Стандарты, штаммы, методы контроля вирусных бактериальных препаратов и аллергенов, М., 1, 1975, 190—193.
8. Халитова Э. Б. Ж. микробиол., 2, 150—151, 1974.
9. Чернецкий Ю. П. Исследование процесса сублимационной сушки микроорганизмов и биопрепаратов, Автореф. канд. дисс., 1971.
10. Чернов Н. В. Труды Уфимского НИИВС, 9, 1968, 218—221.
11. Ярославская Н. В., Грязнова З. Н. Стандарты, штаммы и методы контроля вирусных бактериальных препаратов и аллергенов (Сборник научных трудов), М., I, 1975, 24—27.

პიოციანეზის ბაქტერიოფაგის ლიზისური აქტივობის განსაზღვრის სტანდარტული სისტემის დამუშავება

მ. დარსაველიძე, ბ. კრატასიშვილი, თ. ხანიშვილი, შ. კაკანაძე, ლ. კარგიშინა, ვ. მაღიშიძე, ნ. საკრინა, ა. ბერილო.

გ. ელიავას სახელობის სსჯ „ბაქტერიოფაგი“, თბილისი სსრკ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ლ. ტარასევიჩის სახელობის სტანდარტიზაციის და კონტროლის ინსტიტუტი, მოსკოვი

რ ე ზ ი უ მ ე

კომერციული სერიების ლიზისური აქტივობის საკონტროლოდ შექმნილ იქნა სტანდარტული სისტემა (პიოციანეზის აქტიური ბაქტერიოფაგი და შესაბამისი *P. aeruginosa*-ს სტაბილური შტამების კოლექცია).

ჩატარებულ იქნა სპეციალური გამოკვლევები პოლივალენტური ბაქტერიოფაგის მისაღებად, რომელიც დააკმაყოფილებდა სტანდარტული პრეპარატების მოთხოვნებს. აქტიური ფაგის რასების პასირებით ეტალონურ შტამზე, რომლებიც ფლობდნენ მაღალ რეპროდუქტიულ თვისებებს, მიღებულ იქნა პიოციანეზის ბაქტერიოფაგის ფაგოლიზატი. ძირითადი თვისებების შესანარჩუნებლად ფაგოლიზატორი ლიოფილიზირებული იქნა. სტაბილიზატორად გამოიყენებოდა სახაროზა-ჟელატინის ნადაგი (ს — 90%, ე — 10%). ლიოფილიზირებული ბაქტერიოფაგი მთლიანად პასუხობს ბიოლოგიური პრეპა-

რატის პარამეტრების სტანდარტებს: ხასიათდება მაღალი ლიზისური აქტივობით, ფართო მოქმედების დიაპაზონით, თერმორეზისტენტობით და სტაბილურად ინარჩუნებს ამ თვისებებს 3 წლის განმავლობაში.

ექსპერიმენტული მონაცემების საფუძველზე დადგენილ იქნა, რომ ლიოფილიზირებული კულტურები შეიძლება გამოყენებულ იქნან ბაქტერიოფაგის ლიზისური აქტივობის განსაზღვრავად. გამოვლენილი იქნა როგორც ლიოფილიზირებული, ასე აგარიანი კულტურების ფაგისადმი მგრძობელობის იდენტურობა.

ჩვენს მიერ დამუშავებული სისტემის გამოყენება ბაქტერიოფაგის წარმოებაში საშუალებას გვაძლევს ობიექტურად შეფასდეს გამოშვებული პროდუქციის ხარისხი, გამოვლინდეს არასაკმარისი ლიზისური აქტივობის სერიები და უზრუნველყოს პრეპარატის სტანდარტულობა.

THE ELABORATION OF STANDARD SYSTEM FOR THE DETERMINATION OF
LYTIC ACTIVITY OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA BACTERIOPHAGE



M. A. DARSAVELIDZE, T. P. KRATASYUK, T. G. CHANISHVILI,
J. S. KARANADZE, L. D. PEREMITINA, V. F. MALISHEVA,
N. A. KAPIRINA, A. A. BERILLO

G. G. Eliava Industrial Amalgamation Tbilisi, USSR
L. A. Tarasevich State Institute of Standardization and Control, Ministry of Health, Moscow, USSR

Summary

A standard system (model of activity of bacteriophage *Ps. aeruginosa* and collection of stable strains of *Ps. aeruginosa*), destined to control the lytic activity of commercial series of *Ps. aeruginosa* bacteriophage was elaborated. Special research was carried out to get polyvalent bacteriophage that meets the requirements of standard preparation. As a result of passage of active phage races on reference strains that had high reproduction ability, phage lysate of bacteriophage *Ps. aeruginosa* was observed. To preserve its main properties lysate was lyophilized. Saccharosegelatinous medium (S-90%, G-10%) was used as a stabilizer. Prepared lyophilized bacteriophage of *Ps. aeruginosa* fitted all the parameters of biological standard: it had a high lytic activity, wide range of action and pre-

served these properties during storage (period of observation—3 years).

According to experimental data it was found out that lyophilized cultures *Ps. aeruginosa* (as well as those stored on agar) could be used to determine lytic activity of bacteriophage *Ps. aeruginosa*. The identity of phage sensibility of cultures; grown on agar and lyophilized was ascertained, and the preservation of this property during 3 years of observation was stated.

The introduction of elaborated standard system into practice of control of commercial series will give an opportunity to standardize its conditions, to get objective estimation of quality of preparations and to ascertain series with the insufficient lytic activity.

УДК 575.113.7

ГЕНЕТИКА

ГИБРИДНЫЙ НЕКРОЗ И ГЕТЕРОЗИС У ПШЕНИЦЫ

Т. Т. Беришвили

Институт ботаники им. Н. Н. Кецховели АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 10.03.89.

Изучены закономерности взаимоотношения между генетической несовместимостью видов пшеницы и гетерозисом гибридных растений. Показано, что генетическая несовместимость видов не является непреодолимым препятствием для получения форм интересных в селекционном отношении. Установлено, что гетерозисный эффект можно наблюдать не только в первом поколении гибридов пшениц, но и в последующих.

Гибридный некроз и гетерозис — два очень важных противоположных биологических явления для гибридных организмов. Как известно [10, 11], гибридный некроз обуславливается двумя комплементарными доминантными генами некроза Ne_1 и Ne_2 , которые способствуют ослаблению и гибели гибридных растений. Гены некроза часто встречаются во многих родах растений, таких как пшеница, ячмень, эгилорс, хлопчатник, табак и др. Фенотипически это выражается в следующем: гибридные растения развиваются очень слабо, в листьях идет распад хлорофилла, и в конечном счете, они часто погибают, не дают потомства. Гибридный некроз бывает разной силы: слабый, умеренный и сильный. В первых двух случаях иногда возможен семенной материал от гибридов первого поколения. При слабом некрозе, развитие растений незначительно отклонено от нормы, но семена, в частности у пшеницы, бывают значительно мельче, чем обычно. Во время умеренного некроза, напротив семена бывают крупными, но наблюдается чрезерница и, естественно, количество семян значительно уменьшается.

Гибридный некроз наблюдается при скрещивании между разными видами:

например *Triticum aestivum* L. и *T. mac-ha* Dek. et Men., *T. spelta* L., а также при межсортных скрещиваниях, к примеру между сортами мягкой пшеницы.

Исходя из этого в селекции пшеницы неэкономично проводить такие скрещивания. Некоторые авторы [5] рекомендуют избегать их. Но в практике все-таки приходится проводить такие скрещивания для получения исходного селекционного материала.

Что касается гетерозиса, то «он рассматривается как высшая степень проявления жизнеспособности, обусловленной резким нарушением баланса действия благоприятных и вредных генов в пользу первых» [9]. Нельзя с этим не согласиться.

Таким образом, гибридный некроз — это гибридная слабость, обусловленная суммарным действием вредных генов. Там же имеются и полезные гены, действия которых подавлено вредными. Но разве всегда гибридная слабость препятствует получению ценного гибридного материала? Выясняется, что не всегда, и это особенно хорошо объясняется новой гипотезой становления гетерозиса [7, 8].

Как показали наши многолетние (1966—1988 гг.) исследования по гиб-



риднему некрозу пшениц, гетерозис, который исчезает в F₁-ом поколении, вновь проявляется в последующих гибридных поколениях.

При скрещивании эндемичной грузинской пшеницы *T. macha* с *T. aestivum* и *T. spelta* в F₁-ом поколении в некоторых комбинациях выявляется слабый (N_e^м) и умеренный (N_e^{ум}) некроз, что дает возможность изучить это явление в следующих поколениях.

Пшеница *T. macha* содержит ген гибридного некроза Ne₁, а *T. spelta* и мягкая пшеница — Ne₂. В F₁-ом поколении мы получаем гибридный генотип по этому признаку — Ne₁pe₁Ne₂pe₂. Дигетерозигота — по некрозному гену, а по фенотипу это гибрид, у которого выявляется слабый или умеренный некроз, что выражается в распаде хлорофилла в листьях, т. е. получается хлорофильный полулеталь.

В F₂-ом поколении идет расщепление по нормальным и некрозным биотипам. Те растения, которые содержат только один доминантный ген некроза (отдельно Ne₁ или Ne₂), фенотипически нормальные (без распада хлорофилла в листьях), т. е. расщепление идет по соотношению 9 некрозных к 7 нормальным; седьмая часть всех гибридов второго поколения нормальная. Что касается некрозных растений в F₂-ом поколении — 4-ая часть их имеет умеренный некроз. Это растения с генотипом Ne₁pe₁Ne₂pe₂. У нормальных растений F₂-го поколения одна часть гибридов не содержит доминантных генов некроза, это генотип pe₁pe₁pe₂pe₂. Так как этот последний гибридный генотип не содержит вредных генов некроза, ожидается проявление гетерозиса. Но так как этот и еще четыре нормальных генотипа (1 часть Ne₁Ne₁pe₂pe₂, 2 части Ne₁pe₁pe₂pe₂, 1 часть pe₁pe₁Ne₂Ne₂ и 2 части pe₁pe₁Ne₂pe₂) фенотипически одинаковые (зеленые), то их разделить визуально невозможно, а анализирующие скрещивания практически невыполнимы. Поэтому нормальные зеленые растения — гибриды отличаются друг от друга только систематическими признаками родителей (остистость, окрашивание, опушение и др.).

Как показал анализ наследования некоторых признаков в F₁, F₂ и F₃ поколениях (табл. 1), гетерозис, естественно, не обнаруживается в F₁-ом

поколении (из-за того, что подавляющие действия вредных доминантных комплементарных генов некроза сильнее, чем полезных, у них наблюдается слабый некроз), но во втором поколении происходит расщепление и выявляются нормальные зеленые растения. У них наблюдается увеличение всех количественных признаков. Среди них такие важные в селекционном отношении, как длина колоса, число колосков и индекс фертильности. В основном такое увеличение количественных признаков продолжается и в третьем поколении гибридов. Такие же результаты получены и в тех скрещиваниях, где участвуют сорта мягкой пшеницы. Некоторые из них имеют в генотипе ген Ne₁. Обычно этот ген находится у тетраплоидных (*T. durum* Desf., *T. dicoccum* Schuebl. и др.) пшениц, а из гексоплоидных пшениц только у *T. macha* [3, 4]. Как ранее [1] отмечалось, этот ген в сорта мягкой пшеницы, вероятно, попал из *T. durum*, который часто скрещивали с ними для получения сортов, содержащих свойства обоих видов культурных пшениц.

Так или иначе некоторые сорта мягкой пшеницы, притом с хорошими ценными свойствами, являются носителями гена N₁, поэтому скрещивания между этим и другими сортами мягкой пшеницы, которые обычно содержат ген Ne₂, считались нежелательными [5]. Но после появления гипотезы становления гетерозиса В.А. Струнникова такие опасения несостоятельны.

Наши более чем 20-летние исследования по гибриднему некрозу, также подтверждают эту идею — гетерозис, который появляется у полулеталей по Струнникову (и в этом повинны компенсационные комплексы генов — ККГ), действует в случае гибридного некроза. Некрозные растения делятся на полулетали и летали. Из таких полулеталей, какими являются гибридные растения с умеренным гибридным некрозом, в F₂ и последующих поколениях выщепляются гибридные биотипы, содержащие только ККГ (в случае, когда генотип гибрида — pe₁pe₁pe₂pe₂), и в тех случаях, когда генотипы гибридов содержат только один ген Ne₁ или Ne₂ отдельно. Как известно, эти гены компле-

Таблица 1

Наследование некоторых количественных признаков в потомстве некрозных скрещиваний пшениц

| Наименование скрещивания | P | | | F ₁ | | | F ₂ | | | F ₃ | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|---------------------|-----------------|----------------|---------------------|-----------------|----------------|---------------------|
| | Длина колоса | Число колосков | Индекс фертильности | Длина колоса | Число колосков | Индекс фертильности | Длина колоса | Число колосков | Индекс фертильности | Длина колоса | Число колосков | Индекс фертильности |
| 1. <i>Triticum macha</i> var. <i>letschumicum</i> x <i>T. spelta</i> var. <i>pseudovulpinum</i> | 6,2—8,8 7,4 | 12—18 15 | 1,1—2,0 1,5 | 5,2—7,5 6,3 | 10—15 12 | 1,4—1,6 1,5 | 6,1—9,9 8,0 | 12—18 15 | 1,4—2,1 1,7 | 6,5—10,0 8,2 | 13—17 15 | 1,8—2,7 2,2 |
| 2. <i>T. macha</i> var. <i>letschumicum</i> x <i>T. spelta</i> var. <i>Vavilovii</i> | 6,2—8,4 7,3 | 12—10 15 | 1,1—1,9 1,5 | 4,0—4,8 4,9 | 12—14 13 | 0,6—1,5 1,1 | 6,1—7,9 7,0 | 18—19 16 | 1,4—1,8 1,6 | 5,2—11,0 7,8 | 15—22 18 | 1,4—2,3 1,8 |
| 3. <i>T. macha</i> var. <i>letschumicum</i> x <i>T. spelta</i> var. <i>Mustafaeii</i> | 6,2—8,2 7,2 | 12—20 16 | 1,1—2,0 1,5 | 5,3—7,1 6,2 | 12—16 14 | 1,0—1,7 1,3 | 6,9—2,4 8,1 | 13—19 17 | 1,1—2,2 1,6 | 6,9—10,6 8,7 | 14—21 17 | 1,2—2,2 1,7 |
| 4. <i>T. macha</i> var. <i>letschumicum</i> x <i>T. aestivum</i> var. <i>erythrosperrum</i> | 6,2—7,9 7,1 | 12—22 17 | 1,1—1,9 1,5 | 3,6—7,7 5,5 | 14—21 17 | 0,1—0,7 0,4 | 6,3—10,2 8,2 | 17—24 20 | 1,0—1,9 1,4 | 6,4—10,1 8,2 | 16—24 20 | 1,2—1,9 1,5 |



მენტარო, т.е. совместного действия, поэтому отдельно они неопасны, тогда как ККГ продолжает свое действие и «приводит к повышению жизнеспособности и мощному развитию тех признаков, которые в F₁-ом поколении были депрессированы» [7—9]. Такие гибридные организмы растений F₂, F₃ и последующих поколений могут быть хорошим исходным материалом для селекции.

Использование T. macha в скрещиваниях с мягкой пшеницей даст возможность получить гибриды с полезными признаками, носителем которых является пшеница Macha: влаговыносливость, большая листовая масса, прочность соломины, способность выносить известковые и щебнистые почвы, высокая устойчивость пыльной и твердой голови. Гибриды от мягких пшениц получают такие положительные свойства, которые не имеются у пшеницы. Macha — легкая вымолачивае-

мость зерна, целомкость колоса, ранеспелость, зимостойкость и засухоустойчивость. Думаем, наступило время смелее включать в скрещивания полукультурные виды пшениц для получения новых сортов с комплексом положительных признаков, тем более что метод изолированной культуры все шире внедряется в селекционные процессы.

Таким образом, при гибридном некрозе и хлорозе запоздалый гетерозис можно наблюдать не в первом, а в последующих поколениях. Действия ККГ, вызывая гетерозис, как видно из наших и литературных данных [2], имеет общебиологическое значение как для животных, так и для растительных организмов.

Поэтому скрещивания видов, у которых наблюдается межвидовая и межсортная несовместимость, надо проводить и в практических целях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беришвили Т. Т. Изучение гибридного некроза у растений (пшеница). Автореф. канд. дисс., ТГУ, Тбилиси, 1976.
2. Гостимский С. А., Хартина Г. А., Багрова А. М., ДАН СССР, 294, 5, 261—272, 1987.
3. Декапрелевич Л. Л., Яшагашвили Т. Г., Генетика, 6, 4, 320—330, 1970.
4. Декапрелевич Л. Л., Наскидашвили П. П. Генетика, 7, 3, 1971.
5. Дорофеев В. Ф., Мережко А. Ф. Генетика, 5, 4, 241—247, 1969.
6. Мережко А. Ф. Генетика, 6, 4, 458—462, 1970.
7. Струнников В. А. Журнал общей биологии, 35, 5, 666—677, 1974.
8. Струнников В. А. Вестник с/х наук, 1, 34—40, 1983.
9. Струнников В. А., Маресин В. М., Степанова Н. Л. Цитология и генетика, 20, 2, 152—160, 1986.
10. Hermesen G. I. Th. Genetics, 33, 35—42, 1963.
11. Tsunevaki K. Jap. J. Genetics, 1, 6, 53—61, 1966.

ჰიბრიდული ნეკროზი და ჰეტეროზისი ხორბლებში

ბ. ბაიშვილი

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ნ. კეცხოველის სახელობის ბოტანიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

შესწავლილია ხორბლებში ჰიბრიდული ნეკროზის და ჰეტეროზისის გამოვლინების კანონზომიერებანი. დადგენილია, რომ გენეტიკური შეუთავსებლობა—ჰიბრიდული ნეკროზი ხორბლის სახეობათა შორის შეჯვარებისას არ წარმოადგენს გადაულახავ დაბრკოლებას ხორბლის სელექციისა-

ბის საქმეში. ჰეტეროზისის ეფექტი შესაძლებელია გამოვლინდეს ჰიბრიდთა არა მხოლოდ პირველ თაობაში, არამედ მომდევნო თაობებში. ეს ჰიბრიდულ ორგანიზმში კომპენსაციურ გენთა კომპლექსების კონცენტრირებით არის განპირობებული.

HYBRID NECROSIS AND HETEROSIS IN WHEATS

T. T. BERISHVILI



N. Ketskhoveli Institute of Botany, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Summary

The regular development of hybrid necrosis and heterosis in wheats was studied. Genetic incompatibility — hybrid necrosis, was shown to pose no insurmountable obstacle in interspecies crossing for getting positive results relating to

wheat selection. Heterosis effect may manifest itself not only in the first hybrid generation, but also in the succeeding ones due to the concentration of compensating gene complexes in the hybrid organism.

УДК 6122744

БИОФИЗИКА

ИЗМЕНЕНИЕ КОНФОРМАЦИИ РЕКОНСТРУИРОВАННОГО АКТМИОЗИНА ПОД ВЛИЯНИЕМ ТРОПОМИОЗИНА

А. Р. Егиазарова, Г. В. Микадзе, М. М. Меликишвили,
Т. М. Эрстави, В. А. Мхчян

Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси
Институт молекулярной биологии и биологической физики АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 15.02.89

С помощью мономолекулярной техники исследовано взаимодействие скелетно-мышечного тропомиозина (ТМ) с реконструированным скелетномышечным актомиозином (АМ). Показано, что скорость растекания раствора актомиозин—тропомиозинового комплекса (АМ—ТМ) на поверхности жидкой фазы в среднем в четыре раза выше, а площадь монослоя и его электрический потенциал на 49 и 60%, соответственно, больше, чем у АМ. Судя по кривым гистерезиса, зависимости площади монослоя от поверхностного давления в цикле сжатия—расширения, упругость монослоя комплекса АМ—ТМ более высокая, чем у АМ. На основании анализа этих результатов и литературных данных можно предположить, что ТМ влияет на конформацию АМ, придавая этому белковому комплексу более рыхлую конформацию.

В скелетных и сердечных мышцах позвоночных и некоторых мышцах беспозвоночных животных ТМ в совокупности с тропонином (ТН) в присутствии ионов Ca^{2+} регулирует актин-миозиновое взаимодействие. В этом процессе физиологическая роль ТМ ингибиторная [29]. Однако этой функцией физиологическая значимость ТМ не может ограничиваться, так как он присутствует и в тех мышечных системах [22, 29] и тканях, в которых нет ТН. С другой стороны, было показано, что в скелетной мышце при низких концентрациях АТФ, тропомиозин активирует АТФазную активность актомиозина [27]. Этот эффект ТМ очень ярко выражен в гладкой мышце, где для проявления полной актомиозиновой АТФазной активности требуется присутствие ТМ, при условии, что легкие цепи миозина фосфорилированы [28]. Полагают, что любой ТМ активирует АТФазу любого АМ, когда актин и миозин об-

разуют ригорный плотный комплекс [25]. Особое потенцирующее влияние ТМ на гладкомышечный АМ объясняют тем, что последний и при больших концентрациях АТФ образует ригорный комплекс [25]. Интерес представляет молекулярный механизм влияния ТМ на ригорный АМ.

Для получения информации о молекулярном механизме воздействия ТМ на АМ в данной работе использована мономолекулярная техника. Она позволяет определить влияние различных агентов на величину площади монослоя белка или их комплексов, его электрический заряд, скорость растекания по поверхности жидкой фазы в процессе формирования монослоя, энергию, выделяемую или поглощаемую в цикле сжатия—расширения пленки, и ряд других свойств [1, 2]. Совокупность всех указанных данных позволяет судить о характере конформационных и других изменений исследуемых объектов.

В работе использованы ТМ и реконструированный АМ поперечнополосатых мышц кролика. Актин получали по Нономура и сотр. [24], миозин — по Перри [26]. ТМ выделяли из фракции 40—60%-ного насыщения сульфатом аммония экстракта миофибрилл, выделенного раствором Хасельбаха—Шнейдера. Очистку ТМ проводили по Хартшорну и Мюллеру [20]. Реконструированный АМ получали смешиванием миозина и актлина в соотношении 4:1 по массе. Монослой АМ и АМ—ТМ комплекса формировались на поверхности 0,6 М

ного усилителя оригинальной конструкции [11]. Изменение этого параметра как функции времени позволяло определять скорость растекания молекул раствора белка. Монослой сжимались до поверхностного давления не выше $20 \cdot 10^{-3}$ мН/м (восходящая ветвь), затем они растягивались до минимального значения давления (нисходящая ветвь). Эти ветви изотермы Ленгмюра образовывали петлю гистерезиса, площадь которой позволяла оценить энергию процесса сжатия—расширение. Относительное расположение ветвей давало возмож-

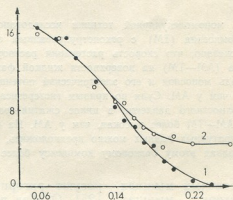


Рис. 1. Изотермы Ленгмюра актомиозина: 1 — сжатие, 2 — расширение монослоя; ось абсцисс — площадь монослоя (m^2/mg); ось ординат — поверхностное давление — $1 \cdot 10^{-3}$ мН/м

КСI при комнатной температуре. Для получения изотерм Ленгмюра, отражающих зависимость площади от поверхностного давления, применялись вертикальные весы Вильгельми. Электрический потенциал измерялся с помощью воздушного радиоактивного электрода, включенного в цепь линей-

ность судить, идет ли процесс с поглощением или выделением энергии. Исходная концентрация растворов АМ и АМ—ТМ равнялась 1 мг/мл, их количество, используемое в опытах, — 0,14 мг. В комплексе АМ—ТМ на долю ТМ приходилось 10%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 даны изотермы сжатия и расширения АМ; точки на кривых получены в результате усреднения данных 5—7 опытов. Как видно из рисунка, кривые 1 и 2 не замыкаются, площадь монослоя в процессе расширения на 49% больше таковой монослоя сжатия. Разница в значении по-

верхностного давления (ΔP) между начальной точкой кривой 1 и конечной точкой кривой 2 значительна ($6,8 \cdot 10^{-3}$ мН/м). При высокой упругости монослоя кривые 1 и 2 рис. 1 должны либо замкнуться, либо указанная выше разница в значениях давления должна быть малой. На рис. 2,

полученного для монослоя комплекса АМ—ТМ, видно, что мы имеем дело с более упругой пленкой. Это подтверждается, во-первых, тем, что разница в значениях ΔP в данном случае равна $4,6 \cdot 10^{-3}$ мН/м (кривые 1 и 2 рис. 2), что на 48% меньше по сравнению с АМ. Во-вторых, для комплекса АМ—ТМ, в отличие от монослоев АМ, мы наблюдали опыты, в которых кривые гистерезиса практически замыкались.

АМ, так и высоким электрическим зарядом ТМ.

Еще в 1963 г. при исследовании сократительной системы скелетной и гладкой мышц методом пленочных нитей было высказано предположение, что в сократительной системе этих мышц, кроме миозина и актина, участвует белковый компонент [6], который впоследствии был выделен и назван протеином М [3]. Было показано, что этот белок из гладкой и по-

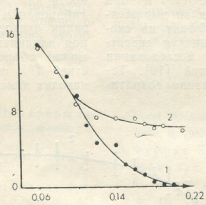


Рис. 2. Изотермы Ленгмюра актомиозин—тропомиозинового комплекса (обозначения те же, что на рис. 1)

Необходимо отметить, что монослои АМ—ТМ занимали площади значительно большие (на 49%), чем таковые для АМ. Таким образом, после добавления 10%-ного ТМ в раствор АМ наблюдается существенное изменение свойств монослоев АМ. Это подтверждается также при сравнении скоростей растекания молекул АМ и АМ—ТМ (рис. 3, кривые 1 и 2): они для АМ—ТМ в четыре раза выше, чем для АМ. Изменение величины этой скорости прослеживалось с момента нанесения капли раствора белка на поверхность 0,6 М КСl в течение 20 мин, после чего, как правило, кривая выходила на плато. Это означает, что завершился процесс формирования монослоя. Определенный интерес представляет влияние ТМ на величину электрического заряда монослоя АМ. Наши опыты показали, что поверхностный электрический потенциал монослоя комплекса АМ—ТМ достоверно больше, чем монослоя АМ. Этот эффект может быть вызван как изменением конформации

перечисполосатой мышц потенцирует сократительную способность натурального актомиозина гладкой мышцы [3], а гладкомышечный протеин М потенцирует натуральный [7] и реконструированный АМ скелетной мышцы [8]. Добавление протеина М гладкой мышцы к препарату нативного АМ мышцы сердца вызвало заметное изменение седиментационной картины. Коэффициент седиментации АМ уменьшается от 59,9 до 50,4 при 10%-ном содержании протеина М относительно массы АМ и до 44,5 при 20%. Подобные результаты получены и при исследовании влияния протеина М на седиментационные свойства реконструированного АМ скелетной мышцы [12]. Пленочные нити из комплекса АМ — протеин М обладали меньшей жесткостью по сравнению с актомиозиновыми. Протеин М по некоторым свойствам (термостабильность, деполимеризуемость при высокой ионной силе) [3, 4, 5] был сходен с ТМ. Однако исследование сократительной способности

пленочных нитей АМ — протеин М показало, что протеин М много увеличивает скорость и степень сокращения АМ как при 0,05 М, так и 0,1 М КСI [5]. Но было известно, что ТМ уменьшает фазу просветления [21] и слегка увеличивает скорость суперпреципитации [15] при 0,05 М КСI и ингибирует СПП при 0,1 М КСI [15, 21]. Более тщательное сравнительное исследование физико-химических и сократительных свойств протеина М и ТМ выяснило, что они являются идентичными белками [9]. Было установлено, что скелетномышечный и гладкомышечный ТМ и при 0,1 М КСI оказывают ярко выраженный потенцирующий эффект на скорость и степень сокращения скелетномышечного АМ при исследовании методом пленочных нитей [10]. Таким образом, исследование сократи-

номерах актина, принадлежащими разным нитям суперспирали одного филамента Ф-актина [23], а также разным филаментам [13]. В последнем случае SI индуцирует образование пучков из филаментов Ф-актина. Недавними исследованиями показано, что образование пучков актиновых филаментов с помощью SI ингибируется тропомиозином [17]. Наблюдаемые нами факты: повышение упругости, скорости растекания, увеличение площади монослоя АМ под влиянием ТМ, а также меньшее значение коэффициента седиментации [12] и жесткости пленочных нитей АМ—ТМ, ингибирование тропомиозином образования пучков актиновых филаментов под влиянием субфрагмента SI [14] можно объяснить тем, что в присутствии ТМ, по всей вероятности, происходит изменение характера замыка-

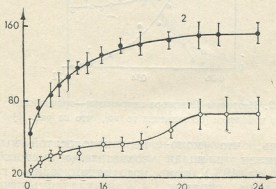


Рис. 3. Влияние тропомиозина на скорость растекания актомиозина: 1—актомиозин; 2—актомиозин—тропомиозин; ось абсцисс— время в минутах; ось ординат — электрический потенциал (мВ)

тельности пленочных нитей является удобной моделью для проявления потенцирующего влияния ТМ. Пленочные нити АМ и АМ—ТМ получают нанесением белка на поверхность буфера. После образования пленки они сжимаются и приобретают нитевидную форму. В этом аспекте большой интерес представляет сравнительное исследование свойств монослоев АМ и АМ—ТМ.

Исследования взаимодействия субфрагмента I миозина с Ф-актином позволили предположить, что возможными формами соединения актина с миозином являются комплексы миозиновой головки SI с двумя мо-

ниями миозиновых мостиков с актиновыми филаментами. Вследствие этого изменяется конформация АМ. Можно предположить, что ТМ делает АМ более рыхлым.

Полагают, что головки миозина — субфрагменты SI в комплексе с АТФ или АДФ.Ф и без нуклеотида или с АДФ с актином связываются с различной силой и ориентацией. SI в комплексе с АТФ или с АДФ.Ф с актином связываются слабо и под углом 90° , а без нуклеотида или с АДФ прочно и под углом 45° [18]. Оказалось, что ТН—ТМ сильно ослабляют связь актина с миозином при сильном связывании [17] и не влияет на



слабое связывание [16]. Следовательно, приведенные в данной работе факты и наблюдаемые изменения свойств АМ в присутствии ТМ [12, 14] можно объяснить ослаблением связи между актином и миозином под влиянием ТМ.

При растекании по поверхности жидкости молекулы или их комплексы подвергаются влиянию сил поверхностного натяжения в результате чего может измениться конформация молекул. При такой измененной конформации, исходя из результатов данной работы, отчетливо выявляется влияние ТМ на АМ. Пленочные нити частично содержат молекулы, подвергшиеся влиянию сил поверхностного натяжения и, возможно, это об-

стоятельство предопределяет факт более четкого выявления потенцирующего влияния ТМ на сократительные свойства АМ методом пленочных нитей.

Результаты данной работы и описанные ранее факты [12, 14, 17] указывают, что ТМ влияет на конформацию АМ. Исходя из сократительных свойств пленочных нитей АМ—ТМ, можно заключить, что в присутствии ТМ создается более благоприятная конформация для сокращения. Потенцирующее влияние ТМ на сократительный процесс АМ в какой-то мере можно объяснить облегчением отсоединения миозина от актина на последнем этапе движения поперечного мостика.

ЛИТЕРАТУРА

1. Егиазарова А. Р., Надарейшвили К. Ш. Радиационные исследования, 1, 25—51, 1975.
2. Егиазарова А. Р. Изв. АН ГССР, сер. биол., 5, 5, 468—476, 1979.
3. Заалишвили М. М., Микадзе Г. В., Сургуладзе Т. Т. Сообщения АН ГССР, 44, 99—106, 1966.
4. Заалишвили М. М., Гачечиладзе Н. А., Сургуладзе Т. Т., Микадзе Г. В., Джибладзе С. В. Сообщения АН ГССР, 37, 601—604, 1967.
5. Заалишвили М. М. Вопросы биофизики и теоретической биологии (Труды ТГУ), 130, 77—114, 1968.
6. Микадзе Г. В. Некоторые физико-химические свойства сократительных белков гладкой мускулатуры, Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1963.
7. Микадзе Г. В., Джибладзе С. В. Сообщения АН ГССР, 61, 677—680, 1971.
8. Микадзе Г. В., Гогнадзе Н. И., Карселадзе М. В. Биофизика, 26, 923—925, 1981.
9. Микадзе Г. В., Меликишвили М. Ш., Долидзе М., Заалишвили М. М. Изв. АН ГССР, сер. биол., 14, 1, 1—6, 1988.
10. Микадзе Г. В., Меликишвили М. М., Сургуладзе Т. Т., Заалишвили М. М. Изв. АН ГССР, сер. биол., 15, 4, 205—210, 1989.
11. Надарейшвили К. Ш., Гвенцадзе О. М., Егиазарова А. Р. Вопросы биологической и медицинской техники, 8, 1987, 14—18.
12. Фурман В. Я., Цитландадзе Г. В., Микадзе Г. В., Гедеванишвили Г. М., Стурца М. Т., Шрайбман Ф. О. Молекулярная биология, 36, 15—19, 1989.
13. Ando T., Seules D. J. Biol. Chem., 260, 2321—2327, 1985.
14. Ando T. J. Molec. Biol., 195, 351—358, 1987.
15. Azuma N., Watanabe S. J. Biol. Chem., 240, 3847—3851, 1965.
16. Chalovich J. M., Chock P. B., Eisenberg E. J. Biol. Chem., 256, 575—578, 1981.
17. Green L. E., Eisenberg E. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 2616—2620, 1980.
18. Eisenberg E., Green L. E. Ann. Rev. Physiol., 42, 293—309, 1980.
19. Fine K. E., Blitz A. L. J. Mol. Biol., 95, 447—454, 1975.
20. Hartshorne D. J., Mueller H. Bioch. Bioph. Acta. 175, 301—319, 1969.
21. Katz A. M. J. Biol. Chem., 239, 3304—3311, 1964.
22. Kenrick Y. Y., Leman W., Szent-Gyorgy A. G. J. Mol. Biol., 54, 313—326, 1970.
23. Mornet D., Bertrand R., Pantel P. Nature, 292, 301—302, 1981.
24. Nonomura Y., Katagata E., Ebashi S. J. Biochem., 78, 1102—1104, 1975.



25. Nosaka S., Onji T., Shibata N. *Bioch. Bioph. Acta*, **788**, 290—297, 1984.
 26. Perry S. V. *Methods in Enzymology*, N. Y. Press, **2**, 582—589, 1955.
 27. Shigakama H., Tonomura Y. G. *Biochem.*, **71**, 147—149, 1972.
 28. Sobietzek A., Small J. *Acta Biol.*, **112**, 559—576, 1977.
 29. Wakabayashi T., Huxley H. E., Amos L. A., Klug A. J. *Molec. Biol.*, **93**, 477—497, 1975.

რეკონსტრუირებული აქტომიოზინის კონფორმაციის ცვლილება ტროპომიოზინის თანაგყოფრთხილად

ა. აგინაზაროვა, ბ. მიკაძე, მ. მელიქიშვილი, თ. ერისთავი, ვ. მხჩიანი.

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოფიზიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

მონომოლეკულური ტექნიკის მეთოდით შესწავლილია ჩონჩხის კუნთის ტროპომიოზინის ურთიერთქმედება ჩონჩხის კუნთისავე რეკონსტრუირებულ აქტომიოზინთან. ნაჩვენებია, რომ აქტომიოზინ-ტროპომიოზინის კომპლექსის განრთხმის სისწრაფე ხსნარის ზედაპირზე საშუალოდ 4-ჯერ, ხოლო მონომრის ფართი და ელექტრული პოტენციალი 49% და 60%-ით მეტია აქტომიოზინის შესაბამის სიდიდეებზე. ზედაპირული დაკუმულობისა და ელექტრული პოტენციალის ფართზე დამოკიდებულებებიდან მიღებული შეკუმშვა გაფართოების ციკლის პისტერეზისის მრუდიდან გამომდინარე, აქტიომიოზინ-ტროპომიოზინის მონომრეს გაცილებით მეტი დრეკადობა გააჩნია. მიღებული შედეგებისა და ლიტერატურის მონაცემების ანალიზის საფუძველზე გამოთქმულია ვარაუდი, რომ ტროპომიოზინი გავლენას ახდენს აქტომიოზინის კონფორმაციაზე — აქტომიოზინის სისტემას ხდის უფრო ფაშარს.

დებულებებიდან მიღებული შეკუმშვა გაფართოების ციკლის პისტერეზისის მრუდიდან გამომდინარე, აქტიომიოზინ-ტროპომიოზინის მონომრეს გაცილებით მეტი დრეკადობა გააჩნია. მიღებული შედეგებისა და ლიტერატურის მონაცემების ანალიზის საფუძველზე გამოთქმულია ვარაუდი, რომ ტროპომიოზინი გავლენას ახდენს აქტომიოზინის კონფორმაციაზე — აქტომიოზინის სისტემას ხდის უფრო ფაშარს.

THE CHANGE OF RECONSTRUCTED ACTOMYOSIN CONFORMATION UNDER THE INFLUENCE OF TROPOMYOSIN

A. R. EGIAZAROVA, G. V. MIKADZE, M. M. MELIKISHVILI, T. M. ERISTAVI, V. A. MKHCHIAN

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR
 Institute of Molecular Biology and Biophysics, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The interaction skeletal muscle tropomyosin (TM) with the reconstructed skeletal muscle actomyosin (AM) was investigated using the monomolecular technique. The spreading velocity of actomyosin-tropomyosin complex (AM-TM) solution on the liquid phase surface is four times higher, on an average, while the area of the monolayer and its electric potential are by 49% and 60%, respectively more than those of AM.

As seen in the hysteresis curves of the monolayer area depending on the surface pressure of the compression-expansion cycle, the elasticity of AM-TM monolayer is higher than that of AM. On the basis of these results and data reported in the literature TM can be supposed to exert an influence on the AM conformation, giving the protein complex more friable conformation.

УДК 577.352

БИОФИЗИКА

АДСОРБЦИЯ ФУЗИКОКЦИНА И ТРАНСПОРТ ГИДРОФОБНЫХ ИОНОВ НА БИСЛОЙНОЙ ЛИПИДНОЙ МЕМБРАНЕ

Г. В. Тивадзе, М. Д. Канделаки, Г. И. Данелия

*Региональный филиал Всесоюзного научно-исследовательского института
сельскохозяйственной биотехнологии, Тбилиси*

Поступила в редакцию 01.03.89

Исследовали действие регулятора роста растений фузикокина (ФК) на электрические и структурные свойства бислойных липидных мембран (БЛМ). Показано, что при взаимодействии ФК с БЛМ происходит изменение граничного потенциала в результате адсорбции ФК на мембране. Адсорбция ФК на мембране вызывает изменение подвижности ионофоров, которая в зависимости от состава мембраны может как увеличиваться (диолеилфосфатидилхолин), так и уменьшаться (азолектин). Полученные результаты можно объяснить влиянием ФК на структуру липидного бислоя, «уплотнением» мембран из азолектина и «разрыхлением» мембран из диолеилфосфатидилхолина. Показано, что под действием ФК на БЛМ в примембранных неперемешиваемых слоях образуется градиент рН. Обсуждается возможная роль описанных эффектов в первичной реакции действия ФК при взаимодействии с клеткой.

ФК — физиологически активное соединение, выделенное из культуральной жидкости гриба-продуцента *Fusosium amig Del* [5]. Физиологическое действие ФК проявляется в стимулировании удлинения клеток у ряда растительных тканей, открывании устьиц в присутствии и отсутствии света, индуцировании прорастания покоящихся семян пшеницы. ФК — гликозид карбоциклического дитерпена с молекулярной массой 680. Агликоновая часть молекулы ФК представляет собой циклическую систему из одного восьмичленного и двух пятичленных колец [6, 7].

В последнее время обнаружен ряд эффектов, косвенно свидетельствующих о возможном взаимодействии ФК с клеточными мембранами [10, 15, 16]. Показано, что под действием ФК на клетки корней, а также колеоптилей кукурузы происходит возрастание мембранного потенциала на плазмалемме, значительный выброс протонов из клетки и поглощение ионов K^+ [10, 15, 16]. Было также показано

взаимодействие ФК с мембранно-связанной транспортной H^+ -АТФазой плазмалеммы [16]. В то же время вопрос о первичной реакции действия ФК при взаимодействии с клеткой остается открытым. Экспериментальные результаты некоторых авторов [19, 17, 21] предполагают непосредственное действие ФК на протонную помпу плазмалеммы с последующим подщелачиванием рН цитоплазмы, что дает начало известным метаболическим реакциям [12, 17, 20]. Другая часть исследователей [8, 9, 13, 14] предполагает первичным действием ФК стимуляцию некоторой закисляющей реакции, которая приводит к подкислению цитоплазмы с последующей активацией протонного насоса в результате снижения рН цитоплазмы. Такие противоречивые результаты, полученные разными авторами, оставляют открытым основной вопрос, приводит ли ФК к подкислению или к подщелачиванию цитозоля. Протекание различных процессов на клеточных мембранах в значительной степени



определяется структурой их липидного матрикса, моделями которой могут служить БЛМ. Не исключено, что при взаимодействии ФК с клеткой первичным его действием является изменение электрических и структурных свойств липидного бислоя мембраны.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

БЛМ формировали по методу Мюллера-Рудина на отверстиях 0,8—1,0 мм в перегородке, разделяющей тefлоновую ячейку на два отсека. Мембраны формировали из декановых растворов следующих липидов: L- α -фосфатидилхолина (азолектин) фирмы «Sigma», США (50 мг/мл), диолеилфосфатидилхолина фирмы «Sigma» (40 мг/мл). ФК, используемый в работе, был получен микробиологическим синтезом. Все измерения были проведены в растворах KCl, приготовленных на трижды дистиллированной воде при pH 5,8 в присутствии буфера. Для приготовления буферных растворов использовали многокомпонентный буфер, состоящий из «MES» («Serva»), трис («Cabbiocept», США), HEPES («Serva», ФРГ), взятых в одинаковой концентрации — 1 мМ. Для электрических измерений использовали хлорсеребряные электроды. Изменение граничных потенциалов определяли методом проводимости [18]: регистрировали изменение про-

В настоящей работе мы поставили задачу выявить основные эффекты, обусловленные взаимодействием ФК с БЛМ, которые позволят сделать определенные выводы о возможной роли этого взаимодействия в механизме биологического действия ФК.

водимости БЛМ в присутствии ионофоров нонактина или пентахлорфенола (ПХФ) при введении ФК в растворы по обе стороны мембраны. Проводимость определяли по величине тока при постоянном напряжении на мембране (50 мВ). Относительное изменение проводимости (G/G_0) связано с изменением потенциала выражением

$$\Delta\Phi = -RT/ZF \ln(G/G_0), \quad (1)$$

где $RT/F = 25,3$ мВ при 20°C, Z — зарядное число проникающего иона. Разность потенциалов между объемами растворов по обе стороны БЛМ, в условиях разомкнутой цепи (трансмембранный потенциал) измеряли в присутствии ПХФ с использованием операционного усилителя «Keithley» 301, США [21]. Для каждой точки на экспериментальных кривых, представленных в настоящей работе, указана средняя квадратичная ошибка не менее пяти измерений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Метод индуцированной проводимости, используемый в работе, предполагает, что относительное изменение проводимости связано (соотношением данным формулой (1)) с изменением граничного скачка потенциала. Изменение величины граничного потенциала может происходить вследствие адсорбции различных веществ и находится в прямой зависимости от величины заряда, дипольного момента адсорбированных молекул и локализации плоскости адсорбции. На рис. 1 приведены результаты расчета по формуле (1) изменения граничных потенциалов в зависимости от концентрации ФК, по измеренным на БЛМ из диолеилфосфатидилхолина и азолектин, относительным изменением проводимости. Наблюдаемое измене-

ние скачка граничного потенциала, очевидно, обусловлено адсорбцией ФК на мембране. Это изменение соответствует изменению потенциала в отрицательную сторону.

Измеряемая нами величина $\Delta\Phi_B$ методом индуцированной проводимости в общем случае не должна зависеть от знака переносимых пробных зарядов и природы ионофора [2, 3]. Если в эксперименте при адсорбции ФК менялся бы только граничный потенциал, значения $\Delta\Phi_B$ на рис. 1, определяемые по изменению проводимости для ионов различного знака, должны были бы совпадать. Это означало бы, что проводимость БЛМ для гидрофобных анионов уменьшается во столько же раз, во сколько она увеличивается для катионов. Однако, как

показали измерения симметричного изменения проводимости, обусловленной носителями тока различного знака — анионами в случае ПХФ и кати-

анионной (рис. 2, кривая 2, уменьшение) проводимости мембраны. В случае мембран из азолектина соотношение изменения катионной и

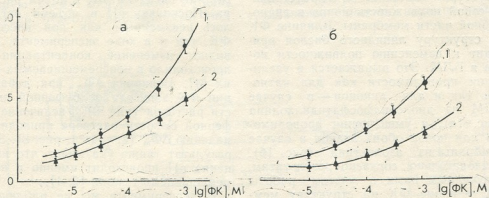


Рис. 1. Зависимость изменения граничных потенциалов от концентрации ФК, рассчитанная по уравнению (1): а—БЛМ из диолеилфосфатидилхолина, б—БЛМ из азолектина. Состав среды: 10 ММ КСl, 8 мкМ нонактина (кривые 1а, 2б), 60 мкМ пентахлорфенола (кривые 2а, 1б), многокомпонентный буфер рН 5,8, ФК с обеих сторон мембраны

онами в случае нонактина, — не наблюдается (рис. 2). Добавление ФК в водные растворы с обеих сторон БЛМ

анионной проводимости противоположно — относительное увеличение катионной проводимости в присутст-

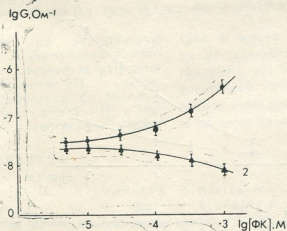


Рис. 2. Зависимость проводимости БЛМ из диолеилфосфатидилхолина, индуцированной нонактином (кривая 1) и пентахлорфенолом (кривая 2) от концентрации ФК, введенного по обе стороны мембраны. Состав среды: 10 мМ КСl, 8 мкМ нонактина, 60 мкМ пентахлорфенола, рН—5,8

из диолеилфосфатидилхолина приводило к большему изменению (рис. 2, кривая 1, увеличение) катионной, чем

вни ФК оказалось меньше, чем таковое при анионной проводимости. Следовательно, помимо изменения

граничного потенциала, существует еще один влияющий на проводимость БЛМ фактор, который не зависит от знака носителей тока в мембране. Этот фактор, как и авторы в работе [3], мы связывали с изменением структуры мембраны. Он представляет собой подвижность ионов в гидрофобной части мембраны. Влияние ФК на структуру липидного бислоя приводит к изменению подвижности ионов в БЛМ. Это выражается в увеличении проводимости как для катионов, так и для анионов — в случае БЛМ из диолеилфосфатидилхолина (рис. 1а), и уменьшении проводимости для ионов обоих знаков в случае мембраны из азолектина (рис. 1б). Следовательно, согласно результатам, полученным нами с учетом работы [3], влияние ФК на структуру мембраны приводит к «уплотнению» мембран из азолектина и «размягчению» мембран из диолеилфосфатидилхолина.

Нами были получены также зависимости изменения трансмембранной разности потенциалов $\Delta\Phi_m$ для мембраны селективной по протону в ус-

Введение ФК приводило к генерации $\Delta\Phi_m$, который соответствовал увеличению концентрации H^+ с той стороны мембраны, в которой отсутствовал ФК; в отсутствии ФК $\Delta\Phi_m = 0$. Параллельно контролировали постоянство рН при введении ФК в объем раствора. Поскольку рН в объеме оставалось неизменным как при внесении ФК, так и в ходе эксперимента, очевидно, изменение концентрации H^+ происходило в неперемешиваемых слоях [4]. Величина $\Delta\Phi_m$ при добавлении ФК зависела от буферной емкости раствора (рис. 3). Увеличение буферной емкости раствора приводило к падению $\Delta\Phi_m$ (кривая 1, рис. 3). Этот результат также указывает, что изменение рН происходит именно в неперемешиваемых слоях [2, 4].

В эксперименте мы не наблюдали изменения проводимости БЛМ при внесении ФК в растворы, омывающие мембрану, в то же время мы наблюдали изменение концентрации H^+ в неперемешиваемом слое с той стороны мембраны, в которой отсутствовал ФК. Этот результат указывает на то, что имеет место перенос ФК через

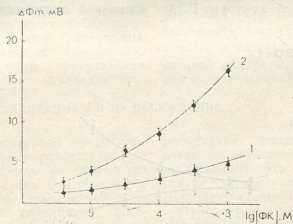


Рис. 3. Зависимость изменения трансмембранной разности потенциалов $\Delta\Phi_m$ от концентрации ФК с одной стороны мембраны в присутствии 60 мкМ пентахлорфенола с обеих сторон мембраны в условиях разомкнутой цепи. Состав среды: 10 мМ КСl, многокомпонентный буфер в концентрации 2,5 мМ (кривая 1) и 0,25 мМ (кривая 2), рН—5,8

ловиях разомкнутой цепи в присутствии ФК с одной стороны мембраны (рис. 3). Селективность по протону достигалась добавлением протонофора ПХФ с обеих сторон мембраны.

мембрану в нейтральной форме по механизму переноса слабых кислот согласно работе [1].

В работе Марре ([17], рис. 4) приведены два альтернативных пути дей-

ствия ФК на клетку. Важным моментом совмещения двух версий является то, что в обоих случаях маленькое изменение рН цитоплазмы (порядка 0,1 рН) ведет к большим изменениям в функционировании клетки. Первая версия (рис. 4, 1а) предполагает следующую схему координации метаболических ответов, наблюдаемых под

и т. д. Вторая версия предполагает: 1) ФК → восстановление малата → выброс протонов; 2) выброс протонов → подкисление рН цитоплазмы; 3) подкисление рН цитоплазмы → стимуляция протонного насоса и далее по схеме.

Исходя из результатов нашего исследования, можно предположить

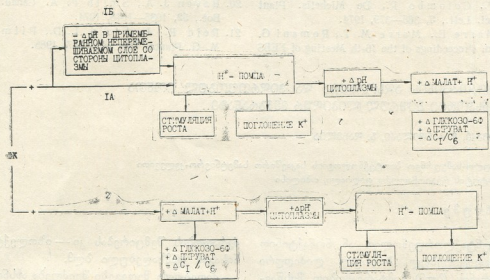


Рис. 4. Альтернативные пути действия ФК на протонную помпу, цитоплазматический рН, транспорт и метаболизм [17]. Путь 1б предложен на основании нашего исследования

действием ФК на растительную ткань: 1) ФК → стимуляция протонного насоса → увеличение рН цитоплазмы; 2) увеличение рН → ускорение карбоксилирования фосфоренолпирувата до оксалацетата + Н⁺ и восстановление оксалацетата до малата

(рис. 4, версия 1б), что ФК, действуя на растительную клетку, приводит к градиенту рН на плазмалемме с последующей стимуляцией протонного насоса и увеличением рН цитоплазмы и далее по схеме один.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антоненко Ю. Н., Ягужинский Л. С. Биофизика, 27, 635—640, 1982.
2. Симонова М. В., Черный В. В., Соколов В. С., Маркин В. С. Биологические мембраны, 3, 397—403, 1986.
3. Черный В. В., Пауличке М., Симонова М. В., Ермаков Ю. А., Хассель Е., Соколов В. С., Лерхе Д., Маркин В. С. Биологические мембраны, 5, 648—657, 1988.
4. Antonenko Yu. N., 'Yaguzhinski L. S. FEBS Lett., 63, 42—47, 1983.
5. Ballio A., Chain E. V., De Leo P., Erlanger V. F., Tonola A. M. Nature, 203, 297—301, 1964.
6. Ballio A., Brufani M., Casinovi C. G., Cesinni S., Fedeli W., Pellicciari R., Santirbano R. Experientia, 241, 631—635, 1968.
7. Barrow K. D., Barton D. R., Chain E. V., Ohnisorge U. F. W., Tomas R. Chem. Comm., 19, 1198—1200, 1968.
8. Bertl A., Felle H. J. Exp. Bot., 36, 1142—1149, 1985.
9. Brummer B., Felle H., Parish R. W. FEBS Lett., 174, 223—227, 1984.



10. Cleland R. E. *Planta*, **128**, 201 — 206, 1976.

11. Davies D. D. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **27**, 513—524, 1973.

12. Guern J., Kurkdjian A., Mathieu Y. In: *PF Wareing ed. Substances*, Academic Press, New York, 1982, 427—437.

13. Goring H. *FEBS Lett.*, **177**, 1—3, 1984.

14. Hager A., Moser I. *Planta*, **163**, 391—400, 1985.

15. Marre E., Lado P., Rasi—Caldano F., Colombo R., De Michelis. *Plant Sci. Lett.*, **3**, 365—379, 1974.

16. Marre E., Marre M. T., Romani G. In: *Proceedings of the 16-th Meeting of FEBS Moscow 1984*, VNU Science, Press, 1985, 405—412.

17. Marre M. T., Romani G., Belando M., Marre E. *Plant Physiol.*, **82**, 316—323, 1981.

18. McLaughlin S., Szabo G. *Canad. J. Physiol.*, **58**, 667—674, 1971.

19. Rasi—Caldogno F., Pygliarello M. C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **133**, 280—285, 1985.

20. Raven J. A., Smith F. A. *Canad. J. Bot.*, **52**, 1035—1048, 1974.

21. Reid R. J., Field L. D., Pitman M. G. *Planta*, **166**, 341—347, 1985.

ფუზიკოკცინის ადსორბცია და ჰიდროფობულ იონთა ტრანსპორტი ბიშრულ ლიპიდურ მემბრანაზე

ბ. ტივაძე, მ. კანდელაკი, გ. დანელია

სასოფლო-სამეურნეო ბიოტექნოლოგიის საკავშირო სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტის რეგიონალური ფილიალი, თბილისი

რეზიუმე

პენტაქლორფენოლით ან ნონაქტინით მოდიფიცირებულ ბიშრულ ლიპიდური მემბრანის (ბლმ) გამტარიანობით შესწავლილი იქნა სასაზღვრო პოტენციალთა ცვლილება, რომელიც გამოწვეულია ზრდის რეგულატორის — ფუზიკოკცინის მემბრანაზე ადსორბციით. ფუზიკოკცინის ადსორბცია იწვევს იონფორების ძვრადობის ცვლილებას, რომელიც დამოკიდებულია ბლმ-ის შემადგენლობაზე. ძვრადობის გაზრდას იწვევს დიოლეილფოსფატიდიქოლინისაგან დამზადებული ბლმ,

ძვრადობის შემცირებას კი — იზოლექტინისაგან დამზადებული ბლმ.

მიღებული შედეგები შეიძლება ახსნილ იქნას ფუზიკოკცინის მოქმედებით ლიპიდური შრის სტრუქტურაზე. ფუზიკოკცინი იწვევს აზოლექტინისაგან დამზადებული მემბრანის „გამკვრივებას“ და დიოლეილფოსფატიდიქოლინისაგან დამზადებული მემბრანის „დარბილებას“.

განიხილება მიღებული შედეგების შესაძლო როლი ფუზიკოკცინის უჯრედთან ურთიერთქმედებისას პირველადი ზემოქმედების რეაქციებში.

ADSORPTION OF FUSICOCCIN AND TRANSPORT OF HYDROPHOBIC IONS ON BILAYER LIPID MEMBRANE

G. V. TIVADZE, M. D. KANDELAKI, G. I. DANELIA

Regional Filial of the All-Union Research Institute of Agricultural Biotechnology, Tbilisi, USSR

Summary

The plant growth regulator fusiccocin (FC) was studied for its effect on electric and structural properties of bilayer lipid membranes (BLM). Reaction of FC

with BLM was shown to be accompanied by a variation of the boundary potential as a result of FC adsorption on the membrane. FC adsorption on the membrane

changes the ionophores mobility which, according to the composition of the membrane, may both increase (dioleilphosphatidylcholine) and decrease (asolectin). The obtained results can be explained by the effect of FC on the structure of the lipid bilayer, by the «compaction» of membranes from asolectin and by the «loosening» of membranes from dioleilphosphatidylcholine. The effect of FC on BLM was shown to give rise to a pH gradient in membrane-adjointing inmixed layers. The effect described are discussed for their possible role in the primary reaction of the FC effect in interaction with the cell.

sening” of membranes from dioleilphosphatidylcholine. The effect of FC on BLM was shown to give rise to a pH gradient in membrane-adjointing inmixed layers. The effect described are discussed for their possible role in the primary reaction of the FC effect in interaction with the cell.

УДК — 615.475

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

ВЛИЯНИЕ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ НА ХИМИЧЕСКУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ДОРСОМЕДИАЛЬНОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА

И. Л. Амаглобели

Тбилисский государственный институт усовершенствования врачей МЗ СССР

Поступила в редакцию 09.11.89

Гипоталамус является важным эмоционально-вегетативным центром висцеральных функций организма. Множество экспериментальных данных указывает на большую роль этого ядерного образования в регуляции сердечно-сосудистой системы [1—3]. Обнаружено, что стимуляция гипоталамуса, производимая за несколько секунд до повышения давления в изолированном каротидном синусе, полностью подавляет рефлекторную гипертензию и брадикардию [6]. Согласно данным литературы при нормотен-

зии определенную заинтересованность в регуляции сердечной деятельности проявляет дорсомедиальное ядро гипоталамуса [5]. Однако при артериальной гипертензии вопрос о кардиоинтересованности этого ядра гипоталамуса остается нерешенным.

Целью нашего исследования являлось установление путем изучения химической чувствительности роли дорсомедиального ядра гипоталамуса в регуляции функционального состояния сердца в условиях артериальной гипертензии.

МЕТОДИКА

Опыты проведены на кроликах. Вживление хемитродов в дорсомедиальное ядро гипоталамуса производили под нембуталовым наркозом (30 мг/кг внутривенно) по атласу Фифковой-Маршалл. Химическое раздражение производили пороговыми дозами адреналина — 0,2% 5 мкл (10 мкг), норадреналином — 1,5% 5 мкл (75 мкг), серотонином — 1% 5 мкл (50 мкг) и ацетилхолином — 1% 5 мкл (50 мкг). С целью повышения артериального давления животным внутривенно вводили мезатон в дозе 35 мкг/кг/мин. Артериальное давление измерялось U-образным ртутным

манометром, соединенным с помощью канюли с бедренной артерией. Фазовую структуру сердечного сокращения определяли методом поликардиографических исследований, записывая электрофонокардиограмму и сфигмограмму до, в момент и после 1', 3', 5', 10' введения химического вещества. Анализ поликардиографических данных проводили по методу К. Блюмбергера в модификации В. Л. Карпмана [4]. С целью фармакологической блокады вегетативной иннервации сердца употребляли внутривенно атропин (2 мг) и индерал (2 мг/кг).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Подъем артериального давления у подопытных животных приводил к выраженной брадикардии. Менялось ЭКГ и фазовые показатели сердечного цикла (рис. 1-А); на этом фоне химическое раздражение дорсомеди-

ального ядра гипоталамуса норадреналином, адреналином, серотонином и ацетилхолином давало различные эффекты со стороны сердца.

При инъекции норадреналина и адреналина в дорсомедиальное ядро



гипоталамуса частота сердечных сокращений резко возрастала, уменьшались фазовые показатели сердечного цикла (рис. 1-Б), на ЭКГ возникали

раздражение ацетилхолином и серотонином достоверных сдвигов со стороны сердца не вызывало. Полученные экспериментальные данные указывают на ведущее значение адренергических структур в функционировании центрального звена бароэфферентного рефлекса [7].

В опытах по изучению гипоталамокардиальных эфферентных путей показано, что внутривенное введение атропина подавляло бароэфферентный рефлекс, вызванный подъемом артериального давления, и на этом фоне результаты химического раздражения дорсомедиального ядра гипоталамуса норадреналином и адреналином оказались сходными, но по степени менее выраженными, в сравнении с эффектами до введения атропина. После внутривенного введения индерала эти эффекты исчезали или заметно уменьшались.

Таким образом, исследование химическим способом химической чувствительности дорсомедиального ядра гипоталамуса дает нам основание утверждать, что при артериальной гипертензии оно сохраняет свою заинтересованность в регуляции деятельности сердца; при этом катехоламинергические структуры в исследуемом ядре преобладают над серотонинергическими и ацетилхолинергическими структурами. Ведущее значение в реализации гипоталамокардиальной регуляции для дорсомедиального ядра гипоталамуса принадлежит симпатическим эфферентным путям вегетативной нервной системы.

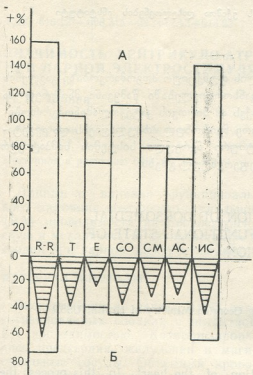


Рис. 1. Динамика изменения фазовых показателей сердечного цикла (P—P—сердечный цикл; T—период напряжения; E—период изгнания; CM—механическая систола; CO—общая систола; AI—асинхронное сокращение; IS—изометрическое сокращение) на фоне артериальной гипертензии—А; Б—при введении норадреналина (незаштрихованные прямоугольники) и адреналина (заштрихованные треугольники) в дорсомедиальное ядро гипоталамуса (в процентах)

наджелудочковые экстрасистолы. Максимум эффектов регистрировался в конце введения вещества. Химическое

ЛИТЕРАТУРА

1. Баклаваджян О. Г. Нейрональная организация гипоталамо-висцеральной рефлекторной дуги, «Наука», Л., 1988.
2. Вальдман А. В., Алмазов В. А. Барорецепторные рефлексы, «Наука», Л., 1988.
3. Гращенко Н. И. Гипоталамус, «Наука», М., 1964.

4. Карпман В. Л. Фазовый анализ сердечной деятельности, «Наука», М., 1965.
5. Сихарулидзе А. И., Беридзе К. П. Физiol журн. СССР, 12, 1488—1490, 1985.
6. Hilton S. M. Brit. Med. Bull., 3, 22, 1014—1019, 1966.
7. Armstrong J. Comp. Neurol., 4, 196, 906—918, 1981.

ი. ამაღლობელი

სსრკ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს თბილისის ექიმთა დახელოვნების ინსტიტუტი

რ ე ზ ი უ მ ე

დადგენილია არტერიული ჰიპერტენზიის პირობებში ჰიპოთალამუსის დორსომედიალური ბირთვის ქიმიური გაღიზიანების გავლენა გულის მოქმედების ფაზურ სტრუქტურაზე. ნაჩვენებია, რომ ჰიპოთალამუსის დორსომედიალური ბირთვის გუ-

ლის ფუნქციურ მდგომარეობაზე გავლენის განხორციელებაში წამყვანი მნიშვნელობა აქვს ამ ბირთვის კატექოლამინომგრძობიარე ნეირონულ პოპულაციებს და ვეგეტატიური ნერვული სისტემის სიმპატიკურ ეფერენტულ გზებს.

THE EFFECT OF CHEMICAL STIMULATION OF DORSOMEDIAL NUCLEI OF HYPOTHALAMUS ON THE FUNCTIONAL STATE OF THE HEART IN ARTERIAL HYPERTENSION

I. L. AMAGLOBELI

Tbilisi State Institute of Advanced Medical Training Georgian Ministry of Health, USSR

S u m m a r y

In experiments on rabbits while studying the chemical sensibility of dorsomedial nuclei of the hypothalamus it has been established that in arterial hypertension by modulating the barorefferent reflex they are involved in regula-

tion of the heart. In this process the leading role belongs to areas sensible to catecholamine as well as sympathetic structures of the vegetative nervous system.

УДК 616.12 — 008.315—08 : 612.13+615.22

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

ЗНАЧИМОСТЬ ВЕНТРИКУЛО-АТРИАЛЬНОЙ ПРОВОДИМОСТИ ПРИ ПАРНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ ЖЕЛУДОЧКОВ

Р. Н. Шония

НИИ терапии МЗ ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 09.01.89

Данные о влиянии функционального состояния вентрикуло-атриальной (ВА) проводимости на биоэлектрическую и механическую активность предсердий при парной электростимуляции

(ЭС) желудочков в литературе отсутствуют. Изучение этого вопроса и являлось целью настоящего исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 11 наркотизированных собаках с интактной ВА проводимостью. Катетеризировались предсердия, желудочки и магистральные сосуды. Объемный кровоток в аорте определяли расходомером «РКЭ-2». Показатели кардиогемоди-

намики регистрировались на самописце «Миннограф-82». Левая атрио- и венстрикулография осуществлялась на установке «ТУР-700». Программированная, учащающаяся и парная ЭС желудочков проводились электрокардиостимулятором «ЭКСК-04».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С началом парной ЭС ритм желудочков уменьшился на 33,13%, что способствовало удлинению рефрактерных периодов атриовентрикулярного (АВ) соединения в ретроградном направлении. Функциональная блокада ретроградной проводимости в виде ВА диссоциации развилась в 81,8% случаев. По этой причине желудочки сокращались от 1-го индуцированного аппаратом импульса, а предсердия — от синусового узла. В связи с тем, что частота предсердных сокращений после начала парной ЭС не менялась, ритм предсердий был на 32% ($P < 0,001$) больше, чем желудочков, т.е. на 1 желудочковый цикл приходилось 1,47 предсердных.

С наступлением ВА диссоциации (т.е. асинхронной деятельности предсердий и желудочков) часть предсердных сокращений совпадала с периодом закрытых АВ клапанов, а

часть совершалась в физиологической последовательности. По этой причине абсолютное число гемодинамически эффективных предсердных комплексов при урежающей ЭС равнялось $84,52 \pm 2,2$ единиц от средней частоты предсердных сокращений и составило 53,7% против 100% при синусовом ритме ($P < 0,001$); т.е. из 107 желудочковых циклов 23 практически не обслуживались эффективными предсердными сокращениями. Так как процесс возбуждения предсердий при парной ЭС желудочков контролировался синусовым узлом, состояние миокарда предсердий в диастолической и систолической фазах менялось от цикла к циклу. В связи с тем, что ритм предсердий превалировал над желудочковым, наблюдалась определенная периодичность в совпадении фаз предсердных и желудочковых циклов (т.е. в частоте появления ва-

рианта сцепления их циклов), что согласно расчетам в среднем составило 2 к 3 (10 к 15, 20 к 30 и т. д. по закону арифметической прогрессии). После совершения каждых 2 желудочковых и 3 «обслуживающих» их предсердных циклов, один полный ряд такого рода соотношений циклов опять повторялся, однако в двух вариантах. При I варианте два желудочковых цикла «обслуживались» двумя эффективными предсердными сокращениями и одним неэффективным, совершившимся при закрытых АВ клапанах. При II варианте наблюдалась обратная картина: два желудочковых цикла «обслуживались» одним эффективным предсердным сокращением и двумя неэффективными. Число предсердных систол, совершившихся при парной ЭС в условиях закрытых АВ клапанов, составило 46,3% от общей частоты предсердных сокращений и по абсолютному количеству было на 13,7% ($P < 0,05$) меньше по сравнению с эффективными. Нагрузка на миокард предсердий перед сокращением в данных комплексах значительно возрастала, что согласно зависимости длина/сила способствовало увеличению сократительной активности миокарда, вследствие чего амплитуда систолической волны в предсердиях возрастала в среднем на 71,8% ($P < 0,001$). Так как ток крови из предсердия в желудочек в течение данного отрезка времени отсутствовал по причине существования закрытых АВ клапанов, то по отношению легочных и полых вен формировался обратный (патологический) градиент давления порядка $6,7 \pm 0,2$ мм рт. ст., что указывало на появление регургитации крови из предсердий (этот факт подтверждался и данными рентгеноконтрастных исследований). С окончанием релаксации предсердий регургитация в легочные и полые вены прекращалась по причине изменения полярности

градиента давления. Далее следовало открытие АВ клапанов и формирование фазы быстрого наполнения желудочков.

Сравнительный анализ гемодинамически эффективных и неэффективных предсердных комплексов при парной ЭС выявил, что в последнем случае величина диастолической нагрузки на миокард предсердий была достоверно большей. В этой связи уровни сократительной активности и систолического давления в предсердиях в сравнении с гемодинамически эффективными комплексами были значительно большими ($P < 0,001$). При формировании гемодинамически неэффективных предсердных комплексов нагрузка на миокард предсердий в момент сокращения была максимальной в связи с совершением предсердной систолы в условиях закрытых АВ клапанов, а производительность равнялась нулю. Формирование обратных предсердно-венных градиентов давления и, вследствие этого, регургитации крови из предсердий предохраняло их от чрезмерной гемодинамической перегрузки в течение всей непроизводительной систолы.

Осуществление парной ЭС желудочков не всегда способствовало полному функциональному блокированию интактной ВА проводимости. В 19,2% случаев при парной ЭС наблюдались частые эпизоды ретроградной ВА блокады различных степеней, в основном II и III. Регистрировались сливные предсердные комплексы, сформированные с участием как ретроградно распространяющихся импульсов, так и возбуждений, поступивших от синусового узла. Проскальзывание возбуждений в ретроградном направлении через АВ узел способствовало формированию дополнительных, в гемодинамическом плане неполноценных, предсердных сокращений, совершающихся при закрытых АВ клапанах.



რ. შონია

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს თერაპიის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი.

რ ე ზ ი უ მ ე

პარკუჭების პროგრამირებული და ამაჩქარებელი ელექტროსტიმულაციის, გულის ღრუებისა და მაგისტრალური სისხლძარღვების კატეგორიზაციის და კონტრასტული რენტგენოკინემატოგრაფიის მეთოდების გამოყენებით შესწავლილ იქნა — პარკუჭოვან-წინაგულოვანი გამტარებლობის ფუნქციური მდგომარეობის გავლენა წინაგულების ბიოელექტრულ და მექანიკურ აქტივობაზე პარკუჭების წყვილი იმპულსებით ელექტროსტიმულაციის დროს.

დადგენილ იქნა, რომ ფუნქციური ხასიათის ძვრები გულის გამტარ სისტემაში, განპირობებული პარკუჭების გამაიზუიკათეხალი ელექტროსტიმულაციით, იწვევენ რეტროგრადული გამტარებლობის უმთავრესად სრულ ან ნაწილობრივ ბლოკირებას, წინაგულების ფუნქციური მდგომარეობის გაუარესებას და გულშიდა ჰემოდინამიკის რიგ დარღვევებს სისხლის მიმოქცევის დიდი და მცირე წრეების ვენტურ ნაწილებში.

THE ROLE OF THE VENTRICULO-ATRIAL CONDUCTION IN VVP PACING

R. N. SHONIA

Institute of Therapy Georgian Ministry of Health, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

Using intracardiac methods of investigation the efficacy of VVP pacing was studied in the treatment of circulatory disorders caused by a variety of pathologic sequence of atrial and ventricular contractions. in VVP pacing various variants of pathologic ratios of atrial and ventricular cycle phases formed due to differences in the functional

state of ventriculo-atrial functioning, the process of volume loading of ventricles and their performance were reconstructed. In asynchronous work of atria and ventricles, some regular features were disclosed leading to definite sequence and influencing the level of stroke volume of each complex.

Известия АН ГССР, серия биологическая
(на грузинском, русском и английском языках)

Корректор Д. Р. Арчвадзе

Сдано в набор 13.07.90; Подписано в печать 22.10.90.
Формат бумаги $70 \times 108^{1/16}$. Бумага № 1. Высокая печать
6,7 усл.-печ. л. 7,23 кр.-отт. 5,5 уч.-изд. л.
Тираж 1000 экз. Заказ 1873. Цена 85 коп.

გამომცემლობა „მეცნიერება“, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ. 19
Издательство «Мецниереба», Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

საქართველოს სსრ მეცნ. აკადემიის სტამბა, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ. 19
Типография АН Грузинской ССР, Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

საბჭოთა საზოგადოებრივი

1. ვერხლი იბეჭდება დასრულებული ექსპერიმენტული და თეორიული ხასიათის ოპიგინალური ნაშრომები ბიოლოგიის დარგებში დასრულებული ნაშრომები: მიმოხილვითი სტატეიები, მიმოხილვითი რედაქციის შედეგით; მოკლე წერილები და რეკლამები, ვერხლის მკვანძება საბჭოთადად სამეცნიერო-საორგანიზაციო ღონისძიებების კონია.

2. ექსპერიმენტული ნაშრომების მოყვანის ცხატებით, ნახატებით, ქვეწარწერებით, ლიტერატურის სიითა და რეზიუმეებით ჩატვლ და ინტერსტრუქტურები არ უნდა აღწერილობდეს ორი ინტერვალი დაბეჭდილი (მაკცხეა ევლად 3 სმ დატვლებით) 12 გვარტხ. ნახატების ჩატვნიება არ უნდა აღწერილობდეს 5-ს. მიმოხილვითი სტატეიები მოდელში დასაშუება 24 გვარტხად. მოკლე წერილები — 4 გვ. მოკლე წერილები შეიძლება დატვნიება 1-2 ნახატ.

რეზიუმე ჩატვლ და ინტერსტრუქტურები (არ უნდა აღწერილობდეს ერთ გვარტხ), ლიტერატურის სია, ცხატვლები და ნახატების ქვეწარწერები წარმოდგენილი უნდა იყოს ცალცალკე ფურცლებზე.

3. დედას (არ ეგზემპლარად) თინ უნდა ერთიღეს დაწესებულების მიმართება და სანქცირატო კომისიის დასკვნა პირველ გვარტხზე მარტხნივ უნდა ეწეროს უკან ინტერსტრუქტურები — ბიოლოგიის დარგი, შედეგ სტატეიის დასახებება, ავტორების ინიციალები და გვარები, იმ დაწესებულების დასახებება, სადაც შესრულდა ნაშრომი, და მოკლე ანოტაცია (0,5 გვარტხ). სტატეიის ხელს აწერს ყველა ავტორი. სტატეიის ბოლოს სრულად უნდა იყოს აღწერილი ავტორთა სახელი, მამის სახელი და გვარი, ბინისა და სასახურის მისამართი და ტელეფონის ნომერი.

4. სტატეია უნდა შეიცავდეს შესავალს, მეოთხედას, ცვლავის შედეგებს და შედეგების განხილვას.

5. ლიტერატაციები — მათეით ფორტები, ნახატ გრაფიკები, შესრულებული თეორი ქალაქებ ან კალაქებ, წარმოდგენილი უნდა იქნეს ორ ეგზემპლარად. ილუსტრაციებზე წარწერები შესრულებული უნდა იყოს ტყვით. ლიტერატაციის უკან მზარეს ფანქარით აღნიშნული უნდა იყოს მისი ნომერი, ავტორის გვარი და სტატეიის შემოკლებული დასახებება (ავტორების ნომრები შეიძლება აღინიშნოს ზემო და ქვემო მზარეებზე).

6. ციტირებული ავტორების გვარები ტექსტში მოყვანილი უნდა იყოს სტატეიის შესავალის ტრანსლიტერაციით, ლიტერატურის სიაში კი — ორიგინალური ტრანსლიტერაციით. ლიტერატურის სია დგება ანახის მიხედვით შემდეგი თანმიმდევრობით: ქართული, რუსული, ლათინური.

რეიითი ნომრის (ტექსტში იგი ცვლადრატულ ფრჩხილებშია) შემდეგ მოყვანილი უნდა იქნეს ავტორის გვარი და ინიციალები, გამოკების დასახებება; პერიოდული გამოცემებისათვის — ტომი, ნომერი, გვარტხები, წელი, არაპერიოდულიათვის — გამომცემლობის დასახებება, გამოცემის ადგილი, წელი და გვარტხები.

7. ხელწერების, რომლებზეც არ არის დატული აღნიშნული წესები და რომლებზეც არ შესახებება ფერხლის პროფილს, უმზრუნდება ავტორს. ყველა სტატეია იგზავნება სათეკანიით.

8. სტატეიების კორექტურის გასწორებისას დამატებითი ყველებების შეტრან ტექსტში დეშეება.

9. რედაქცია იტვებს უფლებას შეამტკიცოს და შეასწოროს სტატეიის ტექსტი.

10. ავტორს უფასოდ ეძლევა თორმეტე ანახატვლ.

რედაქცია სანქცირატეის სსრ მეცნიერებათა აკადემიის პრეზიდიუმის მიერ 14.02.1974

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

1. В журнале печатаются завершённые, оригинальные работы экспериментального и теоретического характера по утверждённым редколлегией разделам биологии, обзорные статьи, написанные по заказу редколлегии, а также краткие сообщения и рецензии. Первоначально в журнале помещается краткая хроника о проведённых научно-организационных мероприятиях.

2. Объём рукописи экспериментальных работ, включая таблицы, рисунки, подписи к рисункам, список литературы и резюме на грузинском и английском языках (не более одной страницы машинописи на каждом языке), не должен превышать 12 страниц машинописного текста, напечатанного через 2 интервала и полем 3 см с левой стороны. К рукописи может быть приложено не более 5 рисунков. Объём обзорной статьи — 24 страницы, краткого сообщения — до 4 страниц машинописи. Краткие сообщения можно иллюстрировать 1-2 рисунками.

Резюме на грузинском и английском языках, список литературы, таблицы и подписи к рисункам должны быть представлены на отдельных листах.

3. Рукопись (в двух экземплярах) должна иметь направление учреждения и заключение экспертной комиссии. На первой странице слева приводятся индексы статьи (УДК), справа — раздел биологии, затем название статьи, инициалы и фамилия авторов, название учреждения, где выполнена работа, и краткая аннотация (не более 0,5 стр.).

Статья должна быть подписана всеми авторами. В конце статьи необходимо указать полностью имя, отчество и фамилию авторов, домашний и служебный адреса, телефоны.

4. Статья должна содержать введение, методку, результаты исследований и обсуждение результатов.

5. Иллюстрации — четкие фотографии на глянцевой бумаге и рисованные графики на кальке или белой чертёжной бумаге — следует представлять в двух экземплярах. Надписи на иллюстрациях должны быть выполнены тушью. На обороте иллюстрации следует обозначить карандашом её номер, фамилию автора и сокращённое название статьи, а в случае необходимости отметить верхний и нижний край.

6. Фамилии цитируемых авторов следует давать в транскрипции, соответствующей тексту статьи и в оригинальной — в списке литературы. Список литературы составляется по алфавиту — вначале грузинским и русским шрифтом, а затем латинским. После порядкового номера (в тексте статьи он ставится в квадратные скобки) следует давать фамилию и инициалы авторов, название издания, затем: для периодических изданий — том, страницы (от и до), год; для непериодических — название издательства, место, год издания и страницы.

7. Рукописи, оформленные без соблюдения указанных правил, а также не соответствующие профилю журнала, возвращаются автору. Все рукописи проходят рецензирование.

8. Корректуры статей даются авторам для проверки, правки и визиования. Дополнительные изменения в тексте не допускаются.

9. Редакция оставляет за собой право сокращать и исправлять тексты статей.

10. Авторы получают бесплатно 12 отдельных отписок.

Цена 85 коп.

698/187

Индекс

76204



ISSN - 0321-1665 Изв. АН СССР, сер. биологическая, 1990, т. 16, № 289-360