

ЛИТЕРАТУРА

1. Коварский Вал. А., Коварский Виктор А., Филипп Б.С. Фотохимические электронные процессы при обработке растительных материалов // Электронная обработка материалов. 1995. № 5–6. С. 89–92.
2. Коварский Вал. А., Коварский Виктор А., Филипп Б.С. Фотодинамическая модель повышения обменной энергии в кормах растительного происхождения // Электронная обработка материалов. 1999. № 4 (англ.). С. 65–72.
3. Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений. Т. I. М., 1986. С. 122–135.
4. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов / Пер. с англ. М., 1986. С. 337–339.
5. Корн Г., Корн Т. Справочник по математике (для научных работников и инженеров). М., 1973.

Поступила 30.11.2000

Summary

It is demonstrated, that under the fodder photo-treatment the saturation of photo-induced signals of the electronic paramagnet resonance is a condition of meal nutritiousness arising for growing animals. The moment of saturation corresponds the critical volume of pumped light energy. The results of the experiments on feeding of growing white rats with photo-treated fodder are described.

С.А. Бурцева, В.А. Рева, *Г.С. Артыкова, *С.Д. Тофилат, *И.О. Растимешина

ЖАСМОНАТ-ИНДУЦИРУЕМЫЙ СИНТЕЗ БЕЛКА DE NOVO У STREPTOMYCES CANOSUS 71 VAR.6, ПОЛУЧЕННОГО ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ γ -ОБЛУЧЕНИЯ

*Институт микробиологии АН Молдовы,
ул. Академическая, 1, Кишинев, MD–2028, Республика Молдова
*Молдавский Государственный Университет,
ул. А. Матеевича, 60, Кишинев, MD–2009, Республика Молдова*

Известно, что ультрафиолетовые (УФ) и ионизирующие излучения вызывают различные нарушения в ДНК, РНК, приводят к подавлению их синтеза, образованию сшивок ДНК – белок, деградации ДНК и других [1]. Так, установлено, что при действии высоких доз γ -лучей на *E. coli*, прежде всего, наблюдается изменение хода синтеза ДНК, а затем угнетение других клеточных синтетических систем. Изменения развиваются в следующей последовательности: ДНК – РНК – рибосома – белок – липиды [2]. Во многих работах показано изменение липидного компонента мембран под действием ионизирующей радиации. Можно отметить, что в корпоративной системе белок-липидного матрикса мембран изменение липидного компонента приводит к изменению структурно-функциональных свойств интегральных белков мембран [3, 4]. Учитывая вышесказанное, представляет интерес поиск среди химических агентов или природных соединений веществ, воздействующих на ДНК и способствующих выявлению генетической роли отдельных компонентов бактериальной клетки и выяснению механизма бактериального мутагенеза.

Исследование соединений, обладающих гормональной активностью, и их влияния на живые организмы является новой и бурно развивающейся отраслью современной биологии. Число открытых биологически активных соединений постоянно увеличивается. Особый интерес представляют окисленные производные ненасыщенных жирных кислот – оксилипины, которые играют определяющую роль в стратегии стрессовых состояний организмов [5]. Непосредственными предшествен-

© Бурцева С.А., Рева В.А., Артыкова Г.С., Тофилат С.Д., Растимешина И.О., Электронная обработка материалов, 2001, № 3, 47–54.

никами оксипиринов являются ненасыщенные жирные кислоты мембранных фосфолипидов. Одним из таких соединений является жасмоновая кислота и ее метиловый эфир или жасмонаты (*J*) [6]. Их регуляторная роль в растительном мире теперь уже не вызывает сомнения. Однако последние исследования показали, что *J* распространены не только в мире растений, они встречаются в водорослях и мицелиальных грибах и являются компонентами женских половых аттрактантов мотыльков. Уровень эндогенных *J* быстро и кратковременно увеличивается в результате механических пертурбаций, изменения тургора, вследствие водного дефицита, поранения и других воздействий физико-химических факторов [7]. Кроме того, накопление *J* можно индуцировать такими элиситорами, как хитозан клеточной стенки грибов и различными пептидами [8, 9].

Все известные реакции растений на *J*, независимо от того, введены они извне или образуются эндогенно, и вызывающие изменения в экспрессии генов, можно условно разделить на три группы: 1) индукция новых белков – ЖР (жасмонат-индуцированные белки); 2) избирательная репрессия синтеза конститутивных белков; 3) временное замедление синтеза в целом, имеющее место в результате длительного воздействия *J* или стресса [10].

Многие экспрессированные ЖР обладают видовой и родовой специфичностью [11]. Кроме того, имеются качественные и количественные различия в отношении репрессии синтеза конституционных белков. Все эти данные свидетельствуют о том, что растения различаются по способности воспринимать и метаболизировать *J*. Семейство ЖР высших растений можно разделить на пять групп: 1) ингибиторы протеиназ; 2) тионины; 3) белки, богатые пролином и оксипролином; 4) ферменты фенилпропаноидного метаболизма; 5) рибосомы-инактивирующие белки [12].

Для изучения регуляции различных типов биохимических процессов, протекающих в клетке, микроорганизмы представляют собой очень благодатный объект в силу их исключительного разнообразия, быстроты протекания реакций, возможности работать с большим количеством однородного материала, относительно легким получением и поддержанием разнообразных мутантов и по ряду других причин [13]. В то же время высокая биологическая активность микробных ауторегуляторов и связанное с этим их малое содержание в клетке, их быстрое исчезновение в процессе метаболизма и вызываемые этими причинами трудности их выделения и очистки, а также многообразие процессов, на которые иногда влияет один и тот же регулятор, – все это нередко ставит сложные проблемы.

Среди микроорганизмов одной из наиболее продуктивных групп в отношении образования биологически активных веществ являются актиномицеты [14, 15]. Согласно литературным данным, характерной чертой стрептомицетов является высокая генетическая нестабильность многих признаков: способность образовывать воздушный мицелий, пигментация, продукция антибиотиков, ферментов, липидов, регуляторов роста и пр. Во многих случаях наблюдается одновременное изменение нескольких признаков [16–19].

Целью исследования было изучение влияния метилжасмоната, рассматриваемого в последних литературных источниках как новый класс фитогормонов, на такую группу микроорганизмов, как актиномицеты, которые интересны не только своим таксономическим положением, но и являются уникальными по своему биосинтетическому потенциалу.

Материалы и методы исследований

Объектом исследований служил устойчивый вариант музейного штамма стрептомицетов *Streptomyces canosus* 71 var. 6, полученный под воздействием ионизирующего излучения и характеризующийся большей удельной скоростью роста и повышенным содержанием липидов, в частности фосфолипидов [20]. Главным же критерием в выборе объекта исследования стала идентификация методом газо-жидкостной хроматографии у данного варианта линоленовой кислоты, которая не характерна для исходной культуры, так как именно линоленовая кислота является непосредственным источником эндогенных жасмонатов [21].

Влияние фитогормона метилжасмоната (МЖ) на морфологию актиномицета изучали путем посева суспензии спор на твердую агаризованную среду Чапека. Для получения изолированных колоний делали пять десятикратных разведений исходной суспензии спор. Чашки инкубировали в термостате при 28°C.

Влияние МЖ на культуральные свойства актиномицета изучали путем внесения спиртового раствора фитогормона в среду культивирования. Фитогормон вносили в конце экспоненциальной фазы роста, время экспозиции составляло 24 ч.

Экстракцию белков из биомассы осуществляли гомогенизацией с битым стеклом в буфере следующего состава: 0.1М Трис-НСl рН 8.0; 5% глицерин; 0.1% ЭДТА; 1% ME.

Количественное определение белка проводили по методу Брэдфорда [22].

Изучение белковых фракций осуществляли методом электрофореза в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях с использованием трициновой системы [23].

Фракцию дегидрогеназ выделяли псевдоаффинной хроматографией на иммобилизованном красителе цибакрон голубой F3GA с использованием техники сорбции в объеме. Иммобилизацию красителя проводили на сефарозе CL-4B согласно инструкции фирмы производителя. Неспецифически связавшиеся белки удаляли промыванием 200-кратным объемом воды. Элюцию белков с матрицы проводили неспецифически импульсно 1М NaCl.

Результаты исследований и их обсуждение

Была проведена серия опытов, целью которых было получение устойчивых вариантов стрептомицетов с повышенной липогенной активностью под воздействием ионизирующего излучения. Объектом исследований служил музейный штамм стрептомицетов *S. canosus 71*, водную суспензию спор которого облучали на радиационно-химической установке РХМ- γ -20 с активностью 12750 Кюри и мощностью 0.67Гр/сек. Источником γ -лучей являлся радиоактивный Co^{60} .

Из проанализированных 1200 колоний, полученных после микробиологического посева облученной суспензии спор и характеризовавшихся измененной окраской гифов и постоянством морфологических признаков, после многократного пассирования были отобраны 4 варианта, которые уже на 2–3 сутки роста на агаризованной среде Чапека образовывали густой газон. После изучения способности накапливать биомассу и образовывать липиды при росте на комплексной среде М-1 (основной источник углерода – кукурузная мука) на момент отбора и спустя различные промежутки времени, особое внимание привлек *var. б*, у которого методом газо-жидкостной хроматографии была идентифицирована линоленовая кислота, не обнаруженная у исходной культуры. Этот факт стал определяющим в выборе объекта для дальнейших исследований, так как именно линоленовая кислота является непосредственным предшественником эндогенных *J*.

Было установлено, что на момент выделения *var. б* превосходил исходный штамм на 124,0% по количеству биомассы и на 98,4% по количеству липидов. Через 6 месяцев после отбора при культивировании на органической среде М-1 *var. б* накапливал меньше биомассы, в которой липидов было больше, чем на момент отбора (171,4% общих липидов по сравнению с контролем).

Результаты изучения культурально-морфологических особенностей *var. б* в сравнении с исходной культурой представлены в таблице.

Культурально-морфологические свойства штамма S. canosus 71 и его варианта S. canosus 71 var. б, полученного под воздействием γ -излучения

Культурально-морфологические свойства	Исследуемая культура	
	<i>S. canosus 71</i>	<i>S. canosus 71 var. б</i>
Диаметр колоний, мм	4,0 – 5,0	10,0 – 12,0
Форма колоний	Круглые, в центре аспорогенный кратер	Круглые, в центре аспорогенный кратер
Цвет воздушного мицелия	Белый	Голубовато-серый
Цвет культуральной жидкости	Абрикосово-желтый	Инкарнатно-розовый
Цвет биомассы	Темно-песочный	Изабелловый

При изучении фракционного состава общих липидов, экстрагированных из биомассы *S. canosus 71* и *S. canosus 71 var. б* методом тонкослойной хроматографии было идентифицировано 6 фракций. Культивирование исходного штамма на сложной комплексной среде М-1 способствовало тому, что в количественном отношении преобладающими были триглицериды, суммарная фракция эфиров стеринов и восков, а также стерины. Далее, по степени уменьшения процентного содержания в общих липидах идет фракция моно- и диглицеридов и фосфолипидов. Процесс липидообразования является весьма условным, так как всецело зависит от среды культивирования, а преобладание тех или иных фракций в составе общих липидов варьирует, как правило, в зависимости от качественного состава среды.

Наибольшие количественные отличия между культурами были отмечены для фракций фосфолипидов и стерина, причем эти отличия проявлялись как на момент отбора, так и спустя 6 и 12 месяцев после отбора. Так, вариант превосходил исходную культуру на 11,3% по количеству фосфолипидов и на 13,0% – стерина. По содержанию триглицеридной фракции *var. 6* превосходил *S. canosus 71* незначительно, а по количеству ди- и триглицеридов *var. 6* несколько уступал исходной культуре.

В ходе изучения липидных фракций культур с различными интервалами времени от момента отбора наблюдались количественные колебания в содержании, как общих липидов, так и отдельных фракций у исходного штамма и варианта *S. canosus 71 var. 6*. Причиной подобных осцилляций, вероятно, является зависимость метаболической активности актиномицетов от сезонного периодизма.

Наблюдения о влиянии МЖ на морфологию *S. canosus 71 var. 6*, производили, начиная с 5-го дня от момента посева. При этом были отмечены существенные отличия в росте культуры, обусловленные МЖ. Наблюдаемые отличия касались размеров колоний и их характера (см. рис. 1).

Так, в ряду увеличивающихся концентраций МЖ наблюдалась явная тенденция подавления роста колоний, сопровождающаяся изменениями их морфологии и даже появлением разнотипных колоний, в случае высокой концентрации МЖ.

При количестве МЖ 2γ на чашку каких-либо видимых морфологических отличий относительно контроля не наблюдали. Колонии белого цвета, плоские, диаметром 0,8–1,0 см, в форме снежинок, с широким кратером в центре, как и в случае контроля. По-видимому, такое количество МЖ приближается к возможному физиологическому или же является ниже уровня порогового. В случае, когда на чашку наносили 20γ МЖ (количество на порядок выше того, при котором не наблюдаются какие-либо видимые изменения морфологии), было отмечено значительное уменьшение размеров колоний до 0,2–0,4 см в диаметре. Изменения затронули и тип колоний. Цвет колоний приобрел сероватый оттенок, кратер отсутствует, центр выпуклый. При нанесении 40γ МЖ на поверхность агара прослеживалось все более явное ингибирование роста. Весьма интересным явился факт расщепления культуры, следствием чего было появление двух типов колоний: 1-й тип диаметром 0,2–0,3 см, серые в центре, белые по краям с небольшим кратером и 2-й тип – карликовые 0,1–0,15 см в диаметре, белые.

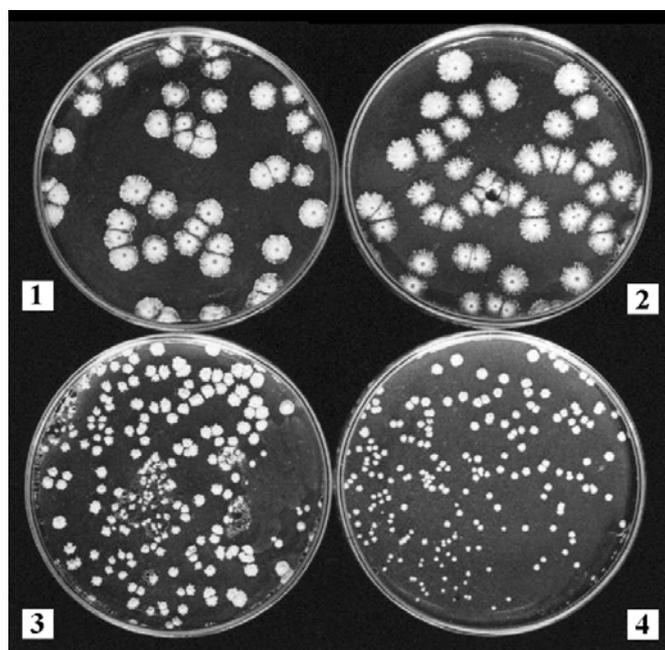


Рис. 1. Влияние метилжасмоната (МЖ) на морфологию *Streptomyces canosus 71 var. 6*.
1 – контроль; 2 – 20 γМЖ; 3 – 200 γМЖ; 4 – 400 γМЖ.

Наблюдения за культурой актиномицетов, подвергнутых влиянию разных концентраций МЖ, проведенные в динамике, начиная с 5-го дня культивирования по 14-й, позволяют утверждать, что культура *S. canosus 71 var. 6* является чувствительной к фитогормону МЖ, который в относительно больших количествах оказывает эффект ингибирования роста. Какие механизмы при этом используются, трудно даже предположить, так как эффекты МЖ на некоторые физиологические параметры у растений настолько разнотипны, что вывести какую-то генеральную схему действия МЖ практически

невозможно. Так, известно, что МЖ стимулирует прорастание покоящихся семян и, наоборот, подавляет прорастание семян, вышедших из покоя [24]. В опытах на бобовых нами было отмечено, что высокие концентрации МЖ стимулируют рост главного корня и при этом подавляют развитие придаточных корней.

В связи с тем, что актиномицеты при глубинном культивировании выделяют в среду большое количество экзометаболитов, среди которых значительную часть составляют экзоферменты, был изучен белковый состав культуральной жидкости (КЖ).

Установлено, что при экзогенном введении МЖ в культуру актиномицета имеют место качественные и количественные изменения белкового состава КЖ. Так, количественное определение белка показало наличие определенной зависимости между содержанием белка и дозой фитогормона в интервале 1–50 мкМ (рис. 1). В интервале концентраций от 1 до 5 мкМ было отмечено некоторое увеличение содержания белка относительно контроля. При концентрациях МЖ 25–50 мкМ наблюдалась обратная зависимость, т.е. содержание белка снижалось по сравнению с тем, которое отмечалось под действием низких концентраций и незначительно уменьшалось по сравнению с контролем. Таким образом, кривая зависимости доза-эффект носит сложный характер и может быть результатом явления насыщения рецептора гормоном.

Анализ белков культуральной жидкости *S. canosus 71 var.6*, культивируемого на среде Чапека, методом ЭФ в ПААГ-ДСН-трицин показал наличие 26 зон, что говорит о высокой экстрацеллюлярной энзиматической активности. При сравнении белковых треков, соответствующих контрольной и опытным пробам, было отмечено качественное отличие. В культуре стрептомицета под действием экзогенно введенного МЖ обнаружен белок с Mr 50кДа, отсутствующий в контроле.

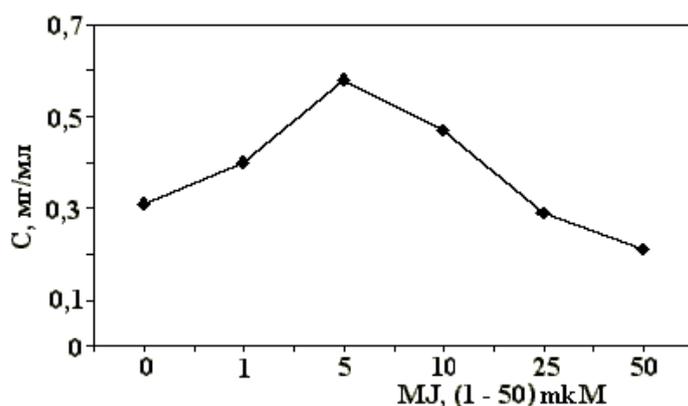


Рис. 2. Кривая зависимости содержания белка в культуральной жидкости *Streptomyces canosus 71 var. 6* от концентрации МЖ, внесенного в среду культивирования. По оси абсцисс – концентрация МЖ, по оси ординат – концентрация белка.

На основании данных об изменениях белкового состава (КЖ) под действием МЖ логично было предположить, что появление белка на внеклеточном уровне есть вторичное явление и что первичные изменения необходимо искать на внутриклеточном уровне. В связи с этим изучению была подвергнута водорастворимая фракция белка биомассы, при этом в силу полидисперсности последней были использованы дополнительные методы фракционирования, в основе которых лежит сродство к определенным лигандам. В качестве такого лиганда была использована голубая сефароза.

Использование подобного адсорбента позволяет сконцентрировать исследование на двух группах объектов: 1) белках, связывающих пуриновые нуклеотиды (условно дегидрогеназах), то есть белках, элюированных с колонки (положительная фракция) и 2) белков, условно не отнесенных к дегидрогеназам, поскольку они не обладают сродством к аффинному гелю и поэтому остаются в растворе (отрицательная фракция).

При сравнительном анализе белкового профиля положительной фракции, соответствующей контрольной и опытной пробам, методом ЭФ в ПААГ с последующей импрегнацией белков серебром, были установлены качественные и количественные изменения. Денситометрический анализ электрофоретических зон показал наличие 7 основных пиков, выявленных и в контрольной, и в опытной пробам (рис. 3). Площади пиков при этом существенно различаются, что может быть мерой количественной оценки отдельных ферментов в положительной фракции.

Качественные изменения были выявлены на уровне минорных пиков. Так, под действием MJ в контроле было отмечено исчезновение одного пика и количественное уменьшение двух других минорных пиков на фоне уширения основных пиков.

По-видимому, роль ферментов, соответствующих основным пикам, настолько велика, что изменения в их составе следует ожидать при весьма жестких условиях воздействия факторов окружающей среды, приводящих к серьезным нарушениям гомеостаза. В данном же случае это воздействие (обработка фитогормоном) не является столь действенным.

Фракция, элюированная с колонки, условно не содержащая дегидрогеназы, была подвергнута тепловой денатурации при 60°C, после чего была изучена методом ЭФ в ПААГ в системе трицин-ДСН. При этом картина белкового профиля заметно прояснилась. В опытной пробе (обработка MJ) была выявлена зона, отсутствующая в контроле, с Mr ~65кДа. Поскольку контрольная и опытная пробы изучались в идентичных условиях, то появление новой зоны (белка) может быть объяснено изменением в экспрессии генов у актиномицета, индуцированным MJ.

На основании данных о Mr белок, образованный *de novo*, можно отнести к классу JIP 60. JIP 60 представляет собой новый класс рибосомы-инактивирующих белков (RIP) [25]. Благодаря своему лектиновому домену JIP 60 может связываться с гликопротеинами клеточной стенки патогенов и по аналогии с RIP проникать путем эндоцитоза внутрь клетки и атаковать рибосомы, подавляя тем самым биосинтез белка. JIP 60 обладает сигнальной последовательностью, характерной для белков, предназначенных для “экспорта”. Однако как происходит его секреция еще до конца не ясно. Так, например, гомолог JIP 60 из арабидопсиса первоначально накапливается в виде 67кДа предшественника, затем, претерпевая сплайсинг, в ходе которого лишается сигнальной последовательности, транспортируется по эндоплазматическому ретикулуму клетки [26]. Предполагается, что обнаруженный экстацеллюлярный (в культуральной жидкости) белок *de novo* с Mr 50кДа есть результат сплайсинга своего предшественника с Mr 65кДа, обнаруженного на клеточном уровне (водорастворимая фракция биомассы).

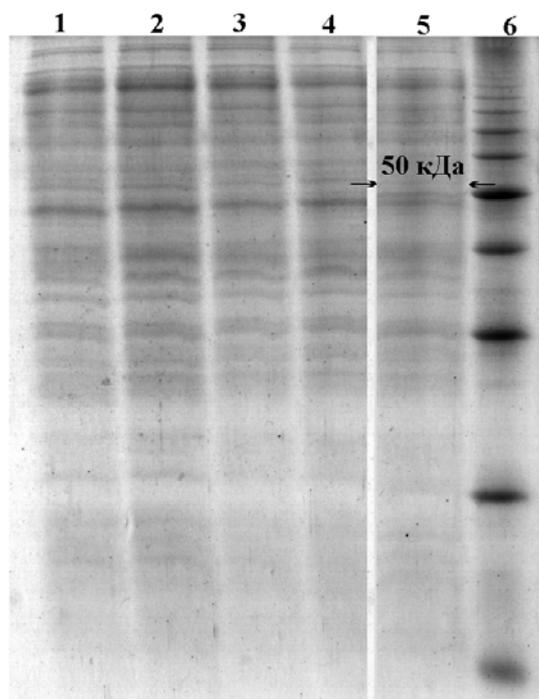


Рис. 3. Электрофореграмма белков культуральной жидкости *Streptomyces canosus* 71 var. 6 под действием MJ. 1 – контроль; 2–5 – от 5 до 50 мкМ MJ; 6 – маркеры.

Вопрос о том, действует JIP 60 первично внутриклеточно, инактивируя собственные рибосомы в пораженных клетках, или внеклеточно, направляя свое действие непосредственно на рибосомы патогенов, остается открытым. Еще большую неясность в этот вопрос вносит факт MJ-индуцированного синтеза белка у актиномицетов, возможно, относящегося к классу JIP 60. Актиномицеты, будучи организмами, занимающими на эволюционной лестнице промежуточное положение между бактериями и грибами, также могут быть рассмотрены как патогены.

Таким образом, наблюдаемое угнетение роста, обусловленное MJ, а также морфологические изменения, затрагивающие тип колоний актиномицетов, позволяют объяснить все эти явления, прежде всего за счет образования RIP. С другой стороны, если рассматривать актиномицеты как потенциальные патогены растений, то индуцированное в них MJ образование RIP решает вопрос о первичности действия этого белка в пораженных тканях, т. е. MJ может индуцировать RIP в клетках патогенов и тем самым препятствовать их развитию и дальнейшему распространению.

Выводы

1. Изучено действие фитогормона MJ на рост колоний *Streptomyces canosus* 71 var.6, полученного под действием γ -облучения. Установлено изменение морфологии (форма, размер, цвет) в зависимости от концентрации MJ.

2. Показано, что экзогенно введенный MJ в культуру *Streptomyces canosus* 71 var.6 индуцирует синтез белка *de novo* с Mг 65кДа, который, претерпевая внутриклеточный сплайсинг, транспортируется в культуральную жидкость в виде 50кДа-нового белка.

3. Установлены количественные изменения содержания белка культуральной жидкости в зависимости от концентрации MJ, внесенного в среду культивирования актиномицета: при низких концентрациях MJ отмечается увеличение содержания общего белка, а при концентрации MJ, индуцирующей синтез белка *de novo*, количество белка уменьшается.

4. Определены качественные и количественные изменения фракции дегидрогеназ под действием MJ, которые проявляются при денситометрическом анализе в исчезновении одного минорного пика и количественного уменьшения двух других пиков на фоне уширения основных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьева Л.И., Никитенко Г.В., Ходжаев Е.Ю., Пономарева Г.М. Реактивация инактивированных ультрафиолетовым светом *Escherichia coli* клеточными экстрактами пропионово-кислых бактерий // Микробиология. 1993. Т. 62. Вып. 6. С. 1135–1143.
2. Скавронская А.Г. Мутации у бактерий. М., 1967. С. 120–130.
3. Коломийцева И.К. Радиационная биохимия мембранных липидов. М., 1989.
4. Древаль В.И. Влияние ионизирующего излучения на активность Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФазы плазматических мембран // Радиобиология. 1992. Т. 32. Вып. 2. С. 222–224.
5. Blee E. Principal metabolism of plant and animal oxylipins // Abstr. Internation. Meet. "Similarities and differences of redox control signal transfer and stress response in plant, human and animal". Halle, 1998.
6. Creelman R., Mullet J. Jasmonic acid distribution and action in plants // Regulation during development and response to biotic and abiotic stress. 1995.
7. Creelman R., Mullet J. Biosynthesis and action of jasmonates in plants // Annu. Rev. Plant Mol. Biol. 1997. № 48. P. 355–381.
8. Gundlach H., Muller M., Kutchan T., Zenk M. Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell cultures // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1992. № 89. P. 2389–2393.
9. Pearce G., Strydom D., Johnson S., Ryan C. A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins // Science. 1991. № 253. P. 895–898.
10. Reinbothe B., Mollenhauer B., Reinbothe C. JIPs and RIPs: the regulation of plant gene expression by jasmonates in response to treatmental cues and pathogens // The Plant Cell. 1994. № 6. P. 1197–1209.
11. Мюллер-Ури Ф., Партье Б., Манди Д. Чувствительная к жасминовой кислоте экспрессия генов у ячменя // Физиология растений. 1997. № 41. С. 696–698.
12. Красильников А.С. Лучистые грибки. М., 1970. С. 245–263.
13. Безбородов А.М. Метаболиты внутриклеточного фонда микроорганизмов. М., 1974.
14. Безбородов А.М. Ферменты микроорганизмов. М., 1984.
15. Бурцева С.А. Микробные биоантиоксиданты липидной природы: Автореф. дисс. канд. биол. наук. М., 1986.
16. Алиханян С.И., Акифьев А.П. Общая генетика. М., 1985. С. 41–48.
17. Даниленко В.М., Родионова И.И. Механизмы липогенной нестабильности стрептомицетов // Антибиотики и химиотерапия. 1989. Т. 33. № 3. С. 164–171.
18. Заворотная С.А., Федоренко В.А., Даниленко В.М. Генетическая нестабильность признака стрептомицинустойчивости у *Streptomyces erytraeus* // Антибиотики и химиотерапия. 1990. Т. 35. № 12. С. 18–21.

19. Veselinova M., Gesheva R. A polymorphism of *Streptomyces spectabilis* 1000 // Докл. Болг. АН. 1989. Т. 42. № 5. С. 97–100.
20. Бурцева С.А. Влияние γ -излучения на рост и липидообразование *Streptomyces canosus* 71 // Электронная обработка материалов. 2000. № 2. С. 68–73.
21. Chandra S., Heinstejn P., Low P. Activation of a phospholipase A by plant defence elicitors // Plant Physiol. 1996. № 110. P. 979–986.
22. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analit. Biochem. 1976. V. 72. P. 248–254.
23. Schagger H, von Jagow G. Tricine-sodium dodecyl sulfate – polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of protein in the range from 1 to 100 kDa // Analyt. Biochem. 1987. V. 166. P. 368–379.
24. Bewley J. Seed germination and dormancy // Plant Cell. 1997. V. 9. P. 1055–1066.
25. Chauhry B., Mulleer-Uri F., Cameron-Mills V., Gough S., Simpson D., Skriver K., Mundy J. The barley 60 kDa jasmonate-induced protein (JIP 60) is a novel ribosome-inactivating protein // Plant J. 1994. V. 6. P. 815–824.
26. Bednarek S., Raikhel N. Intracellular trafficking of secretory proteins // Plant Mol. Biol. 1992. V. 2. P. 133–150.

Поступила 16.02.2001

Summary

The phytohormone methyljasmonate (MJ) on exogenously introducing into the culture of *Streptomyces canosus* 71 var. 6, obtained after γ -irradiation, induced synthesis the protein *de novo* with the molecular weight of 50 Kda. The action of MJ provokes a gene (genes) expression that resulted in a 65 kDa protein synthesis. This new precursor after intracellular splicing was exported into the culture medium as 50kDa protein. Morphologically the MJ action was discovered in the colonies' growth inhibition. Based on these dates, protein synthesizing *de novo*, may be classified as a new member of class of the ribosome-inactivated proteins.

А.М. Даниленко, М.П. Купчик, И.С. Гулий

ОБОСНОВАНИЕ РЕЖИМА ВОЗДЕЙСТВИЯ СВЧ-ПОЛЯ НА РАСТИТЕЛЬНУЮ ТКАНЬ

*Украинский государственный университет пищевых технологий,
ул. Владимирская, 68, Киев-33, 01033, Украина*

Механизм типичного процесса денатурации растительной клетки заключается в нарастающем по времени тепловом воздействии на белок мембран вакуоли. Это приводит к увеличению содержания в мембранах высокомолекулярных растворимых белков и, в конечном счете, к частичному разрушению мембран. Таким образом, тепловой процесс денатурации носит биохимический характер [1–4]. Однако денатурация растительной клетки может быть достигнута и за счет физического воздействия внутриклеточной жидкости растительной ткани на мембранные перегородки. Такое воздействие обусловлено различными диэлектрическими свойствами жидкости и веществ белково-пектинового комплекса. Так, в диапазоне частот $3 \cdot (10^8 - 10^9)$ Гц величина диэлектрических потерь $\varepsilon'' = \varepsilon' \cdot \operatorname{tg} \delta$ во внутриклеточной жидкости превышает потери в сухих веществах растительной клетки в ~80 раз. Это означает, что коэффициент теплового расширения этих сред также отличается примерно на порядок. На основе этого эффекта возможно механическое разрушение мембран

© Даниленко А.М., Купчик М.П., Гулий И.С., Электронная обработка материалов, 2001, № 3, 54–59.