

ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКОВ КРОВИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЯЩЕРИЦ И ЗМЕЙ АРМЕНИИ

Степанян И., Гаспарян В.**

*Институт зоологии НАН РА, **Институт биохимии НАН РА

Проведен биохимический анализ альбуминов, α -, β - и γ -глобулинов, гликопротеинов и гемоглобинов у трех видов ящериц (*Lacerta trilineata*, *Laudakia caucasicus*, *Eumeces schneideri*) и девяти видов змей (*Natrix natrix*, *N. tessellata*, *Coluber ravergieri*, *C. najadum*, *C. schmidtii*, *Elaphe hohenerkeri*, *El. quaterlineata*, *Eirenis collaris*, *E. punctatolineatus*) Армении. Выявлены межродовые и межотрядные родственные взаимоотношения ящериц и змей. Так, наиболее близкими родами у ящериц оказались *Laudakia* и *Eumeces*, а у змей *Natrix* и *Coluber*, а также — *Coluber* и *Eirenis*. Наиболее отдаленными оказались змеи родов — *Natrix* и *Eirenis*. В целом выявлено сходство в структуре белковых молекул гемоглобинов в эволюционном ряду позвоночных животных.

Ստեփանյան Ի., Գասպարյան Վ., Հայաստանի օձերի և մողեսների որոշ տեսակների արյան սպիտակուցների հետազոտությունը: Հատարվել է արյանի մեջ α -, β - և γ -գլոբուլինների, գլիկոպրոտեինների և հեմոգլոբինների վերաբերյալ մոլեկուլների երեք և օձերի ինը տեսակների մոտ: Պարզվել են մողեսների և օձերի միջբնակային և միջարկային ցեղակցական որոշ փոխհարաբերություններ: Այսպես, մողեսների առավել մոտ ցեղեր են համարվում *Laudakia* և *Eumeces*, իսկ օձերի մոտ — *Natrix* և *Coluber*, ինչպես նաև *Coluber* ու *Eirenis*: Առավել հեռավոր ազգակցության է դիտվել օձերի *Natrix* և *Eirenis* ցեղերի մոտ: Ընդհանուր առմամբ, ողնաշարավոր կենդանիների էվոլյուցիայի շարքում դիտվել է հեմոգլոբինների մոլեկուլային կառուցվածքների նմանություն:

Stepanyan I., Gasparyan V. The investigation of blood proteins of several lizard and snake species of Armenia. The biochemical analysis of albumin, α -, β - and γ -globulin's, glycoproteins and hemoglobin's was performed in three species of lizards (*Lacerta trilineata*, *Laudakia caucasicus*, *Eumeces schneideri*) and nine species of snakes (*Natrix natrix*, *N. tessellata*, *Coluber ravergieri*, *C. najadum*, *C. schmidtii*, *Elaphe hohenerkeri*, *El. quaterlineata*, *Eirenis collaris*, *E. punctatolineatus*) living in Armenia. The inter-genus and inter-order relatedness structure is found between the snakes and lizards. For instance, the closest genera in lizards were *Laudakia* and *Eumeces*, and in snake — *Natrix* and *Coluber* and also *Coluber* and *Eirenis*. The genera *Natrix* and *Eirenis* were found to be most remote from each other. As a whole, similarity in structure of protein molecules of hemoglobins is found in evolutionary process of the vertebrates.

ВВЕДЕНИЕ. Современная систематика характеризуется, с одной стороны анализом, морфометрических признаков, с другой стороны, развитием и внедрением таких методов, как: хромосомного (хариологический анализ), гибридологического (естественная и искусственная гибридизация), биохимического (электрофоретическое разделение белков и ферментов и определение их аминокислотной последовательности), иммунологических и молекулярных (гибридизация ДНК *in situ*, анализ рибосомальной и митохондриальной РНК, ядерной ДНК) [1, 5, 7, 8, 10, 15].

В систематике пресмыкающихся в течение последних 30 лет успешно используются методы электрофоретического разделения белков и ферментов в гелевых системах [11, 20], изоферментный анализ [17, 26], определение аминокислотной последовательности белков, иммунологический анализ [12, 19] для выявления родственных взаимосвязей между видами, их эволюции и филогении.

Поскольку у изученных к настоящему времени групп организмов 70% белковых (ферментных) систем мономорфны и, зачастую, видоспецифичны, биохимические исследования таких систем стали особо перспективными в систематике животных [5].

С другой стороны, существует ряд белков, эволюционно обладающих высококонсервативной структурой (альбумины, гемоглобины, актин). Изучение таких белков в свою очередь позволяет судить о систематических взаимосвязях между таксонами.

В настоящее время существует несколько биохимических приемов, используемых в исследованиях, посвященных систематике животных. Один из них — электрофоретический анализ белков, в частности, белков плазмы крови различных видов животных. Он позволяет судить о таксономической близости тех или иных видов. При электрофоретическом разделении белков выявляются 4 основные фракции — альбумины, α -, β - и γ -глобулины, которые эволюционно консервативны у позвоночных животных. Их подфракции же могут варьировать у различных видов.

В качестве другого приема для сравнения консервативных белков может служить их протеолиз специфическими протеазами и анализ полученных пептидных фрагментов у ряда таксонов.

Иммунологический анализ одного и того же белка у различных видов животных дает возможность выявить близкородственные взаимоотношения между этими видами.

Ряд белков плазмы крови является гликопротеинами. Известно, что гликозилирование является одним из способов повышения устойчивости белков к протеолизу и, таким образом, к увеличению времени их жизни [20]. В этом смысле представляет интерес сравнение гликопротеинов у теплокровных (млекопитающие) и холоднокровных (рептилии) животных.

Большинство биохимических исследований проведено на тропических видах как ящериц семейств *Agamidae*, *Iguanidae*, *Teiidae*, так и змей семейств *Colubridae*, *Viperidae* и *Elaphidae* [15, 17, 19]. И лишь немногочисленные сведения имеются по систематике и филогении скальных и лесных ящериц семейства *Lacertidae* и змей родов *Natrix*, *Coluber* и *Vipera* [22, 23].

В связи с этим задачей данной работы послужило проведение сравнительного анализа ряда белков плазмы крови у видов рептилий Армении с привлечением вышеописанных приемов, а также выяснение таксономических взаимоотношений между представителями подотрядов ящериц и змей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА. Материал был собран на территории Армении в течение 1999-2000 гг. Белки анализировали у трех ящериц *Lacerta trilineata* Bedriaga (сем. *Lacertidae*), *Laudakia caucasica* Eichwald (сем. *Laudakia*), *Eumeces schneideri* Daudin (сем. *Scincidae*) и восьми видов змей семейства *Colubridae*: *Natrix natrix* Linnaeus, *N. tessellata* Laurenti, *Coluber ravergeri* Menetries, *C. najadum* Eichwald, *C. schmidtii* Linnaeus, *Elaphe hohenerkeri* Strauch, *El. quaterlineata* Lacepede, *Eirenis collaris* Menetries, *E. punctatolineatus* Boettger (табл. 1).

Таблица 1. Материал, использованный в работе

Вид	Популяции (место отлова)	N
<i>Lacerta trilineata</i>	Гарни, окр. Азатского водохранилища	2
<i>Laudakia caucasica</i>	Джрвеж	3
<i>Eumeces schneideri</i>	Окрестности города Еревана	3
<i>Natrix natrix</i>	Анкаван, ущелье реки Мармарик	2
<i>Natrix tessellata</i>	Анкаван, ущелье реки Мармарик	3
<i>Coluber ravergeri</i>	Джрвеж	2
<i>Coluber najadum</i>	Мегри	1
<i>Coluber schmidtii</i>	Джрвеж	2
<i>Elaphe hohenerkeri</i>	Хосровский заповедник	1
<i>Elaphe quaterlineata</i>	Абовян, окр. г. Адиш	1
<i>Eirenis collaris</i>	Гукасянский район	4
<i>Eirenis punctatolineata</i>	Гукасянский район	4

Электрофоретическое разделение белков крови проводили в неденатурирующих условиях 8% полиакриламидном геле (ПААГ) [9]. Фиксирование и окрашивание гелей проводили методами [25]. Гликопротеины плазмы изолировали методом колоночной гель-фильтрации на колонках с конквалин А-сефарозой в качестве носителя [14]. Гликопротеины выявляли окрашиванием гелей по методу [27].

По каждому опыту анализировали до трех гелей. Относительную электрофоретическую подвижность белковых фракций плазмы вычисляли отношением расстояния, пройденного белком, к расстоянию, пройденному красителем. Расстояния, пройденные красителем и белком на геле, измеряли в миллиметрах. За основу брали среднюю арифметическую величин электрофоретической подвижности по каждой белковой полосе.

Гемоглобины ящериц и змей получали гемолизом эритроцитов с последующей очисткой на колонках с КМ-целлюлозой. "Мягкий" протеолиз гемоглобинов осуществляли трипсином (10 мг/мл в 0,2M трисовом буфере pH=7,8, содержащем 0,01M CaCl₂). Инкубацию гемоглобинов с трипсином проводили сутки при температуре 37°C [3]. Протеолиз останавливали замораживанием проб. Анализ полученных пептидных фрагментов гемоглобинов проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на силикагелевых пластинках. В качестве элюирующего раствора использовали систему растворителей (н-бутанол : ледяная уксусная кислота : вода) [2]. Хроматографию проводили дважды для лучшего разделения фрагментов. Пластины высушивали при 80°C и окрашивали 0,25% нингидрином в растворе (пропанол : ледяная уксусная кислота : вода). Полученные пептидные фрагменты характеризовали величиной R_f (отношение пути, пройденного пробой, к пути, пройденному растворителем).

Антигела к плазме водяного ужа (*Natrix tessellata*) получали иммунизацией крыс по следующей схеме: а) иммунизация подкожно плазмой с полным адьювантом Фрейнда (ПАФ), (концентрация белка — 50 мг/мл); б) повторная иммунизация через месяц, подкожно плазмой с неполным адьювантом Фрейнда (НАФ) (концентрация белка — 100 мг/мл); в) последняя внутримышечная иммунизация, через неделю, плазмой, разведенной физиологическим раствором (концентрация белка — 400 мг/мл).

Для гемоглобинов иммунизацию проводили аналогичным образом. Титр АТ определяли методом иммунодиффузии в агаровом геле [6]. Специфичность АТ к конкретному белку выявляли методом иммуноэлектрофореза [6].

Концентрацию белков определяли биуретовой реакцией [24]. Концентрацию гемоглобинов определяли по поглощению при длине волны 530 и E1%/1cm = 8,0 [4]. Концентрацию АТ определяли по поглощению при длине волны 280, и E1%/1cm = 14,5 [3]. Спектрофотометрию белковых препаратов проводили на приборе "Hitachi 150-40" (Япония). В работе использовали реактивы фирм: "Sigma" (США), "Whatman" (Англия), "Reanal" (Венгрия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ белков плазмы крови. Сравнительному анализу на белковый состав подвергли плазмы трех видов ящериц (*Laudakia caucasica*, *Lacerta media*, *Eumeces schneideri*) семейств: *Laudakia*, *Lacerta*, *Scincidae* и девяти видов змей (*Natrix natrix*, *N. tessellata*, *Coluber ravergeri*, *C. najadum*, *C. schmidtii*, *Eirenis collaris*, *E. punctatolineatus*, *Elaphe hohenerkeri*, *El. quaterlineata*) семейства *Colubridae*.

Электрофорез белков плазм крови ящериц и змей выявил 4 фракции — альбумины, α -, β - и γ -глобулины. Эти фракции в свою очередь подразделяются на подфракции. По сходству числа белковых полос нескольких видов одного рода судили о роде. Данные по электрофоретической подвижности белков представлены в табл. 2.

Таблица 2. Относительная электрофоретическая подвижность белковых фракций плазм крови животных

Род	Пред-альбу-мины	Альбу-мины	Глобулины											
			α				β			γ				
			-1	-2	-3	-4	-1	-2	-3	-1	-2	-3	-4	
<i>Lacerta</i>	-	0,77	0,66	0,63	0,60	-	0,40	0,37	0,34	0,14	0,11	0,09	0,06	
<i>Laudakia</i>	-	0,77	0,66	0,63	0,60	0,57	0,37	0,34	-	0,14	0,11	0,09	-	
<i>Eumeces</i>	-	0,77	0,66	0,63	0,60	0,57	0,40	0,37	0,34	0,14	0,11	0,09	-	
<i>Natrix</i>	-	0,77	0,66	0,63	0,60	-	0,40	0,37	0,34	0,20	0,14	0,11	0,06	
<i>Coluber</i>	0,86	0,77	0,66	0,63	0,60	-	0,40	0,37	0,34	0,14	0,11	0,06	-	
<i>Elaphe</i>	-	0,77	0,66	0,63	0,60	0,57	0,37	0,34	-	0,20	0,14	0,11	-	
<i>Eirenis</i>	-	0,77	0,66	0,63	0,60	-	0,37	0,34	-	0,20	0,14	0,11	-	
Человек (наши данные)	0,86	0,77	0,66	0,60	-	-	0,37	-	-	0,20	-	-	-	

Проведенный сравнительный анализ белковых фракций плазм у ящериц показал:

- роды *Laudakia* и *Eumeces* по α - и γ -подфракциям проявили идентичность;
- роды *Lacerta* и *Eumeces* оказались близки только по β -глобулиновым подфракциям.

У змей:

- обнаружена предальбуминовая подфракция у представителей рода *Coluber*;
- наиболее близкими по белковым подфракциям оказались роды *Coluber* и *Natrix* — α - и β -глобулиновые подфракции идентичны;
- выявлено сходство по белковому составу плазм между представителями родов *Elaphe* и *Eirenis* только по β - и γ -глобулиновым подфракциям;
- роды *Natrix* и *Eirenis* проявили идентичность только по α -глобулиновым подфракциям.

Анализ гликопротеинов плазм крови. Гликопротеины плазм рептилий исследовали следующим образом: методом колоночной гель-хроматографии на конквалин А-сепарозе изолировали фракцию гликопротеинов и провели их электрофоретическое разделение с последующим специфическим окрашиванием на углеводы. Анализ гликопротеинов плазм проводили путем сравнения относительной электрофоретической подвижности белковых полос в геле по каждому виду (табл. 3).

Таблица 3. Относительная электрофоретическая подвижность гликопротеинов во фракциях плазм крови животных

Род	Пред-альбу-мины	Альбу-мины	Глобулины											
			α				β			γ				
			-1	-2	-3	-4	-1	-2	-3	-1	-2	-3	-4	-5
<i>Lacerta</i>	-	0,69	0,63	0,53	0,50	0,48	0,31	0,28	0,25	0,16	0,13	0,09	-	-
<i>Eumeces</i>	-	0,69	0,63	0,53	0,50	0,48	0,31	0,28	0,25	0,16	0,13	0,09	-	-
<i>Natrix</i>	-	0,69	0,63	-	0,50	-	0,31	0,27	-	0,16	0,13	0,09	0,06	-
<i>Coluber</i>	0,73	0,69	0,63	-	0,50	-	0,31	0,28	0,27	0,16	0,13	0,09	0,06	-
<i>Elaphe</i>	-	0,69	-	0,53	0,50	-	0,31	0,28	-	0,16	-	0,09	-	-
<i>Eirenis</i>	-	0,69	-	0,53	0,50	-	0,31	0,28	-	0,16	-	0,09	0,06	-
Человек (наши данные)	0,73	0,69	0,63	0,53	0,50	-	0,31	0,28	0,27	0,16	0,13	0,11	-	0,08

По сходству числа белковых полос нескольких видов одного рода судили о роде. Сравнение гликопротеинов у ящериц двух родов (*Lacerta media* и *Eumeces schneideri*) семейств *Lacertidae* и *Scincidae* выявило:

- присутствие этих белков во всех основных фракциях плазмы крови исследованных ящериц (табл. 3);
- белковыми фракциями, обогащенными гликопротеидами, у ящериц оказались α -, β - и γ -глобулиновые;
- у представителей обоих родов количество гликопротеинов в альбуминовых и глобулиновых фракциях крови оказалось сходным;
- при сравнении белковых фракций млекопитающих с таковыми ящериц идентичность с ними по гликопротеинному составу подфракций оказалась высокая по γ -глобулинам и несколько ниже по α - и β -глобулинам.

При сравнении гликопротеинов среди представителей трех родов (*Natrix*, *Coluber*, *Eirenis*) семейства *Colubridae* у змей было показано:

- присутствие этих белков во всех тех же фракциях, что и у ящериц;

- 2) наиболее обогащенными гликопротеинами оказались фракции альбуминов, α - и γ -глобулинов;
- 3) межродовое сравнение данных белков у змей выявило наибольшую близость между родами *Natrix* и *Coluber*, а также *Elaphe* и *Eirenis* по наличию гликопротеинов в основных белковых фракциях плазмы;
- 4) некоторое сходство по наличию гликопротеинов в плазме оказалось у родов *Natrix* и *Eirenis*, и у родов *Coluber* и *Eirenis*;
- 5) идентичность между змеями и ящерицами по гликопротеинному составу проявилась в основном по γ -глобулинам;
- 6) при сравнении змей с млекопитающими, у которых наиболее обогащенными гликопротеинами фракциями являются α -, β - и γ -глобулиновые наибольшее сходство выявлено по γ -глобулинам.

Анализ протеолитических фрагментов гемоглобинов. Гемоглобины выделяли у двух видов ящериц — *Lacerta media* и *Eumeces schneideri* (сем. *Lacertidae*, *Scincidae*) и четырех видов змей — *Natrix tessellata*, *Coluber ravergeri*, *C. najadum*, *Eirenis punctatolineatus* (сем. *Colubridae*). По каждому виду животного получены пептидные "пятна" (фрагменты). Данные о подвижностях полученных фрагментов представлены в табл. 4.

Таблица 4. Относительная подвижность протеолитических фрагментов гемоглобинов животных расщепленных трипсином

Вид	Rf фрагментов														
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
<i>Lacerta trilineata</i>	0,14	0,17	0,26	0,38	0,45	0,48	0,62	0,66	0,72	0,73	0,89	-	-	-	-
<i>Eumeces schneideri</i>	0,14	0,17	0,31	0,37	0,50	0,54	0,59	0,62	0,66	0,72	-	-	-	-	-
<i>Natrix tessellata</i>	0,14	0,21	0,26	0,38	0,50	0,52	0,58	0,66	0,72	0,73	0,80	0,86	-	-	-
<i>Coluber najadum</i>	0,10	0,19	0,28	0,38	0,44	0,49	0,55	0,59	0,62	0,73	0,76	0,84	0,86	-	-
<i>Eirenis punctatolineatus</i>	0,14	0,21	0,28	0,34	0,41	0,47	0,51	0,55	0,61	0,66	0,72	0,76	0,83	0,85	0,89

Примечание: Rf — отношение длины пути, пройденного растворителем, к длине пути, пройденного пробой.

Методом тонкослойной хроматографии протеолитических фрагментов выявили следующие особенности:

- 1) у каждого вида ящериц в основном в результате протеолиза образуется 11 пептидных фрагментов;
- 2) среди ящериц — роды *Lacerta* и *Eumeces* обладают 8 идентичными фрагментами из 11;
- 3) в подотряде змей у видов *Natrix tessellata* и *Coluber najadum* образуется в основном 13, а у вида *Eirenis punctatolineatus* — 15 фрагментов;
- 4) роды *Coluber* и *Eirenis* обладают 9 сходными фрагментами из 15; при межродовом сравнении *Natrix* и *Coluber* идентичными оказываются 7 фрагментов из 12;
- 5) более далекими можно считать роды *Natrix* и *Eirenis* — 7 сходных фрагментов из 12.

Иммунологический анализ. Протестировано 2 вида ящериц — *Laudakia caucasica* (сем. *Laudakia*) и *Eumeces shneideri* (сем. *Eumeces*), а также 8 видов змей — *Natrix natrix*, *N. tessellata*, *Coluber ravergeri*, *C. najadum*, *C. schmidtii*, *Elaphe hohenskeri*, *Eirenis collaris*, *E. punctatolineatus* (сем. *Coluber*).

Иммунизацию проводили гемоглобином и плазмой *Natrix tessellata*. Полученные антитела (АТ) тестировали с плазмами остальных 7 видов змей и 2 видов ящериц.

Было показано, что при иммунизации плазмой *N. tessellata* по вышеуказанной схеме образуются антитела к β - и γ -глобулинам, причем они перекрестно реагируют с плазмами видов *Coluber ravergeri*, *C. schmidtii*, *Elaphe hohenskeri*. Кроме того, у вида *Elaphe hohenskeri* идет кросс-реакция только с β -глобулином, а у видов *Coluber ravergeri* и *C. schmidtii* с β - и γ -глобулинами. Это свидетельствует о филогенетической близости родов *Natrix* и *Coluber*.

У двух видов *Eirenis collaris* и *E. punctatolineatus* кросс-реакций с АТ *Natrix tessellata* не наблюдается, что указывает на различие родов *Natrix* и *Eirenis*.

Внутри подотряда змей наиболее близкими оказались роды: *Natrix* и *Coluber*, а также *Natrix* и *Elaphe*, а наиболее далекими — *Natrix* и *Eirenis*. Между плазмами ящериц и АТ змей кросс-реакция также не наблюдается, что свидетельствует о различии их β - и γ -глобулинов. Антитела к гемоглобину получить не удалось, что может указывать на высокую степень гомологичности этих белков у млекопитающих и рептилий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В результате проведения электрофоретического разделения белков, протеолитического расщепления гемоглобинов и иммунологического анализа ряда белков крови 12 видов пресмыкающихся можно заключить:

- Внутри подотряда ящериц (*Sauria*) наиболее филогенетически близкими по исследованным биохимическим характеристикам оказались агамы (*Laudakia*) и сцинки (*Eumeces*).
- Среди змей сем. *Colubridae* филогенетически близкими можно считать роды ужей (*Natrix*) и стропных полозов (*Coluber*) по четырем биохимическим характеристикам.

- Роды стройных полозов (*Coluber*) и малых полозов (*Eirenis*) показали идентичность по двум биохимическим характеристикам.
- Самыми филогенетически отдаленными среди змей можно считать роды ужей (*Natrix*) и малых полозов (*Eirenis*). Они различались по всем четырем биохимическим характеристикам.
- У пресмыкающихся по сравнению с млекопитающими происходит заметное обогащение гликопротеинами α -, β - и γ -глобулиновых фракций. Предположительно наличие большого количества гликозилированных белков может быть связано с холоднокровностью рептилий.
- Выявлена высокая степень гомологичности гемоглобинов у рептилий и млекопитающих, исходя из данных иммунологии. Мы предполагаем, что это может быть связано с большим сходством в аминокислотной последовательности этих белков у холоднокровных и теплокровных животных.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Гилева Э. Хромосомная изменчивость и эволюция. М.: Наука, 1990, 450 с.
- [2] Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. М.: Мир, 1991, 384 с.
- [3] Кэпелли Д. Антигены. Методы, т. 2. М.: Мир, 1991, 384 с.
- [4] Нейрат Г., Бейли К. Белки, т. 3. М.: Мир, 1959, 704 с.
- [5] Стегний В. Архитектоника генома, системные мутации и эволюция. Новосибирск: Наука, 1993.
- [6] Фримель Г. Иммунологические методы. М.: Медицина, 1987.
- [7] Butth D., Murphy R., Miyamoto M., Lieb C. Creatine kinases of amphibians and reptiles: evolutionary and systematic aspects of gene expression. — Copeia, 1985, p. 279-284.
- [8] Cadle J., Dessauer H., Gans C., Gartside D. Phylogenetic relationships and molecular evolution in uropeltid snake (Serpents): allozymes and albumin immunology. — Biological J. of the Linn. Soc., 1990, v. 40, p. 293-320.
- [9] Davis B. Method and application to human serum proteins. — Ann. NY. Acad. Sci., 1964, v. 121, p. 404-427.
- [10] Dessauer H., Cole C. Influence of gene dosage on electrophoretic phenotypes of proteins from lizards of the genus *Cnemidophorus*. // Comp. Biochem. Physiol., 1984, v. 77B, p. 181-189.
- [11] Gorman G., Shochat D. A taxonomic interpretation of chromosomal and electrophoretic data on the agamid lizards of Israel. — Herpetologica, 1972, v. 18, p. 106-112.
- [12] Joger U., Herrman and Nilson G. Molecular phylogeny and systematics of viperine snakes. — Proc. of 6th Ord. Gen. Meet of Soc. Europ. Herp., 1991, p. 239-244.
- [13] Joger U., Lenk P., Baran I., Hedrich P., Wink M. The phylogenetic position of *V. barani* and *V. nikolskii* within the *V. berus* complex. — Proc. of 8th Ord. Gen. Meet of Soc. Europ. Herp., 1995, p. 23-27.
- [14] Kenneth O., Lloyd N. The preparation of 2 insoluble forms of the phytohemagglutinin concanavalin A, and their interactions with polysaccharides and glycoproteins. — Archive of Biochem. and Biophys., 1970, v.137, 2, p.460-468.
- [15] King A., Mindell D. On the phylogenetic relationship of *Colubridae*, *Elaphidae* and *Viperidae* and the evolution of front-tanged venom systems in snakes. — Copeia, 1994, N1, p. 1-9.
- [16] Lawson R., Dessauer H. Electrophoretic evaluation of the colubrid genus *Elaphe*. — Isozyme Bulletin, 1981, v.14, p.83.
- [17] Lawson L. Molecular systematic of some Old World natricinae snakes. — Proc. of 3th Ord. Gen. Meet of Soc. Europ. Herp., 1985, p. 33-39.
- [18] Lopez T., Maxson L. Mitochondrial DNA sequences variation and genetic differentiation among colubrine snakes. — Biochem. Syst. Ecol., 1995, v. 23, p. 487-505.
- [19] Lopez T., Maxson L. Albumin and mitochondrial DNA evolution. Phylogenetic implication for colubrine snakes (*Colubridae*). — Amphibia-Reptilia, 1996, v. 17, p. 247-259.
- [20] Marshall W., Porath J. The structure of glycoproteins. — J. B. Chem., 1965, v. 240, N1, p. 209-213.
- [21] Martins M. Allozyme variation and expression in lizards of the *Tropidurus* maine species group (*Iguanida*, *Tropiduridae*). — Copeia, 1995, N3, p. 665-676.
- [22] Ross D., MacCulloch, Fu J., Darevsky I., Danielyan F., Murphy R. Allozyme variation in three closely related species of Caucasian rock lizards (*Lacerta*). — Amphibia-Reptilia, 1995, v. 16, p. 331-340.
- [23] Ross D., MacCulloch, Fu J., Darevsky I., Murphy R. Genetic evidence for species status of some Caucasian rock lizards in the *Darevskia saxicola* group. — Amphibia-Reptilia, 2000, v. 21, p. 169-176.
- [24] Peterson G. 1983. Determination of total protein. — Methods Enzymol., v. 91, Pt. 1, p. 95-119.
- [25] Wilson C. Staining of proteins on gels. Comparison of dyes and procedures. — Methods Enzymol., 1983, v.91, Pt.1, p.236-247.
- [26] Xiao X., Kewen Z., Haij G. Comparison investigation of isozyme LDG in tissues of lizards *Eremias aigus* and *E. brenchieyl*. — Dongbeiliang daxue xuebao, 1994, v. 22, N5, p. 105-109.
- [27] Zacharius R. Glycoprotein staining following electrophoresis on acrylamide gels. — Anal. Biochem., 1969, v. 30, p. 148.

ФЕНОЛОГИЧЕСКОЕ РАСПОЗНАВАНИЕ ОСОБЕЙ ЯЩЕРИЦ — ПЕРСИДСКИХ КРУГЛОГОЛОВОК (*Phrynocephalus persicus* De Filippi 1863, *Reptilia*, *Sauria*, *Agamidae*)

Тадевосян Т.

Институт ботаники НАН РА

Ввиду ряда отрицательных воздействий, оказываемых на мелких ящериц традиционными методами идентификации особей, предложена комплексная методика фенологической идентификации особей для исчезающего вида *Phrynocephalus persicus*. Методика основана на сопоставлении результатов сравнения ряда выделенных элементов (сегментов) узора, по признакам их выраженности, окраски и фоллидоза чешуек, а также пола и изменяющихся морфологических параметров особей. К работе приложена форма идентификационной анкеты особи.

Թադեւոսյան Տ., Արտաքերտաբանական ուղղի պարսկական կորագլուխ մողեսների (*Phrynocephalus persicus* de Filippi 1863, *Reptilia*, *Sauria*, *Agamidae*) անհատական ճանաչման համար: Ընդունելով ներկայումս լայն տարածված տղամեծների անհատական ճանաչման ֆիզիկական և քիմիական եղանակների քաղաքական ազդեցությունը կենդանիների կենսամակրոբյան վրա՝ առաջարկվում է անհատական ճանաչման արտաքերտաբանական եղանակ՝ վերացող մողեսների տեսակի համար: Եղանակը հիմնվում է մողեսների մաշկային մաշկերի մի շարք բնորոշ մասերի արտաքերտաբանական աստիճանի, գունավորման և քիմիական դասավորվածության համեմատության վրա, ինչպես նաև սեռական հատկանիշների և չափերի ու կշռի վրա: Հղվածին կցվում է անհատական ճանաչման քանակի օրինակ:

Tadevosyan T. The phenological identification of Persian sun-watcher lizards (*Phrynocephalus persicus* de Filippi 1863, *Reptilia*, *Sauria*, *Agamidae*). Taking into account the adverse effect of traditional physical and chemical methods of individual identification of reptiles, it is proposed to use the method of phenological identification of