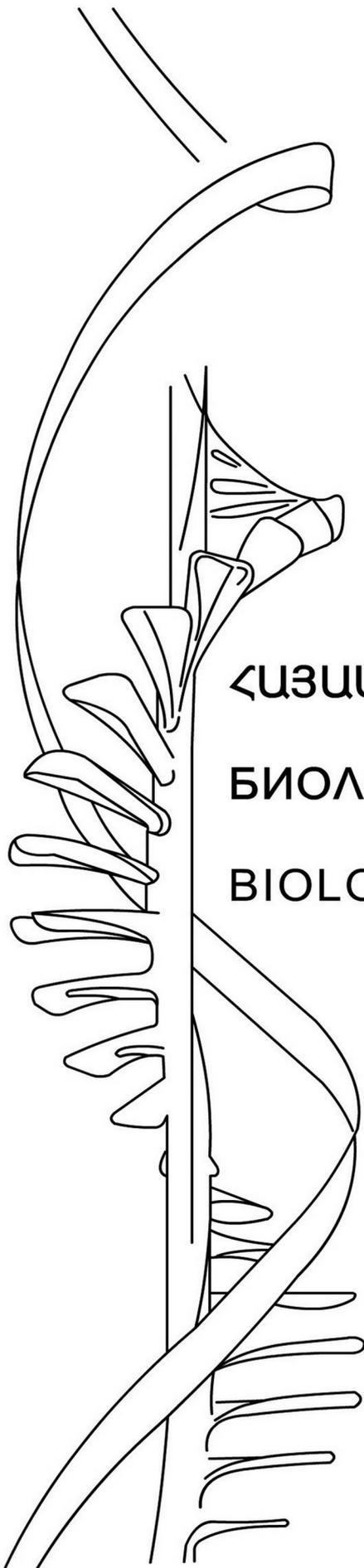


ISSN 0366-5119

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ  
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ  
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF ARMENIA



ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ  
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ  
BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

2009

Լույս է տեսնում 1948 թվականից, հոդվածները հրատարակվում են հայերեն,  
ռուսերեն կամ անգլերեն լեզուներով  
Выходит с 1948 года, статьи публикуются на армянском, русском  
или английском языках  
Journal is published since 1948, the articles are published in Armenian,  
Russian or English

---

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԿՈՒԼԵԳԻԱ

Է.Ս. Գևորգյան (*գլխավոր խմբագիր*), Ռ.Մ. Հարությունյան (*գլխավոր խմբագրի տեղակալ*), Ա.Ս. Բոյաժյան (*գլխավոր խմբագրի տեղակալ*),  
Ա.Հ. Եսայան (*պատասխանատու քարտուղար*), Գ.Ա. Գևորգյան, Ա.Հ. Թոչունյան,  
Ռ.Հ. Հովհաննիսյան, Լ.Ռ. Մանվելյան, Ս.Խ. Մայրապետյան, Ժ.Հ. Վարդանյան.

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԽՈՐՀՈՒԲԴ

Յու.Թ. Ալեքսանյան, Ծ.Մ. Ավագյան, Է.Գ. Աֆրիկյան, Է.Ց. Գարրիելյան,  
Ա.Ա. Գալոյան, Ս.Ա. Դավթյան, Ժ.Ի. Հակոբյան, Վ.Պ. Հակոբյան, Վ.Գ. Ղարաբյոբյան,  
Ս.Հ. Մովսիսյան, Վ.Ս. Պողոսյան, Գ.Հ. Փանոսյան, Լ.Լ. Օսիպյան.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Յ.Ս. Գևորգյան (*главный редактор*), Ր.Մ. Արությունյան (*заместитель главного редактора*), Ա.Ս. Բոյաժյան (*заместитель главного редактора*),  
Ա.Գ. Եսայան (*ответственный секретарь*), Ջ.Ա. Վարդանյան, Գ.Ա. Գևորգյան,  
Տ.Խ. Մայրապետյան, Լ.Ր. Մանվելյան, Ր.Օ. Օգանեսյան, Ա.Ա. Թրչունյան

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Ս.Մ. Ավակյան, Վ.Ս. Ակոբյան, Ջ.Ի. Ակոբյան, Յու.Տ. Ալեքսանյան, Յ.Գ. Աֆրիկյան,  
Յ.Ս. Գևորգյան, Ա.Ա. Գալոյան, Մ.Ա. Դավթյան, Կ.Գ. Կարաբոյոբյան, Ս.Օ. Մովսեսյան,  
Լ.Լ. Օսիպյան, Գ.Ա. Փանոսյան, Կ.Ս. Սոսոյան.

THE EDITORIAL BOARD

*Editor in chief:* E.S. Gevorgyan, *Vice-editors:* R.M. Aroutiunian, A.S. Boyadjyan,  
*Secretary-in-charge:* A.H. Yesayan, *Members of the Board:* G.A. Gevorgyan,  
R.H. Hovanesyan, L.R. Manvelyan, S.Kh. Mayrapetyan, A.H. Trchunyan,  
Zh.H. Vardanyan.

THE EDITORIAL COUNCIL

E.G. Afrikyan, Yu.T. Aleksanyan, Ts.M. Avakyan, M.A. Davtyan, E.Ts. Gabrielyan,  
A.A. Galoyan, V.P. Hakobyan, Zh.I. Hakobyan, K.G. Karagiozyan, S.H. Movsesyan,  
L.L. Osipyanyan, G.H. Panosyan, K.S. Poghosyan.

**ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ**

**• Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •**

*Գրիգորյան Ս.Լ., Մկրտչյան Ա.Ռ., Սարգսյան Մ.Ա.* Անասնապահության մեջ կիրառվող որոշ կենսախթանիչների համեմատական արդյունավետությունը.....6

*Կալանդաձե Բ., Հանասուեր Տ., Ֆելիքս-Չենինգսեն Պ., Ուրուշաձե Տ., Նարինանիձե Է., Շտեֆենս Դ.Դ.* Լեռնա-հանքային արդյունաբերական և գյուղատնտեսական գործունեությունը Մաշարովա դաշտավայրում (Հարավ-արևմտյան Վրաստան)՝ հողօգտագործման վերաբերյալ ընդհարումներ լուրջ հետևանքներով.....10

*Խաչատրյան Հ.Է.* Ագրոֆիզիկական մեթոդների կիրառման ազդեցությունը տեխնածին աղտոտված հողերի կենսաբանական ակտիվության վրա .....16

*Վարդանանյան Պ.Հ., Անտոնյան Ա.Պ., Փարսադանյան Մ.Ա., Կարապետյան Ռ.Ա., Շահինյան Մ.Ա.* Տարբեր GC-պարունակությամբ ԴԼԹ-ի հետ էԲ-ի և *Hoechst 33258 C* կապման առանձնահատկությունները.....21

*Եսայան Ա.Հ., Գրիգորյան Կ.Վ., Հովհաննիսյան Ն.Ա.* Գենետիկորեն վերափոխված բույսերի որոշումը ՊՇՌ-ի մեթոդի կիրառմամբ .....27

*Սեֆերյան Թ.Ե., Էրակյան Վ.Լ.* Ավտոմատացված բազմուղի իոնոմետրային համակարգ.....34

*Թումանյան Վ.Հ., Կովալ Բ.Ն., Հակոբյան Ն.Է.* Տարբեր կենսաբանական նշանակություն ունեցող ձայնային գրգռիչով պայմանավորված հիպոկամպի նեյրոնների ակտիվությունը .....40

*Յավրույան Բ.Գ., Հարությունյան Մ.Կ., Սիմոնյան Ս.Ա., Հայրապետյան Վ.Տ.* Հարավային պայտաքթի - *Rhinolophus euryale* տարածվածությունը Կովկասում և կենսաբանական գնահատականը.....45

*Ավագյան Ա.Ա. Neomys fudiens* -ի էկոլոգիան և տարածվածությունը Հայաստանում..... 49

*Խաչատրյան Տ.Ս., Թովուզյան Վ.Օ., Կարապետյան Բ.Ռ., Հարությունյան Է.Յու., Կիպրիան Տ. Կ.* N-(N-մետոքսիբենզոիլ)- DL-ֆենիլալանինի յոդմեթիլատ 2- (դիմեթիլամինո) էթիլային եթերի փոքր դոզաների ազդեցությունը առնետի ողնուղեղի առանձին մոտոնեյրոնների հարուցված էլեկտրական ակտիվության վրա ողնուղեղի լաթերալ հեմիսեկցիայի դեպքում..... 53

*Եղոյան Ռ.Հ., Եղոյան Լ.Վ.* Բուսական ռեսուրսների օգտագործումը գյուղատնտեսության ինտենսիվացման և բժշկության մեջ Հայաստանում գետնախնձորի օրինակով.....57

*Թաքզոզյան Ա.Գ.* Երկֆերմենտային շղթայի համակարգչային մոդելավորումը ոչ մրցակցային ինհիբիտորի մասնակցությամբ և ֆերմենտների կոմպլեքսային փոփոխության առկայության և բացակայության պայմաններում.....63

**( Համառոտ հաղորդումներ )**

*Ջանգինյան Հ.Վ., Ասատրյան Ա.Ս., Տերենինա Ն.Բ.* Սերոտոնինի մակարդակը առնետների գլխուղեղի տարբեր հատվածներում փորձարարական տրիփինեյրոլի ժամանակ.....70

*Հարությունյան Ռ.Ա., Նահապետյան Խ.Հ., Մարտիրոսյան Ս.Շ.* Պլատիֆիլինի ազդեցությունը առնետների ջերմակարգավորման մեխանիզմների վրա.....73

*Նաղաշյան Հ.Ձ., Գրիգորյան Լ.Հ.* Ճագարների սարկոպտոզի կլինիկական արտահայտվածությունը.....76

*Մխիթարյան Մ.Ա.* Արյունաբանական ցուցանիշների փոփոխությունները խոշոր եղջերավոր անասունների հիպոդերմատոզի կանխարգելման նոր եղանակի կիրառման ժամանակ.....79

## СОДЕРЖАНИЕ

## • Экспериментальные и теоретические статьи •

<i>Григорян С. Л., Мкртчян А. Р., Саркисян М. А.</i> Сравнительная эффективность некоторых биостимуляторов, применяемых в животноводстве.....	6
<i>Б. Каландадзе, Т. Ханауер, П. Феликс-Хенингсен, Т. Урушадзе, Э. Нариманидзе, Д. Д. Штефенс</i> Горно-добывающая промышленность и сельское хозяйство в долине Машавера (юго-восточная Грузия) – конфликт использования земли с серьезными последствиями .....	10
<i>Хачатрян Г. Э.</i> Влияние применения агрофизических методов на биологическую активность техногенно загрязненных почв .....	16
<i>Вардеванян П. О., Антонян А. П., Парсаданян М. А., Карапетян Р. А., Шагинян М. А.</i> Особенности связывания EtBr и Hoechst 33258 с ДНК различного GC- содержания.....	21
<i>Есаян А. Г., Григорян К. В., Ованнисян Н. А.</i> Определение генетически модифицированных растений методом ПЦР.....	27
<i>Сеферян Т. Е., Элбакян В. Л.</i> Автоматизированная многоканальная ионометрическая система.....	34
<i>Туманян В. А., Коваль И. Н., Акопян Н. Э.</i> Нейронная активность гиппокампа, обусловленная различной биологической значимостью звукового раздражителя.....	40
<i>Явруян Э. Г., Арутюнян М. К., Симонян С. А., Айрапетян В. Т.</i> Распространение и биологическая оценка южного подковоноса <i>Rhinolophus euryale</i> на Кавказе.....	45
<i>Авагян А. А.</i> Экология и распространение землеройки (куторы) в Армении.....	49
<i>Хачатрян Т. С., Топузьян В. О., Карапетян И. Р., Арутюнян Э. Ю., Киприян Т. К.</i> Эффекты малых доз йодметилата 2 – (диметиламино) этилового эфира N-(p-метоксибензоил)-DL- фенил-аланина на вызванную электрическую активность одиночных мотонейронов спинного мозга крыс при латеральной гемисекции спинного мозга.....	53
<i>Едоян Р. А., Едоян Л. В.</i> Использование растительных ресурсов в медицине и интенсификации сельского хозяйства на примере топинамбура в условиях Армении.....	57
<i>Такгезян А. Г.</i> Компьютерное моделирование двухферментной цепи в присутствии и в отсутствие комплексного взаимодействия ферментов и в присутствии неконкурентного ингибитора.....	63
<b>• Краткие сообщения •</b>	
<i>Зангинян А. В., Асатрян А. М., Теренина Н. Б.</i> Уровень серотонина в различных отделах головного мозга крыс при экспериментальном трихинеллезе.....	70
<i>Арутюнян Р. А., Нагапетян Х. О., Мартиросян С. Ш.</i> Влияние платифилина на терморегуляторные механизмы крыс.....	73
<i>Нагашян О. З., Григорян Л. Г.</i> Клиническое проявление саркоптоза кроликов.....	76
<i>Мхитарян М. А.</i> Изменения гематологических показателей при использовании нового метода профилактики гиподерматоза крупного рогатого скота.....	79

## CONTENTS

### • Experimental and Theoretical articles •

<i>Grigoryan S.L., Mkrtychyan A.R., Sargsyan M.A.</i> Comparative effectivity of some biopreparation, applied in animal husbandry.....	6
<i>Kalandadze B., Hanauer T., Felix-Henningsen P., Urushadze T., Narimanidze E., Steffens D.</i> Mining and agriculture in the Mashavera valley (South-eastern Georgia) – A land use conflict with severe consequences .....	10
<i>Khachatryan H.</i> The influence of using agrophysical methods on the biological activity of technogen-polluted soil.....	16
<i>Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Karapetian R.A., Shahinyan M.A.</i> Peculiarities of EtBr and Hoechst 33258 binding with DNAs of different GC-content .....	21
<i>Yesayan A.H., Grigoryan K.V., Hovhannisyan N.A.</i> Detection of genetically modified plants by using PCR.....	27
<i>Seferyan T.Ye., Elbakyan V.L.</i> Automated multichannel ion metric system.....	34
<i>Tumanyan V.A., Koval I.N., Hakobyan N.E.</i> The hippocampal neuronal activity caused by sound having different significances.....	40
<i>Yavruyan E.G., Harutunyan M.K., Simonyan S.A., Hayrapetyan V.T.</i> Distribution and biological assess of <i>Meditteranean horseshoe bat - Rhinolophus euryale</i> in Caucasus.....	45
<i>Avagyan A.A.</i> Ecology and distribution of <i>Neomys fudiens</i> in Armenia.....	49
<i>Khachatryan T.S., Topuzyan V.O., Karapetyan I.R., Harutiunyan E.Yu, Kipriyan T.K.</i> The effects of the less dosages of iodmethylate 2- (dimethylamino) ethyl N- (n-metoxybenzoil)-DL-fenilalanin ester on evoked electric activity of rats spinal cord single motoneurons under lateral hemisection of spinal cord.....	53
<i>Edoyan R.H., Edoyan L.V.</i> Use of plant resources in the intensification and in medicine on the example of Jerusalem artichoke in Armenia.....	57
<i>Takgyozyan A.G.</i> Computational modeling of two-enzyme chain in presence of a non-competitive inhibitor and with isolated and complex interaction between enzymes.....	63

### • Short communications •

<i>Zanginyan H.V., Asatryan A.M., Terenina N.B.</i> The levels of serotonin in different sections of rat brain under experimental trichinellosis.....	70
<i>Harutunian R.A., Nahapetian K.H.H., Martirosian S.S.H.</i> The influence of platiphillin on thermoregulation mechanisms in the rat.....	73
<i>Naghashyan H.Z., Grigoryan L.H.</i> Clinical expression of the rabbits sarcoptosis.....	76
<i>Mkhitaryan M.A.</i> Changes of haematological indices during use of new method for prevention of the cattle hypodermatitis.....	79



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and Theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 2 (61), 2009

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ БИОСТИМУЛЯТОРОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ

С. Л. ГРИГОРЯН, А.Р. МКРТЧЯН, М.А. САРКИСЯН

*Государственный аграрный университет Армении, кафедра эпизоотологии и паразитологии*

Приготовленный на основе пекарских дрожжей биостимулятор обладает активирующим влиянием на обменные и защитные реакции организма 2-месячных крольчат. Препарат не вызывает побочных нежелательных эффектов у подопытных животных и по своим качественным показателям не уступает ранее используемым в животноводстве тканевым препаратам.

*Биостимулятор – крольчата – кровь - метаболизм*

Հացաթխման խմորասնկերի հիման վրա պատրաստված կենսախթանիչը առաջացնում է 2 ամսական ճագարների մոտ նյութափոխանակության պրոցեսների ու ընդհանուր դիմադրողականության ցուցանիշների ակտիվացում: Փորձարկվող պատրաստուկը չի առաջացնում կենդանիների օրգանիզմում կողմնակի անցանկալի փոփոխություններ և իր ազդեցությամբ չի զիջում անսանապահությունում նախկինում օգտագործվող հյուսվածքային պատրաստուկներին:

*Կենսախթանիչ – ճագարներ – արյուն – մեթաբոլիզմ*

The biopreparation, made on yeast, stimulates methabolic and common protective processes in young rabbits. It does not cause any common or local undesirable effects in organism of experimental animals and could be recommended for using in animal husbandry as tissue preparations.

*Biopreparation – young rabbits – blood – metabolism*

Использование биостимуляторов в животноводстве преследует цель ускорить рост и развитие молодняка сельскохозяйственных животных, повысить количественные и качественные показатели продуктов животноводства, поднять общую сопротивляемость организма к возбудителям заразных заболеваний и снизить падеж животных. Применение биостимуляторов является действенным методом в комплексе общей неспецифической профилактики инфекционных болезней молодняка [3]. В настоящее время с развитием частнофермерского хозяйствования и возрастания интереса потребителя к экологически чистой продукции животноводства фермеры отдают предпочтение дешевым, но качественным

препаратам природного происхождения, не обладающим отрицательным влиянием на организм животных и качество получаемой от них продукции. Так, наблюдаемые еще в недавнем прошлом массовые случаи аллергических реакций и нарушений обмена веществ среди потребителей животноводческой продукции заставили прекратить применение гормональных препаратов и антибиотиков в животноводстве и птицеводстве в откормочных целях.

Целью данной работы является изучение влияния препарата, приготовленного на основе пекарских дрожжей, а также тканевого препарата, приготовленного по методу Филатова, на процессы обмена веществ и общую резистентность крольчат, определение сравнительной эффективности применения этих биопрепаратов и, включая разработку схемы, оптимальную дозу, кратность и методы введения в организм.

**Материал и методика.** Сравнительную эффективность препаратов изучали на примере клинико-физиологических (температура, пульс, дыхание, живой вес) и некоторых гематолого-биохимических показателей (форменные элементы крови, лейкоформула, СОЭ, гемоглобин и общий белок крови, цветной показатель, гематокрит, кислородная емкость и удельный вес крови).

Предложенный нами препарат, созданный на основе пекарских дрожжей, представляет прозрачную жидкость с желтоватым оттенком и легким выпадающим осадком, разбивающимся при встряхивании в однородную муть. Препарат состоит из разведенного физиологическим раствором в соотношении 1:1 автолизата пекарских дрожжей-50%, калия йодида-1 %, желатина и формалина по 0.5 % от общего объема препарата. Для приготовления тканевого препарата к селезенке крупного рогатого скота, выдержанной при температуре 4° в течение 48 ч и пропущенной через мясорубку, прибавляли физиологический раствор в соотношении 1:10, смешивали и процеживали через 4-слойный марлевый фильтр. К полученной темно-коричневой взвеси добавляли в качестве консерванта формалин-0,3 % от общего объема фильтрата. Аprobацию препаратов проводили на 2-месячных крольчатах с средним живым весом 1 кг, разделенных на 4 группы по 3 животных в каждой. Животным 1-й группы вводили тканевой препарат в дозе 0,1 мл/кг веса, а животным 2-й группы тот же препарат вводили в дозе 3 мл на голову. Крольчатам 3 и 4-й групп вводили дрожжевой препарат по той же схеме: 0.1 мл/кг веса и 3 мл на голову соответственно. Измерение интегральных показателей и исследование крови у животных всех групп проводили до и через 60 мин после введения биостимуляторов. Препараты вводили методом подкожных инъекций, кратность введения 3-4 инъекции с интервалом 10 сут. Кровь для исследований брали из краевой ушной вены.

**Результаты и обсуждение.** У животных всех опытных групп уже непосредственно после введения биостимуляторов развиваются незначительные изменения интегральных показателей (тахикардия, полипное, субфибрилитет), исчезающие через 60 мин после инъекции - время достоверных отклонений в динамике морфологических и физико-биохимических показателей крови (табл.1).

Так, у крольчат 1-й группы увеличиваются показатели красной крови: количество эритроцитов на 1.3 %, содержание гемоглобина на 12.5 %. В то же время цветной показатель, гематокрит, кислородная емкость и удельный вес крови почти не изменяются. Количество лейкоцитов и общий белок крови увеличиваются соответственно на 5.9 и 10.3 %, а в лейкоформуле отмечается незначительный лимфоцитоз.

Совершенно отличная динамика исследованных показателей крови наблюдается у животных 2-й группы: количество эритроцитов, содержание гемоглобина, гематокрит, цветной показатель и кислородная емкость крови уменьшаются соответственно на 16; 66.6; 13.3; 40 и 69 %. В то же время снижение СОЭ на 28.6 % связано с уменьшением общего количества эритроцитов, а уменьшение общего белка крови на 11.1 % происходит на фоне снижения удельного веса крови.

**Таблица 1.** Динамика гематологических показателей на фоне введения биостимуляторов, ( $M \pm m$ ),  $n=3$ ,  $p \leq 0.05$

Показатели	Тканевой препарат				Дрожжевой препарат				
	I группа		II группа		I группа		II группа		
	до введения	после введения	до введения	после введения	до введения	после введения	до введения	после введения	
Эритроциты (млн/мкл)	2.49±0.003	2.52 ±0.006	2.84±0.003	2.45±0.005	2.27±0.004	2.7±0.04	2.4±0.03	2.96±0.02	
Hb (единиц Сали)	40±0.2	45±0.04	50±0.06	30±0.05	30±0.3	55±0.2	35±0.03	60±0.02	
Гематокрит, %	25±0.07	26±0.06	17±0.07	15±0.006	13±0.01	16±0.03	24±0.6	30±0.8	
Цвет.показ. (единиц)	0.9±0.03	0.9±0.02	1.4±0.03	1.0±0.02	1.3±0.003	1.7±0.04	0.8±0.003	1.0±0.03	
O <sub>2</sub> емкость крови, %	5.0±0.05	5.6±0.01	6.3±0.06	3.73±0.06	3.73±0.02	6.9±0.6	4.4±0.2	7.46±0.1	
Уд. вес крови	1044±0.05	1045±0.06	1038±0.1	1037±0.06	1035±0.03	1038±0.07	1043±0.06	1047±0.1	
Лейкоциты, тыс./мкл	6.8±0.03	7.2±0.02	8.2±0.008	10.8±0.02	5.2±0.03	12.6±0.006	9.0±0.06	14.6±0.005	
Лейко-формула	П	2±0.2	2±0.3	2±0.02	4±0.02	2±0.1	8±0.06	2±0.2	1±0.02
	С	38±0.5	30±0.3	46±0.7	66±0.8	28±0.6	30±0.8	22±0.7	20±0.6
	Б	0	2±0.7	4±0.8	2±0.8	4±0.5	8±0.8	4±0.7	0
	Э	0	1±0.1	4±1.0	0	2±0.7	4±0.8	4±0.2	0
	Л	56±0.3	64±0.1	42±0.2	26±0.02	64±0.6	42±0.2	64±0.6	77±0.7
	М	4±0.5	1±0.02	2±0.7	2±0.2	0	8±0.2	4±0.5	1±0.01
Общий белок, г %	3.9±0.005	4.3±0.006	2.0±0.002	1.8±0.003	1.1±0.02	2.0±0.002	3.6±0.03	5.6±0.02	
СОЭ, мм/час	12±0.03	12±0.2	9±0.2	7±0.2	6±0.02	8±0.02	12±0.06	14±0.04	
Число крови (ед.)	16±0.2	17.6±0.02	27.1±0.02	21±0.2	23.1±0.02	33.8±0.02	14.5±0.05	20.3±0.05	

Повышение количества лейкоцитов на 31.8 %, нейтрофилия и эозинофилия свидетельствуют о перенапряжении клеточного иммунитета - неблагоприятный признак, характерный для стадии тревоги при общем неспецифическом синдроме адаптации - стрессе [2]. Таким образом, введение тканевого препарата в дозе 0.1 мл/кг веса стимулирует, а в дозе 3 мл на голову - подавляет кроветворную функцию организма, угнетает окислительно-восстановительные процессы и иммунитет. Указанные изменения возвращаются к норме уже через 5-7 дней, однако оставляют свой след, отражаясь на состоянии общего метаболизма крольчат. Так, через 10 дней после инъекции масса тела крольчат 1,3 и 4 групп увеличилась в среднем на 500 г, а у крольчат 2-й группы осталась неизменной.

У животных 3 и 4-й групп обнаруживается схожая динамика изменений исследованных показателей крови. Количество эритроцитов, содержание гемоглобина, гематокритное число, цветной показатель и кислородная емкость крови увеличиваются соответственно на 4.6; 8.4; 24; 30.8 и 85 % у крольчат 3-й, 24; 71.5; 25 и 69.5 % у крольчат 4-й группы.

Увеличение общего белка крови у животных обеих групп соответственно на 89,2 и 55,5 % происходит параллельно увеличению удельного веса крови, в то же время повышение СОЭ соответственно на 33,3 и 16,6 % объясняется полицитемией и гиперглобулинемией. Основные изменения в лейкоформуле характеризуются умеренной нейтрофилией и эозинофилией у животных 3-й и незначительным лимфоцитозом у крольчат 4-й группы. Из вышеописанного становится очевидным, что инъекция дрожжевого препарата как в дозе 0,1 мл/кг живого веса, так и в количестве 3 мл на голову активизирует обменные и защитные процессы в организме крольчат. Анаболические свойства данного препарата, проявляющиеся независимо от вышеприменяемых доз, можно объяснить как наличием биогенных веществ (аминокислоты, витамины, йод), так и отсутствием сложных белков, неизбежно присутствующих в тканевых препаратах.

Подытожив данные исследований, можно сделать следующие выводы:

1. Оптимальная доза тканевого препарата как стимулятора роста крольчат - 0,1 мл/кг живого веса, в количестве же 3 мл на голову препарат угнетает гемопоэтическую функцию и извращает окислительно-восстановительные процессы организма, что клинически приводит к угнетению, анорексии и торможению роста и развития подопытных животных [1].

2. Предложенный нами дрожжевой препарат по своему положительному влиянию на обменные и защитные процессы организма крольчат не уступает и даже превосходит действие тканевого препарата, приготовленного из селезенки крупного рогатого скота. Даже в дозе, 30-кратно превышающей исходную, дрожжевой препарат активизирует процессы метаболизма, не вызывая неблагоприятных изменений в динамике исследованных показателей крови. Подопытные крольчата становятся активнее, быстро набирают в весе.

3. Дрожжевой биостимулятор имеет упрощенную рецептуру, может быть приготовлен в условиях производства за короткий срок в любых количествах без ощутимых материально-технических затрат. Препарат может быть рекомендован к использованию в животноводстве в качестве биостимулятора роста и развития молодняка.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Б.Н.Анохин, В.М.Данилевский* Внутренние незаразные болезни сельскохозяйственных животных, М., Агропромиздат, с.26-27, 1991.
2. *Пинний А.* Последние достижения гематологии, М.Л., ГИЗ, 1991.
3. *К.Эльце, Х.Мейер* Болезни молодняка сельскохозяйственных животных, М., Колос, 28с., 1977.

*Поступила 06.02.2009.*



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• Экспериментальные и теоретические статьи  
•Experimental and Theoretical articles•

Biolog. Journal of Armenia, 2 (61), 2009

## MINING AND AGRICULTURE IN THE MASHAVERA VALLEY (SE GEORGIA) – A LAND USE CONFLICT WITH SEVERE CONSEQUENCES

B.KALANDADZE<sup>1</sup>, T. HANAUER<sup>2</sup>, P. FELIX-HENNINGSSEN<sup>2</sup>, T.  
URUSHADZE<sup>1</sup>, E. NARIMANIDZE<sup>3</sup>,  
D. STEFFENS<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Exact and Natural Sciences, Ivane Javakhishvili  
Tbilisi State University,

<sup>2</sup> Institute of Soil Science and Soil Conservation,  
Justus-Liebig-University, Giessen, Germany,

<sup>3</sup> Centre for International Development and Environment Research,  
Giessen, Germany,

<sup>4</sup> Institute of Plant Nutrition, Justus-Liebig-University, Giessen, Germany.

The fertile irrigated soils of the Mashavera valley, Georgia, have high agricultural yield potential. The river water used for irrigation is polluted with mining waste from a copper and gold mine situated in mountainous region of the middle reaches of Mashavera River. Therefore the actual risk of Cd transfer into the food chain is proven, which affects the local population as well as people in cities up to capital Tbilisi, where crops from the Mashavera valley are sold at the open markets.

*Heavy metals - pollution of soils - irrigated and non-irrigated soils.*

Վրաստանի Մաշավրավա դաշտավայրի բերրի, ոռոգելի հողերը ունեն մեծ գյուղատնտեսական ներուժ: Ոռոգման համար օգտագործվող գետի ջրերը աղտոտված են Մաշավրավա գետի միջին հոսանքի տարածքում գնվող ոսկու և պղնձի լեռնա-հանքային արդյունաբերական ձեռնարկության թափոններով: Այդ տարածքում ստացվող սնունդը և կերը գնվում են ծանր մետաղներով աղտոտման մեծ վտանգի տակ, որն իր հերթին վտանգում է տեղի և Թիֆլիսի բնակիչների առողջությունը:

*Ծանր մետաղներ - հողերի աղտոտվածություն - ոռոգելի և ոչ-ոռոգելի հողերը*

Орошаемые плодородные почвы долины Машавера, Грузия, имеют высокий сельскохозяйственный потенциал. Воды реки используемые для орошения загрязнены отходами горно-добывающей промышленности меди и золота, которая расположена в горном регионе в среднем течении реки Машавера. Существует серьезный риск загрязнения кормов и продуктов питания как для местного населения так и жителей Тбилиси.

*Тяжелые металлы – загрязнение почвы – орошаемые и неорошаемые почвы*

Georgia is rich in different mineral resources, which were already known and mined over the past centuries. One of the most important and biggest non-ferrous metal deposits is located in SE Georgia in the province Kvemo

Kartli at the mountain fringe of the Small Caucasus. In the region of the small town Bolnisi, located in the transition area between the middle and lower reaches of the Mashavera river, poly-metallic ore deposits, mainly copper, zinc and gold, have been mined since 1974 in a large opencast mine at the village of Kazreti.

Another branch of economic activity is intensive agriculture on the fertile soils of the alluvial and terrace plains of the Mashavera river. Due to the semi-arid climate of East Georgia, with arid phases during the vegetation period, sufficient yields of fruits and food crops from the fertile soils, mainly kastanozems and chernozems, can only be obtained by irrigation with water from the Mashavera. Then 2 to 3 yields per year are possible.

Decades of mining of copper and precious metals have caused severe environmental problems. Mining waste, which is deposited on the mountain slopes around the opencast mine as well as deposits of waste from a flotation plant consisting of fine ground rock debris, cover an area of about 240 ha. Mining and flotation wastes are rich in fines, which contain remains of sulphides. Due to an extremely acid environment from sulfuric acid, caused by oxidation of sulphides near recent surface deposits and the release of heavy metals (HM), the stockpiles are investigated. Adequate measures to stabilize the slopes by planting vegetation were never taken. Therefore, runoff from the slopes leads to rill and gully erosion and severe contamination of the Kazretula and other small creeks near Kazreti, which meet the Mashavera river, by fines with adsorbed heavy metals and remnants of sulphides. The Mashavera presently is one of the most polluted rivers of Georgia.

The use of the Mashavera waters for irrigation led to pollution of the fertile soils by suspended fines, rich in heavy metals. The polluted soils, on the other hand, can also be a potential source for the contamination of the food chain by heavy metals.

According a research project, generously funded by German Volkswagen Foundation, focused on amounts and spatial distribution of the heavy metals as a consequence of deposition of mining wastes on irrigated soils of Mashavera valley as well as on the eco-toxicological importance for the food chain.

The study area is situated in SE Georgia, about 60 km SW of the capital Tbilisi, in the administrative district Bolnisi, and contains the middle and lower reaches of the Mashavera valley.

**Materials and methods.** Soils samples were taken in fields, house gardens, grape fields, vineyards and orchards from Ap horizon (0 – 30 cm) in 10 sites along double-diagonal transects. Eight volume-equivalent cores were taken with an aluminum auger within an area of 4 x 4 at each site. The fine earth (< 2mm) of the air dried samples, ground in a porcelain mortar, was investigated in the laboratories of the Institute of Soil Science and Soil Conservation of Justus-Liebig University in Giessen, Germany.

The pH was determined after DIN 10390 in suspension with 0,01 M CaCl<sub>2</sub>, with a pH-meter pH90 (WTW).

The amount of carbonates was determined by the gas-volumetric method using a calcimeter, following DIN 18129.

Total amount of carbon (C<sub>1</sub>) and nitrogen (N<sub>1</sub>) were determined on fine ground samples by gas-chromatography using a C-N-S element analyzer (Heraeus). Anorganic C was calculated from the carbonate content by using the factor 0,1199, while the amounts of organic carbon (C<sub>org</sub>) resulted from the difference between C<sub>1</sub> and anorganic carbon. The amounts of organic matter were calculated by C<sub>org</sub> · 1,724.

Particle size distribution was determined by the combined sieving (and fractions) and pipette method (silt and clay) after decomposition of carbonates (HCL) and organic matter (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and dispersion in Na-Pyrophosphate 3,25, under dark conditions as described in [3].

Pedogenic iron (Fe<sub>ox</sub>) and manganese (M<sub>dcb</sub>) oxides extracted following the procedure of Mehra & Jackson, as described in were determined by extraction with buffered oxalic acid, pH 3,25, under dark conditions as described [3].

The mobile and exchangeable fractions of HM, which are eco-toxicologically relevant because they are potentially plant available and easily leachable, were extracted with NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, according [4,5]. They are designated in the text as HMAN.

The total amounts of subsequent deliverable HM, which is the supply fraction and includes the soluble and exchangeable fractions as well as the HM strongly adsorbed to carbonates, oxides and organic substances, were extracted by EDTA. Deviating from the method described by [6], EDTA was dissolved in a buffered solution of ammonium acetate at pH 7. Elements of this fraction are designated in the text as HMEDTA.

The total amounts of HM were extracted from finely ground samples by using Aqua Regia following DIN ISO 11 466. Elements of this fraction are designated in the text as HMAR.

Element concentrations in the extracts were determined with the atomic adsorption spectrometer FAAS 4100 (Perkin Elmer). For determination of Cd in the NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> extracts a GFAAS SI(MAA 6000 spectrometer (Perkin Elmer) was used due to the low concentrations.

**Results and Discussion.** The natural steppe vegetation formations [1] of the Mashavera valley were changed by agriculture.

Due to the continental type of climate the typical main soil orders belong to kastanozems and chernozems [2,3], which frequently degraded to phaeozems as a consequence of long periods of intensive irrigation. The main soils of the study area cover calcic kastanozems, which show an accumulation of calcium carbonate in the form of concretionary mottles in the subsoil but lower humus content and a more brownish color than chernozem. They are associated with calci-vertic chernozems with clay contents up to 65 mass-%. The medium to strong humic topsoils show a blocky to polyhedral structure due to the high clay content. They are weakly alkaline and have a rather high CEC.

The humus content decrease with increasing intensity of soil cultivation in the sequence grape fields and vineyards, orchards, house garden and arable soils. As a further reason for the high humus contents in topsoils of vineyards, a lower mineralization rate can be assumed resulting from an accumulation of Cu due to strong irrigation as well as from the use of copper hearing fungicides [2] (tab.1, 2). Arable fields on the other hand, are subject to soil erosion during periods of rotation fallow, which diminishes the humus content in slope positions and leads to the formation of colluvium in depressions and on the flat valley floor. On slopes with severe erosion, the calcic horizon is exposed at the surface and causes the formation of calcisols.

The clay minerals of chernozems and kastanozems, mainly consist of chlorite-smectite mixed-layer minerals (corrensite) and the composition shows no difference between the saprolite from pyroclastics (rhyolitic tuff and ignimtric) and the soil horizons above, although the clay contents rise from 20 mass-% in the saprolite to about 60 mass-% in the topsoil.

Orientation in the field was based on Russian topographical military maps 1 : 500 000, Landsat TM 5 scenes and aerial photographs.

**Table 1.** Concentrations of heavy fractions in topsoils of irrigated vegetable gardens of the Mashavera valley and related soil data. *AR* = aqua regia extract, *EDTA* = EDTA extract, *AN* =  $NH_4NO_3$  extract, *OM* = organic matter; *Al / Fe / Mn<sub>DCB</sub>* = free oxides, *Al / Fe / Mn<sub>OX</sub>* = amorphous fraction of the free oxides.

		Vegetable Gardens. Irigated (N=67)		
		Minimum	Maximum	Median
$Cu_{AR}$	( $mg * kg^{-1}$ )	91.20	2,945.00	553.25
$Cu_{EDTA}$	( $mg * kg^{-1}$ )	15.80	1371.00	227.05
$Cu_{EDTA/AR}$	%	17.00	55.00	39.50
$Cu_{AN}$	( $mg * kg^{-1}$ )	0.27	7.92	1.44
$Cu_{AN/EDTA}$	%	0.00	2.00	1.00
$Zn_{AR}$	( $mg * kg^{-1}$ )	157.70	2,441.00	501.50
$Zn_{EDTA}$	( $mg * kg^{-1}$ )	18.10	585.00	94.45
$Zn_{EDTA/AR}$	%	10.00	60.00	20.00
$Zn_{AN}$	( $mg * kg^{-1}$ )	0.00	31.83	0.33
$Zn_{AN/EDTA}$	%	0.00	21.00	0.00
$Cd_{AR}$	( $mg * kg^{-1}$ )	0.28	14.50	2.55
$Cd_{EDTA}$	( $mg * kg^{-1}$ )	0.13	11.16	2.00
$Cd_{EDTA/ar}$	%	46.00	95.00	79.00
$Cd_{AN}$	( $mg * kg^{-1}$ )	0.00	0.56	0.03
$Cd_{AN/EDTA}$	%	0.00	14.00	1.00
$pH(H_2O)$		6.67	8.23	7.76
$pH(CaCl_2)$		5.99	7.68	7.37
$EC_{2,5}$	( $\mu S * cm^{-1}$ )	83.00	1,297.00	201.50
$CaCO_3$	mass – %	0.00	15.50	1.70
<i>OM</i>	mass – %	0.28	6.50	3.16
$Al_{DCB}$	$mg * g^{-1}$	0.50	1.78	1.07
$Fe_{DCB}$	$mg * g^{-1}$	5.46	15.30	8.83
$Mn_{DCB}$	$mg * g^{-1}$	0.32	1.06	0.67
$Al_{OX}$	$mg * g^{-1}$	0.67	3.14	1.82
$Fe_{OX}$	$mg * g^{-1}$	0.79	6.78	1.88
$Mn_{OX}$	$mg * g^{-1}$	0.04	1.00	0.63

**Table 2.** Concentrations of heavy fractions in topsoils of irrigated orchards and wine gardens of the Mashavera valley and related soil data. *AR* = aqua regia extract, EDTA = EDTA extract, *AN* =  $NH_4NO_3$  extract, *OM* = organic matter; *Al* / *Fe* / *Mn*<sub>DCB</sub> = free oxides, *Al* / *Fe* / *Mn*<sub>OX</sub> = amorphous traction of the free oxides.

		Orchards.Wine Gardens. Irrigated (N=49)		
		Minimum	Maximum	Median
<i>Cu</i> <sub>AR</sub>	( <i>mg * kg</i> <sup>-1</sup> )	127.30	2,366.00	605.40
<i>Cu</i> <sub>EDTA</sub>	( <i>mg * kg</i> <sup>-1</sup> )	56.90	1,006.00	280.10
<i>Cu</i> <sub>EDTA/AR</sub>	%	28.00	79.00	45.00
<i>Cu</i> <sub>AN</sub>	( <i>mg * kg</i> <sup>-1</sup> )	0.23	6.59	1.22
<i>Cu</i> <sub>AN/EDTA</sub>	%	0.00	1.00	0.00
<i>Zn</i> <sub>AR</sub>	( <i>mg * kg</i> <sup>-1</sup> )	139.30	3,735.00	614.00
<i>Zn</i> <sub>EDTA</sub>	( <i>mg * kg</i> <sup>-1</sup> )	8.30	842.00	134.60
<i>Zn</i> <sub>EDTA/AR</sub>	%	4.00	56.00	22.00
<i>Zn</i> <sub>AN</sub>	( <i>mg * kg</i> <sup>-1</sup> )	0.00	19.30	1.15
<i>Zn</i> <sub>AN/EDTA</sub>	%	0.00	7.00	1.00
<i>Cd</i> <sub>AR</sub>	( <i>mg * kg</i> <sup>-1</sup> )	0.40	13.80	3.37
<i>Cd</i> <sub>EDTA</sub>	( <i>mg * kg</i> <sup>-1</sup> )	0.17	7.87	2.76
<i>Cd</i> <sub>EDTA/ar</sub>	%	20.00	88.00	82.00
<i>Cd</i> <sub>AN</sub>	( <i>mg * kg</i> <sup>-1</sup> )	0.00	0.32	0.05
<i>Cd</i> <sub>AN/EDTA</sub>	%	1.00	6.00	2.00
<i>pH</i> ( <i>H</i> <sub>2</sub> <i>O</i> )		7.05	8.15	7.65
<i>pH</i> ( <i>CaCl</i> <sub>2</sub> )		6.49	7.54	7.20
<i>EC</i> 2,5	( <i>μS * cm</i> <sup>-1</sup> )	103.00	483.00	197.00
<i>CaCO</i> <sub>3</sub>	<i>mass</i> – %	0.00	20.00	0.10
<i>OM</i>	<i>mass</i> – %	2.63	5.06	3.46
<i>Al</i> <sub>DCB</sub>	<i>mg * g</i> <sup>-1</sup>	0.71	2.33	1.14
<i>Fe</i> <sub>DCB</sub>	<i>mg * g</i> <sup>-1</sup>	7.17	12.43	10.00
<i>Mn</i> <sub>DCB</sub>	<i>mg * g</i> <sup>-1</sup>	0.45	1.03	0.85
<i>Al</i> <sub>OX</sub>	<i>mg * g</i> <sup>-1</sup>	1.39	3.57	1.80
<i>Fe</i> <sub>OX</sub>	<i>mg * g</i> <sup>-1</sup>	0.33	4.19	1.65
<i>Mn</i> <sub>OX</sub>	<i>mg * g</i> <sup>-1</sup>	0.42	1.00	0.82

First results from screening investigation of crops from house gardens as well as field and pot experiments with wheat and spinach indicate a high uptake of Cu, Zn and Cd in cereals and vegetable leaves that exceed tolerance thresholds for

plants, animals and human beings. Although Cu is adsorbed specifically mainly element in neutral to weakly alkaline soils (indicated by the results of the  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  extractions), the Cu contents in vegetation indicates a rather strong uptake. According to [7] the mobility of Cu and other metal ions increases in alkaline soils due to the formation of soluble organic complexes. In future studies the HM uptake in food crops must be investigated systematically. Furthermore it should be established that the characterization of the mobile fraction with the  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  extraction method after [4,5], which was developed for neutral to acid Middle European soils, is also valid for alkaline soils. Due to the possible volatilization of  $\text{NH}_3$  in an alkaline environment, the concentration of  $\text{NH}_4$  is probably too low for the exchange of weakly adsorbed HM. In a weakly alkaline milieu they could be mobilized due to direct contact with plant roots by acid root exudates.

Nevertheless, the concentrations of the mobile Cd fraction exceed the precaution, trigger and action values of [8] and the target and action values of the “Dutch List” in topsoils of many sites (Tab. 1,2). According to the German Soil Protection Law, land use restrictions and remediation measures would apply to 30% of the investigated house gardens and to more than 50% of the grape fields, vineyards and orchards with mixed cropping of vegetables. Therefore the actual risk of Cd transfer into the food chain is proven, which affects the local population as well as people in cities up to capital Tbilisi, where crops from the Mashavera valley are sold at the open markets.

#### *Acknowledgements*

The authors thank the Volkswagen Foundation for the generous funding of the research project 1/76 908: Bergbaubedingte Schwermetallbelastungen von Böden und Nutzpflanzen in einem Bewässerungsgebiet südlich von Tiflis/Georgien-Ausmaß, ökologische Bedeutung, Sanierungsstrategien.

#### REFERENCES

1. *G. Nakhutsrishvili*, Biological and Landscape diversity of Georgia, WWF Georgia Country Office, Tbilisi, 2000.
2. *C. Parat, R. Chaussod, J. Leveque, S. Dousser, F. Andreux*, European Journal of Soil Science, 53, 2002.
3. *E. Schlichting, H.-P. Blume, K. Stahr*, Bodenkundliches Praktikum, -2. Aufl. Pareys Studenteste 81, Blackwell, Berlin, 1995.
4. *H. Zeien, G.H. Brummer*, Chemische Extaktion zur Bestimmung von Schwermetallbindungsformen in Boden – Mit. Deutsch. Bodenkundl. Ges. 59/1, 1989.
5. *H. Zeien, G.H. Brummer*, Chemische Extaktion zur Bestimmung der Bindungsformen von Schwermetallen in Boden. – In Sauerbeek, D. and Lübbers, S. Auswirkungen auf Böden. Bodenorganismen und Pflanze. Ber. z. ökol. Forsch, 6; Jülich, 1991.
6. *V. Hornburg, G.W. Brümmer*. J. Plant Nutr. Soil Sci., 156, 1993.
7. *G. Welp, G.W. Brümmer*, J. Plant Nutr. Soil Sci., 162, 1998.

*Received 02.02.2009*



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ • Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and Theoretical articles•

Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2 (61), 2009

## ԱԳՐՈՏԻԶՐԿԱԿԱՆ ՄԵԹՈՂՆԵՐԻ ԿԻՐԱՌՄԱՆ ԱԶՂԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՏԵԽՆԱԾԻՆ ԱՂՏՈՏՎԱԾ ՀՈՂԵՐԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Հ. Է. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ

*Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան*

Հողվածում բերված է վեգետացիոն և դաշտային փորձերի արդյունքները՝ բնական մելիորանտների (ցեոլիտ, դաչիտային տուֆ) և օրգանական պարարտանյութերի (գոմաղբ, կենսահումուս) ազդեցությունը տեխնածին աղտոտված հողերի կենսաբանական ակտիվության վրա:

Պարզվել է, որ կիրառված մելիորանտները նպաստում են հողի շնչառության ինտենսիվության և ֆերմենտացիոն ակտիվության բարձրացմանը: Տեխնածին աղտոտված հողերի կենսաբանական ակտիվության բարձրացման համար առաջարկվում է համատեղ կիրառել բնական մելիորանտներ և օրգանական պարարտանյութեր:

*Կենսաբանական ակտիվություն - օրգանական պարարտանյութեր - ցեոլիտ  
- դաչիտային տուֆ - վերակուլտիվացում*

Приведены результаты вегетационных и полевых испытаний влияния природных мелиорантов (цеолит, дацитовый туф) и органических удобрений (навоз, биогумус) на биологическую активность техногенно загрязненных почв.

Установлено, что применяемые мелиоранты способствуют усилению активности ферментов и интенсивности дыхания почвы.

С целью усиления биологической активности техногенно загрязненных почв рекомендуется совместно применять природные мелиоранты и органические удобрения.

*Биологическая активность - рекультивация - органические удобрения -  
цеолит - дацитовый туф*

The article deals with the result of vegetational and field experiments - the influence of joint application of natural meliorants (ceolite, dacitic tuff) and organic fertilizers (manure, biohumus) on the biological activity of technogen – polluted soil.

It's stated that the used meliorants increase the fermentative activity and the intensity of the production of carbon dioxide from the soil.

On purpose of increasing the biological activity we suggest joint application of natural meliorants and organic fertilizers.

*Biological activity - recultivation - organic fertilizers - ceolite - dacitic tuff*

Հողի կենսաբանական ակտիվությունը ուսումնասիրում են տարբեր նպատակներով: Դա կարող է լինել տարբեր ագրոքիմիական, ագրոտեխնիկական, մելիորատիվ և այլ միջոցառումների ազդեցությամբ տեղի ունեցած փոփոխությունների համեմատական ուսումնասիրություններ [4]:

Գալստյանի [2] բնորոշմամբ ֆերմենտացիոն պրոցեսների հետազոտությունը տարբեր գենետիկական հողատիպերում տալիս է հնարավորություն օգտագործել դրանց ակտիվությունը որպես հողերի բերրիության գնահատման լրացուցիչ դիագնոստիկ ցուցանիշ: Ֆերմենտացիոն ակտիվությունը ցույց է տալիս հողում ընթացող կեսաքիմիական պրոցեսների ինտենսիվությունն ու ուղղությունը և կարող է հանդիսանալ զգայուն ինդիկատոր նրա կենսաբանական վիճակի:

Հետազոտությունների նպատակն է ուսումնասիրել ու պարզել բնական մելիորանտների (ցեոլիտ, դացիտային տուֆ) և օրգանական պարարտանյութերի (գոմաղբ, կենսահումուս) համատեղ կիրառման ազդեցությունը տեխնածին աղտոտված հողերի կենսաբանական ակտիվության վրա:

**Նյութ և մեթոդ:** Ուսումնասիրությունների օբյեկտ է հանդիսացել Արարատի մարզի ցեմենտի գործարանի փոշու ազդեցության առաջին գոտու տեխնածին աղտոտված հողատարածքները, որտեղ հողերի կենսաբանական ակտիվության ուսումնասիրությունները տարվել են էկոլոգիական հիմնախնդիրների պորբլեմային լաբորատորիայի կողմից դրված դաշտային փորձերում: Վերոհիշյալ հարցը ուսումնասիրելու նպատակով դրվել են նաև վեգետացիոն փորձեր՝ Հայաստանի պետական ագրարային համալսարանի ջերմատանը կից բաց գրունտում: Ինչպես դաշտային, այնպես էլ վեգետացիոն փորձերը դրվել են 7 տարբերակներով: Փորձադաշտի հողերը ըստ Գրիգորյանի կողմից մշակված սանդղակի՝ թույլ աղտոտված են ցինկով (Zn), միջին՝ պղնձով (Cu) և ուժեղ՝ կապարով (Pb):

Փորձի սխեման՝ 1. Մտուզիչ, 2. ցեոլիտ 70 տ/հա, 3. ցեոլիտ 70 տ/հա + գոմաղբ 40 տ/հա, 4. ցեոլիտ 70 տ/հա + կենսահումուս 5 տ/հա, 5. դացիտային տուֆ 70 տ/հա, 6. դացիտային տուֆ 70 տ/հա + գոմաղբ 40 տ/հա, 7. դացիտային տուֆ 70 տ/հա + կենսահումուս 5 տ/հա:

Փորձերը դրվել են 3 կրկնողությամբ, փորձամարզերի մակերեսը եղել է 50 մ<sup>2</sup>:

Փորձադաշտում աճեցվել է լոլիկ (սորսը՝ Լիա):

**Արդյունքներ և քննարկում:** Արարատի մարզի ցեմենտի գործարանի փոշու ազդեցության առաջին գոտում դրված դաշտային փորձերը կատարվել են նոր մելիորացված գորշ կիսաանապատային հողատիպում, որը բնութագրվում է հողաշերտի փոքր հզորությամբ, հումուսի ցածր պարունակությամբ (0,87 %), կարբոնատների մեծ պարունակությամբ, հիմնային ռեակցիայով (pH=8,0): Այդ հողերը թույլ են ապահովված ազոտով՝ (0,8 մգ 100 գ հողում), միջակ՝ ֆոսֆորով (5,1 մգ 100 գ հողում) և կալիումով՝ (30,3 մգ 100 գ հողում): Փորձադաշտի հողն ունի ավազային մեխանիկական կազմ՝ ֆիզիկական կավը (< 0,01 մմ-ից մասնիկները) ամբողջ հողաշերտում կազմում է 10,72–17,16 %, իսկ տիղմի պարունակությունը (< 0,001 մմ-ից մասնիկները) տատանվում է 4,16–6,92 %-ի սահմաններում:

Ըստ Եղիազարյանի [3] կողմից մշակված սանդղակի, երբ ինվերտազ ֆերմենտի ակտիվության ցուցանիշների սխալի տոկոսը չի գերազանցում 5–7-ը, ապա դաշտը համարվում է միատարր և կարող է օգտագործվել դաշտային փորձերի համար:

Վեգետացիոն փորձերը դրվել են 12 լ տարողությամբ պլաստմասե անոթներում, որոնց մակերեսը 0,0615 մ<sup>2</sup> է և մշակվել է աշնանացան ցորեն (սորսը՝ Նաիրի 68): Հողը (0–30 սմ շերտից) բերվել է այն փորձահողամասից, որտեղ դրված են դաշտային փորձերը: Անոթներում լցվել է 12 կգ հող, որը նախապես խառնվել է բնական մելիորանտների և օրգանական պարարտանյութերի հետ: Ըստ որում ցեոլիտի ու դացիտային տուֆի քանակը վերցվել է 430 գ (70 տ/հա) հաշվարկով, գոմաղբինը՝ 246 գ (40 տ/հա), կենսահումուսինը՝ 31 գ (5 տ/հա):

**Աղյուսակ 1.** Փորձադաշտի միատարրության ցուցանիշները

Ցուցանիշներ	M ( m	Վարիացիայի գործակիցը, V	Սխալի տոկոսը, P	Դաշտի միատարրությունը, P < 7
որոշումների թիվը, n = 6				
Ինվերտագ	5,7 ( 0,22	9,5	3,86	միատարր

Փորձի տարբերակներում հողի կենսաբանական ակտիվությունը բնորոշող՝ հողային ֆերմենտների (ինվերտագ, ֆոսֆատագ, ուրեագ, կատալագ) և հողի շնչառությունը՝ (հողից արտազատվող CO<sub>2</sub>-ի քանակը) որոշելու համար, հողանմուշները ըստ սահմանված մեթոդիկայի վերցվել են բերքահավաքից անմիջապես հետո: Հողային ֆերմենտների և հողի շնչառության ինտենսիվության անալիզները կատարվել են Երևանի պետական համալսարանի էկոլոգիայի և բնության պահպանության ամբիոնի լաբորատորիայում:

**Աղյուսակ 2.** Բնական մելիորանտների և օրգանական պարարտանյութերի համատեղ կիրառման ազդեցությունը հողի կենսաբանական ակտիվության փոփոխության վրա (վեգետացիոն փորձ)

Փորձի տարբերակները, տ/հա	Ինվերտագ, մգ գլյուկոզ	Ֆոսֆատագ, մգ P	Ուրեագ, մգ NH <sub>3</sub>	Կատալագ, մլՑ O <sub>2</sub>	Հողի շնչառություն, մգ CO <sub>2</sub>	Ինվերտագ, մգ գլյուկոզ	Ֆոսֆատագ, մգ P	Ուրեագ, մգ NH <sub>3</sub>	Կատալագ, մլՑ O <sub>2</sub>	Հողի շնչառություն, մգ CO <sub>2</sub>
	2007					2008				
	1. Ստուգիչ	5,7	2,5	0,61	3,4	13,1	5,3	2,8	0,53	3,7
2. Ցեոլիտ 70	4,8	2,2	0,58	3,4	13,7	4,4	2,0	0,45	3,5	13,3
3. Ցեոլիտ 70 + գումաղբ 40	12,4	4,9	1,29	2,2	21,4	11,3	4,7	1,35	1,8	22,1
4. Ցեոլիտ 70 + կենսահումուս 5	9,6	3,8	0,98	3,0	18,2	7,0	3,3	0,82	2,7	17,7
5. Դացիտային տուֆ 70	8,8	3,2	0,82	3,2	17,6	7,5	3,2	0,87	3,6	17,3
6. Դացիտային տուֆ 70 + գումաղբ 40	14,1	5,5	1,94	2,5	22,6	14,3	5,1	1,78	2,2	21,4
7. Դացիտային տուֆ 70 + կենսահումուս 5	10,3	4,3	1,10	2,9	19,4	8,6	3,7	0,92	3,0	17,5

Ինչպես երևում է աղ. 2-ի թվային տվյալներից, ինվերտագ, ֆոսֆատագ, ուրեագ ֆերմենտների ակտիվության և հողի շնչառության ինտենսիվության ամենաբարձր ցուցանիշները նկատվում են դացիտային

տուֆ 70 տ/հա + գոմաղբ 40 տ/հա և ցեոլիտ 70 տ/հա + գոմաղբ 40 տ/հա տարբերակներում, որտեղ ստուգիչ տարբերակի համեմատությամբ այն երկու տարվա միջին տվյալներով ավելացել է համապատասխանաբար ինվերտազ` 8,7 մգ (159%) և 6,4 մգ (115%), ֆոսֆատազ` 2,7 մգ (101%) և 2,2 մգ (82%), ուրեազ` 1,29 մգ (227%) և 0,75 մգ (133%), հողի շնչառությունը` 9 մգ (64%) և 8,3 մգ (61%):

Կենսահումուս տրված տարբերակներում, հատկապես հետազոտության առաջին տարում, նույնպես նկատվել է վերոհիշյալ ֆերմենտների ակտիվության և հողի շնչառության ինտենսիվության նշանակալի բարձրացում, ինչը հետազոտության երկրորդ տարում որոշակի նվազել է: Կատալազ ֆերմենտի ակտիվությունը ճիշտ հակառակը, դացիտային տուֆ 70 տ/հա + գոմաղբ 40 տ/հա և ցեոլիտ 70 տ/հա + գոմաղբ 40 տ/հա տարբերակներում որոշակի նվազել է: Վերջինս պայմանավորված է օրգանական պարարտանյութերում նշանակալի քանակությամբ կիրառատ, ֆոսֆատ, սուլֆատ, քլորիդ անիոնների և այլ միացությունների պարունակությամբ: Բացի դրանից օրգանական պարարտանյութերի հանքայնացման հետևանքով հողում անիոնների պարունակությունը մեծանում է, ինչը և նպաստում է կատալազ ֆերմենտի ինակտիվացմանը [2]:

**Աղյուսակ 3.** Բնական մելիորանտների և օրգանական պարարտանյութերի համատեղ կիրառման ազդեցությունը հողի կենսաբանական ակտիվության փոփոխության վրա (դաշտային փորձ)

Փորձի տարբերակները, տ/հա	Ինվերտազ, մգ գլյուկոզ	Ֆոսֆատազ, մգ P	Ուրեազ, մգ NH <sub>3</sub>	Կատալազ, մլՑ O <sub>2</sub>	Հողի շնչառություն, մգ CO <sub>2</sub>	Ինվերտազ, մգ գլյուկոզ	Ֆոսֆատազ, մգ P	Ուրեազ, մգ NH <sub>3</sub>	Կատալազ, մլՑ O <sub>2</sub>	Հողի շնչառություն, մգ CO <sub>2</sub>
	2007					2008				
1. Ստուգիչ	5,6	2,6	0,58	3,7	12,8	5,9	2,2	0,55	3,3	14,1
2. Ցեոլիտ 70	5,0	2,1	0,51	3,9	12,3	4,8	1,6	0,47	3,2	13,7
3. Ցեոլիտ 70 + գոմաղբ 40	11,2	4,3	1,16	2,1	19,7	10,4	4,1	1,22	1,7	20,5
4. Ցեոլիտ 70 + կենսահումուս 5	8,3	3,5	0,82	3,1	16,2	7,2	2,9	0,70	2,5	15,7
5. Դացիտային տուֆ 70	7,5	2,9	0,70	3,5	14,8	7,1	2,7	0,68	3,1	15,6
6. Դացիտային տուֆ 70 + գոմաղբ 40	12,8	4,8	1,68	1,8	20,1	11,8	4,5	1,63	2,0	20,2
7. Դացիտային տուֆ 70 + կենսահումուս 5	9,4	3,8	0,94	3,0	17,3	7,5	3,0	0,79	3,2	16,0

Ինչ վերաբերվում է միայն ցեոլիտ 70 տ/հա տրված տարբերակին, ապա այստեղ ոչ մի դրական փոփոխություն չի նկատվել: Ընդհակառակը, այստեղ նկատվել է ինվերտազ, ֆոսֆատազ, ուրեազ ֆերմենտների ակտիվության որոշակի նվազման միտում, ինչը չի կարելի ասել դացիտային տուֆ 70 տ/հա տարբերակի համար:

Այդ տարբերակում նկատվել է հիշյալ ֆերմենտների ակտիվության և հողի շնչառության ինտենսիվության բարձրացում: Առաջինի դեպքում այդ հանգամանքը բացատրվում է նրանով, որ ցեոլիտը, ունենալով հիմնային ռեակցիա, նպաստում է միջավայրի հիմնային ռեակցիա ունեցող հողերի էլ ավելի հիմնայնացմանը, ինչը ոչ նպաստավոր պայմաններ է ստեղծում վերոհիշյալ ֆերմենտների կենսագործունեության համար: Դացիտային տուֆը, լինելով ծակոտկեն հանքատեսակ, բարելավվում է հողի օդային, ջրային և ջերմային ռեժիմները, ինչն էլ անշուշտ խթանում է հողում ընթացող կենսաբանական պրոցեսներին: [1]

Ինչպես երևում է աղ. 3-ի թվային տվյալներից, դաշտային փորձերում ստացվել է նույն օրինաչափությամբ, ինչպիսին նկատվել էր վեգետացիոն փորձերում: Դացիտային տուֆ 70 տ/հա + գոմաղբ 40 տ/հա և ցեոլիտ 70 տ/հա + գոմաղբ 40 տ/հա տարբերակներում ստուգիչ տարբերակի համեմատությամբ երկու տարվա միջին տվյալներով ավելացել է համապատասխանաբար ինվերտաց՝ 6,6 մգ (115%) և 5,1 մգ (88%), ֆոսֆատաց՝ 2,3 մգ (95%) և 1,8 մգ (76%), ուրեազ՝ 1,1 մգ (195%) և 0,63 մգ (111%), հողի շնչառություն՝ 6,7 մգ (47%) և 6,7 մգ (49%):

### **Եզրակացություններ և առաջարկություններ**

Երկու տարվա վեգետացիոն և դաշտային փորձարարական աշխատանքների արդյունքները հնարավորություն են տվել հանգելու հետևյալ եզրակացություններին.

1. Արարատի մարզի ցեմենտի գործարանի փոշու ազդեցության առաջին գոտու տեխնածին աղտոտված գորշ կիսաանապատային հողերում բնական մելիորանտների և օրգանական պարարտանյութերի համատեղ կիրառման դեպքում նկատվում է կենսաբանական ակտիվության բարձրացում, ընդ որում ցեոլիտի և դացիտային տուֆի ֆոնի վրա գոմաղբի արդյունավետությունը ավելի բարձր է, քան կենսահումուսինը:

2. Օրգանական պարարտանյութերի (գոմաղբ, կենսահումուս) կիրառման դեպքում հողում թուլանում է կատալազ ֆերմենտի ակտիվությունը, որը պայմանավորված է դրանցում նիտրատ, ֆոսֆատ, սուլֆատ, քլորիդ անիոնների և այլ միացությունների պարունակությամբ:

Կատարված ուսումնասիրությունների արդյունքները հիմք են տալիս առաջարկելու տեխնածին աղտոտված հողերի վերակուլտիվացման նպատակով համատեղ կիրառել բնական մելիորանտներ (ցեոլիտ, դացիտային տուֆ) և օրգանական պարարտանյութեր (գոմաղբ, կենսահումուս), ըստ որում միջավայրի հիմնային ռեակցիա ունեցող հողերում նպատակահարմար է կիրառել դացիտային տուֆ, քան ցեոլիտ: Իսկ բնական մելիորանտի չափաքանակը կախված նրանից, թե տվյալ դաշտում ինչպիսի մշակաբույս է աճեցվելու և քանի տարի է դաշտն զբաղեցնելու, կարելի է փոփոխության ենթարկել:

### **ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ**

1. *Ацагорцян З.А., Оганесян А.П., Оганесян М.Л.* Внесение в почву пористых горных пород для повышения урожайности. Ереван, 1971.
2. *Галстян А.Ш.* Ферментативная активность почв Армении. Ереван, 1974.
3. *Егизарян Л.Т.* Автореф. канд.дисс. Ереван, 1970.
4. *Звягинцев Д.Г.* Почвоведение, 6. с. 48-54, 1978.

*Ստացվել է 16.01.2009*



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and Theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 2 (61), 2009

## ОСОБЕННОСТИ СВЯЗЫВАНИЯ EtBr И HOECHST 33258 С ДНК РАЗЛИЧНОГО GC-СОДЕРЖАНИЯ

Ս.Օ. ՎԱՐԴԵՎԱՅԱՆ, Ա.Ս. ԱՆՏՈՆՅԱՆ, Մ.Ա. ՓԱՐՏԱԴԱՆՅԱՆ,  
Ր.Ա. ԿԱՐԱՓԵՏՅԱՆ, Մ.Ա. ՏԱԳԻՆՅԱՆ

Երևանский государственный университет, биологический факультет,  
кафедра биофизики E-mail: biophys\_dep@mail.ru

Показано, что бромистый этидий (EtBr) и Hoechst 33258 (H33258) связываются с ДНК двумя способами: при низкой ионной силе раствора оба лиганда интеркалируют между плоскостями оснований. Дальнейшее увеличение концентрации лигандов в дополнение к интеркаляции приводит к электростатическому взаимодействию. Увеличение ионной силы раствора не влияет на особенности взаимодействия EtBr с ДНК, в то время как в случае H33258 имеет место качественное изменение способа связывания и проявляется ярко выраженная специфичность этого лиганда к АТ-последовательностям полинуклеотида.

*Бромистый этидий (EtBr) - Hoechst 33258 (H33258) – ДНК -  
интеркаляционное взаимодействие*

Ցույց է տրվել, որ էթիդիումի բրոմիդը (ԷԲ) և (H33258)-ը ԴՆԹ-ի հետ կապվում են երկու եղանակներով: Ցածր իոնական ուժով լուծույթներում երկու լիգանդներն էլ կապվում են ինտերկալյացիոն մեխանիզմով (ներդրվում են հիմքերի հարթությունների միջև): Լիգանդների կոնցենտրացիայի մեծացմանը զուգընթաց ինտերկալյացիայի հետ համատեղ ի հայտ է գալիս ԴՆԹ-ի հետ լիգանդների էլեկտրաստատիկ մեխանիզմով փոխազդեցությունը:

Լուծույթի իոնական ուժի մեծացումը չի ազդում ԴՆԹ-ի հետ ԷԲ-ի փոխազդեցության առանձնահատկությունների վրա, մինչդեռ (H33258)-ի դեպքում ԴՆԹ-ի հետ կապման մեխանիզմը որակապես փոխվում է և դրսևորվում է պոլինուկլեոտիդի АТ-հաջորդականությունների նկատմամբ Hoechst-ի վառ արտահայտված սպեցիֆիկությունը:

*Էթիդիումի բրոմիդ (ԷԲ) - Hoechst 33258 (H33258) -  
ԴՆԹ - ինտերկալյացիոն փոխազդեցություն*

It has been shown that EtBr as well as Hoechst 33258 (H33258) binds to DNA by two modes. At low ionic strength of solution both ligands intercalate between planes of bases.

Further increasing of ligands concentration leads to electrostatic interaction as well. The increase in ionic strength of a solution does not influence features of interaction EtBr with DNA while in case of H33258 qualitative change of a binding way takes place and strongly expressed specificity of this ligand to AT-sequences of polynucleotide is shown.

*Ethydium bromide (EtBr) - Hoechst 33258 (H33258) - DNA -  
intercalating interaction*

Изучение конформации ДНК и структурных переходов в ней послужили основой для исследований ее специфического связывания с биологически активными низкомолекулярными веществами - лигандами, без которого не осуществляется ни один важный генетический процесс в клетке. При взаимодействии с ДНК лиганды могут проявлять ярко выраженные биологические и фармакологические свойства, поэтому выявление физико-химических механизмов комплексообразования аналогичных соединений с ДНК важно как для выяснения особенностей различных способов связывания, так и для дальнейшего усовершенствования химического строения и синтеза новых, более эффективно действующих биологически активных веществ на генетический аппарат клетки [1,5,7,8].

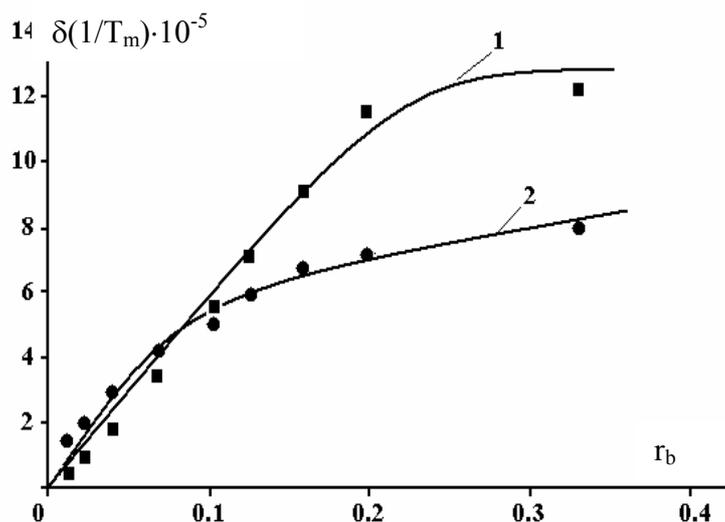
Одним из эффективных путей решения этой проблемы представляется использование лигандов, не связанных между собой непосредственно, а имеющих согласованные комплексообразующие свойства. Одной из таких систем может являться сочетание бромистого этидия (EtBr) и Hoechst 33258 (H33258). Эти лиганды нековалентно связываются с ДНК различными способами. Первый из них – классический интеркалятор, второй - неинтеркалятор, внешнесвязывающийся лиганд. EtBr вклинивается между соседними парами оснований, вызывая значительные изменения структурной организации ДНК [4,6,9,10]. H33258 локализуется в малом желобке ДНК, не меняя интегральность структуры последней [2,3,11]. Различия в характере связывания и специфичности этих лигандов позволят в целом, при их совместном использовании, повысить информативность исследований в сфере изучения термодинамики взаимодействия лигандов с ДНК.

Целью настоящей работы явилось термодинамическое исследование связывания EtBr и H33258 с ДНК, результаты которого важны для понимания механизмов комплексообразования при одновременном взаимодействии этих лигандов с полинуклеотидами. Подобные исследования важны и для дальнейшего изучения совместного взаимодействия лигандов с ДНК, что может дать возможность синтезировать новые соединения с более высокой чувствительностью и специфичностью к субстрату.

**Материал и методика. Препараты.** В работе были использованы ДНК тимуса теленка (т.т.) (среднее GC содержание – 42 %), (высокоочищенная, любезно предоставленная проф. Д.Ю. Ландо), ДНК *Clostridium perfringes* (Cl.perf.) (среднее GC содержание – 31 %) и *Micrococcus lysodeicticys* (M.lys.) (среднее GC содержание – 72 %) (Sigma, США), EtBr, H33258 (“Serva” Германия). Все препараты использованы без дополнительной очистки. Концентрации ДНК и лигандов определяли спектрофотометрически, используя следующие коэффициенты экстинкции:  $\epsilon_{260}=6600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  для ДНК т.т.,  $\epsilon_{258}=7400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  для ДНК Cl.perf,  $\epsilon_{260}=6600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  для ДНК M.lys.,  $\epsilon_{480}=5600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  для EtBr и  $\epsilon_{343} = 42000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  для H33258. Комплексы ДНК с лигандами получали смешением растворов ДНК, EtBr и H33258 в соответствующих пропорциях: соотношение концентраций ДНК и лигандов -  $r_b$  ( $r_b$ =лиганд/ДНК) изменялось в интервале  $0 \leq r_b \leq 0,33$ .

**Приборы.** Плавление ДНК и ее комплексов с лигандами осуществляли на спектрофотометре RYE UNICAM-SP8-100 (Англия). Спектральные измерения проводили в герметически закрытых кварцевых кюветках длиной оптического пути 1 см, которые помещали в термостатируемые ячейки спектрофотометра и нагревали со скоростью 0,25 град/мин. Данные поглощения образцов выводили на программируемый микрокалькулятор Hewlett Packard 97S I/O (США). Измерения каждого образца проводили с 5-кратным повтором, после чего данные усредняли. Ошибка экспериментальных результатов не превышала 5%.

**Результаты и обсуждение.** Известно, что EtBr и H33258 являются стабилизаторами двухцепочечной (дц-) структуры ДНК [3, 5, 6]. Об этом свидетельствует тот экспериментальный факт, что кривые плавления комплексов ДНК с исследуемыми лигандами смещены в область более высоких температур по сравнению с чистой ДНК. На основании полученных нами кривых плавления комплексов ДНК-EtBr и ДНК-H33258 определяли значения изменения температуры плавления  $\delta(1/T_m) = 1/T_0 - 1/T_m$ , (где  $T_0$  и  $T_m$  температуры плавления чистой ДНК и ее комплексов соответственно) комплексов от  $\Gamma_b$  при 2mM и 20mM  $\text{Na}^+$ . На рис. 1 приведены кривые зависимости  $\delta(1/T_m)$  от  $\Gamma_b$  для комплексов т.т.ДНК с EtBr (кр. 1), H33258 (кр. 2) при ионной силе раствора 20mM  $\text{Na}^+$ .



**Рис. 1.** Зависимости изменения температуры плавления комплексов ДНК тимуса теленка с EtBr (1) и H33258 (2) от  $\Gamma_b$  при  $\mu=20\text{mM Na}^+$ ; pH=6.9. Аналогичные кривые получены для комплексов EtBr и H33258 с ДНК Cl. perf. и M. lys.

Как видно из приведенного рисунка, кривые зависимости  $\delta(1/T_m)$  растут во всем интервале изменения  $\Gamma_b$ , что обусловлено стабилизирующим влиянием обоих лигандов на двухцепочечную структуру ДНК (аналогичные результаты получены в случае комплексов EtBr с ДНК т.т. при ионной силе раствора 2mM  $\text{Na}^+$  и ДНК Cl. perf. и M. lys. с EtBr, H33258, при 2mM  $\text{Na}^+$  и 20mM  $\text{Na}^+$  (кривые не приведены).

Другой параметр кривых плавления -  $\delta(\Delta T/T_m^2) = \Delta T/T_m^2 - \Delta_0 T/T_m^2$ , (где  $\Delta T$  и  $\Delta_0 T$  ширина интервалов плавления комплексов и чистой ДНК соответственно) комплексов Н33258 с ДНК тимуса теленка, Cl. perf. и M. lys. при ионной силе раствора 2mM Na<sup>+</sup> растет монотонно во всем интервале изменения  $\gamma_b$  (рис.2, кр. 1,2,3), в то время как аналогичная кривая в случае EtBr имеет колоколообразную форму (рис.2, кр. 4).

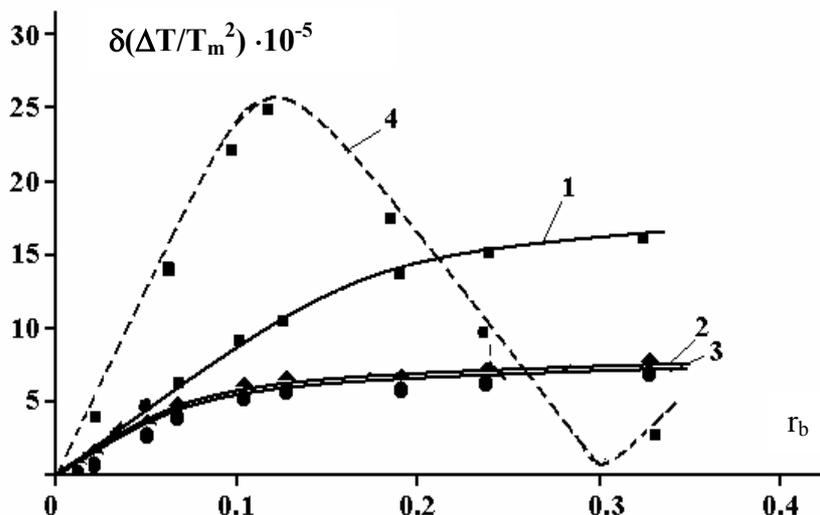


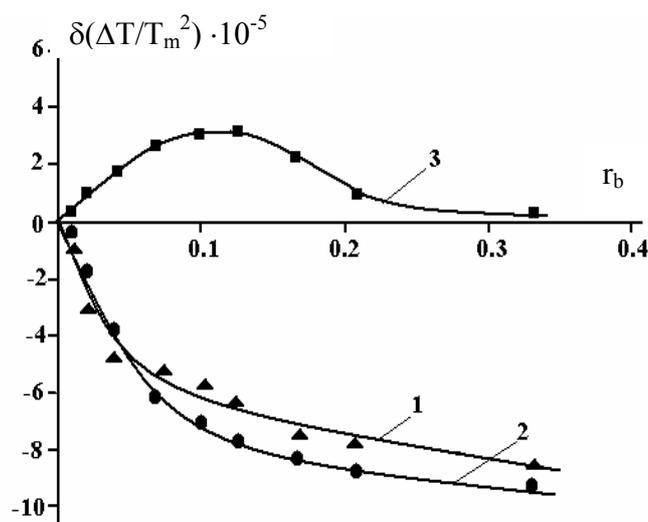
Рис. 2. Зависимости изменения ширины интервала плавления комплексов Н33258 с ДНК т.т. (1), Cl. perf. (2) и M. lys. (3) от  $\gamma_b$  при ионной силе раствора 2mM Na<sup>+</sup>, pH=6.9. Кривая 4 соответствует изменению ширины интервала плавления комплексов ДНК т.т. с EtBr от  $\gamma_b$ .

Известно, что колоколообразная форма кривой зависимости  $\delta(\Delta T/T_m^2)$  от  $\gamma_b$  комплексов ДНК-EtBr обусловлена перераспределением молекул лиганда с денатурированных на еще не денатурированные участки ДНК в ходе перехода спираль-клубок, вследствие чего при низких значениях  $\gamma_b$  процесс плавления затягивается ( $\delta(\Delta T/T_m^2)$  увеличивается) [4]. Из-за ограниченности числа мест связывания для скрепок на дц-ДНК дальнейшее увеличение  $\gamma_b$  приводит к затруднению процесса перераспределения, поэтому и ширина интервала плавления комплексов уменьшается. Полученные нами данные показывают, что ход кривой зависимости  $\delta(\Delta T/T_m^2)$  от  $\gamma_b$  комплексов ДНК-EtBr не претерпевает значительных изменений при десятикратном увеличении ионной силы раствора и слабо зависит от GC-содержания ДНК. Эти результаты находятся в хорошем соответствии с данными спектродетрических, гидродинамических, ЯМР исследований, которые показывают, что EtBr вклинивается между плоскостями пар оснований со слабо выраженной предпочтительностью к GC последовательностям ДНК [1]. В случае же Н33258 при низких значениях  $\gamma_b$   $\delta(\Delta T/T_m^2)$  растет и достигает насыщенности при высоких значениях  $\gamma_b$  (рис.2, кривые 1,2,3). Эти данные указывают на то, что EtBr и Н33258 по-разному связываются с ДНК.

Экспериментальные исследования показывают, что Н33258 предпочтительно связывается в малом желобке В-ДНК с высокой специфичностью к АТ - последовательностям, что связано с формой

молекулы лиганда, которая хорошо совпадает с формой малого желобка ДНК [6]. Однако при определенных условиях Н33258 с ДНК взаимодействует и интеркаляционным способом [3].

В образовании комплексов Н33258 с ДНК, наряду с энтропийным фактором бимолекулярного взаимодействия, существенную роль играют неспецифические электростатические силы [2]. Сопоставление полученных нами данных с литературными приводит к выводу о том, что при низких ионных силах, наряду с интеркаляционным, Н33258 с ДНК связывается и электростатическим способом, не проявляя специфичности к определенным парам оснований ДНК [3]. Об этом свидетельствует еще и тот факт, что изменение GC-содержания ДНК существенно не меняет хода кривой зависимости  $\delta(\Delta T/T_m^2)$  от  $\Gamma_b$  при ионной силе 2mM Na<sup>+</sup> (рис.2, кр. 1,2,3).



**Рис. 3** Зависимости изменения ширины интервала плавления комплексов Н33258 с ДНК Cl. perf. (1) и т.т. (2) от  $\Gamma_b$  при ионной силе раствора 20mM Na<sup>+</sup>, pH=6.9. Кривая 3 соответствует изменению ширины интервала плавления комплексов ДНК т.т. с EtBr от  $\Gamma_b$ .

Увеличение ионной силы на порядок радикально меняет ход кривых зависимости  $\delta(\Delta T/T_m^2)$  от  $\Gamma_b$  комплексов ДНК-Н33258 (рис.3, кр. 1,2). Как видно из рис.3 (кр. 1,2), значения величины  $\delta(\Delta T/T_m^2)$  в случае комплексов Н33258 с ДНК Cl. perf. и т.т. принимают отрицательные значения на всем интервале изменения  $\Gamma_b$ . Этот факт указывает на предпочтительное связывание Н33258 с AT-последовательностями ДНК, вследствие чего разница между температурами плавления AT- и GC-богатых участков (TAT-TGC) уменьшается. Поэтому ширина интервала плавления комплексов уменьшается по сравнению с  $\Delta_0 T$  чистой ДНК. В работах [2,10,11] показано, что специфичность Н33258 к AT-парам оснований обусловлена большой электроотрицательностью этих последовательностей в малом желобке ДНК и степенью упорядоченности молекул связанной воды. Увеличение ионной силы приводит к увеличению гидратированности AT-последовательностей малого желобка ДНК и

следовательно способствует проявлению специфичности гидрофобного лиганда H33258 к АТ-последовательностям.

Таким образом, основываясь на результатах наших экспериментов, можно заключить:

1. EtBr и H33258 связываются с ДНК более чем одним способом: при низкой ионной силе оба лиганда интеркалируют между плоскостями оснований. Дальнейшее увеличение концентрации лигандов приводит в дополнение к интеркаляции к электростатическому взаимодействию их с отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК;
2. Увеличение ионной силы раствора не влияет на особенности взаимодействия EtBr с ДНК, в то время как в случае H33258 ярко выражается специфическое связывание этого лиганда с АТ-последовательностями полинуклеотида.

В заключении необходимо отметить, что данные перехода спираль-клубок ДНК-лиганд комплексов не могут претендовать на абсолютность какой-либо модели или механизмов комплексообразования, которые в реальности могут быть более сложными, чем мы предполагаем. Однако сопоставление полученных нами данных с результатами исследований флуориметрическим, спектрофотометрическим и другими методами позволило нам установить некоторые важные особенности связывания исследованных лигандов с ДНК.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кантор И., Шиммель П. Биофизическая химия. М., Мир., 3, с. 370, 1985.
2. Chaires J.B. Current Opinion in Struct. Biology, 8, p.314-320, 1998.
3. Ismail M.A., Roger P.M., Roger A. J. Biomol, Struct. Dyn. 11, p. 335-348, 2000.
4. Karapetian A.T., Mehrabian N.M., Terzikian G.A., Vardevanian P.O., Antonian A.P., Borisova O.F., Frank-Kamenetskii M.D. J. Biomol. Struct. Dynam., 14, p.275-283, 1996.
5. Krautbauer R., Pope L.H., Schrader T.E., Allen S., Gaub H.E. FEBS lett., 510,3, p.154-158, 2002.
6. Lane A.N., Jenkins T.C. Quar. Reviews of Biophysics, 33, 3, p.255-306, 2000.
7. Sibirtsev V.S. Biochemistry, 70, 4, p.449-457, 2005.
8. Tsuboi M., Benevides J.M., Thomas G.Jjn. Biophys. J., 92, 3, p.928-934, 2007.
9. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Manukian G.A., Karapetian A.T. Experimental and Molecular Medicine, 33, 4, p.205-208, 2001.
10. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Davtyan H.G., Boyajyan Z.R., Karapetyan A.T. J. of Biomol. Struct. & Dynam., 22, 4, p. 465-470, 2005.
11. Vardevanyan P.O., Antonyan A.P., Parsadanyan M.A., Pirumyan K.V., Muradyan A.M., Karapetian A.T. Biomol. Struct. Dyn., 25, 6, p.641-646, 2008.

Поступила 03.03.2009.



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• *Экспериментальные и теоретические статьи*  
•Experimental and Theoretical articles•

**Biolog. Journal of Armenia, 2 (61), 2009**

## **DETECTION OF GENETICALLY MODIFIED PLANTS BY USING PCR**

**YESAYAN A.H., GRIGORYAN K.V., HOVHANNISYAN N.A.**

*Department of Ecology and Nature Protection, Faculty of Biology,  
Yerevan State University*

*E-mail: [ayesayan@ysu.am](mailto:ayesayan@ysu.am), [bionellibiotech@yahoo.com](mailto:bionellibiotech@yahoo.com)*

The PCR method for qualitative detection of GMOs was optimized. Primers, namely 35S (35S-promoter, originated from cauliflower mosaic virus), NOS (nopaline synthase-terminator, derived from *Agrobacterium tumefaciens*), were used to identify the GM maize and GM soybeans. The data further confirm that the PCR methods can be effectively used to differentiate GM soybeans and maize from non-GM products.

*GMOs – PCR – maize - soybean*

Գենետիկորեն վերափոխված օրգանիզմների (ԳՎՕ) իդենտիֆիկացման համար օպտիմացվել է պոլիմերազային շղթայական ռեակցիայի (ՊՇՌ) մեթոդը: Կիրառվել են 35S պրոմոտերի (35S-պրոմոտեր ծաղկակաղամբի մոզայկայի վիրուսից) և NOS տերմինատորի (նոպալին սինթազի տերմինատոր *Agrobacterium tumefaciens*-ից) պրայմերները: Ստացված արդյունքները վերահաստատում են պոլիմերազային շղթայական ռեակցիայի մեթոդի կիրառելիությունը գենետիկորեն վերափոխված օրգանիզմների իդենտիֆիկացման համար:

*ԳՎՕ – ՊՇՌ - եգիպտացորեն - սոյա*

Адаптирован метод ПЦР идентификации генетически модифицированных организмов (ГМО). Используются праймеры для 35S промотера (35S-промотор из вируса мозаики цветной капусты) и NOS терминатора (терминатор синтазы нопалина *Agrobacterium tumefaciens*). Полученные результаты подтверждают эффективность применения ПЦР метода для идентификации ГМ кукурузы и сои.

*ГМО – ПЦР – кукуруза - соя*

According to the EU legislation, the genetically modified organisms (GMOs) are defined as “organisms, in which the genetic material has been altered in a way that does not occur naturally by mating and/or natural recombination” [5].

Since the first experiments on tobacco in the 1980's, several plant species, including both monocots and dicots [3], have been genetically modified to improve specific characteristics (e.g. yield, quality, pest resistance), through adding one or more useful character previously not present in the non-modified counterparts. Such changes are generally obtained by the insertion of one or more genes using a range of available techniques defined as “gene transfer technologies” [8, 9, 20, 21]. These technologies include the following three techniques:

- 1) Recombinant DNA techniques using vector systems;
- 2) Techniques involving the direct introduction into an organism of heritable material by micro-injection, macro-injection and micro-encapsulation;
- 3) Cell fusion (including protoplast fusion) or hybridization techniques where live cells with new combinations of heritable genetic material are formed through the fusion of two or more cells by means of methods that do not occur naturally.

Genetic modifications are carried out by the insertion of several smaller pieces of DNA from various sources, into the genome of the plant to be modified. The insert is a combination of several small pieces of DNA. In its easiest format the gene construct composes of three elements: 1) the promoter functions as an on/off switch for when and where the inserted or modified gene is active in the recipient plant; 2) the inserted/modified gene (structural gene) encodes a specifically selected trait; 3) the terminator functions as a stop signal for transcribing the inserted/modified gene. In addition, the marker genes may be present to distinguish GMOs from non-GMO during development.

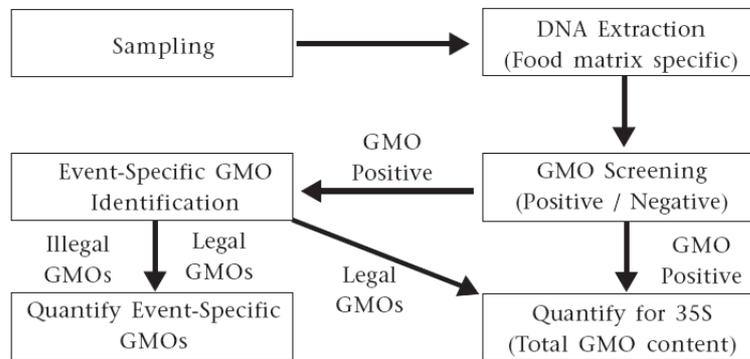
Commercial cultivation of genetically modified (GM) crops has been growing since 1996, reaching from 114,3 million hectares in 2007 up to 125 million hectares in 2008. The USA (63%), Argentina (21%), Canada (6%) and Brazil (4%) are the countries with largest areas of GM crops [11]. Those countries are called mega biotech countries and accounted for 99% of the total GMO-growing area. The principal GM crops are four crop plants essentially growing since 13 years. There are almost 65,8 % of GM soybeans, followed by 30% of maiz, 12% cotton, and than some 5% are oilseed rape, and two traits in those plants including resistance to herbicides and insect damage [11]. In 2008, the stacked double and triple traits occupied a larger area 22% of global biotech crop area than insect resistant varieties at 15% [11]. But, great diversity of traits and genetically engineered organisms (plants, animals and micro-organisms) are under development. Most promising in terms of expected profits are pharmaceutical traits (enzymes, vaccines, etc.), industrial products especially these days for agro-fuels, but also other products (e.g. starch from amylopectin producing potatoes, etc.). So, it is possible to assume that GMOs play a positive role in sustainable agriculture, forestry, aquaculture, bioremediation, and environmental management, both in developed and developing countries. There are growing concerns about the impact of GM crops on the environment such as vertical or horizontal gene flow, related ecological impacts especially on non-target insects, effects on biodiversity and the impact of presence of GM material on human health, which lead to the need for risk assessment and

management (Haslberger, 2006). However, all nations have specific rules under which new biotech products are evaluated for these risks and approved before entering the market. In EU particularly, authorization to release a GM organism in the environment is regulated by Directive 2001/18/EC [5], and only approved GM cultivars are allowed to be cultivated. Furthermore, the rules for placing into the market food or feed consisting of or containing GMO are stipulated by Regulations (EC) No 1829/2003 [6] and (EC) No 1830/2003 [7]. EU legislation requires detection and monitoring of GMOs to enable safety assessment and enforce labeling, which leads to a high demand for reliable and easy to perform GMO detection and identification methods.

In the Republic of Armenia the biosafety-related activities started in 1993, when the National Assembly of RA ratified the Convention on Biological Diversity. The national and worldwide importance of biosafety in Armenia is conditioned by a number of factors. Particularly the territory of Armenia is the center of origin for different flora and fauna species, Armenia is located on the cross-road of migration routs for a number of animal and bird species, and is a habitat for some of them. In order to fulfill biosafety-related obligations under the Cartagena Protocol to the Convention on Biological Diversity, Armenia has recognized importance of pre-market safety testing and post-market testing in support of monitoring of GMOs/LMOs, such as tests for the presence of transgenic DNA or foreign proteins.

Analytical methods to detect (qualitative or yes/no answer) and quantify (percentage content) GMOs fall into two main categories: protein analysis to detect the specific protein expressed by the transgene in the GMO through the use of ELISA (enzyme-linked immunosorbent analysis) and lateral flow strip tests [17,18] or DNA analysis to detect the specific transgene in the GMO or specific elements associated with the transgene [12,16]. Significant progress has been achieved in the development of genetic analysis methods, such as high technological methods based on the use of PCR. The PCR-based methods are the most sensitive, reliable and easy to perform [2, 12]. Like all PCR techniques, GMO testing tools are designed to target and visualize the presence of specific transgene DNA fragments in plants and foods. Most of the early qualitative and semi-quantitative methodologies have been designed to target regulatory DNA sequences (promoters, terminators) common in many transgenic cultivars [14, 19]. By testing for the presence of these fragments, especially the cauliflower mosaic virus (CaMV) 35S promoter and the NOS terminator from *Agrobacterium tumefaciens* that are common to most of the GMOs authorized by EU, the technique is versatile in screening for many different transgenic cultivars in one step [22].

The most common procedures including GMO detection, identification and quantification begin with sampling followed by DNA extraction and GMO screening/detection (Fig. 1).



**Fig.1.** Scheme for DNA based GMO detection, identification and quantification

1) Screening. The purpose of screening is to determine whether a sample contains GMOs. For this objective, a screening method can be used resulting in a positive/negative statement. The screening methods are usually based on the polymerase chain reaction (PCR).

2) Event specific identification. If there is a positive detection of GMOs, further analysis is required to discover which GMO it is and thus whether the GMO is approved within the EU. The only analytical methods, which unequivocally may enable identification of each GMO variety are methods based on PCR.

3) Quantification. If a product has been shown to contain GMO(s), the next step is to assess compliance with the 1% threshold level (or the 0,3 or 0.5% level, respectively for seeds) by the determination of the exact amount of each of the GMOs present in the sample. Typically quantification is performed using semi-quantitative PCR or Real-time PCR.

The objective of the study was to optimize the procedures for the detection of genetically modified maize and soybean. At first, DNA extraction method was checked and optimized, followed by the optimization of PCR conditions.

**Materials and methods.** Plant material. 10 samples of maize and soybean seeds where obtained from the markets in Yerevan.

DNA extraction. Cotyledon samples were excised with a 6 mm diameter cork borer. The extraction of DNA was done by CTAB method described in PN-EN ISO 21571:2006 [4]. To enhance the yield of genomic DNA from highly complex matrices the RNase 10 mg/ml and proteinase K 20 mg/ml treatments were used.

The DNA extraction was carried out under sterile conditions in flow chamber. To avoid contamination single-use equipment and decontamination solutions were used during sample preparation.

PCR amplification and product analysis. The 48  $\mu$ l of PCR mix contained 1X 10x PCR Buffer, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.025 U/ $\mu$ l Taq, 0.2 mM dNTPs, 0.5  $\mu$ M pM each primer. PCR amplification was carried out using Apmly 25 termalcycler, Biokom. Amplification conditions for PCR 35S and NOS promoter were 95°, 3 min; then 95°, 25 sec; 62°, 30 sec; 72°, 45 sec for 50 cycles and a final extension of 72°, 7 min.

Oligonucleotide PCR primers for 35S promoter and NOS terminator were kindly received from the University of Milan. All reactions were optimised as regards primers, MgCl<sub>2</sub>, dNTP's, and polymerase concentration. Moreover, thermal profile was also optimised due to the profile of Amply 25 thermocycler

*35S promoter:* p35S-cf3 - 5'-CCACGTCTTCAAAGCAAGTGG-3'

p35S-cr4 - 5'-TCCTCTCAAATGAAATGAACTTCC-3'

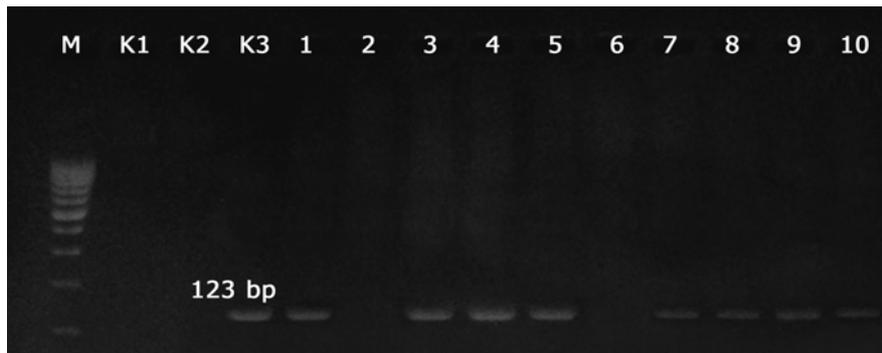
*NOS terminator:* HA-nos 118-f - 5'-GCATGACGTTATTTATGAGATGGG-3'

HA-nos 118-r- 5'-GACACCGCGCGCGATAATTTATCC-3'

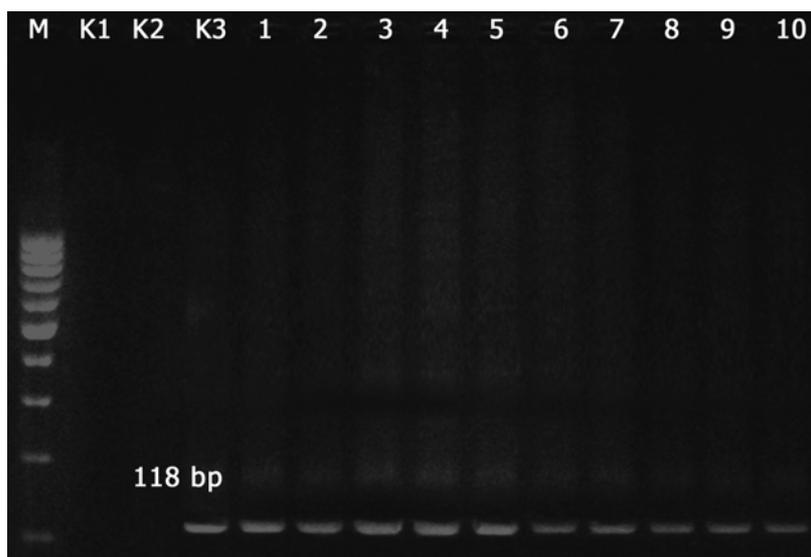
As a positive control transgenic DNA was used containing no less than 100 samples per mkl of 35S promoter and NOS terminator (Syntol, Russia). As negative control DNA from reference material (maize and soybean DNA with 0% of GM, University of Milan). Negative control of the mastermix, in which water is used instead of DNA also was used .

PCR product analyses were visualized by UV transillumination on a 1.5 % agarose and TBE buffer. The gel was stained with ethidium bromide. Size markers (100 bp ladder) were electrophoresed in adjacent wells of the gel to allow accurate size determination.

**Results and Discussion.** Two primers, 35S and NOS as listed below were selected for PCR analysis. In 2008, 80% commercial GM crops were found to contain 35S-promoter or NOS-terminator in their inserted genes. Theoretically, using the primers specific to the above two genes for PCR analysis allows the identical PCR products to be amplified and therefore the GMOs firstly can be detected by using this method [15]. The PCR products with size 123bp (from 35S) and 118bp (from NOS) were obtained, but no PCR products are found from regular maize and soybean (negative control, 0% GMO content). In 8 of 10 samples of maize the 35S promoter was amplified, from which in 5 samples markers for NOS genes were identified also (Fig. 2). In two samples there weren't amplification products. In our study in all samples of soybeans studied, 35S promoter and NOS terminator were successfully amplified (Fig. 3). The results obtained suggest that studied samples are different lines of GM maize and GM soybeans.



**Fig.2.** The amplification of the p35S-cf3/p35S-cr4 primers for CaMV35S promoter using genomic DNA of maize. M – DNA ladder (100 bp), K1 – Negative control with mastermix without DNA, K2- Negative control with reference material (0% of GMO), K3 – positive control (35S promoter), lanes 1-10 sample of maize seeds.



**Fig. 3.** The amplification of the HA-nos118-f/HA-nos118 primers for NOS terminator using genomic DNA of soybean. M – DNA ladder (100 bp), K1 – Negative control with mastermix without DNA, K2- Negative control with reference material (0% of GMO), K3 – positive control (NOS terminator), lanes 1-10 sample of soybean seeds.

From the literary data it is known that PCR analysis with 35S and NOS primers could detect as low as 0.1% GM structures in GM soybeans and maize [15]. According to the literature, the NOS primer is less sensitive in GMO detection among the studied primers [13, 15]. So, primers for 35S promoter are recommended to be used for detection of GM plants at the first stage of screening of GMOs.

So, the results obtained shows that CTAB method used and optimized for DNA extraction in this study has been reported to yield a higher quality DNA extract. PCR conditions and profiles for identification of these very important genetic structures of GM crops (35S and NOS) important for early identification of GMOs were optimized. There is a need for further event specific identification of GM inserts and their quantification in studied samples.

## REFERENCES

1. Akritidis P., Pasentsis K., Athanasios S., Photini V., Polidoros N. *Electronic Journal of Biotechnology*. 11, 2, 1-8, 2008.
2. Anklam E., Heinze P., Kay S., Van Den Eede G. *Journal of AOAC International*. 85, 3, 809-815, 2002.
3. Birch R. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 48, 297–326, 1997.
4. *EN ISO 21571*. Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products - Nucleic acid extraction, 2005.

5. *European Commission 2001*. Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. Official Journal, *106*, 1-37, 2001.
6. *European Union*. Regulation (EC) No. 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed Official Journal of the European Union. *46*, L268, 1-23, 2003.
7. *European Union*. Regulation (EC) No. 1830/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC. Official Journal of the European Union. October *46*, L268, 24-28, 2003.
8. *Gelvin S*. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology *51*, 223–256, 2000.
9. *Hansen G., Wright M*. Trends in Plant Science *4*, 226-231, 1999.
10. *Haslberger A*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, *54*, 9, 3173-3180, 2006.
11. *James C*. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2008. *ISAAA Brief No. 39*. ISAAA: Ithaca, NY, 2008.
12. *Jasbeer K., Ghazali F. M., Cheah Y. K., Son R*. ASEAN Food Journal *15*, 1, 1-25, 2008.
13. *Lin H. Y., Chiueh L. C., Shih D. Y.* J. Food Drug Anal. *8*, 200-207, 2000.
14. *Lipp M., Anklam E., Brodmann P., Pietsch K., Pauwels J*. Food Control., *10*, 379-383, 1999.
15. *Lipp M., Brodmann P., Pietsch K., Pauwels J., Anklam E.* J. AOAC Int. *82*, 923-928, 1999.
16. *Meyer R*. Food Control. *10*, 391-399, 1999.
17. *Stave J*. Food Control. *10*, 367-374, 1999.
18. *Stave J*. Journal of AOAC International. *85*, 3, 780-786, 2002.
19. *Tozzini A., Martinez C., Lucca F., Rovere C., Distefano A., Del va M., Hopp E*. Electronic Journal of Biotechnology. *3*, 2, Available from Internet: <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol2/issue3/full/3/index.html>. ISSN 0717-3458, 2000.
20. *Tzfira T., Citovsky V*. Trends in Cell Biology *12*, 121–129, 2002.
21. *Van den Eede G., Aartsb H., Buhkc H-J, Corthierd G., Flinte H., Hammesf W., Jacobseng B., Midtvedth T., van der Vossen J., von Wrightj A., Wackernagelk W., Wilcksl A*. Food and Chemical Toxicology *42*, 1127–1156, 2004.
22. *Wolf C., Scherzinger M., Wurz A., Pauli U., Hubner P., Luthy J*. European Food Research and Technology. *210*, 5, 367-372, 2000.

Received 01.04.2009



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and Theoretical articles•

Биол. журн. Армении, 2 (61), 2009

## АВТОМАТИЗИРОВАННАЯ МНОГОКАНАЛЬНАЯ ИОНОМЕТРИЧЕСКАЯ СИСТЕМА

Т. Е. СЕФЕРЯН<sup>1</sup>, В. Л. ЭЛБАКЯН<sup>2</sup>

Ереванский государственный университет,  
<sup>1</sup>кафедра биофизики,  
<sup>2</sup>кафедра оптики

Ионометрические методы исследования нашли широкое применение в разных областях биологии, химии и физики. В данной работе представлена измерительная система, разработанная в среде графического программирования NI LabVIEW для одновременной регистрации кинетики активности от одного до пяти различных ионов. Использование этой системы позволит исследователям избежать дорогостоящей модернизации приборов, одновременно получая более удобную информативную исследовательскую систему.

*Ионометрия - NI LabVIEW - многоканальные измерения - одноканальные ионометры - автоматизация эксперимента*

Իոնաչափական ուսումնասիրման մեթոդները լայն կիրառություն են գտել կենսաբանության, քիմիայի և ֆիզիկայի տարբեր բնագավառներում: Այս աշխատանքում ներկայացված է **NATIONAL INSTRUMENTS LabVIEW** գրաֆիկական ծրագրավորման միջավայրում գործող համակարգ, որը թույլ է տալիս միաժամանակ գրանցել մեկից հինգ տարբեր իոնների ակտիվության կինետիկան: Այս ծրագրի կիրառումը թույլ է տալիս հետազոտողներին խուսափել սարքավորումների թանկարժեք մոդերնիզացումից՝ միաժամանակ ստանալով առավել հարմարավետ, ինֆորմատիվ հետազոտական համակարգ:

*Իոնաչափում - NI LabVIEW- բազմուղի չափում- միուղի իոնաչափ- գիտափորձի ավտոմատացում*

Ionometric methods are widely used in various aspects of biology, chemistry and physics. In this paper we present a measuring device programmed in NI LabVIEW graphical environment for simultaneous measurement of the kinetics of activity of up to five different ions. The use of the presented device allows researchers avoiding expensive equipment upgrades, and getting a more convenient, informative measurement method.

*Ionometry- NI LabVIEW- multi-channel measuring- single-channel ion meters- automatization of experiment*

Ионометрические методы, имея большую чувствительность и будучи информативными методами исследования, в настоящее время нашли широкое применение в биологических и химических исследованиях. Как пример отметим исследование кинетики изменения концентрации ионов в мембранных процессах (мембранная проницаемость Na, K, Ca, Cl ионов, транспорт H и т.д.) [2].

Определение активности ионов обычно осуществляется измерением электродвижущей силы гальванического элемента, состоящего из ионоселективного и сравнительного электродов [1]. Величина электродвижущей силы измеряется ионометром, и кинетика ее изменения регистрируется с помощью самопишущих потенциометров.

В нашей время широко распространенные ионометры могут одновременно регистрировать один параметр, реже три. Однако часто в экспериментах нужно одновременно регистрировать несколько показателей, и приходится отказываться от существующих одноканальных или трехканальных ионометров.

В нашей работе представлен автоматизированный комплекс, позволяющий регистрировать кинетику активности от одного до пяти различных ионов на основе персонального компьютера, устройства сбора данных (DAQ) и одноканальных ионометров любой модели, имеющих аналоговый выход сигнала.

Комплекс работает под управлением программы, разработанной в среде программирования National Instruments LabVIEW, и позволяет одновременно вести измерения по восьми каналам, записывая результаты в виде таблицы и выводя их в виде графиков на монитор компьютера, а также архивировать полученные данные в формате Text Document [8, 7].

Блок-схема измерительного комплекса приведена на рис. 1, а на рис. 2 приведена фронтальная панель программного интерфейса.

Подключение многофункционального блока сбора данных (DAQ) выполнено согласно техническим требованиям NATIONAL INSTRUMENTS LabVIEW [6].

Важной особенностью программного обеспечения является наличие функции калибровки измерительных каналов. Работа функции калибровки заключается в том, что для каждого канала определяются коэффициенты сглаживающей калибровочной кривой (полином второй степени), полученной для четырех стандартных растворов. Полученные коэффициенты могут быть сохранены в файле установок системы для их использования в последующих измерениях. Процедуру калибровки желательно проводить периодически и обязательно при каждой замене электрода.

В программе также предусмотрена система для маркирования различных действий, выполняемых исследователем в процессе измерений, т.е. введенный комментарий добавляется к соответствующему элементу серии измерений (столбец 8 на рис. 3), также как и время выполнения измерения (столбец 7).

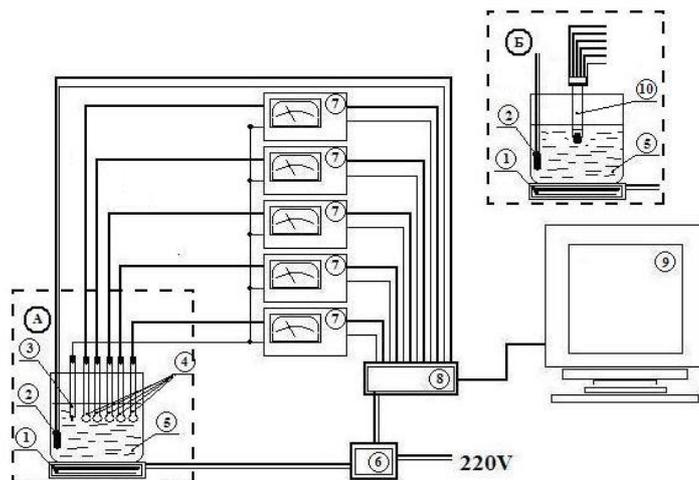


Рис. 1. Блок-схема измерительного комплекса.

- А - вариант с одиночными ионоселективными электродами,  
 Б - вариант с комбинированным электродом, 1 - нагреватель-магнитная мешалка,  
 2 - терморезистор, 3 - сравнительный электрод, 4 - ионоселективные электроды,  
 5 - экспериментальная жидкость, 6 - реле, 7 - ионометр,  
 8 - устройство сбора данных (DAQ), 9 - персональный компьютер,  
 10 - комбинированный электрод.

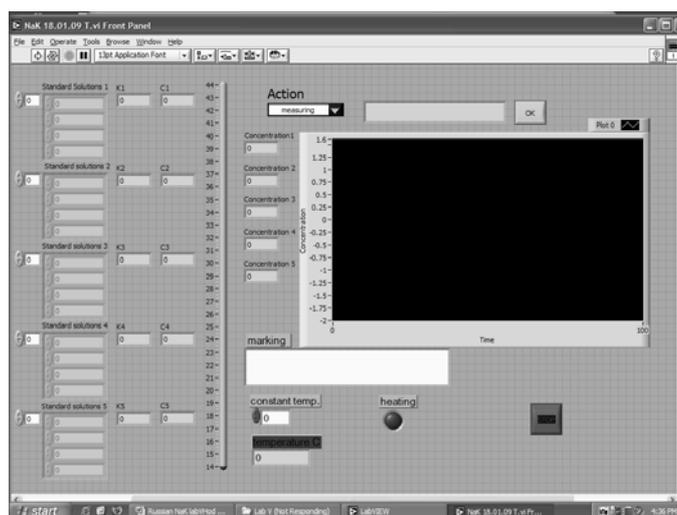


Рис. 2. Фронтальная панель программы.

Программа имеет также возможность регулирования и записи температуры. Измерение температуры выполняется с помощью термистора, находящегося в исследуемом растворе. Сигнал, получаемый с термодатчика, сравнивается с заданным значением температуры, и управляющий сигнал (с DAQ) подается на реле управления нагревателем.

1	2	3	4	5	6	7	8
0.010000	0.053200	0.042000	-0.323213	-0.321200	-23.000000	19:07:47	text
0.010000	0.053200	0.042000	-0.323213	-0.321200	-23.000000	19:07:53	text
0.010000	0.053200	0.042000	-0.323213	-0.321200	-23.000000	19:07:59	text
0.010000	0.053200	0.042000	-0.323213	-0.321200	-23.000000	19:08:04	text
0.010000	0.053200	0.042000	-0.323213	-0.321200	-23.000000	19:08:10	text
0.010000	0.053200	0.042000	-0.323213	-0.321200	-23.000000	19:08:16	text
0.010000	0.053200	0.042000	-0.323213	-0.321200	-23.000000	19:08:22	text
0.010000	0.053200	0.042000	-0.323213	-0.321200	-23.000000	19:08:28	text
0.015000	0.015320	0.024200	-0.032321	-0.032120	-23.000000	19:08:51	text
0.015000	0.015320	0.024200	-0.032321	-0.032120	-23.000000	19:08:57	text
0.015000	0.015320	0.024200	-0.032321	-0.032120	-23.000000	19:09:02	text

Рис. 3. Цифровой вид регистрации.

1; 2; 3; 4; 5 - регистрируемые параметры, 6 - температура, 7 - время измерения, 8 - комментарий к соответствующему измерению.

Один из фрагментов блок-диаграммы программы, описанный в настоящей работе, приведен на рис. 4.

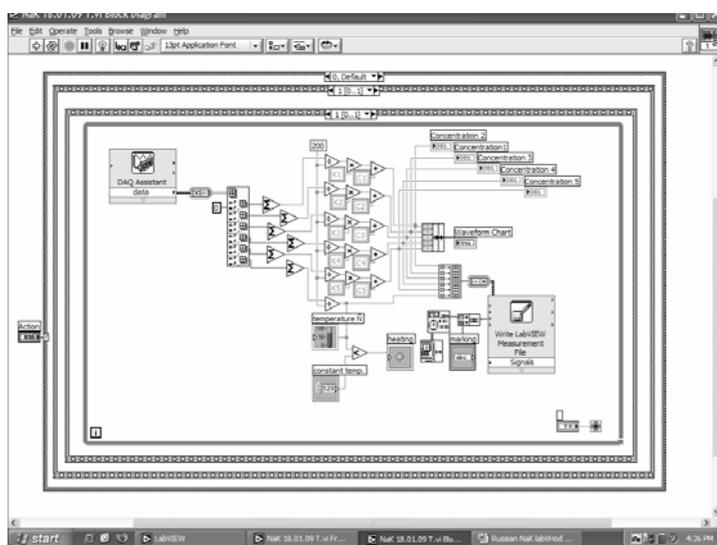


Рис. 4 Основная часть блок-диаграммы программы.

Скорость сбора данных экспериментальной установки определяется следующим уравнением:

$$V = f_{DAQ} / (N \times n),$$

где V- скорость,  $f_{DAQ}$  - максимальная частота блока сбора данных (DAQ), N- число каналов, n - окно усреднения. Для DAQ6008  $V = 8,33$  изм./с .

В качестве демонстрации приводится пример записи кинетики изменения активности ионов Cl, Na и H в суспензии липосом, при воздействии постэлектролизных свободных радикалов (рис. 6). Суспензия липосом была получена ультразвуковой обработкой суспензии всего набора фосфолипидов, выделенных из мозга крупного рогатого скота, в концентрации 0,01 мг/мл в растворе 0,9 mM NaCl [3].

Для уменьшения концентрации Na, Cl и H в среде за пределами липосом полученная суспензия была разбавлена дистиллированной водой в соотношении 1:1.

В качестве среды для индукции свободных радикалов был взят 0,1 М раствор KCl [3]. Индуцирование свободных радикалов производилось точечными платиновыми электродами, погруженными в раствор KCl при постоянном напряжении 15 В и силе тока 250 мА [5].

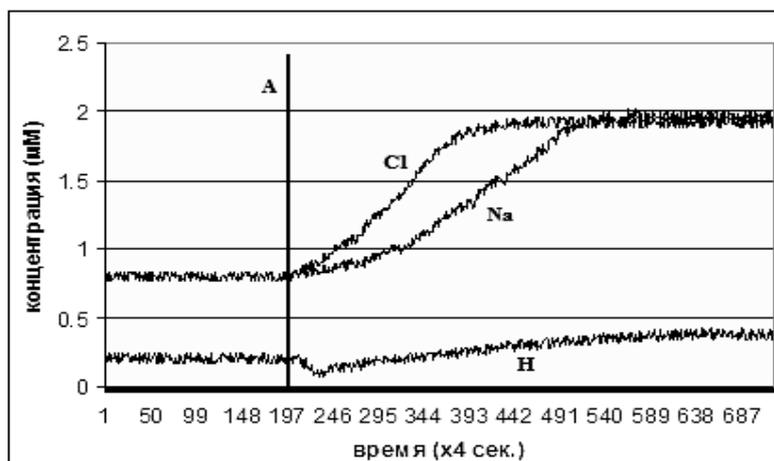


Рис. 6. Запись кинетики изменения концентрации ионов Cl, Na и H в суспензии липосом при введении в среду постэлектролизных свободных радикалов.

А- момент введения в среду постэлектролизных свободных радикалов.

При добавлении 3,33 мл постэлектролизного раствора на 20 мл суспензии липосом наблюдается увеличение активности ионов Cl, Na и незначительно ионов H.

В предыдущих работах нами было показано, что постэлектролизные свободные радикалы вызывают перекисное окисление липидов мембран, тем самым увеличивая проницаемость на несколько порядков, что в свою очередь может привести к нарушению целостности мембран [3, 4].

В данном случае воздействие постэлектролизных свободных радикалов вызвало увеличение проницаемости мембран липосом и, как следствие этого, увеличение концентрации ионов Cl, Na, наблюдаемое на рис. 6.

В сравнении с аналогичными системами измерения известных фирм, таких как Hanna Instruments USA, Инфраспек-Аналит Россия и др., данная система имеет следующие преимущества.

- Удобство эксплуатации - код программы данной системы открыт, и исследователь имеет возможность изменить систему для эксперимента. В системе используется универсальный USB порт для подключения к компьютеру. Аналогичные системы либо не имеют возможности соединения с компьютером, либо не имеют возможности изменять программное обеспечение.

• Информативность – в отличие от аналогичных систем, данная система дает возможность одновременно регистрировать кинетику активности от одного до пяти различных ионов, с одновременным графическим выводом, обеспечивая до 8 измерений в секунду по каждому каналу с окном усреднения в 200 точек.

• Доступность - аналогичные системы стоят на порядок дороже.

Учитывая вышесказанное, можно заключить, что использование данного измерительного комплекса позволит исследователям не приобретать дорогостоящего оборудования, одновременно получая более удобную и информативную исследовательскую систему.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Թոչունյան Ա., Բաղրամյան Կ., Փոլադյան Ա.*, Կենսաբանական թաղանթների կենսաաֆիզիկա և կենսաէներգետիկա: Լաբորատոր աշխատանքների ձեռնարկ: Երևան, Կրթական բարեփոխումների կենտրոն, 2003:
2. *Թոչունյան Ա.*, Կենսաբանական թաղանթներ, Երևան, Ջանգակ-97, 2001:
3. *Սեֆերյան Թ.*, Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 61, 1, 34-39, 2009:
4. *Սեֆերյան Թ., Ջաբարյան Ա.* □Էլեկտրաինդուկցված ազատ ռադիկալների ազդեցությունը արհեստական երկշերտ լիպիդային թաղանթների վրա □ Միջազգային ուսանողական կենսաբանական գիտաժողով, 2-4 Մարտի, Եր., 2009:
5. *Боголюбов Б.М., Пономаренко Г.Н.* Общая физиотерапия. С-Петербург, СЛП, 1998.
6. *Дж.Тревис* “LabVIEW для всех”, М., ДМК ПРЕСС, 2003.
7. *Жарков Ф.П.* “Использование виртуальных инструментов”, М., СОЛОН-Р, 1999.
8. *Пейч Л.И., Точилин Д.А., Поллак Б.П.* “LabVIEW для новичков и специалистов”, М., Горячая линия – Телеком, 2004.

*Поступила 06.03.2009.*



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• Экспериментальные и теоретические статьи  
•Experimental and Theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 2 (61), 2009

## НЕЙРОННАЯ АКТИВНОСТЬ ГИППОКАМПА, ОБУСЛОВЛЕННАЯ РАЗЛИЧНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТЬЮ ЗВУКОВОГО РАЗДРАЖИТЕЛЯ

В.А. ТУМАНЯН, И.Н. КОВАЛЬ, Н.Э. АКОПЯН

*Центр зоологии и гидроэкологии НАН РА*

Исследовалась импульсная активность нейронов гиппокампа у кроликов в процессе выработки оборонительного условного рефлекса на звуковой сигнал. Обсуждается зависимость этой активности от сигнального значения условного раздражителя.

*Условный рефлекс - нейронная активность*

Ուսումնասիրվել է հիպոկամպի բջիջների իմպուլսային ակտիվությունը ճագարների մոտ պաշտպանական ռեֆլեքսի մշակման ընթացքում: Քննարկվում են այդ ակտիվության յուրահատկությունները՝ կախված լսողական գրգռիչի կենսաբանական նշանակությունից:

*Պայմանական ռեֆլեքս - նեյրոնային ակտիվություն*

The hippocampal neuronal activity was investigated in the rabbits during the conditioning of the avoidance behaviour toward the auditory signal. The dependence of this activity on the biological significance of the sound is discussed.

*Conditioned reflex - neuronal activity*

В наших последних работах [4,5] приводятся данные о зависимости электрической активности нейронов слуховой области височной коры от параметров действующего слухового раздражителя. Импульсная активность была различной в зависимости от физических характеристик (сила, частота) акустического раздражителя и биологической значимости звукового сигнала. В последнем случае в оборонительном условном рефлексе, вырабатываемом на звук у кролика, регистрировались различия в количестве реагирующих нейронов, разные латентные периоды и типы реагирования в зависимости от стадии выработки условнорефлекторной реакции на начальном этапе, стадии упрочения и стабилизации. Отличались также статистические и информационные характеристики нейронных потоков по мере нарастания сигнальной значимости условного раздражителя [3,4].

В настоящем сообщении приводится анализ импульсной активности нейронов гиппокампа в тех же экспериментальных условиях, в каких изучались нейроны височной коры. Выбор гиппокампа в качестве объекта исследования не был случайным, поскольку структурно он является вдавлением в медиальную область височной коры, а функционально будучи “сердцем лимбической системы” [6], принимает активное участие в анализе сенсорной информации и в механизмах формирования условно-рефлекторного поведения [1,6].

**Материал и методика.** Опыты проводили на кроликах, частично ограниченных в движениях в условиях хронического опыта. Выработывался условный двигательный рефлекс сгибания лапы на звук при действии электрокожного раздражения (параметры тока – частота 60 Гц, амплитуда 25-40 В, длительность каждого импульса 0,2 мс).

Внеклеточную импульсную активность нейронов отводили стеклянными микропипетками (диаметром 2,5-3 мкм), заполненными 2,5-3 М раствором КСІ. При исследовании нейронов использованы микропипетки с удлинённым конусом (около 15 мм).

Достоверность полученных данных оценивали по общепринятым критериям [2].

Анализовалась импульсная активность нейронов гиппокампа на разных стадиях выработки и стабилизации условного рефлекса [3].

**Результаты и обсуждение.** Было выявлено, что нейронная активность в гиппокампе была различной в зависимости от стадии выработки условного рефлекса. На начальной стадии на звуковой раздражитель реагировали 153 клетки, из них 45,2% отвечали возбуждением, 54,8 % торможением ( $p < 0,05$ , рис.1, табл.1).

По мере упрочения двигательного навыка возбудительная реакция нейронов гиппокампа была менее выражена по сравнению с начальным этапом обучения. У клеток с тормозным типом реакции наблюдалось некоторое повышение активности. На стадии стабилизации увеличивалось число реагирующих на звук клеток, причем возрастала доля возбудительных клеток, но активность несколько снижалась; доля тормозных нейронов уменьшалась, при этом их активность также снижалась, особенно по сравнению со стадией упрочения ( $p < 0,01$ , рис.1, табл.1).

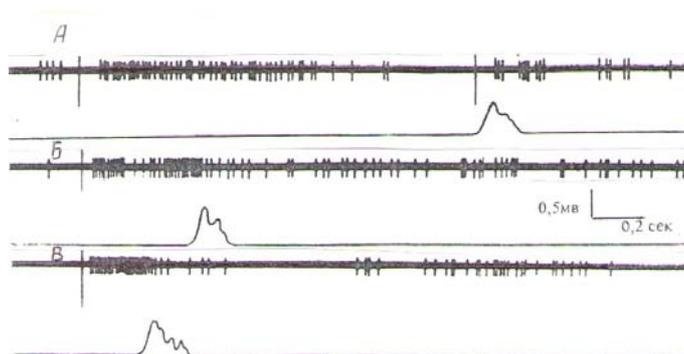
Было также установлено, что максимальная частота разрядов на всех стадиях выработки навыка регистрировалась спустя 20-40 мс после предъявления звукового сигнала (рис. 2). Отличались на разных стадиях обучения латентные периоды частотных пиков. Так, на начальной стадии максимум активации совпадал с началом действия звукового раздражителя. На втором этапе максимум активности проявлялся двумя пиками – один приходился на время включения звукового сигнала, второй совпадал со временем действия электрокожного раздражителя. При стабилизации происходило сближение максимумов активности нейронов (рис.2).

Сопоставление импульсных ответов нервных клеток с вызванным потенциалом показало, что их соотношение с отдельными фазами послед-

него неодинаково на стадии упрочения и стадии стабилизации рефлекса (рис. 3). Так, на стадии упрочения первый максимум нейронной активности совпадал с завершением негативной волны вызванного потенциала, а остальные максимумы не совпадали с его компонентами. На стадии стабилизации у 42.1% нейронов гиппокампа импульсные разряды совпадали с отдельными компонентами вызванного потенциала (рис. 3).

**Таблица 1.** Статистические показатели частоты импульсации нейронов гиппокампа на разных этапах выработки оборонительного навыка

Тип нейронной реакции	Стадия					
	начальная (1-30 сочетаний)		упрочения (31-120 сочетаний)		стабилизации (более 120 сочетаний)	
	Кол-во нейронов, %	Частота импульсации	Кол-во нейронов, %	Частота импульсации	Кол-во нейронов, %	Частота импульсации
Возбудительный	45,2	48,0±2,0	56,6	40,5±4,2	40	38,2±1,3
Тормозной	54,8	15,8±1,2	43,4	21,3±2,8	60	13,1±1,7
Количество реагирующих нейронов гиппокампа	153		120		150	

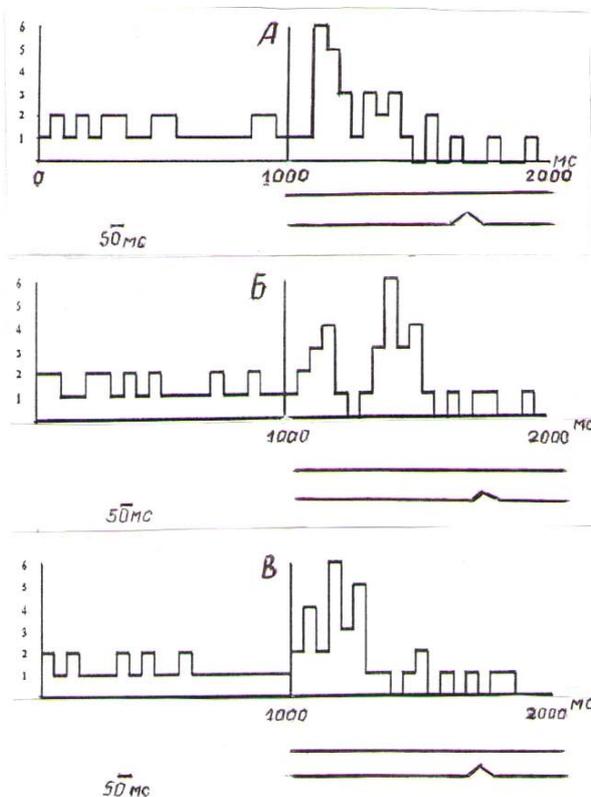


**Рис. 1.** Реакция нейронов гиппокампа на звуковой сигнал: А – в начале формирования условнорефлекторного оборонительного рефлекса (4-я проба), Б - на стадии упрочения (37-я проба), В – на стадии стабилизации (после 120 пробы). Вертикальные линии – отметки раздражения.

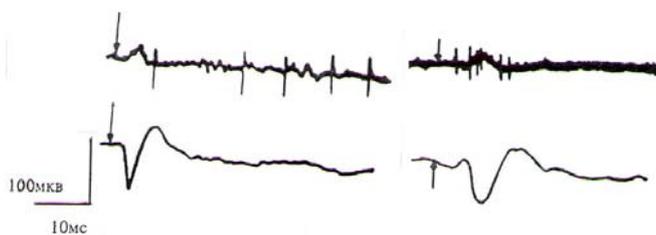
Таким образом, в настоящем сообщении приводятся новые факты, убеждающие в том, что разное сигнальное значение звукового раздражителя инициирует определенную реакцию в нейронах гиппокампа.

О значении гиппокампа в образовании временных связей писал Мак-Лин [6], который, обобщая свои экспериментальные работы, утверждал, что поскольку все реагирующие сенсорные поля проецируются к гиппокампальной формации, занимающей стержневое положение в

лимбической системе, можно предположить наличие механизмов, при помощи которых ольфакторная, дигестивная, соматическая, слуховая, зрительная, интероцептивная информации направляются к гипоталамусу и другим структурам ствола мозга, осуществляя регуляцию мотовисцеральной и эндокринной функций [6].



**Рис. 2.** Частотограммы нейронной активности гиппокампа на разных этапах выработки навыка. А – начальная стадия, Б – стадия упрочения, В – стадия стабилизации. По оси абсцисс время в мсек, по оси ординат число потенциалов действия. Внизу отметки звукового сигнала и двигательной реакции.



**Рис. 3.** Связь фазных разрядов нейронов гиппокампа с компонентами вызванного потенциала. Слева – стадия упрочения, справа – стадия стабилизации.

Формирование условнорефлекторной временной связи сложный процесс. При этом задействуются различные кортикальные очаги, подкорковые образования, многочисленные связи, межнейронные ансамбли, перестраиваются межклеточные отношения и т. д. Каким образом мозг, воспринимая раздражитель одной модальности, способен определить его биологическую значимость станет предметом отдельного обсуждения.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Гамбарян Л.С., Коваль И.Н.* Гиппокамп, Ереван, изд-во АН Арм. ССР, 1973.
2. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. М., Высшая школа, 343, 1973.
3. *Туманян В.А.* Активность нейронов гиппокампа и височной коры в процессе обучения. Ереван, изд-во АН Арм. ССР, 1988.
4. *Туманян В.А. Коваль И.Н.* Биолог. журн. Армении, 55, 4, 331-333, 2003.
5. *Туманян В.А. Коваль И.Н. Саркисян Ж.С. Мадатова И.Р., Карапетян Л.М.* Биолог. журн. Армении, 60, 4, 52-56, 2008.
6. *McLean P.D.* The limbic system with respect to two basic life-principles. N.-Y., 1959.

*Поступила 04.02.2009.*



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• Экспериментальные и теоретические статьи•  
•Experimental and Theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 2 (61), 2009

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЮЖНОГО ПОДКОВОНОСА *RHINOLOPHUS EURYALE* НА КАВКАЗЕ

Э.Г. ЯВРУЯН<sup>1</sup>, М.К. АРУТЮНЯН<sup>2</sup>, С.А. СИМОНЯН<sup>1</sup>,  
В.Т. АЙРАПЕТЯН<sup>3</sup>

Центр зоологии и гидроэкологии НАН РА

<sup>1</sup>Ереванский госуниверситет, кафедра зоологии,  
<sup>2</sup>Российско-Армянский (Славянский) университет,  
медико-биологический факультет,  
<sup>3</sup>Арцахский госуниверситет, кафедра биологии

Распространение и биология южного подковоноса *Rhinolophus euryale* - одного из малочисленных, включенных в Красные книги стран Кавказа видов рукокрылых, требуют дальнейшего накопления данных. Сегодня известны лишь 37 точек находок: из Армении - 4, Азербайджана - 4, Грузии - 21, Арцаха - 6 и России - 2. Наблюдается тенденция к сужению ареала, сокращению числа убежищ и общей численности вида.

*Южный подковонос - распространение - Кавказ - Красная книга*

Կովկասի երկրների Կարմիր գրքերում գրանցված, ամենուր քչաքանակ՝ հարավային պայտաքիթը - *Rhinolophus euryale*, ունի տարածման և կենսաբանության վերաբերյալ տվյալների հետագա կուտակման կարիք: Այսօր Կովկասում հայտնի են դրանց հայտնաբերման ընդամենը 37 կետ՝ Հայաստանում - 4, Ադրբեջանում - 4, Վրաստանում - 21, Արցախում - 6, Ռուսաստանում - 2: Նկատվում է արեալի նեղացման, թաքստոցների և տեսակի ընդհանուր թվաքանակի կրճատման միտում:

*Հարավային պայտաքիթ - տարածում - Կովկաս - Կարմիր գիրք*

The investigation of distribution and biology of the Mediterranean horseshoe bat - *Rhinolophus euryale*, one of the multitudinous species, involved in Red book of Caucasus countries, requests further accumulation of data.

At present in Caucasus only 37 dots of finding are known: 4 in Armenia, 21 in Georgia, 6 in Artsakh and 2 in Russian. The tendency of narrowing areal is noticed, general number of refuges and species is decreased.

*Mediterranean horseshoe - distribution - Caucasus - Red book*

Колонии южного подковоноса (*Rhinolophus euryale*) в подземных убежищах и всевозможных постройках на Кавказе, в Армении в частности, уязвимы, вследствие увеличивающегося беспокойства их человеком. Повсеместно продолжается сокращение числа убежищ.

Э.Г. ЯВРУЯН, М.К. АРУТЮНЯН, С.А. СИМОНЯН, В.Т. АЙРАПЕТЯН

В Армении, Нагорном Карабахе, России и других странах отмечается исчезновение известных, порой многочисленных в прошлом, колоний.

---

Статус вида в Красном списке МСОП:VU. В 1996 году его статус оценен как "уязвимый" (VU A2c по версии 1994г.).

- В Азербайджане южный подковонос внесен в Красную книгу со статусом: "Редкий, малочисленный, периферический вид с ограниченной областью распространения". Одновременно местообитания вида охраняются в соответствии с Бернской Конвенцией.
- В Армении внесен в Красную книгу животных, 1987г. [5], со статусом "В СССР находится периферийная часть ареала. Редкий и малочисленный вид. Включен в Красную книгу СССР". Кроме того, в числе других представителей фауны Армении охраняется законом РА "Об охране животного мира республики".
- В Грузии этому виду в национальном Красном списке присвоен статус "уязвимый" - VU. Кроме того, как и все рукокрылые, он охраняется в соответствии с "Соглашением по охране летучих мышей в Европе (EUROBATS)".
- В Арцахе (НКР) – этот вид не охраняется, несмотря на обращения по этому поводу специалистов [8] в соответствующие органы. Здесь южный подковонос нуждается в особой охране.
- В России *Rhinolophus euryale* не охраняется на федеральном уровне. В Красной книге Краснодарского края его статус оценен как "О" – "вероятно, исчезнувший".

Региональный статус по экспертным оценкам исследователей (2008) [9] – "находится под угрозой исчезновения" (EN).

Ареал южного подковоноса охватывает карстовые районы северо-запада Африки, Южной Европы, Кавказа, Малой, Передней и Средней Азии, на высотах (за редким исключением: Армения, 1236 м) не более 800 м над ур.м. Практически повсюду в Западном Закавказье эти территории заняты садами, чайными плантациями и полями, изредка чередующимися с естественными лесами и искусственными лесными насаждениями [4].

На Кавказе южный подковонос распределен неравномерно, он везде, за исключением Грузии, малочисленен. Самая крупная на Кавказе выводковая колония в 300 особей в 2006 году зарегистрирована в пещере Цуцхвати VII.

В целом, на Кавказе вид известен из 37 точек: по четыре (4) точки в Армении и Азербайджане; в Грузии из 21 точки (из коих 0 из Западной Грузии); в Арцахе (НКР) из 6 точек; в России ранее были известны всего 2 точки близ г. Сочи. В дальнейшем, более 10 лет вид на территории России не был обнаружен, и лишь во время подготовки "Плана действий по охране рукокрылых Кавказа" был обнаружен в двух других точках.

В Армении ранее этот вид был обнаружен из 14 точек (см. карту).

РАСПРОСТРАНЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЮЖНОГО ПОДКОВОНОСА *RHINOLOPHUS EURYALE* НА КАВКАЗЕ

**Карта распространения южного подковоноса *Rhinolophus euryale* в Армении**



Условные обозначения:

1. +1- точки бывших находок, где *R. euryale* в настоящее время отсутствует.
2. - места современных находок, которые отмечались и ранее.

Однако за последние годы и за период работы в составе международных экспертов в программе "План действий по охране рукокрылых Кавказа" зафиксировано заметное сужение ареала и исчезновение их из 10 ранее сравнительно многочисленных убежищ. Четыре сегодняшние их убежища отмечены на карте кружком.

Южный подковонос – оседлый вид, его основные убежища – пещеры, гроты, всевозможные (естественные и искусственные) подземелья, чердаки, реже другие строения человека. Его чаще можно встретить вместе с другими видами летучих мышей: обыкновенным длиннокрылом (*Miniopterus schreibersii*), остроухой ночницей (*Myotis blythii*), трехцветной ночницей (*Myotis emarginatus*), а также другими представителями семейства *Rhinolophidae* и родов *Plecotus* и *Barbastella*.

Очень редко можно найти "чистую" группу (колонию), состоящую исключительно из южных подковоносов.

В целом биология вида недостаточно исследована, несмотря на то что в Армении и НКР она упоминается в трудах ряда авторов [1,2,3,6,7].

Роды его происходят в июне - начале июля, т.е. в самый разгар сезона посещения пещер и исторических памятников туристами и другими "любителями природы".

Выводковые колонии или группы в несколько десятков, реже сотен особей, располагаются в хорошо прогреваемых убежищах. Зимуют они также небольшими группами в 2-70 особей, нередко с другими видами рукокрылых.

Самки с детенышами, и в целом вся колония, висят не скрываясь, забившись в какой-нибудь темный угол убежища, а открыто на виду хищников и других "посетителей" пещеры. Это делает их уязвимыми, и поэтому процент их гибели по сравнению с другими видами высокий.

Э.Г. ЯВРУЯН, М.К. АРУТЮНЯН, С.А. СИМОНЯН, В.Т. АЙРАПЕТЯН

Помимо человека, этих особо чувствительных к беспокойству зверьков в убежищах уничтожают хищники: ласки, куницы, перевязки, кошки (дикие и домашние), а также змеи (гюрза, полоз) и крысы.

Так как южный подковонос реже встречается в постройках человека, серьезных проблем, угрожающих существованию вида, у него с хозяевами этих зданий не возникает.

Учитывая вышесказанное, при выработке действий для охраны вида, предложений, рекомендаций и первоочередных задач, надо

---

помнить, что повсеместно южный подковонос малочисленен ввиду ограниченности местообитаний в регионах, пригодных для мезофильных видов.

В Армении, как и во всех остальных странах Кавказа, существенное воздействие на численность и биологию южного подковоноса оказывают:

1. Антропогенные изменения среды вокруг убежища (включая структуры растительного покрова) и на путях кормежки и пролета (кочевок);
2. Применение ядохимикатов в сельском и лесном хозяйствах, приводящее к гибели насекомых и вызывающее сокращение кормовой базы рукокрылых в результате отравления зверьков через пищу и воду (перенос по пищевой цепочке);
3. Рост посещаемости убежищ и интенсификация эксплуатации культовых сооружений, длительное воздействие шума и вибраций при строительстве, производстве и археолого-палеонтологических работах как в самих убежищах, так и в непосредственной близости от них;
4. Изменение микроклимата в убежищах, связанное с частым посещением с применением факелов, фонарей, курения, свеч и пр. и глобальным изменением климата.

Несмотря на то что южный подковонос в странах Кавказа охраняется законом с 70-80 гг. XX столетия, реальные шаги по охране самих зверьков и их местообитаний не предпринимаются. Это даже в том случае, когда часть местообитаний южного подковоноса (по крайней мере в Армении) включена в состав ООПТ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Айрапетян В.Т. Канд. дисс., Ереван, 2004.
2. Арутюнян М.К. Канд. дисс., Ереван, 1999.
3. Бедави эль Сайед Бедави Метвали. Канд. дисс., Ереван, 1993.
4. Газарян С.В., Иваницкий А.Н. К вопросу о фаунистическом и таксономическом статусе южного подковоноса *Rhinolophus euryale* в Западном Закавказье. *Plescotus et al.*, 8, 54-61, 2005.
5. Красная книга Армянской ССР. Животные, Ереван, 123, 1987.
6. Папов Г.Ю. Канд. дисс., Ереван, 2003.
7. Явруян Э.Г. Докт. дисс., Киев, 410 стр, 1991.
8. Явруян Э.Г., Айрапетян В.Т. Дикие животные Карабаха. 125, изд-во "Дизак Плюс", Степанакерт, 2003.
9. Yavruyan E., Rakhmatulina I., Bukhnikashvili A., Kandaurov A., Natradze I., Gazaryan S. Bats conservation action plan for the Caucasus. Tbilisi: 87, 2008.

Поступила 06.02.2009.



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• Экспериментальные и теоретические статьи  
•Experimental and Theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 2 (61), 2009

## ЭКОЛОГИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВОДЯНОЙ ЗЕМЛЕРОЙКИ (КУТОРЫ) *NEOMYS FODIENS* В АРМЕНИИ

А.А. АВАГЯН

*Ереванский госуниверситет, кафедра зоологии*

Экология и распространение куторы *Neomys fodiens*, в частности в Армении, мало исследованы. В настоящей публикации приводятся данные об их экологии, распространении, поведении и составе корма.

*Кутора – землеройки - распространение*

Գուտորայի *Neomys fodiens* էկոլոգիան և տարածվածությունը հետազոտված չեն: Տվյալ աշխատանքում բերվում են տվյալներ մասնավորապես Հայաստանում նրանց էկոլոգիայի, տարածվածության, վարքի և սննդի կազմի վերաբերյալ:

*Գուտորա - արնչակներ - տարածում*

Ecology and distribution of *Neomys fodiens* are not investigated particularly in Armenia. In this publication data on their ecology, distribution, behavior and nourishment are shown.

*Neomys fodiens – sheews - distribution*

Биология куторы, этого чрезвычайно редкого и малочисленного вида в Армении практически не исследована.

Данные, представленные в настоящем сообщении, являются результатом четырехлетних исследований, проведенных под руководством д.б.н., профессора Э. Явруяна.

Род водяных землероек (кутор) в Армении, по всей вероятности, представлен двумя самостоятельными видами семейства *Soricidae* отряда насекомоядных (*Insectivora*) класса млекопитающих: кутора обыкновенная - *Neomys fodiens* и кутора Шелковникова - *Neomys schelkovnikovi*. Однако до выяснения видовой принадлежности мы будем говорить о куторе, как об обыкновенной *N. fodiens* Schreb., точнее о *N. f. leptodactilus* Sat. (длиннохвостой обыкновенной куторе).

Эти животные считаются самой древней группой млекопитающих. Они были вероятными очевидцами вымирания динозавров на нашей планете [2].

Карта распространения куторы (*Neomys fodiens*) в Армении

На территории Армении водяные землеройки встречаются практически повсюду, однако их ареал имеет выраженную очаговость (см. карту). Чаще кутор можно встретить на севере страны [1], однако нередко они и на юге [3]. Их можно наблюдать близ водоемов, начиная от 950 м над ур.м. бассейна р. Аракс до 2550 м над ур.м. на склонах Арегунийского и Севанского хребтов бассейна озера Севан.

Обитает кутора в речных долинах, предпочитая берега мелких рек и ручьев с чистой водой и быстрым течением. Однако нередко она и на некотором удалении от водоемов, в местах с хорошо развитой влажной подстилкой (леса, ущелья и т.д.).

Вопреки своему названию, землеройки очень редко роют норы, чаще они занимают покинутые ходы кротов, грызунов, трещины и пустоты в почве, либо передвигаются под слоем лесной подстилки или снега, устраивая временные стоянки-убежища.

Зимой они почти не выходят из-под снега, но в спячку не впадают. Подснежные ходы всех землероек, в том числе и кутор, очень узкие, до 2 см. Если снег не покрыт настом, то на нем остается четкий отпечаток хвоста, и так как куторы чаще передвигаются не прыжками, а шагом, и слеодоиночный зигзаг.

В холодные малоснежные зимы куторам приходится много бегать и подбирать трупы замерзших насекомых, червей, лягушек и других животных. Хотя принято считать, что землеройки растениями не питаются, они порой, при особой нехватке пищи, могут питаться промерзшими частями растений и семенами.

Если куторы, как и все насекомоядные, много и часто не будут есть, они могут замерзнуть и погибнуть. Практически они всегда в поисках пищи из-за высокого уровня метаболизма их организма. Они активны в любое время года и суток, но наибольшая их активность приходится на ночное время.

Куторы прекрасно плавают и ныряют, оставаясь под водой до 30-35 с. Ведут полуводный образ жизни.

Значительную часть пищи куторы добывают в воде, однако всегда поедают ее на суше. Пищей для этих зверьков служат всевозможные насекомые и их личинки, дождевые черви, моллюски, мелкая рыба, головастики лягушек и их икра. Несмотря на сравнительно небольшие размеры, это агрессивный хищник, который может напасть на рыб, лягушек значительно крупнее себя. Отмечены случаи нападения куторы на других представителей своего рода, а также мелких видов грызунов (лесная мышь, кустарниковая полевка) и их детенышей. Слюна ее ядовита. Укус парализует жертву, однако оставляет ее живой. Поэтому в ходах, у “хранилищ” нор кутор нередко скапливаются тела обездвиженных животных (червей, насекомых, рыб, лягушек, их сеголеток и детенышей мышевидных грызунов). Хранение корма в таком виде необходимо и очень важно в период зимних холодов, летней засухи или по какой-либо причине отсутствия пищи. Куторы, как и большинство исследованных нами в Армении землероек, ведут одиночный образ жизни, реагируя на присутствие близ своего укрытия чужака свирепой атакой. При этом они издают резкий и очень высокий свист, который принято называть “щебетом куторы” [2]. В сравнении с другими землеройками, куторы довольно крупные зверьки: длина тела 65-100 мм, хвоста 54-65 мм, масса тела 10.0-22.5 г (табл. 1). Голова вытянута в небольшой хоботок, усаженный жесткими осязательными щетинками, ушные раковины маленькие, но заметные, глаза маленькие, мех короткий, бархатистый и густой.



Рис. 1. Общий вид *Neomys fodiens*

Окраска тела двухцветная, сильно контрастная: спина черно-бурая, с примесью пепельно-серых тонов (седая), брюшко серовато-белое, нередко с желтовато-коричневым налетом (рис.1). Короткие пятипалые ноги вооружены очень острыми когтями, хвост обычно короче чем у мышей (лесной, желтогорлой), но может быть длиннее хвоста хомяков и некоторых полевок (снежной, обыкновенной, общественной). На нижней стороне хвоста имеется киль из удлиненных щетинок, иногда и щитинки.

Кисти и удлиненные ступни лап по бокам покрыты уплощенными щетинками, которые образуют своеобразную бахрому, увеличивающую плавательную поверхность лап и способствующую быстрому передвижению зверька под водой.

Череп относительно крупный, с расширенным мозговым отделом. На нем хорошо выраженные лямбдоидальные и сагиттальные гребни. Вершины зубов красновато-бурые.

**Таблица 1.** Промеры (мм) и масса (г) кутор *Neomys fodiens*, добытых в Армении (2004-2008 гг.)

Количество особей	Общая длина тела	Общая длина черепа	Длина хвоста	Высота уха	Длина задней ступни	Межглазничный промежуток	Масса	Место поимки
1	82	28	66	2	19	6	-	Долина р. Агарцин (от монастыря до р. Аггев) Таушиский марз
2	71	28	61	2	19	6,5	-	
3	73	27,5	57	2	18	7	-	
4	70	27,5	54,5	2	17	8,5	-	
5	64	28	60	2	18	8,5	-	
6	80	28	59	2	17	7	-	
7	83	29	63	2	17	8	-	
8	86	29	69	2	20	9	-	
9	81	29	65	2	17	8	-	
Среднее	76,7	28,2	61,6	2	18	7,6	-	
1	75	28	64	2	19	7,5	-	Долина р. Блдан Таушиский марз
2	82	27,5	67	2	18	8	-	
3	85	28	66	2	18	7	-	
Среднее	80,7	27,8	65,7	2	18,3	7,5	-	
1	62	28	60	1,9	19	9	11,3	Долина р. Гетик Гезаруниский марз
2	88	29,5	67	2	20	9	21,5	
3	82	29	63	2	18	8,5	19,5	
4	79	28	61	2	18	7,5	18,0	
Среднее	77,8	28,6	62,8	1,98	18,8	8,5	17,6	

Нам удалось выяснить, что куторы размножаются с весны до осени (май-август), принося до трех пометов по 4-10 детеныша в каждом. Беременность длится 19-24 сут. Сосков у самки - 5 пар. Продолжительность лактации 37-40 сут.

Часть молодых может участвовать в размножении уже на первом году жизни. Продолжительность жизни в природе - до двух лет. В лабораторных условиях были случаи, когда они жили до четырех лет [4].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Даль С.К. Животный мир Арм. ССР. Ереван, 1954.
2. Соколов В.Е., Темботов А.К. Позвоночные Кавказа. Млекопитающие. Насекомоядные. М., 1989.
3. Явруян Э.Г., Арутюнян М.К., Маргарян Н.А., Авагян А.А., Симонян С.А. С.-П., "Вестник" МАНЕБ, 12, 4, 2007.
4. Corbet G.B. The mammals of the Palearctic Region: A taxonomic review. L.: Brit. Mus (Natur. Hist.), 314 p., 1978.

Поступила 05.03.2009.



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• Экспериментальные и теоретические статьи  
•Experimental and Theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 2 (61), 2009

**ЭФФЕКТЫ МАЛЫХ ДОЗ ЙОДМЕТИЛАТА 2 –  
(ДИМЕТИЛАМИНО) ЭТИЛОВОГО ЭФИРА N – (N –  
МЕТОКСИБЕНЗОИЛ) – DL – ФЕНИЛАЛАНИНА НА  
ВЫЗВАННУЮ ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ  
ОДИНОЧНЫХ МОТОНЕЙРОНОВ СПИННОГО  
МОЗГА КРЫС ПРИ ЛАТЕРАЛЬНОЙ ГЕМИСЕКЦИИ  
СПИННОГО МОЗГА**

**Т.С. ХАЧАТРЯН, В.О. ТОПУЗЯН, И.Р. КАРАПЕТЯН,  
Э.Ю. АРУТЮНЯН, Т.К. КИПРИЯН**

*Институт физиологии им. Л. А. Орбели НАН РА  
Институт тонкой органической химии им. А.Л. Мнджояна НАН РА*

Обсуждается вопрос применения малых доз йодметилата 2–(диметил-амино) этилового эфира N–(n–метоксибензоил)–DL–фенилаланина у крыс в норме и при гемисекции спинного мозга. Полученные результаты свидетельствуют о протекторном эффекте малых доз йодметилата 2–(диметиламино) этилового эфира N–(n–метоксибензоил)–DL–фенилаланина на вызванную электрическую активность одиночных мотонейронов вентрального рога спинного мозга крыс при гемисекции спинного мозга. Регистрация и анализ вызванной активности одиночных мотонейронов спинного мозга проводилась посредством специальных компьютерных программ в режиме on–line.

*Йодметилат 2–(диметиламино) этилового эфира N –(n–метоксибензоил)–DL–фенилаланина - мотонейроны - вызванная активность - спинной мозг - гемисекция*

Տվյալ հետազոտություններում ուսումնասիրվել է յոդմեթիլատ 2–(դիմետիլամին) էթիլ N–(n–մետոքսիբենզոիլ)–DL–ֆենիլալանինի էթերի փոքր դեղաչափերի ազդեցությունն առնետերի ողնուղեղի առանձին շարժանէյրոնների հրահրված էլեկտրական ակտիվության փոփոխության վրա նորմայում և ողնուղեղի կիսահատման ժամանակ: Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս յոդմեթիլատ 2– դիմետիլամին) էթիլ N–(n–մետոքսիբենզոիլ)–DL–ֆենիլալանինի էթերի ցածր դեղաչափեր ստացող առնետերի մոտ ողնուղեղի առանձին շարժանէյրոնների հրահրված ակտիվության ստույգ բարելավումը: Ողնուղեղի առանձին շարժանէյրոնների էլեկտրական ակտիվության գրանցումը կատարվել են on–line ռեժիմում:

*Յոդմեթիլատ 2– (դիմետիլամին) էթիլ N–(n–մետոքսիբենզոիլ) –DL–ֆենիլալանինի էթեր - շարժանէյրոններ - հրահրված ակտիվություն - ողնուղեղ - կիսահատում*

In these series of investigations the question of the use of less dosages of iodmethylate 2-(dimethylamino) ethyl N-(n-methoxybenzoil)-DL-phenilalanyn ester on rats in norm and with the hemisection of spinal cord is discussed. The obtained results show the protective effect of less dosages of iodmethylate 2-(dimethylamino) ethyl N-(n-methoxybenzoil)-DL-phenilalanyn ester on evoked activity of single spinal motoneurons of rats with the hemisection of spinal cord. The registration and analysis of the evoked activity of single motoneurons of spinal cord of rats is done using a special computer software on-line.

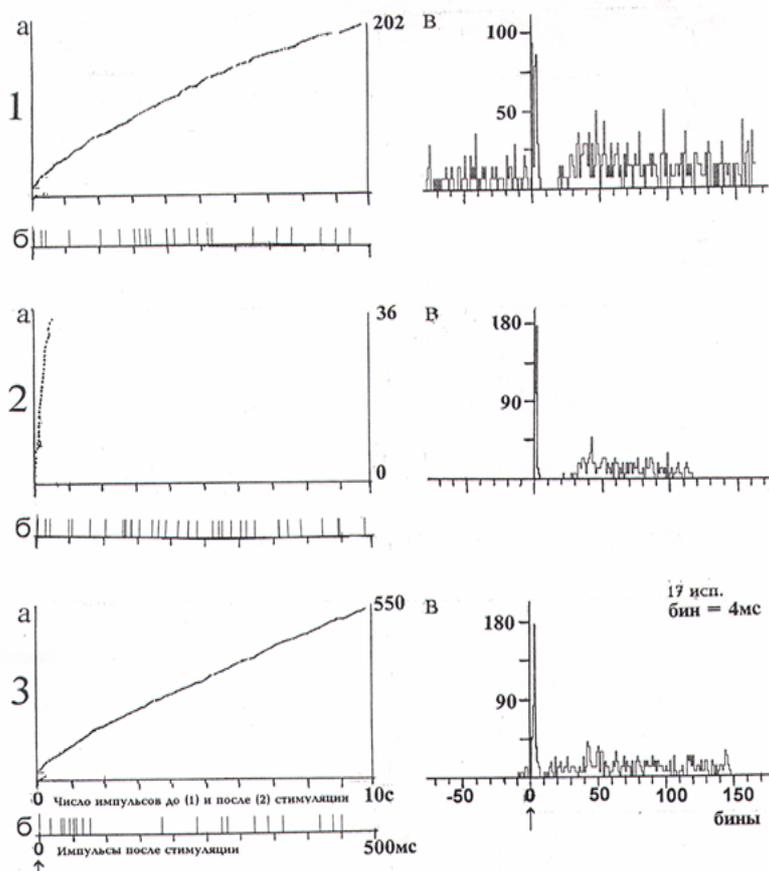
*Iodmethylate 2-(dimeylamino) ethyl N-(n-methoxybenzoil)-DL – phenilalanyn – motoneurons - evoked activity - spinal cord - hemisection*

Известно, что холиновые эфиры заслуживают существенного внимания с точки зрения особенностей их синтеза и биологической активности [1]. Согласно результатам исследований последних лет [3, 4, 5, 7], холиновыми эфирами осуществляется ряд важнейших функций в организме человека и животных, так как они по своей структуре являются веществами, близкими к ацетилхолину. Вместе с тем отсутствуют сведения относительно применения малых доз эфиров холина при спинномозговых повреждениях различной степени выраженности и результатов в процессе регенерации повреждённой зрелой нервной системы. В настоящей статье представлены результаты исследований, проведённых на крысах с левосторонней латеральной гемисекцией (ГМС) СМ, а также их подробный анализ, касающийся влияния малых доз йодметилата 2 – (диметиламино) этилового эфира N – (n – метоксибензоил) – DL – фенилаланина (ДЭФ) на изменение электрической активности одиночных мотонейронов (МН) спинного мозга (СМ).

**Материал и методика.** Эксперименты проведены на 30 белых крысах – самцах массой 200–230 г, разделённых на 3 экспериментальные группы: 1-я – 10 экз. – интактные животные; 2-я – 10 экз. – животные с левосторонней латеральной ГМС СМ на уровне Т8–Т9; 3-я – 10 экз. – животные с левосторонней латеральной ГМС СМ на уровне Т8–Т9, получавшие в течение 2 мес. инъекции ДЭФ (доза – 50 мкг/кг массы животного, каждое животное индивидуально) в место повреждения СМ. В ответ на раздражение седалищного нерва производили экстраклеточную регистрацию вызванной электрической активности (ВА) данного МН. Отведение активности исследуемых МН проводили стеклянными микроэлектродами с диаметром кончика 2–3 мкм, заполненными 2 М раствором NaCl, в дорзовентральном направлении в сером веществе передних рогов поясничного отдела СМ в области МН (IX пластина по Рекседу). Регистрацию ВА одиночных МН проводили с помощью специально разработанной программы, обеспечивающей в режиме on-line селекцию спайков посредством амплитудной дискриминации спайков и последующим построением кумулятивной импульсной диаграммы для выбора необходимого режима записи ВА одиночного МН. Анализ полученных данных осуществляли по подробно описанному алгоритму [2].

**Результаты и обсуждение.** На рис. 1 приведены примеры кумулятивных (рис. 1, пункты 1–3, а, б) и суммированных (рис. 1, пункты 1–3, в) престаимпульсных и постстимульных диаграмм ВА одиночного МН СМ (глубина 1400 мкм) у интактных животных (пункт 1, а, б, в); у животных с левосторонней латеральной ГМС СМ (глубина 1400 мкм, пункт 2, а,

б, в); у животных с левосторонней латеральной ГМС СМ, получавших малые дозы ДЭФ (50 мкг/кг массы животного, каждое животное индивидуально) в течение 2 мес. в место повреждения СМ (глубина 1200 мкм, пункт 3, а, б, в).



**Рис. 1.** Кумулятивные (а) и суммированные (в) пре- и постстимульные диаграммы внеклеточной фоновой и вызванной активности одиночного мотонейрона (глубина 1400 мкм) вентрального рога спинного мозга крыс в норме (рис. 1, пункт 1 а, б, в); одиночного мотонейрона (глубина 1400 мкм) вентрального рога спинного мозга крыс при левосторонней латеральной гемисекции спинного мозга (рис. 1, пункт 2 а, б, в) и одиночного мотонейрона (глубина 1400 мкм) вентрального рога спинного мозга у крыс, получавших в течение 2 мес. ежедневно инъекции малых доз йодметилата 2–(диметиламино) этилового эфира N–(n–метоксibenзоил)–DL–фенилаланина в место повреждения (рис. 1, пункт 3 а, б, в). На “а”: ордината – число импульсов до и после стимуляции нерва, абсцисса – время регистрации импульсного потока. На “б”: картина импульсного потока после стимуляции нерва в избранном интервале времени. На “в”: ордината – процент импульсов (в бинах) от числа проб, абсцисса – последовательность бинов

Из приведённого рисунка следует, что последствия левосторонней латеральной ГМС СМ проявляются в виде урежения ВА одиночного МН по сравнению с нормой. Аналогичный эффект хорошо виден на кумулятивной постстимульной диаграмме (рис. 1, пункт 2, а), где имеет место уменьшение числа импульсов в пачке, и на постстимульной части суммированной (17 исп.) диаграммы (рис. 1, пункт 2, в).

В отношении постстимульного ответа МН очевидно также урежение постстимульного вызванного импульсного потока (рис. 1, пункт 2, б). После введения малых доз ДЭФ у крыс с левосторонней латеральной ГМС СМ происходит резкое учащение как престимульной, так и постстимульной активности МН, сопровождающееся исчезновением пачечной активности (рис. 1, пункт 3, а, б, в) и переходящее в близкую к картине ВА у интактных животных (рис. 1, пункт 1, а, б, в). Последующий анализ проведённых исследований свидетельствует в пользу того, что в целом наблюдается положительный эффект от применения малых доз ДЭФ при органических повреждениях СМ у крыс.

Данные литературы [6, 8, 9], а также настоящего исследования действия малых доз ДЭФ на ВА одиночных МН повреждённого СМ крыс позволяют сделать вывод о протекторном действии малых доз ДЭФ при левосторонней латеральной ГМС СМ.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Мнджоян О. Л., Топузьян В.О.Ж. Успехи химии, *L*, вып. 12, с. 2198–2211, 1981.
2. Хачатрян Т.С. Биолог. журн. Армении, 59, 3–4, 198–202, 2007.
3. Brown M., Davies I.M., Moffat C.F., Redshaw J., Craft J.A. J. Mar. Environ. Res., 3, 57, pp. 155–169, 2004.
4. Gilmer J.F., Moriarty L.M., Clancy J.M. J. Bioorg.Med. Chem. Lett., 11, 17, pp. 3217–3220, 2007.
5. Grigoryan H.A., Hambardzumyan A. A., Mkrtchyan M.V., Topuzyan V.O., Halebyan G.P., Astryan R.S. J. Chem. Biol. Interact., 1, 171, pp. 108–116, 2008.
6. Holmes–McNary M.Q., Cheng W.L., Mar M.H., Fussel S., Zeisel S.H. J. Am. J. Clin. Nutr., 4, 64, , pp. 572–576, 1996.
7. Marvlyak J., Zeisig R., Pecar S. J. Med. Chem., 48, 6, pp. 6393–6399, 2005.
8. Navder K.P., Baraona E., Lieber C.S. J. Nutr., 9, 127, pp. 1800–1806, 1997.
9. Zelder F.H., Salvio R., Rebek J.Jr. J. Chem. Commun. (Canb.), 12, 28, p. 1280–1282, 2006.

Поступила 02.03.2009.



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• Экспериментальные и теоретические статьи  
•Experimental and Theoretical articles•

Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2 (61), 2009

## ԲՈՒՄԱԿԱՆ ՌԵՍՈՒՐՍՆԵՐԻ ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄԸ ԳՅՈՒՂԱՏՆՏԵՍՈՒԹՅԱՆ ԻՆՏԵՆՍԻՎԱՑՄԱՆ ԵՎ ԲԺՇԿՈՒԹՅԱՆ ՄԵԶ ՀԱՅԱՍՏԱՆՈՒՄ ԳԵՏՆԱԽՆՁՈՐԻ ՕՐԻՆԱԿՈՎ

Ռ.Յ. ԵՂՈՅԱՆ, Լ.Վ. ԵՂՈՅԱՆ

*Վանաձորի Յուլ. Թումանյանի անվան պետական մանկավարժական ինստիտուտ,  
բուսաբանության ու աշխարհագրության և բժշկագիտության ամբիոններ*

Ուսումնասիրվել են գետնախնձորի տեղական պոպուլյացիաները և արտերկրյա սորտեր և հիբրիդներ: Դրանք փորձարկվել են Հայաստանի տարբեր էկոլոգիական պայմաններում (գյուղատնտեսական 4 գոտիներում): Մշակության բոլոր աճելատեղերում ստացվել է բարձր բերք և կերի շատ միավոր: Գետնախնձորն օգտագործվել է հանրաբուժարանային պայմաններում շաքարախտով հիվանդների բուժման համար և պարզվել է, որ նկատվում է հիվանդների արյան մեջ գլյուկոզի քանակության նվազում և նրանց կենսունակության բարձրացում: Գետնախնձորը Հայաստանի համար համարվում է ամենաինտենսիվ մշակաբույսը, որը արժեքավոր անասնակեր, սննդային և տեխնիկական մշակաբույս է: Առաջարկվում է այն ներդնել գյուղատնտեսության մեջ, օգտագործելով նաև որպես կենսավառելիքի հումք և էկոլոգիական նպատակներով: Գետնախնձորի ներդրումով զարկ կտրվի նաև դիետիկ սննդարդյունաբերությանը: Կարելի է կազմակերպել նաև ֆրուկտոզի և սպիրտի արտադրություն:

*Գետնախնձոր - էկոլոգիա - ցրտադիմացկուն - ինուլին - դիաբետ*

Изучены местные популяции и зарубежные сорта и гибриды топинамбура, которые испытывались в разных экологических условиях Армении (в 4 сельскохозяйственных зонах). Во всех опытах получены высокий урожай и большая кормовая единица с гектара.

Топинамбур использовался для лечения больных диабетом в условиях поликлиники, так как в крови диабетиков он снижает содержание глюкозы и улучшает самочувствие больных. Топинамбур считается для Армении самой интенсивной пищевой и технической культурой. Предлагается внедрить в производство как сырье для получения биоэнергии, а также использовать в экологических целях. Внедрение топинамбура может заложить основу для производства диетического питания, а также организации производства фруктозы и спирта.

*Топинамбур – экология – морозостойкость – инулин - диабет*

In this article some considerations on the use of Jerusalem artichoke in Armenia are presented. These cultured plants with various types and hybrids have been thoroughly studied and put to the test under different ecological conditions (in 4 agricultural zones of Armenia). As a result a heavy crop is registered. The Jerusalem artichoke has already been used for the treatment of diabetes as a result of which glucose lowering and vitality

rising among the examined patients became obvious. The Jerusalem artichoke is considered the most intensive cultured plant, so it is offered to be inserted in the agriculture field as raw materials as well as for ecological purposes. The Jerusalem artichoke application will also stimulate the diet food industry and spirits production, which will surely allay financial crisis consequences in the republic to some extent.

*Jerusalem artichoke - ecology – frost-resistance - inulin - diabet*

Խորհրդային կարգերը փլուզվելուց և շուկայական հարաբերությունները ձևավորվելուց հետո, ինչպես արդյունաբերության, այնպես էլ գյուղատնտեսության մեջ տեղի ունեցան լուրջ փոփոխություններ, որոնց արդյունքում սկսեցին ձևավորվել արդյունաբերության և գյուղատնտեսության այնպիսի ճյուղեր, որոնք հենված էին հիմնականում տեղական հումքի վրա, հաշվի առնելով նաև շուկայի պահանջարկը:

Դժվարություններ ստեղծվեցին հատկապես գյուղատնտեսության բնագավառում կապված հողի սեփականաշնորհման, մշակաբույսերի մշակման և խնամքի աշխատանքների մեքենայացման, վառելիքի ձեռքբերման և շատ հանգամանքների հետ:

Հողը հախտուճ ձևով հանձնելով գյուղացուն, որոշ շտապողականության և շատ հանգամանքներ հաշվի չառնելու ու փորձի պակասի արդյունքում, փոքրիկ հողակտորներ ստանալով գյուղացին դարձավ սեփականատեր, բայց չկարողացավ մշակաբույսերի ցանքի և խնամքի աշխատանքները մեքենայացնել տարբեր պատճառներով (փոքրիկ հողակտոր, մեքենայացման միևի մեքենաների բացակայություն) և որի արդյունքում մինչև ֆերմերային տնտեսությունների և գյուղացիական կոլեկտիվների ստեղծումը, բույսերի մշակման ամբողջ աշխատանքը կատարվում էր ձեռքով: Մի շարք մարզերում կրճատվեցին ավանդական մշակաբույսերի ցանքատարածությունները, որոնք մտահոգիչ են և պահպանվում են մինչ օրս: Այս առումով էական նշանակություն ունեցավ ֆերմերային տնտեսությունների կազմակերպումը, որոնք ավելի արդյունավետ են աշխատում հատկապես անասնապահության բնագավառում:

Հայաստանը բաց լաբորատորիա է երկնքի տակ, որտեղ գործում է ուղղահայաց գոտիականությունը: Ծովի մակարդակի նկատմամբ բարձրության հետ փոխվում են մշակաբույսերի կառուցվածքը՝ հողը, ջուրը, բույսը, կենդանին, նույնիսկ մարդը [3]:

Բոլոր ժամանակների համար կարևոր խնդիր է գյուղատնտեսության ինտենսիֆիկացումը, որը հնարավորություն է տալիս միավոր հողատարածքից ստանալ ավելի շատ եկամուտ [12]: Այստեղ ուղիները շատ են՝ սկսած մշակաբույսերի ագրոտեխնիկայի կատարելագործումից մինչև նոր բերքատու իմուն սորտերի ներդրումը և գյուղատնտեսական մշակաբույսերի մշակման տեխնոլոգիաների կատարելագործումը, խնամքի, հիվանդությունների, վնասատուների դեմ պայքարի, աշխատանքների մեքենայացումը, մշակաբույսերի պարարտացումը:

Այս տեսակետից կարևոր է նաև բուսական ռեսուրսների ռացիոնալ օգտագործումը, նոր ինտենսիվ մշակաբույսերի ներդրումը:

Հաշվի առնելով միջազգային գիտական ուսումնասիրությունների առկա նյութերը, գնահատելով գյուղատնտեսությունում ստեղծված իրավիճակը, նրա արդյունավետության բարձրացման հրամայական անհրաժեշտությունը և մեր իրական հնարավորությունները, ուսումնասիրման օբյեկտ վերցրեցինք գետնախնձորը [6,8,9,13,16]:

Գետնախնձորի (*Heliantus tuberosus L.*) հայրենիքը Հյուսիսային Ամերիկան է: Եվրոպայում սկսել է մշակվել XVII, Ռուսաստանում XVIII դարերից, իսկ Հայաստանում գետնախնձորը սիրողական նպատակներով (ոչ արդյունաբերական նշանակության) մշակվում է անհիշելի ժամանակներից:

Այսօր էլ Հայաստանի առանձին մարզերում պահպանվում են գետնախնձորի տարբեր տեղական պոպուլյացիաներ:

Գետնախնձորը գյուղատնտեսությունում ներդնելու համար ժամանակին տրվել են համապատասխան հանձնարարականներ: Ընդունվել է «Տոպիմամբուր» ծրագիր (1999 թ.): Սակայն մինչ օրս մեր երկրում ժողովրդական կարևոր նշանակություն ունեցող այս մշակաբույսը ուշադրությունից դուրս է և այն լիովին չի ուսումնասիրվել:

Հայտնի է, որ համաշխարհային երկրագործության մեջ գետնախնձորը զբաղեցնում է շուրջ 2,5 միլիոն հեկտար տարածք [3,5]:

Հիպոկրատը ժամանակին ասել է «Սնունդը պետք է լինի դեղ, իսկ դեղը սնունդ»: Սա ասված է գետնախնձորի համար:

Թարմ հյութը օգտագործվում է ստամոքսի թթվայնությունը նվազեցնելու համար, այրոցքների ժամանակ: Կարգավորում է մարսողությունը, նպաստում և բուժում է պոլիարտրիտը: Դրական է ազդում սիրտանոթային համակարգի վրա, օգտակար է աթերոսկլերոզի, հաճախասրտության (տախիկարդիա), սրտի իշեմիկ հիվանդության, հիպերտոնիայի, լյարդի մի շարք հիվանդությունների համար: Գետնախնձորը օգնում է միզաքարային հիվանդության, սակավարյունության, աղային կուտակումների, ճարպակալման դեմ: Այն իջեցնում է գլուկոզի քանակությունն արյան մեջ, բարձրացնում է հեմոգլոբինի քանակը, իջեցնում է զարկերակային ճնշումը: Դրական է ազդում ենթաստամոքսային գեղձի նորմալ գործունեության վրա: Օժտված է հակատոքսիկ հատկություններով, օրգանիզմից դուրս է բերում ծանր մետաղները, ռադիոակտիվ էլեմենտները, թույները, ռադիոնուկլիդները, խոլեստերինի ավելցուկը: Նրա պալարները հողից նիտրատների գերկուտակում չեն կատարում, կլանվածներն էլ արագ վերափոխում է անվնաս միացությունների, որոնցից սինթեզում են անփոխարինելի ամինաթթուներ, կենսաբանական ակտիվ նյութեր: Գետնախնձորի պալարները սելեն չեն պարունակում, բայց նպաստում են սելենի կլանմանը, որով խոչընդոտվում է օրգանիզմում չարորակ գոյացությունների առաջացումը [1,2,3,5,6,16,17]:

Գետնախնձորը անպայման պետք է մտցնել մարդու կերաբաժնի (ռացիոնի) մեջ [8,9,12,15,17]:

Մեր ուսումնասիրության գործնական ու տեսական նշանակությունը և արդիականությունն այն է, որ մինչև այժմ գիտնականները, գյուղատնտեսության բնագավառի աշխատողները այս մշակաբույսին համեմատաբար քիչ են անդրադարձել: Հեղինակներից մեկի ղեկավարությամբ, Ապրիկյանի և Շեկոյանի հետ միասին փորձել ենք հիմնովին արժևորել գետնախնձորը որպես Հայաստանի Հանրապետության համար հեռանկարային արժեքավոր ինտենսիվ մշակաբույս [3]:

**Նյութ և մեթոդ:** Ուղղաձիգ գոտիականության պայմաններում տարբեր գյուղատնտեսական գոտիներում 1990-2006 թթ. ընթացքում ուսումնասիրել ենք տեղական մի շարք պոպուլյացիաներ, Մայկոպից և Ուկրաինայից ներմուծված սելեկցիոն սորտեր և հիբրիդներ: Տվել ենք ուսումնասիրած պոպուլյացիաների, առանձին սորտերի ու հիբրիդների բուսաբանական նկարագրությունը, կենսաէկոլոգիական աճման և զարգացման դինամիկան, իսկ մյուս հեղինակը՝ էնդոկրինոլոգ Լ. Եդոյանը, պալարներն օգտագործել և օգտագործում է պրակտիկ բժշկության մեջ, տալով դրանք շաքարախտով հիվանդներին:

Գետնախնձորի մշակման ժամանակ ցամաքի ժամկետը պետք է հարմարեցնել տվյալ վայրի այն ժամանակին, երբ պալարների տնկման խորությունում հողի ջերմաստիճանը 5-6° է, իսկ ավելի արագ ծլելու դեպքում՝ 8-10° է: Սատղաշ ծիլերը դիմանում են զարման -3-4° ցրտին, իսկ աշնանը բույսը դիմանում է -5-6° ցրտին [3,6,10]: Պալարները հողում դիմանում են -35-40° ցրտի դեպքում պահպանում են ծլունակությունը:

Որպես սերմանյութ վերցրել ենք 30-50 գ զանգվածով պալարներ, մեկ հեկտարին 18-20 ց, ցանք կատարել ենք 60-70 սմ միջշարային և 50-60 սմ միջքնային տարածությամբ: Պալարների տնկումը և ցանքը կատարել ենք կարտոֆիլացան շարքացանով և ձեռքով՝ յուրաքանչյուր բնում ցանելով 2 պալար: Ծլումը տևում է 12-25 օր: Երբ ծիլերի բարձրությունը հասել է 13-15 սմ, կատարել ենք առաջին քաղհան փխրեցում՝ 8-10 սմ խորությամբ: Երկրորդ փխրեցումը կատարել ենք առաջինից 3 շաբաթ հետո, իսկ երբ ցողունների բարձրությունը հասել է 25-30 սմ, կատարել ենք բուկլից: Կանաչ զանգվածի բերքահավաքը կատարել ենք առաջին թույլ ցրտերից հետո, իսկ պալարները հավաքել խոր աշնանը (կարելի է հավաքել նաև գարնանը) [3,6]:

ՀՀ էկոլոգիական տարբեր պայմաններում ուսումնասիրել ենք գետնախնձորի 12-ից ավելի սորտեր և հիբրիդներ, տեղախմբեր, պարզել նրանց աճի և զարգացման դինամիկան: Ուսումնասիրել ենք նաև Հայաստանում աճող որոշ պոպուլյացիաներ:

Տեղական պոպուլյացիաները հավաքել ենք տվյալ տարածքի տարբեր տեղադրումներից: Տավուշի մարզում գետնախնձորի պոպուլյացիաները անհամեմատ շատ են՝ հատկապես Շամշադինի (Կարմիրի և Նավուրի գյուղական համայնքներ), Իջևանի (Աղդանի և Աջաջի գյուղական համայնքներ) և Նոյեմբերյանի տարածաշրջաններում (Բերդավանի և Ջուլջևանի գյուղական համայնքներ), ինչպես նաև Գուգարքի տարածաշրջանի Շահումյանի և Լերմոնտովի գյուղական համայնքներում: Գեղարքունիքի մարզից տեղական պոպուլյացիաներ նկարագրվել և ուսումնասիրվել են Կրասնոսելսկի շրջանի Գետիկի գյուղական համայնքում: Այս բոլոր պոպուլյացիաները ուսումնասիրել ենք Երևանի բուսաբանական այգու տարածքում, որտեղ ցանքը կատարել ենք աշնանը: Տեղական պոպուլյացիաները ուսումնասիրել ենք չորս գոտիներում ևս:

**Արդյունքներ և քննարկում:** Ուսումնասիրություններից պարզվել է, որ առանձին տարածաշրջաններից վերցրված պալարները տարբերվել են ֆենոֆազերի տևողությամբ, այստեղ պալարների ծլումից մինչև իսկական տերևների առաջացումը տևել է նվազագույնը 9 (Դիլիջանի բուսաբանական այգի), առավելագույնը՝ 24 օր (Թումանյանի շրջանի գյուղ Շնող): Ցողունների առաջացումը համապատասխանաբար 21 (Դիլիջանի բուսաբանական այգի) և 34 օր (Նոյեմբերյանի շրջանի Ջուլջևանի համայնք): Կոկոնակալումը ծլման սկզբից առավելագույնը տևել է 176, իսկ նվազագույնը 159 օր: Ջանգվածային ծաղկումը տարբեր պոպուլյացիաների մոտ տատանվում է 181–194 օրվա սահմաններում: Այս օրինաչափությունը կրկնվում է մյուս գոտիներում:

Հաշվի առնելով այն հանգամանքը, որ տեղական բոլոր պոպուլյացիաները իրենց հիմնական ցուցանիշներով զիջել են ներմուծված սորտերին և հիբրիդներին, դրանց տվյալները չենք բերում: Չնայած այն կարծիքին ենք, որ այդ պոպուլյացիաները որոշակի հետաքրքրություն կարող են ներկայացնել գետնախնձորի սելեկցիայի համար:

Գետնախնձորի բույսերի բարձրությունը որոշակիորեն տարբեր է պայմանավորված աճելավայրով (աղ. 1):

Ինչպես երևում է աղյուսակից, բույսերի բարձրությունը տատանվում է 180-340 սմ-ի սահմաններում: Տարբեր են տերևների մեծությունները ևս:

Մեր ուսումնասիրություններում որոշակի տեսական և գործնական հետաքրքրություն են ներկայացնում ՀՀ 4 գոտիներում գետնախնձորի տարբեր սորտերի ու հիբրիդների բույսերի բարձրության հետ նաև կանաչ զանգվածի և պալարների բերքատվության ցուցանիշները: Կենսաքիմիական և մի շարք այլ ցուցանիշներին տվյալ աշխատությունում նպատակահարմար չենք համարում անդրադառնալ:

Տվյալների հավաստիությունը հիմնավորված են մաթեմատիկական անալիզով, որոշվել է միջին քառակուսային շեղումը և դուրս է բերվել փորձի ճշտությունը:

Այսպիսով, գետնախնձորից ստացվում է կանաչ զանգվածի 340–672, իսկ պալարի 160–392 գ/հա բերք, որը եթե վերածենք կերի միավորի համապատասխանաբար կկազմի 11488 և 24410 կերի միավոր մեկ հեկտարից: Գետնախնձորը կարելի է օգտագործել որպես սնունդ, անասնակեր, ինչպես նաև տեխնիկական նպատակներով:

**Աղյուսակ 1.** Գետնախնձորի տարբեր սորտերի և հիբրիդների բույսերի բարձրությունը, կանաչ զանգվածի ու պալարների բերքի նվազագույն և առավելագույն տվյալները (1990-2000 թթ.)

Աճելավայրը	Բույսերի բարձրությունը, սմ		Կանաչ զանգվածի բերքը, գ/հա		Պալարների բերքը, գ/հա	
	Նվազագույն	Առավելագույն	Նվազագույն	Առավելագույն	Նվազագույն	Առավելագույն
Երևան (Ավան)	180	308	340	640	162	391
Նոյեմբերյանի սորտափորձակայան	200	340	381	635	160	392
Վանաձորի բուսաբանական այգի	180	308	381	640	167	392
Յանիսի համայնք (Մարտունի)	220	310	405	672	198	381

Գետնախնձորից կարելի է մարդու համար որպես սնունդ պատրաստել եփած գետնախնձոր, կաթով գետնախնձոր, Ֆրիկի եղանակով տապակած, սուֆլե, կարելի է այն տապակել ձվով, պատրաստել խավիար, պովիդլո, սովորական եղանակով տապակել, պատրաստել չիպս, դիետիկ սուրճ, ստանալ այլուր [1,2]:

Վանաձորի թիվ 1 հանրաբուժարանում փորձեր են արվել գետնախնձորի պալարներն օգտագործել շաքարախտով հիվանդների բուժման համար:

Այդ հիվանդներին խորհուրդ է տրվել օգտագործել թարմ և թթու դրած պալարներ, թարմ պալարներից ստացված հյութը: Այս երկու դեպքում էլ հիվանդների մոտ նկատվել է դրական տեղաշարժ: Այդ միտումը պահպանվել է նաև, երբ հիվանդներն օգտագործել են թթու դրած պալարներ և թարմ այլուր: Այս ճանապարհով հիվանդների արյան մեջ գլյուկոզի քանակը պակասել է 1,5-4 %:

Բոլոր դեպքերում նկատվել է արյան մեջ գլյուկոզի քանակի իջեցում և հիվանդների կենսունակության բարձրացում:

Շաքարախտով շատ հիվանդներ գետնախնձորը մտցրել են իրենց կերաբաժնում:

Այսպիսով, գետնախնձորը որպես արժեքավոր անասնակեր, սննդային և տեխնիկական մշակաբույս առաջարկվում է մտցնել Հայաստանի գյուղատնտեսության մեջ, որպես անփոխարինելի և ինտենսիվ մշակաբույս: Այն կարելի է օգտագործել նաև որպես կենսավառելիքի հումք և էկոլոգիական նպատակներով [3,4,14,16,17]:

Գետնախճորի ներդրումով զարկ կտրվի նաև դիետիկ սննդամթերքների արտադրությանը, որը նույնպես նորույթ է Հայաստանի համար: Ընդլայնման դեպքում կարելի է արտադրել նաև ֆրուկտոզ, ինուլին և սպիրտ [4,5,13], որով կստեղծվեն նոր աշխատատեղեր, որը և կժառանգի նաև աղքատության վերացմանը հատկապես ֆինանսական ճգնաժամի այս ժամանակում:

Այս բոլորի հիմքով մեր կողմից մշակվել է ներդրման բուկլետ ու ներկայացվել պատկան մարմիններին այն ներդրելու համար:

#### ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Ապրիկյան Ս.Վ., Հակոբյան Ս.Յ.* Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 54, 1-2, էջ 115-119, 2002.
2. *Ապրիկյան Ս.Վ., Հակոբյան Ս.Յ. ԳՊԱ* Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 54, 1-2, էջ 120-124, 2002.
3. *Երդյան Ռ.Յ., Ապրիկյան Ս.Վ., Շեկոյան Յ.Յ.* Գետնատանձ (Գետնախճոր), ՀՀ ԳԱԱ «Գիտություն» Ե., 2008.
4. *Африкян Э.К., Гогинян К.А., Дарбинян К.А.* Биолог. журн. Армении, 59, 3-4, с. 275-282, 2007.
5. *Антонян Л.Г., Балаян А.М., Африкян Э.Г.* Докл. НАН Армении, 105, 2, 165-169, 2005.
6. *Базылев Э.Я.* Топинамбур, 1960.
7. *Балаян А.М., Манукян Л.С., Абемян В.А., Африкян Э.К.* Биолог. журн. Армении, 59, 3-4, с. 283-287, 2007.
8. *Голубев В.Н., Гласко Н.М., Волкони Н.В.* СV. “Экология человека. Проблемы и состояние лечебно-профилактического питания”, М., Пятигорск АТНРФ, 1998.
9. *Дилия А. А.* Топинамбур, продлевающий жизнь, 2003.
10. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта., М., Колос, 1965.
11. *Зеленков В. Н.* Автореф. докт. дисс., 53 с., 1999.
12. *Зимин В. С.* Автореф. канд. дисс., 19, 1997.
13. *Киянский Д.* Топинамбур - сырье для лечебных продуктов, “Здоровье”, с. 6, 1988.
14. *Сумин Ю.А.* Программа “Топинамбур” – стратегический ресурс России. Наша власть. N 3 (61) с. 42-43, 2006.
15. *Шанин С.С.* Топинамбур: новый путь к здоровью и красоте, 1999.
16. *Fuchs A.* Perspectives of inulin and inulin – containing crops in the Netherlands and in Europe. Proceedings of 3rd Seminar on Inulin. NRLO Report N 90/128, 80-111, 1989.
17. *Fuchs A. (Ed.)* Inulin and Inulin-containing crops. Elsevier Sci. Publ. The Netherlands, 413 pp., 1993.

Ստացվել է 16.03.2009



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• Экспериментальные и теоретические статьи  
•Experimental and Theoretical articles•

Biolog. Journal of Armenia, 2 (61), 2009

## COMPUTATIONAL MODELING OF TWO-ENZYME CHAIN IN PRESENCE OF A NON-COMPETITIVE INHIBITOR AND WITH ISOLATED AND COMPLEX INTERACTION BETWEEN ENZYMES

A.G.TAKGYOZYAN

Yerevan State University, E-mail: armen\_takgyozyan@yahoo.com

The paper investigates the kinetics of two-enzyme reaction chain both with isolated behaviour and complex interaction between the enzymes, in presence of a non-competitive inhibitor. The comparative analysis of concentration changes of different parameters is presented. The simulation was implemented based on the two models constructed within the *Stella* Dynamic Modelling Package. The models are tested using the same values of initial concentrations for the substrate, enzymes and the inhibitor. The outcomes present several valuable conclusions on the behaviour of the non-competitive inhibitor of isolated and complex interaction of enzymes.

*Enzyme – non-competitive inhibitor – complex interaction of enzymes*

Աշխատանքում ուսումնասիրվում է երկֆերմենտային ռեակցիայի շղթայի կինետիկան, ֆերմենտների մեկուսացված և կոմպլեքսային փոխազդեցության պայմաններում, ոչ մրցակցային ինհիբիտորի առկայությամբ: Կատարվել է տարբեր պարամետրերի կոնցենտրացիաների փոփոխման համեմատական վերլուծություն: Համակարգային մոդելավորումը իրականացվել է *Stella* դինամիկ մոդելավորման փաթեթով: Մոդելները փորձարկվել են սուբստրատ-տի, ֆերմենտների և ինհիբիտորների միևնույն սկզբնական արժեքների ներմուծմամբ: Ներկայացվել են ֆերմենտների կոմպլեքսային փոխազդեցության առկայության և բացակայության դեպքերում ոչ մրցակցային ինհիբիտորի վարքը բնութագրող մի քանի եզրակացություններ:

*Ֆերմենտ – ոչ մրցակցային ինհիբիտոր – ֆերմենտների կոմպլեքսային փոխազդեցություն*

Работа посвящена исследованию кинетики двухферментной цепи в присутствии и отсутствии комплексного взаимодействия ферментов и в присутствии неконкурентного ингибитора. Представлено сравнительный анализ концентрации разных параметров. Компьютерное моделирование осуществлено с помощью пакета динамического моделирования *Stella*. Построенные модели апробированы введением одинаковых начальных значений субстрата, ферментов и ингибитора. Сравнительный анализ результатов привел к ряду выводов относительно кинетики неконкурентного ингибирования в присутствии и отсутствии комплексного взаимодействия ферментов.

*Фермент – неконкурентный ингибитор – комплексное взаимодействия ферментов*

## INTRODUCTION

**Classical theory of Michaelis-Menten:** According to the classical theory of Michaelis-Menten, the enzymatic reaction can be presented as a combination of two parallel reactions.



where S is the free concentration of substrate, E is the free concentration of enzyme, ES is the concentration of enzyme-substrate complex, P is the product concentration, K1, K3 and K2, K4 are rate constants for forward and backward reactions respectively [1]. The Michaelis-Menten equation is valid when reaction is in stationary or equilibrium state. In this case the rate of the formation of ES complex equals to the rate of its destruction, i.e. in each instant moment of time the ES concentration is constant. Thus, the Michaelis-Menten equation binds the initial reaction rate V<sub>0</sub>, maximum reaction rate V<sub>MAX</sub> and the initial concentration of substrate S.

$$V_0 = \frac{V_{MAX}[S]}{[S] + K_M}$$

The initial reaction rate is defined as the rate of ES complex destruction and equals to

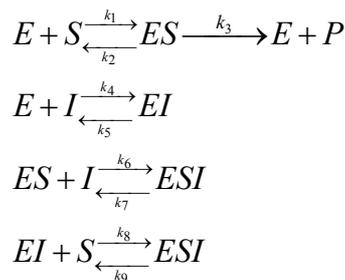
$$V_0 = K_3[ES]$$

K<sub>M</sub> is the Michaelis constant and is equal to

$$K_M = \frac{K_3 + K_2}{K_1}$$

The physical meaning of K<sub>M</sub> is that it equals to the substrate concentration when reaction's initial rate is equal to the half of maximum rate (V<sub>0</sub>=V<sub>MAX</sub>/2). The kinetics of multi-enzyme systems and systems with different inhibitors is based on the theory of Michaelis-Menten. It also works for each reaction within the enzymatic chains both with isolated enzymes and enzymes in complex interactions.

**Non-competitive inhibition:** The presence of this type of inhibitor in the enzymatic system does not affect the dissociation constant of the enzyme-substrate complex, instead the maximal reaction rate is reduced [1]. The inhibition that takes place shows that the inhibitor binds to the enzyme, and the stability of the dissociation constant of the enzyme-substrate complex is because the inhibitor and the substrate bind to different structural units of the enzyme. For the non-competitive inhibition it can be theoretically assumed that the enzyme's catalytic and binding centres are not the same. In this case binding to the catalytic centre the inhibitor reduces the enzyme's activity, but does not influence on the formation of the enzyme-substrate complex. It is also possible that the catalytic and binding centres of the enzyme are located in the same place and the inhibitor binds to another structural unit of the enzyme, which changes the latter's conformation and makes it difficult to fulfil the catalytic reaction. For the complete non-competitive reaction the following elementary reactions can be assumed:



where ESI is the concentration of the enzyme-substrate-inhibitor complex.

**Complex interaction of enzymes:** Summarizing several definitions from literature [4,5] it can be stated that enzymes interact in a complex when the activity of one enzyme influences the kinetic parameters of the end product formed by another enzyme in the chain. Thus, complex interactions of enzymes make it impossible to consider them as independent catalysers [5]. There are several types of enzyme-enzyme complex interactions discussed in literature. One of the most common types is called “group transferring chains” [6]. In these structures individual preferential transfer of metabolites occurs from one enzyme of the complex to the other. This phenomenon of transfer is called “metabolic channelling” and is well described in literature [7]. The advantages and disadvantages of the phenomenon are stated in detail in J.Ovadi’s work [6], where metabolic channelling is considered as the primary mechanism of enzymes organization.

In the sequential chains of reactions metabolic channelling is represented by preferential transfer of the end-product of one enzymatic reaction to the other enzyme to serve as the substrate of the latter, without interaction with the solution in between [6]. In other words, the molecule of the intermediate product immediately interacts with the next enzyme, and does not add to the concentration of the product itself. Thus, it can be stated that the channelling of metabolites occurs throughout the chain when the step of release of the intermediate product’s molecule is skipped [8]. This occurs due to several reasons from which the most important are the ability of complex interaction of participating enzymes and considerable concentration of the intermediate product at the same moment [2, 9].

In case of complex interaction of enzymes in the multi-enzymatic system, the influence of one enzyme on the other is characterised by the global and local parameters of metabolic control analysis [3]. The complex interaction of enzymes can be characterized by following the equation through introduction of an elasticity parameter (denoted as  $\epsilon$ ):

$$\epsilon_{E_i}^v = \frac{\partial \ln v}{\partial \ln E_i}$$

where  $v$  is the local rate of the enzymatic reaction,  $E_i$  is the concentration of the  $i^{\text{th}}$  enzyme. The complex interaction of enzymes is characterized by two equations, i.e. the first enzyme’s influence on the second’s activity and vice versa.

**Materials.** Simulation of enzymatic chains was organized by STELLA dynamic modeling package [10], where the kinetics of enzymatic reactions is presented by differential equations. The following two models were constructed within the Stella package: (1) isolated two-enzyme chain plus non-competitive inhibitor, (2) two-enzyme chain with complex interaction between enzymes plus non-competitive inhibitor.

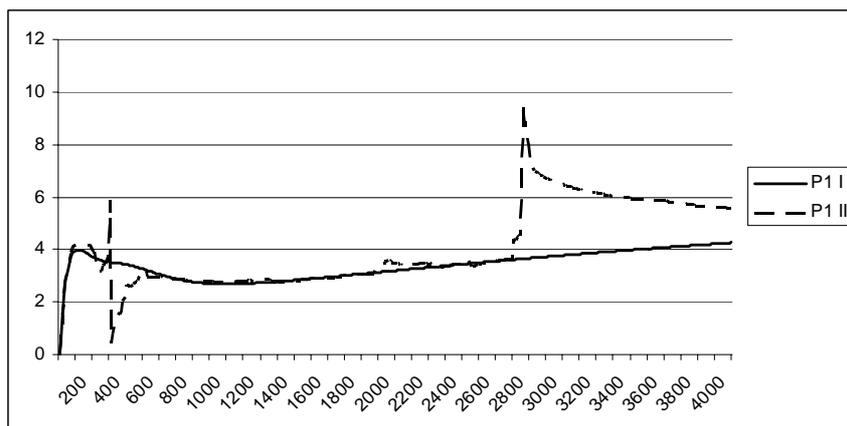
Simulation of the models is closely connected with true understanding of an idea of time. Usually the duration of the actual biological reaction does not correspond with the simulation time of the model. Thus, introduction of the notion of “conventional time” becomes necessary for detailed description of the model's steps during the simulation. Simulations were done for 4000 conventional time units. Prior simulation of the constructed models selection of a mathematical method for calculation was implemented. As no high variation of any parameter was expected, the Euler method of integration was used. Initial values of parameters are presented in the Tab. 1 below.

**Table 1.** Initial values of different parameters for simulation of the constructed models (K1, K3, K5, K7, K9, K10, K11, K12, K13, K14 are rate constants of forward reactions, and K2, K4, K6, K8, K10 are rate constants for backward reactions).

Parameter	Unit of measurement	Reactions in the chain	
		first	second
Substrate concentration	mmol	100	-
Enzyme concentration		10	15
Inhibitor concentration		15	-
K1 local rate coefficient	(sec* mmol)-1	0.0005	
K2 local rate coefficient		0.0006	
K3 local rate coefficient		0.05	
K4 local rate coefficient		0.013	
K5 local rate coefficient		0.0006	
K6 local rate coefficient		0.0007	
K7 local rate coefficient		0.07	
K8 local rate coefficient		0.014	
K9 local rate coefficient		0.005	
K10 local rate coefficient		0.0006	
K11 local rate coefficient		0.0001	
K12 local rate coefficient		0.00008	
K13 local rate coefficient		0.0001	
K14 local rate coefficient		0.00008	

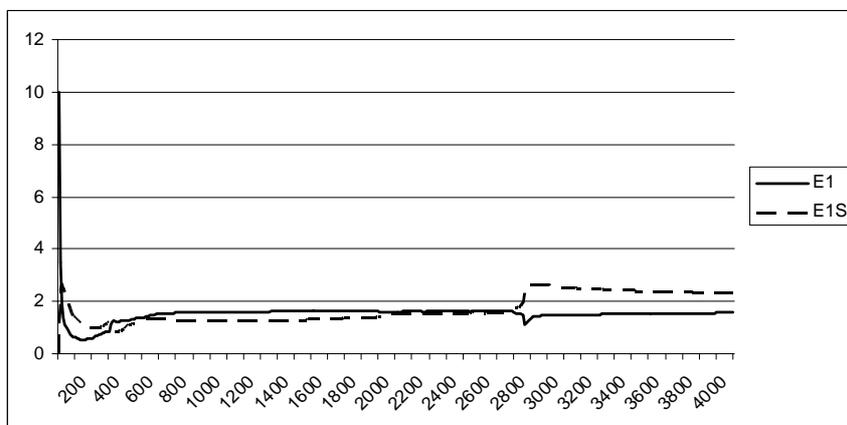
**Results and discussion.** In two enzyme chain, in case of absence of complex interaction between enzymes, concentration of the first reaction product increases until the 200<sup>th</sup> conventional time unit, and reaches the value of local maximum. Then it decreases until the 1200<sup>th</sup> conventional time unit. This can be explained by accumulation of the concentration of the first reaction product (which serves as a substrate for second reaction enzyme) before 200<sup>th</sup> conventional time unit. After the 1200<sup>th</sup> conventional time unit concentration of first reaction product starts increasing slowly. At the end of observed time period it accepts value of 4.26 mmol. (Fig. 1).

After the 400<sup>th</sup> conventional time unit, the concentration of product of the first reaction shows sharp fluctuations, which is a result of competition between enzymes. One can notice that those sharp fluctuations in concentration of the first product appear in specific time period and disappear when there is considerable accumulation of product concentration, which breaks competition between enzymes by transferring main course of chain from one enzyme to another. At the end of observed time period in case of complex interaction between enzymes the concentration of the first reaction is more than in case of isolated enzymes for 23%.



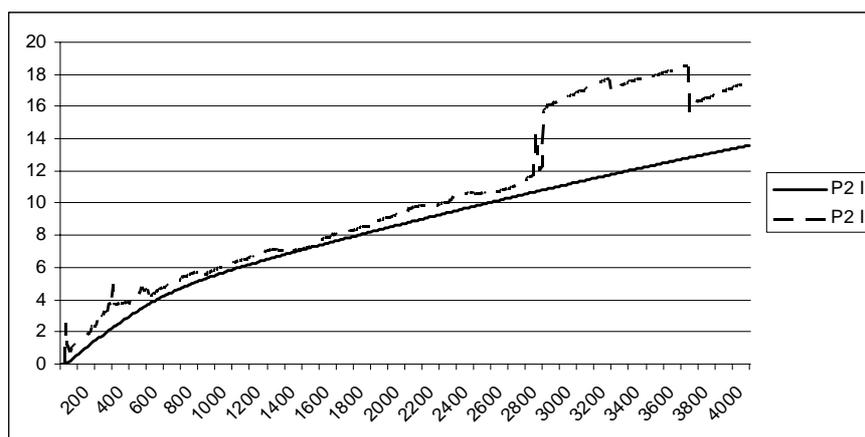
**Fig. 1.** Dynamics of the first reaction product concentration change, with presence of a non-competitive inhibitor in case of isolated (P1 I) and complex interaction (P1 II) between enzymes.

It is interesting to notice that in case of complex interaction of enzymes, sharp variations in dynamics of the first reaction products concentration are corresponding in that conventional units of time, when concentrations of first reaction enzyme and first reaction enzyme-substrate complex are approximately equal to each other (400<sup>th</sup> and 2800<sup>th</sup> conventional time units) (Fig. 2).



**Fig. 2.** Dynamics of the first reaction enzyme (E1) and enzyme-substrate complex (E1S) concentrations change, with presence of a non-competitive inhibitor in case of complex interaction between enzymes.

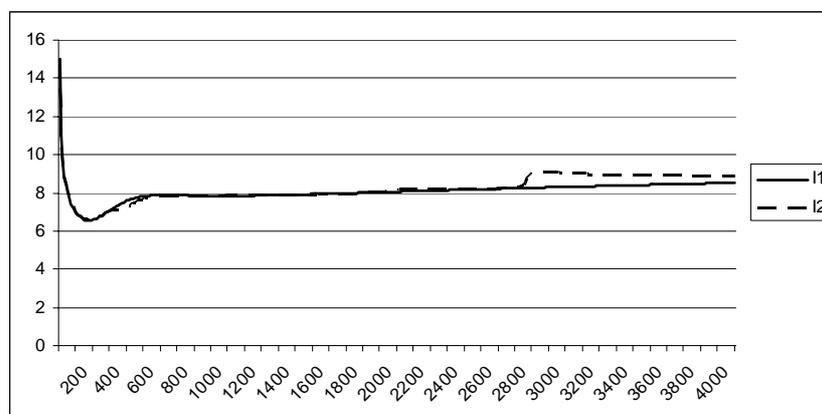
In case of complex interaction of enzymes, concentration of product of the second reaction increases faster than in case of isolated enzymes. There are sharp variations in dynamics of the second product concentration change, which is a result of sharp variations of first reaction product concentration (Fig. 3). Similar to first reaction products, product of second reaction in case of complex interaction of enzymes, is more than in case of isolated enzymes approximately for 23%.



**Fig. 3.** Dynamics of the second reaction product concentration change, with presence of a non-competitive inhibitor in case of isolated (P1 I) and complex interaction (P1 II) between enzymes

As it shown in figure 4, change dynamics of concentration of inhibitor, in presence and absence of complex interaction between enzymes is approximately the same. In both cases, until 300<sup>th</sup> conventional time unit it sharply decreases by accepting 6,25 mmol. value of concentration, then increases to approximately 7 mmol. and remains constant until the end of observed time period.

In fact, complex interaction of enzymes brings to addition of end product of the system, but it not affects to dynamics of inhibitor concentration change, i.e. it directly affects to efficiency of enzyme's functioning.



**Fig. 4.** Dynamics of inhibitor concentration change, with presence of a non-competitive inhibitor and within isolated and complex interaction between enzymes.

## CONCLUSIONS

Based on the analysis and comparison of simulation data of computational models the following conclusions were done for the case of two-enzyme reaction chain:

- in case of presence of a non-competitive inhibitor, the complex interaction of enzymes results to the addition of concentrations of products;
- the presence of complex interaction of enzymes does not affect to change dynamics of concentration of inhibitor.
- the presence of complex interaction of enzymes makes sharp variations in concentrations of products due to competition between two enzymes.

### REFERENCES

1. *Келети Т.*, Основы ферментативной кинетики. М., Мир, 1990.
2. *Cornish-Bowden A. & Cardenas M.L.*, Control of metabolic processes. New York: Plenum Press, 1990.
3. *Takgyozyan A.G., Gevorgyan A.E., Arakelyan V.B., Gevorgyan E.S.*, Electronic J. of Natural Sci., issue 2, 11-17, 2008.
4. *Burns J.A., Cornish-Bowden A., Groen A.K., Heinrich R., Kacser H., Porteous J.W., Rapoport S.M., Rapoport T.A., Stucki J.W., Tager J.M., Wanders R.J.A. & Westerhoff H.V.*, Trends Biochem. Sci., 10: 16-26, 1985.
5. *Sauro H., Kacser H.*, Eur. J. Biochem., 187: 493-499, 1990.
6. *Ovadi J.*, J. Theoret. Biol., 152, 1-22, 1991.
7. *Mendes P., Kell D.B. & Welch G.R.*, Adv. Mol. Cell Biol., 11, 1-19, 1995.
8. *Stebbing N.*, 1980. In: *Cell compartmentation and metabolic channeling.* / Ed. by Nover L., Lynen F., Mothes K. , Amsterdam: Elsevier, 65-105.
9. *Friedrich P.*, Supramolecular enzyme organization: quaternary structure and beyond. – Oxford: Pergamon Press, 1986.
10. “*STELLA Home Page*” available at URL: <http://www.hps-inc.com/edu/STELLA>

*Received 05.03.2009*



Биол. журн. Армении, 2 (61), 2009

## УРОВЕНЬ СЕРОТОНИНА В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТРИХИНЕЛЛЕЗЕ

А.В. ЗАНГИНЯН<sup>1</sup>, А.М. АСАТРЯН<sup>1</sup>, Н.Б. ТЕРЕНИНА<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии НАН РА, E-mail imb@sci.am

<sup>2</sup>Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им.  
А.Н.Северцова РАН, E-mail otolo@mail.ru

Исследования серотониновой системы при экспериментальном трихинеллезе крыс обнаруживают значительные изменения в концентрации серотонина в различных отделах головного мозга зараженных животных по сравнению с нормой. Эти изменения свидетельствуют о том, что в патогенез трихинеллезов вовлечены нарушения функционального статуса серотонин-эргической трансмиссии хозяина, что приводит к изменению поведенческих реакций, обменных процессов и различных функций организма.

*Головной мозг – серотонин – трихинеллез.*

Սերոտոնինային համակարգի ուսումնասիրությունները առնետների փորձարարական տրիխինելոզի ժամանակ ի հայտ են բերում սերոտոնինի կոնցենտրացիայի զգալի փոփոխություններ վարակված կենդանիների գլխուղեղի տարբեր հատվածներում՝ նորմայի համեմատությամբ: Այդ փոփոխությունները վկայում են, որ տրիխինելոզի պաթոգենեզում ներգրավված են տիրոջ սերոտոնիներգիկ տրանսմիսիայի ֆունկցիոնալ կարգավիճակի խախտումները, ինչը հանգեցնում է վարքային ռեակցիաների, նյութափոխանակության և օրգանիզմի տարբեր ֆունկցիաների փոփոխմանը:

*Գլխուղեղ - սերոտոնին - տրիխինելոզ*

The study of serotonin system in rats with experimental trichinellosis reveals considerable changes in the concentration of serotonin in different parts of the brain of infected animals in comparison to norm. These changes indicate that pathogenesis of helminthosis is accompanied by disturbances in the functional state of the host's serotonergic transmission leading to changes in behavioral reactions, metabolism and different functions of the organism.

*Brain – serotonin – trichinellosis*

Заболевания, вызываемые гельминтами, остаются одной из актуальных проблем современной медицины и сельского хозяйства, нанося значительный вред здоровью человека и животных и являясь причиной больших экономических потерь в сельском хозяйстве [1, 4, 5].

Трихинеллезы сопровождаются различными структурными и функциональными нарушениями в органах и тканях инвазированных животных. К настоящему времени накоплена огромная информация, касающаяся тех изменений, которые происходят в организме хозяина под влиянием инвазии трихинеллами. Эти данные касаются морфофункциональ-

ных, гистопатологических, биохимических, физиологических, гематологических и множества других изменений в организме инвазированного гельминтами хозяина [2-4]. В литературе имеются также отдельные работы, косвенно указывающие на вовлечение нарушений на уровне нейромедиаторной и гормональной регуляции в патогенез трихинеллезов. Так, ряд данных свидетельствует о том, что инвазия паразитами может сопровождаться изменениями в поведенческих реакциях хозяина, в содержании физиологически активных веществ в крови и различных органах [6, 7, 9, 10]. Однако вопросы о влиянии инвазии на нейромедиаторные и гормональные системы организма хозяина до настоящего времени остаются открытыми.

Учитывая широкий диапазон физиологического действия нейромедиатора – серотонина и нарушение его метаболизма, секреции и регуляции при многих патологических состояниях организма, нами в настоящей работе была исследована серотониновая система мозга организма хозяина при трихинеллезной инвазии.

**Материал и методика.** Исследования проводили на экспериментальной модели трихинеллёза, полученной одновременным введением рег ос личинок *Trichinella spiralis* либо *Trichinella pseudospiralis* белым крысам-самцам линии Вистар массой тела 130-150 г (по 10 личинок каждого вида на 1 г массы тела животного). В качестве контрольной группы использовали интактных, незараженных животных. В каждую группу входило десять животных. Личинки трихинелл были получены из обработанной пепсином мышечной ткани крыс, раздельно зараженных *T. spiralis* и *T. pseudospiralis*. Животных забивали декапитацией под эфирным наркозом на 40-й день после заражения и выделяли необходимые отделы мозга, включая средний мозг, гиппокамп, продолговатый мозг и кору больших полушарий.

Количественное определение серотонина в различных отделах мозга крыс проводили по методу Maickel et al. [8], основанному на измерении флуоресценции продукта взаимодействия серотонина с ортофталевым альдегидом (максимальная длина волны возбуждения 355 нм, флуоресценции - 480 нм).

Статистический анализ данных проводили по t-критерию Стьюдента. Значения  $p < 0.05$  были приняты как статистически достоверные.

**Результаты и обсуждение.** Как показали результаты исследования, у крыс, зараженных *T. spiralis*, уровень серотонина во всех исследованных областях мозга был ниже, чем в контрольной группе животных. Наиболее значительные статистически достоверные различия были зарегистрированы в среднем мозге и гиппокампе, где в среднем уровни серотонина на 30% и 20% соответственно были ниже таковых у контрольной группы животных.

Менее выраженные различия в уровне серотонина между контрольными и инвазированными животными наблюдались в мозге крыс, зараженных *T. pseudospiralis*. Однако и в этом случае также наблюдалось некоторое, хотя и статистически недостоверное, снижение концентрации серотонина в среднем мозге и гиппокампе по сравнению с контролем (табл. 1).

Полученные данные свидетельствуют о том, что инвазированность трихинеллами приводит к нарушению процессов синтеза серотонина в среднем мозге и гиппокампе. Учитывая роль, которую выполняет серотонин в осуществлении физиологических функций мозга, в регуляции различных процессов и жизнедеятельности организма в целом, можно предположить, что отмеченные изменения могут являться важным патогенным фактором, вызывающим различные функциональные расстройства в организме инвазированных животных, включая изменение поведенческих реакций.

**Таблица 1.** Влияние инвазии *T. spiralis* и *T. pseudospiralis* на содержание серотонина в различных отделах мозга крыс.

Содержание серотонина (M±m), мкг/г ткани			
Отделы мозга	Контроль	Инвазированные животные	
		<i>T. spiralis</i>	<i>T. pseudospiralis</i>
Средний	1,013 ± 0,120	0,701 ± 0,048*	0,849 ± 0,168
Гиппокамп	0,719 ± 0,056	0,571 ± 0,058	0,665 ± 0,080
Продолговатый	0,713 ± 0,083	0,621 ± 0,060	0,734 ± 0,029
Кора	0,704 ± 0,043	0,628 ± 0,018	0,727 ± 0,111

\*-  $p < 0.05$ .

С другой стороны, известно, что трихинеллез по тяжести клинического течения, осложнениям и числу летальных исходов относится к группе наиболее опасных паразитарных заболеваний [5]. Результаты проведенных нами исследований указывают на необходимость коррекции нейромедиаторных систем хозяина при трихинеллезах тяжелого течения.

#### Выводы

1. Инвазия трихинеллами приводит к нарушению процессов синтеза серотонина в среднем мозге и гиппокампе.

2. Нарушение процессов синтеза серотонина в среднем мозге и гиппокампе при трихинеллезах может быть ответственно за развитие функциональных расстройств в организме инвазированных животных, включая изменение поведенческих реакций.

3. Терапевтическая коррекция серотониновой системы хозяина может оказаться действенной мерой при лечении трихинеллезов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Астафьев Б.А. Гельминтозы человека (эпидемиология и борьба), М.: Медицина, 287 с., 1975.
2. Астафьев Б.А. Иммунопатологические проявления и осложнения гельминтозов, М.: Медицина, 124 с., 1987.
3. Зангинян А.В., Асатрян А.М. Информационные технологии и управление, 2, 52-65, 2008.
4. Озерецковская Н.Н., Зальнова Н.С., Тумольская Н.И. Клиника и лечение гельминтозов, Л.: Медицина, 183 с., 1985.
5. Gottstein B., Pozio E., Nöckler K. Clin. Microbiol. Rev. 22,1, 127-145, 2009.
6. Helluy S., Holmes J.C. Can. J. Zool., 68, 1214-1220, 1990.
7. Kavaliers M., Podesta R. Can. J. Zool., 66, 2653-2657, 1988.
8. Maickel R.P., Cox R. H., Saillant J., Miller F.P. Int. J. Neuropharmacol., 7, 275-282, 1968.
9. Mettrick D.F., Cho C.H. Revue Canadienne de Zoologie, 60, 5, 790-797, 1982.
10. Stibbs H.H. J. Parasitol., 70(3), 428-32, 1984.

Поступила 02.02.2009



Биол. журн. Армении, 2 (61), 2009

## ВЛИЯНИЕ ПЛАТИФИЛИНА НА ТЕРМОРЕГУЛЯТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КРЫС

Р.А. АРУТЮНЯН, Х.О. НАГАПЕТЯН, С.Ш. МАРТИРОСЯН

*Институт физиологии им. Л.А.Орбели НАН РА*

Показано, что системное введение платифиллина в организм регулирует температурный гомеостаз, действуя на механизмы физической и химической терморегуляции. Он активизирует калоригенные механизмы как несократительного, так и сократительного термогенеза, повышая температуру в висцеральных органах и соматических мышцах. Платифиллин действует и на сосудистые терморегуляторные механизмы, вызывая слабую вазоконстрикцию.

*Терморегуляция - температурный гомеостаз - платифиллин*

Պլատիֆիլինի համակարգային ներարկումը կարգավորում է օրգանիզմի ջերմային հոմեոստազը, ազդելով ջերմակարգավորման ֆիզիկական և քիմիական մեխանիզմների վրա: Այն ակտիվացնում է ինչպես ոչ կծկողական, այնպես նաև կծկողական ջերմածնության մեխանիզմները, բարձրացնելով ընդերային օրգանների և կմախքային մկանների ջերմությունը: Պլատիֆիլինն ազդում է նաև ջերմակարգավորման անոթային մեխանիզմների վրա, հարուցելով թույլ արտահայտված անոթաճեղմում:

*Ջերմակարգավորում - ջերմային հոմեոստազ - պլատիֆիլին*

It has been shown that systemic administration of platiphillin regulates the temperature homeostasis in organism, impacting the mechanism of physical and clinical homeostasis. It activates calorogenic mechanisms of noncontractible thermogenesis and increases the temperature in visceral organs, decreases the activity of contractible thermogenesis and decreases the temperature in somal muscles. Platiphillin also affects vascular thermoregulatory mechanisms and leads to vasoconstriction.

*Thermoregulatory mechanisms – temperature homeostasis – platiphillin*

Изучение влияния фармакологических препаратов на терморегуляторные механизмы организма привлекало внимание многих исследователей [4,6,7]. Установлено, что эффекты влияния различных препаратов на механизмы терморегуляции, поддерживающие температурный гомеостаз организма животных, зависят от многих биотических и абиотических факторов, в том числе от дозы и путей введения в организм, от температуры окружающей среды, от исходной температуры «ядра» и т.д.

Установлено, что увеличение концентрации лейцин-энкефалина в крови и гипоталамусе вызывает гипотермический эффект, в то время как введение гистамина в кровь вызывает гипертермический эффект, а в терморегуляторные центры гипоталамуса – гипотермический [1].

При изучении роли аминокислоты таурина в регуляции температурного гомеостаза нами доказано, что у крыс он вызывает гипотермический эффект, действуя как на химические, так и на физические механизмы терморегуляции, снижает теплообразование как в соматических мышцах, так и в висцеральных органах, вызывает вазодилатацию периферических сосудов и увеличивает радиационно-конвекционную теплоотдачу из организма [3].

При изучении влияния аминазина и кофеина на температурный гомеостаз у крыс установлено, что симпатолитик аминазин вызывает гипотермический эффект, блокируя действие  $\beta$ -адренорецепторов, а симпатомиметик кофеин гипертермический путем активации симпатической нервной системы и повышения теплообразования в организме [2].

Фармакологические исследования, посвященные изучению роли платифилина в механизмах регуляции физиологических функций организма недостаточны. Согласно литературным данным, он оказывает успокаивающее действие на сосудодвигательные центры мозга, обладает спазмолитическими свойствами и угнетает холинореактивные системы вегетативных узлов [5].

Что касается влияния платифилина на температурный гомеостаз, то этот вопрос нуждается в детальном изучении. В связи с этим в настоящей работе приводятся результаты изучения влияния платифилина на активность сократительного и несократительного термогенеза, на температуру периферических сосудов, а также на теплообразование в организме.

**Материал и методика.** Эксперименты носили хронический характер и проводились на бодрствующих, частично обездвиженных крысах со средней массой 270 г. В течение первых 30 мин после фиксации животных проводили термографирование исследуемых показателей - температуры ободочной кишки, скелетной мышцы и подкожных сосудов. Каждый эксперимент проводили на трех крысах - двух опытных, которым вводили платифилин в дозе 4 мкг/100 г массы, в объеме 0,2 мл/100 г массы и одной контрольной, которой вводили физиологический раствор в том же объеме. Затем проводили термографирование в течение 60 мин. Эксперименты проводили на 9 крысах (6 опытных и 3 контрольных) пятикратно.

Сократительный мышечный термогенез и несократительный желудочно-кишечный термогенез определяли методом непрерывных регистраций температурных показателей бедренной мышцы и ободочной кишки с точностью  $0,01^{\circ}$ . «Рабочие» спай термодатчик, регистрирующие мышечный сократительный термогенез, с помощью инъекционной иглы вводили в мякоть бедренной мышцы на глубину 1,5-2 см, а для регистрации несократительного желудочно-кишечного термогенеза - в ободочную кишку на глубину 5-6 см. Температуру периферических сосудов измеряли с поверхности центрально-хвостовой артерии.

Теплообразование определяли по формуле  $Q = m \cdot c \cdot \Delta t$ , где  $m$  - масса тела,  $c$  - средняя теплоемкость тела, равная  $0,83$  кал/г,  $\Delta t$  - средняя температура желудочно-кишечного тракта [3].

Регистрацию исследуемых показателей проводили медно-константановыми термодатчиками диаметром 100 мкм на 12-канальном самопишущем потенциометре типа Ф-116/2 с чувствительностью  $0,01^{\circ}$ .

**Результаты и обсуждение.** Результаты экспериментов показали, что платифилин активизирует калоригенные механизмы несократительного термогенеза в организме и вызывает гипертермический эффект. Повышение температуры ободочной кишки в течение 60 мин после введения платифилина оказалось выше исходного на  $0,32^{\circ}$  - повышалась от  $38,08$  до  $38,40^{\circ}$  (табл.)

**Таблица.** Влияние платифилина на терморегуляторные механизмы крыс

Исследуемый орган	Контроль	Температура после введения платифилина, 4 мкг/100г массы тела, через мин			
		15	30	45	60
Ободочная кишка	38,08	38,07 $\Delta t-0,01$	38,40 $\Delta t+0,32$	38,40 $\Delta t+0,32$	38,38 $\Delta t+0,31$
Скелетные мышцы	36,68	36,86 $\Delta t+0,18$	36,69 $\Delta t+0,01$	36,71 $\Delta t+0,03$	36,71 $\Delta t+0,03$
Периферические сосуды	30,21	29,23 $\Delta t-0,98$	29,63 $\Delta t-0,58$	29,44 $\Delta t-0,77$	29,38 $\Delta t-0,83$
Теплообразование, кал/100 г массы	3160	3183	3187	3185	3182

Что касается механизмов сократительного термогенеза и сосудистой терморегуляторной реакции, то платифилин, как видно из таблицы, понижает его активность и снижает температуру в скелетных мышцах в пределах  $0,1^{\circ}$  - от  $36,78$  до  $36,68^{\circ}$  и индуцирует слабую вазоконстрикцию, снижая сосудистую температуру в пределах  $1,58^{\circ}$  - от  $30,21$  до  $28,63^{\circ}$ . Из данных таблицы явствует также, что платифилин действует не только на физические, но и на химические механизмы, участвующие в регуляции температурного гомеостаза организма - увеличивает теплообразование организма по сравнению с контролем на  $22-27$  кал/100 г - от  $3160$  до  $3187$  кал/100 г массы.

Резюмируя полученные результаты, можно заключить, что гипертермический эффект платифилина вызван активацией метаболических процессов в висцеральных органах, в том числе в органах желудочно-кишечного тракта, где, по литературным данным, в период основного обмена образуется 10% тепла от общего теплообразования в организме. Гипотермический эффект платифилина связан с ослаблением сократительного термогенеза и образованием тепла в соматических мышцах, где в период основного обмена образуется до 25 % тепла от общего теплообразования в организме [2,3].

Что касается механизма вазоконстрикции, то следует предполагать, что платифилин действует на адренергические рецепторы, в частности  $\alpha$ -адреноцепторы кровеносных сосудов, возбуждение которых вызывает слабый вазоконстрикционный эффект.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Р.А., Арутюнян К.Р. и др. ДАН Арм. ССР, 3,3, с.276-280, 2002.
2. Арутюнян К.Р., Арутюнян Р.А., Мартиросян С.Ш., Нагапетян Х.О. Биолог. журн. Армении, 58, 1-2, с.76-80, 2006.
3. Арутюнян Р.А., Восканян А.В. и др. Биолог. журн. Армении, 59, 1-2, с.139-141, 2007.
4. Иванов К.П. Биоэнергетика и температурный гомеостаз. Л., «Наука», 1972.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства, М., «Медицина»1977.
6. Bligh J. J.Physiol. 76, 1, p.436-440, 1993.
7. Hardy J.D. J.Physiol.Rev., 41, p.521-523, 1961.

Поступила 19.01.2009



*(Համառոտ հաղորդումներ (Краткие сообщения) (Short communications)*

Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2 (61), 2009

**ՃԱԳԱՐՆԵՐԻ ՍԱՐԿՈՊՏՈԶԻ ԿԼԻՆԻԿԱԿԱՆ  
ԱՐՏԱՀԱՅՏՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆԸ**

**Հ.Զ. ՆԱՂԱՇՅԱՆ, Լ.Հ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ**

*Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան*

Սարկոպտոզով արհեստական ճանապարհով վարակված ճագարների մոտ հետևելով հիվանդության զարգացման կլինիկական արտահայտվածությանը պարզվել է, որ տզերը ներդրման հատվածից (բերանի շրջակայք) մեկ ամսվա ընթացքում տարածվում են քթի, աչքերի, գլխի, ականջի հիմքի, ինչպես նաև վերջավորությունների, որովայնի և շեքի հատվածների վրա: Միաժամանակ նկատվում է նաև շնչառության և սրտի զարկի հաճախականության արագացում:

Համաձայն հետազոտությունների արդյունքների՝ սարկոպտոզով բնական ճանապարհով վարակված ճագարների մոտ հիվանդության բնորոշ կլինիկական նշանները (մազաթափություն, ընկճվածություն, քոր, մաշկի կարմրություն, կեղեր և այլն) սովորաբար առաջանում են մարմնի տարբեր հատվածներում:

Այսպես, մինչև 3 ամսական մատղաշների մոտ սարկոպտոզ հիվանդությունը հիմնականում սկսվում է գլխի դիմային հատվածից: Մեկ տարեկանից բարձր էգերի և արուների մոտ սարկոպտոզը սկսվում է պոչի, հետին վերջավորությունների, շեքային և որովայնի հատվածներից հետագայում ախտաբանական պրոցեսի մեջ ընդգրկելով կենդանու ողջ մարմինը:

*Ճագար - սարկոպտոզ - քոր - կլինիկական նշան*

Наблюдения за развитием процесса у экспериментально зараженных саркоптозом кроликов показали, что в течение месяца клещи из первичного очага (область рта) распространяются на соседние участки - области носа, глаз, головы, основания ушных раковин, а также на конечности, область живота и промежность животных. Одновременно наблюдается учащение пульса и дыхания.

Согласно результатам исследования, у кроликов, заразившихся саркоптозом естественным путем, характерные клинические признаки заболевания (алопеция, апатия, зуд, покраснение кожи, корки т.д.) могут проявляться на различных участках тела. У крольчат в возрасте до 3 мес. процесс начинается с лицевой части головы. У кроликов старше года процесс начинается с области хвоста, задних конечностей, промежности и брюшной области, в дальнейшем распространяясь на все тело.

*Кролик – саркоптоз – чесотка – клинический симптом*

The research of pathological process in rabbits artificially infected by sarcoptic mange, shows that mites are spread from the primary focus, a head region, on the neighboured areas, such as nose, eyes, head, basis of pinnae, as well as limbs, belly, and perineal area. Tachycardia and tachypnoe are also observed.

According to the results of our observation, in rabbits naturally infected by sarcoptic mange, characteristic clinical signs (alopecia, lethargy, itch, skin erythema and crusts) can appear in different areas. In younger rabbits (up to 3 months old) the process starts from face region of head. In animals older than one year, process usually begins from tail, hind limbs, perineum, and belly, spreading all over the body.

*Rabbit - sarcoptosis – mange - clinical sign*

Ճագարների սարկոպտոիդոզները մեծ խումբ քոսային հիվանդություններ են, որոնցից Հայաստանի պայմաններում առավել թույլ ուսումնասիրվածը սարկոպտոզն է:

Ըստ Հայաստանի պետական ագրարային համալսարանի (ՀՊԱՀ) համաճարակաբանության և մակաբուծաբանության ամբիոնի տվյալների, ներկայումս Ճագարների սարկոպտոզի էքստենսիվությունը երկրում կազմում է 20-22%:

1972 և 1988 թթ. Բտայիայում կատարված հետազոտությունների արդյունքում կլինիկորեն ճագարների մոտ տարբերակել են գլխի և ականջների քոս հիվանդությունը: Գլխի քոսը հարուցվել է *Sarcoptes cuniculi*, *Notoedres cuniculi* և *Demodex cuniculi* տզերի կողմից [1]:

Քոսի տզերը փոխանցվում են մի կենդանուց մյուսին ինչպես ուղղակի շփման, այնպես էլ խնամքի առարկաների միջոցով և կենդանիների մաշկի վրա տեղակայվում են օջախներով:

Պարզվել է, որ սարկոպտոզի դեպքում կենդանիների մոտ առաջանում է ուժեղ բորբոքում, ի հայտ են գալիս բազմաթիվ անցքեր կամ խուղակներ, որոնք լցված են զարգացման տարբեր փուլերում գտնվող բազմաթիվ տզերով: Մաշկի փոփոխությունները նկատվում են ոտքերի, պոչի, քթի, աչքերի և ականջների հատվածներում [2]:

Բազմաթիվ տվյալների հիման վրա կարելի է եզրակացնել, որ կենդանիների և մարդկանց սարկոպտոիդոզները լայնորեն տարածված են ողջ աշխարհում: Չնայած բազմաթիվ գիտական ուսումնասիրությունների կենդանիների քոսային հիվանդությունների վերաբերյալ կան շատ վիճահարույց հարցեր, իսկ ինչ վերաբերվում է ճագարների սարկոպտոիդոզներին, դրանց կլինիկական արտահայտվածությունը համեմատաբար քիչ է ուսումնասիրված:

Այսպիսով պարզվում է, որ ի տարբերություն այլ կենդանատեսակների, ճագարների սարկոպտոիդոզային հիվանդությունները կարիք ունեն խորը ու բազմակողմանի հետազոտության:

Աշխատանքի նպատակն է ուսումնասիրել ճագարների սարկոպտոզի կլինիկական արտահայտվածությունը:

**Նյութ և մեթոդ:** Ճագարների սարկոպտոզի կլինիկական արտահայտվածությունը ուսումնասիրվել է տարբեր հասակային խմբերի պատկանող սարկոպտոիդային տզերով արհեստական և բնական ճանապարհներով վարակված ճագարների վրա:

Արհեստական վարակման նպատակով հեռացվել են կենդանիների դիմային հատվածի մազերը, ապա կենդանի տզեր պարունակող կեղերը կաշուն ժապավենի օգնությամբ ամրացվել են ճագարների մաշկին և 5 օր անց գննվել է հիվանդության զարգացման ընթացքը:

Վատարվել է սարկոպտոզով վարակված ճագարների ընդհանուր կլինիկական գնում, որոշվել է մարմնի ընդհանուր ջերմաստիճանը, ինչպես նաև 1 ր սրտի զարկի և շնչառության հաճախականությունը:

**Արդյունքներ և քննարկում:** Ուսումնասիրությունների արդյունքում պարզվել է, որ հիվանդության կլինիկական նշանները միևնույն խմբի կենդանիների մոտ ի հայտ են գալիս արհեստական վարակումից 10 օր անց: Այս դեպքում գաղտնի շրջանի տևողությունը կախված է տարվա եղանակից, ներդրված տզերի քանակից, կենդանու օրգանիզմի դիմադրողականությունից, ճագարանոցի պահվածքի ձևից, միկրոկլիմայից, կերակրումից և այլ գործոններից:

Կենդանիների մոտ սկզբում նկատվում է քոր, անհանգիստ վիճակ, ախորժակի անկում, մարմնի ջերմաստրճանի բարձրացում 0,2°, իսկ հաջորդ օրերին դիմային հատվածում՝ հիմնականում շուրթերի շուրջը, հայտնվում են ոչ մեծ հանգույցներ, մաշկի կարմրություն և այտուցվածություն: Վարակման սկզբից 18-20 օր անց ախտահարվում են նաև քթի, այտերի հատվածները և աչքերի շրջակայքը: Հիվանդության խորացման հետևանքով հանգույցները հետզհետե վեր են ածվում բշտերի, որոնք հետագայում հասունանալով բացվում են: Դրանցից արտազատված էքսուդատը խառնվելով կեղտի և էպի-

դերմիսի կազմափոխված բջիջների հետ չորանում ու վերածվում է 0,1-0,5 սմ հաստությամբ սպիտակա-մոխրավուն կեղերի:

Վարակումից 23-24 օր անց ախտաբանական պրոցեսը ներգրավում է նաև գլխի այլ հատվածները և ականջի հիմքը, նկատվում է շնչառության հաճախականության արագացում 41%, սրտի զարկի հաճախականության արագացում 14.6%: Ախտաբանական պրոցեսի խորացմանը զուգընթաց քորը սաստկանում է:

**Աղյուսակ 1.** Սարկոպտոզով հիվանդ և առողջ ճագարների որոշ կլինիկական ցուցանիշների համեմատական գնահատականը  
n = 6, M ( m

Ցուցանիշներ	Առողջ ճագարներ	Սարկոպտոզով հիվանդ ճագարներ
Ջերմաստիճան, (C	39,0 ( 0,11	39,2 ( 0,13
Զարկ (1 րոպ.)	132,6 ( 2,26	152 ( 1,29 *
Շնչառություն (1 րոպ.)	43,6 ( 1,13	61,5 ( 1,29 *

\* p ( 0,05

Ճագարները մարմնի ախտահարված հատվածները քսում են վանդակներին, կերամաններին, պոկում են վերջավորություններով և այլն: Գիշերային ժամերին քորը ավելի է սաստկանում, որի հետևանքով առավոտյան ժամերին կենդանիների մոտ հայտնաբերվում են արյունահոսող կամ արյան մակարդուկով պատված հատվածներ:

Կենդանիները վերջավորություններով քորելով գլխի հատվածի մաշկի ախտահարված հատվածները, նպաստավոր պայմաններ են ստեղծում նաև վերջավորությունների մաշկի սարկոպտոզով ախտահարման համար: Մովորաբար, վերջավորությունների, որովայնի և շեքային հատվածների ախտահարումը նկատվում են գլխի հատվածի ախտահարումից 6-10 օր անց:

Այսպիսով, սարկոպտոզով արհեստական ճանապարհով վարակված ճագարների մոտ հետևելով հիվանդության զարգացման կլինիկական արտահայտվածությանը պարզվել է, որ տզերը ներդրման հատվածից (բերանի շրջակայք) մեկ ամսվա ընթացքում տարածվում են քթի, աչքերի, գլխի, ականջի հիմքի, ինչպես նաև վերջավորությունների, որովայնի և շեքի հատվածների վրա: Միաժամանակ նկատվում է նաև շնչառության և սրտի զարկի հաճախականության արագացում:

Համաձայն հետազոտությունների արդյունքների սարկոպտոզով բնական ճանապարհով վարակված ճագարների մոտ հիվանդության բնորոշ կլինիկական նշանները (մազաթափություն, ընկճվածություն, քոր, մաշկի կարմրություն, կեղեր և այլն) սովորաբար առաջանում են մարմնի տարբեր հատվածներում:

Այսպես, մինչև 3 ամսական մատղաշների մոտ սարկոպտոզը հիմնականում սկսվում է գլխի դիմային հատվածից, որը հավանաբար պայմանավորված է համատեղ պահվածքով, կերի ընդունման ժամանակ կենդանիների շփման հաճախականության մեծացումով և այլն:

Մեկ տարեկանից բարձր էգերի և արուների մոտ սարկոպտոզը սկսվում է պոչի, հետին վերջավորությունների, շեքային և որովայնի հատվածներից հետագայում ախտաբանական պրոցեսի մեջ ընդգրկելով կենդանու ողջ մարմինը: Մարմնի նշված հատվածների ախտահարումը հավանաբար առաջանում է կենդանիների զուգավորման ժամանակ անմիջական շփման հետևանքով:

### ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Bortato M.* Lotta alle parassitosi in conigliocultura Inform. Zootecn. 35, 2, 39-41, 1988.
2. *Kangas J. Skabb.* Finsk palstidskrift. 12, 12, 493-494, 1974.

Ստացվել է 19.12.2008



*(Համառոտ հաղորդումներ (Краткие сообщения) (Short communications)*

Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2 (61), 2009

**ԱՐՅՈՒՆԱԲԱՆԱԿԱՆ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ  
ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԽՈՇՈՐ ԵՂՋԵՐԱՎՈՐ  
ԱՆԱՍՈՒՆՆԵՐԻ ԵՄ ՀԻՊՈԴԵՐՄԱՏՈԶԻ ԿԱՆԽԱՐԳԵԼՄԱՆ  
ՆՈՐ ԵՂԱՆԱԿԻ ԿԻՐԱՌՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ**

**Մ. Ա. ՄԽԻԹԱՐՅԱՆ**

*Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան*

Տավարի հիպոդերմատոզի կանխարգելման նպատակով բոռերի թռիչքի սկզբին, կենդանու պոչի հիմքի մաշկին ամրացվում է տավարի դաբաղած, 18 x 1,8 սմ չափի նեոցիդոլի 60% լուծույթով ներծծված կաշվի կտոր և թողնվում է մինչև բոռերի թռիչքի ավարտը, որը կանխարգելում է սեռահասուն բոռերի ձվադրումը և հորթերի մոտ հիպոդերմատոզի առաջացումը: Մշակման հետևանքով կենդանիների արյան էրիթրոցիտների քանակության և հեմոգլոբինի պարունակության փոփոխություններ չեն նկատվում:

*Հիպոդերմատոզ - տավար - բոռ - թրթուր*

С целью профилактики гиподерматоза крупного рогатого скота в начале лёта оводов к основанию хвоста животных прикрепляли кусочки дубленой кожи размером 18 x 1,8 см, пропитанный 60%-ной эмульсией неоцидола, оставляя его до конца лёта насекомых, что предотвращает яйцекладку у половозрелых самок оводов и развитие гиподерматоза у телят. Изменений количества эритроцитов и содержания гемоглобина в крови животных при обработке не наблюдается.

*Гиподерматоз – крупный рогатый скот – овод – личинка*

The pieces of leather 18 x 1.8 cm barked and soaked by the 60% emulsion of neocidole, have been sewed to the basic part of the tail since the start of gadfly flight till its finish to prevent the cattle hypodermatosis. It prevents the oviposition of mature female gadflies and appearance of hypodermatosis in calves. There were not any changes in red blood cells and hemoglobin quantity in treated animals.

*Hypodermatosis – cattle - gadfly - larva*

Տավարաբուծությունը հանդիսանում է Հայաստանի անասնապահության գլխավոր և զարգացող ճյուղերից մեկը:

Տավարաբուծության զարգացմանը խոչընդոտում են ինվազիոն հիվանդությունները, հատկապես ենթամաշկային բոռի թրթուրների կողմից հարուցվող հիպոդերմատոզ հիվանդությունը:

Հիպոդերմատոզը խրոնիկական հիվանդություն է, որը արտահայտվում է հարուցիչի թրթուրների տեղակայման վայրում առաջացող բորբոքային երևույթներով, օրգանիզմի ընդհանուր թունավորման և մթերատվության անկման նշաններով: Հայտնի է, որ հիպոդերմատոզով հիվանդ կովերի մոտ կաթի կորուստը տարեկան կազմում է 90-200 կգ, մսինը՝ 13-18 կգ, իսկ կաշեհումքինը՝ 8% [1, 2]:

Հիվանդությունը հարուցվում է բոռի երկու տեսակների՝ *Hypoderma bovis* (սովորական բոռ) և *H. lineatum* (կերակրափողային բոռ) թրթուրների կողմից: Մաշկային բոռի այս երկու տեսակների կյանքի տևողությունը

ընդամենը մեկ օրացույցային տարի է, որից 10 ամիսը նրանք անց են կացնում տավարի օրգանիզմում, իսկ մնացած երկու ամիսը արտաքին միջավայրում, որից հետո ոչնչանում են:

Մաշկային բոռի դեմ պայքարի պրոբլեմը շատ վաղուց է գրավել մասնագետների ուշադրությունը: Դեռևս հնագույն ժամանակներից բոռի դեմ պայքարի համար օգտագործել են տարաբնույթ միջատասպան նյութեր պարունակող օծանելիքներ, լինիմենտներ, քսուքներ, փոշիներ, զագեր, էմուլսիաներ և այլն: Միայն վերջին տասնամյակներում առաջարկվել են բազմաթիվ բուսական, քլորօրգանական և ֆոսֆօրգանական պատրաստուկներ, սակայն դրանցից ոչ մեկը օժտված չէ բացարձակ միջատասպան հատկությամբ [3-5]:

Աշխատանքի նպատակն էր մշակել և փորձարկել տավարի հիպոդերմատոզի կանխարգելման նոր եղանակ և ուսումնասիրել այդ եղանակով կենդանիների օրգանիզմ ներմուծվող նյութերի ազդեցությունը նրանց արյան ձևաբանական կազմի վրա:

**Նյութ և մեթոդ:** Հետազոտությունները կատարվել են 2005-2006 թթ. Արագածոտնի մարզի Ավան գյուղի ֆերմերային տնտեսություններում: Այս և տարածաշրջանի այլ տնտեսություններում տավարի հիպոդերմատոզը յուրաքանչյուր տարի զգալի վնաս է պատճառում ֆերմերներին: Հետևաբար, հիպոդերմատոզը կանխարգելման նպատակով մենք փորձեցինք միջատասպան նյութերով մշակված կաշվե կտորները ամրացնել ոչ թե կենդանիների պարանոցին, ինչպես դա արվում է շների և կատուների մոտ, այլ պոչի հիմքին, քանի որ ենթամաշկային բոռը իր ձվերն ամրացնում է տավարի պոչի հատվածի և ազդրերի հետին մակերեսի մազերին:

Որպես միջատասպան նյութ ընտրվել է մեծ քանակներով ներկրվող և բարձր միջատասպան արդյունավետությամբ օժտված նեոցիդոլ պատրաստուկը: Կենդանիներին մշակելուց առաջ հաշվի է առնվել, թե այդ տարածաշրջանում, կախված կլիմայական պայմաններից, երբ է սկսվում և ավարտվում բոռերի թռիչքը:

Հիպոդերմատոզի կանխարգելման նպատակով փորձերը կատարվել են նույն տարում ծնված հորթերի վրա, որոնք նախօրոք բաժանվել են 4 խմբի, յուրաքանչյուրում 6 կենդանի: Կատարել ենք կենդանիների արյան ձևաբանական կազմի հետազոտություն: Հաշվել ենք արյան էրիթրոցիտների և հեմոգլոբինի քանակությունը մինչև կենդանիներին մշակելը և մշակելուց 7 օր, 20 օր և 7 ամիս անց:

Առաջին խմբի կենդանիները մշակվել են հետևյալ կարգով. հուլիսի սկզբին (բոռերի թռիչքի սկզբին) նույն տարում ծնված հորթերի պոչի հիմքին ռետինի օգնությամբ ամրացվել են 18 x 1,8 սմ չափի նեոցիդոլի 60% յուղային լուծույթով ներծծված կտորներ և թողնվել մինչև հոկտեմբերի վերջը, այսինքն տվյալ տարածաշրջանին բնորոշ, բոռերի թռիչքի ավարտը (կտորները փոխվել են յուրաքանչյուր 15 օր): Երկրորդ խմբի կենդանիներին արոտային շրջանի սկզբին և ողջ արոտային շրջանում 25 օրը մեկ կատարվել է ցողարկում քլորֆոսի 1%-անոց ջրային լուծույթով, յուրաքանչյուր գլխի համար ծախսելով 16 մլ լուծույթ: Երրորդ խմբի կենդանիներին նույն կերպ 25 օրը մեկ կատարվել է ցողարկում նեոցիդոլի 60%-անոց ջրային լուծույթով, յուրաքանչյուր գլխի համար ծախսելով 16 մլ լուծույթ: Չորրորդ (ստուգիչ) խմբում ընդգրկված էին նույնպես նույն հասակին պատկանող կենդանիներ, սակայն դրանք միջատասպան ոչ մի պատրաստուկներով չեն մշակվել:

**Արդյունքներ և քննարկում:** Չորս խմբերի կենդանիների արյան ձևաբանական կազմի՝ էրիթրոցիտների և հեմոգլոբինի փոփոխությունները բերված է աղյուսակ 1-ում:

Ինչպես երևում է աղյուսակի թվային պատկերից կենդանիներին նեոցիդոլով մշակելուց 7 օր անց նկատվում է էրիթրոցիտների քանակի ավելացում 25, իսկ հեմոգլոբինի քանակը՝ 24 %-ով, որը վերականգնվում է 20 օր անց, իսկ 7 ամիս անց կրկին տեղի են ունենում փոփոխություններ: Էրիթրոցիտների քանակը նորմայից ավելանում է 12 %-ով, իսկ հեմոգլոբինինը՝ 9 %-ով:

Նույնանման պատկեր է ստացվում նաև քլորֆոսի 1 % լուծույթով մշակման ժամանակ՝ 7 օր անց էրիթրոցիտների քանակը ավելանում է 21,3 %, իսկ հեմոգլոբինի քանակը ավելանում է 15,7%: 20 օր անց այն վերականգնվում է, իսկ 7 ամիս անց՝ էրիթրոցիտներ ավելանում են 22 %, իսկ հեմոգլոբինը՝ 6,5%:

Ինչպես երևում է աղյուսակից, այլ պատկեր է նեոցիդոլով մշակված ժապավենը ամրացնելիս: Կենդանիների մոտ արյան ձևաբանական կազմի ոչ մի փոփոխություն չի նկատվել:

**Աղյուսակ 1.** Հայտնի և առաջարկվող եղանակներով մշակված հորթերի արյան ձևաբանական կազմի հետազոտությունը  
M(m, n = 6

Փոր- ձարկված դեղա- կույթեր	Մինչև փորձը		7 օր անց		20 օր անց		7 ամիս անց	
	Էրիթրո- ցիտ 10 <sup>12</sup> /լ	հեմո- գլոբին գ/լ						
Նեոցի- դոլի 0,05%- անոց լուծույթ	7,25(0,08	108( 1,1	9,06(0,11	134(1,2	7,86( 0,06	117( 1, 0	6,35( 0,19	98(0,8
Նեոցի- դոլով մշակված ծալալեն	7,26(0,096	107,6(1,3	7,28(0,08	108(1,6	7,41( 0,11	109,1( 1,4	7,4( 0,16	108,3(0,9
Քլորո- ֆոսի 1%-անոց լուծույթ	7,5( 0,06	107( 1,1	9,1(0,06	129(0,8	7,63( 0,08	108,3( 0,96	5,85( 0,12	100(1,6
Ստուգիչ խումբ	7,41( 0,16	10,5( 2,2	7,38(0,12	109,8( 1,7	7,4( 0,096	110,8( 2,4	5,36(0,19	95,6( 0,9

Չորրորդ խմբի կենդանիների արյան կազմի փոփոխություն նկատվել է 7 ամիս անց: Էրիթրոցիտների քանակը ավելացել է 25 %-ով, իսկ հեմոգլոբինինը՝ 13 %:

Բացի այդ հաջորդ տարի զարնանը կենդանիներին ստուգելիս, երկրորդ խմբի կենդանիների մաշկի վրա հիպոդերմատոզի հարուցիչի երրորդ աստիճանի թրթուրների խլվակներ չեն հայտնաբերվել: Առաջին խմբի կենդանիների մոտ խլվակների քանակը համեմատած ստուգիչ խմբի կենդանիների՝ կազմում էր 45,4 %, իսկ երրորդինը՝ 33 %:

Այսպիսով նեոցիդոլի 60 % յուղային լուծույթի մեջ պահված կաշվե կտորների օգտագործումը, ի տարբերություն անասնաբուժության մեջ ավանդաբար օգտագործվող պատրաստուկների՝ նեոցիդոլի և մշակման ձևերի՝ ցողարկում կամ լողացում, արդյունավետ է, չի ազդում էրիթրոցիտների և հեմոգլոբինի քանակական կազմի վրա, քիչ աշխատատար է և, որ ամենակարևորն է, առաջարկվող եղանակը հնարավորություն է տալիս տնտեսությունները մի քանի տարիների ընթացքում լիովին ազատել հիպոդերմատոզի հարուցիչներից:

Անհրաժեշտ է ընդգծել, որ բացի բռռերին վանելու հասկությունից, մեր կողմից փորձարկված եղանակով կենդանիներին մշակելու դեպքում դրանց վրա չեն հայտնաբերվել անասնաբուժության համար չարիք հանդիսացող արոտավայրային տզերը:

Առաջարկվող եղանակի համար ստացվել է արտոնագիր:

### ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Հ.Ձ. Նաղաշյան. Մակարուծաբանություն և կենդանիների ինվազիոն հիվանդություններ. Երևան, □ՍՍՐՎԱՐԴ հրատարակչություն□, 2003:
2. Непоклонов А. Животноводство России, 6, 5, стр. 78-81, 2000.
3. Окунев А.М. Сб.науч.тр. ВНИИВЭА. 36, стр.89-92, 1994/1995.
4. Oksanen A, Nieminen M. Acta Vet Scand. 4, 39, 483-9, 1998.
5. Riha J, Minar J, Matouskova O. Vet Med (Praha). Apr;22, 4, 193-200, 1977.

Ստացվել է 16.02.2009