

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

2010

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 ԿՈԼԵԳԻԱ

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

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԽՈՐՀՆՈՒՐԴ

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

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Յ.Ս. Գևորգյան (*главный редактор*), Ր.Մ. Արությունյան (*заместитель главного редактора*), Ա.Ս. Բояджян (*заместитель главного редактора*),
Ա.Գ. Եсаян (*ответственный секретарь*), Զ.Ա. Варданян, Գ.Ա. Գеворкян,
Տ.Խ. Майрапетян, Л.Р. Манвелян, Р.О. Оганесян, А.А. Трчунян

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Ս.Մ. Ավակյան, Վ.Ս. Ակոպյան, Զ.Ի. Ակոպյան, Յ.Տ. Ալեքսանյան, Յ.Գ. Աֆրիկյան,
Յ.Ս. Գաբրիելյան, Ա.Ա. Գալոյան, Մ.Ա. Դավթյան, Կ.Գ. Կարաբեկյան, Ս.Օ. Մովսեսյան,
Լ.Լ. Օսիպյան, Գ.Ա. Փանոսյան, Կ.Ս. Պոգոսյան.

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.

ԲՈՎԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

(Փորձարարական և տեսական հոդվածներ)

<i>Դյուկովա Կ.Գ. Citrobacter freundii</i> բակտերիաների թիրոզին ֆենոլ լիազի կենսասինթեզի օպտիմալ պայմանների մշակումը, անջատումը և մաքրումը	6
<i>Ահադզադեհ Ա., Գրիգորյան Կ.</i> Իրանի Բալիքի գետի միջավայրի աղտոտվածությունը և ֆիզիկաքիմիական պարամետրերը.....	14
<i>Աբովյան Ա.Յու.</i> Հոտավետ, թունավոր նյութերի առաջացումը մսի փչացման նախնական փուլում	20
<i>Մացակյան Վ.Գ.</i> ՀՀ Լոռու մարզի Գուգարքի տարածաշրջանի անտառի վերին զոտու հիմնական համակեցությունները և դրանց փոխհարաբերությունը.....	24
<i>Առաքելյան Ա., Հակոբյան Ս., Ժամհարյան Լ., Համբարձումյան Մ. Առաքելովա Է., Հովսեփյան Տ., Գրիգորյան Գ., Մորգան Փ.Բ., Բոյաջյան Ա.</i> Կոմպլեմենտի H գործոնի Y402H ֆունկցիոնալ պոլիմորֆիզմը իշեմիկ կաթվածով հիվանդների մոտ.....	34
<i>Դավթյան Մ.Ռ., Ղուկասյան Է.Խ., Հակոբյան Ս.Հ., Բարսեղյան Ն.Է.</i> Հրազդան գետի ջրի որակի գնահատումը կենսաբացահայտման տարբեր մեթոդներով.....	40
<i>Խաչատրյան Տ.Ս., Կարապետյան Ի.Ռ., Թոփուզյան Վ.Օ., Կիպրիյան Տ.Կ., Հարությունյան Է.Յու., Յոդմեթիլատ 2-(դիմետիլլամին) եթիլ N(պ-մեթոքսի-բեն-զոիլ)-DL-ֆենիլլալանինի ամիդի ազդեցության ուսումնասիրումը ողնուղեղի առանձին շարժանեյրոնների արտաբջջային ֆոնային էլեկտրական ակտիվության վրա նրա ձախակողմյան լատերալ հեմիսեկցիայի ժամանակ.....</i>	46
<i>Գյուլխանդանյան Ա.Գ., Գյուլխանդանյան Լ.Ժ., Ղազարյան Ռ.Կ., Գյուլխանդանյան Գ.Վ., Կատիռնային պորֆիրինների կապման ուսումնասիրությունը ցուլի շիճուկային ալբումինի հետ ֆլուորեսցենտային սպեկտրոսկոպիայի մեթոդով.....</i>	52
<i>Եսայան Ա.Հ., Հովհաննիսյան Ն.Ա. Triticum boeoticum</i> և <i>Triticum urartu</i> պոպուլյացիաների գենետիկական բազմազանության գնահատումը RAPD մարկերների կիրառմամբ.....	57
<i>Մարգարյան Ա.Մ., Մովսեսյան Հ.Ս., Մեսրոպյան Ա.Ռ., Bacillus Thuringiensis</i> տեսակի միջատա-սպանների պահպանելիությունը անտառային կենսացենոզներում ցողումից հետո.....	63
<i>Քարիմզադե Խ., Գաբրիելյան Բ., Ֆազլի Խ.</i> Կասպից ծովի հարավային շրջանների (Մազանդարանի շրջան) անչոուսային կիկլայի (<i>Clupeonella engrauliformis</i>) կենսաբանական ցուցանիշների և պոպուլյացիոն փոփոխությունների հետազոտում.....	67
<i>Հակոբյան Ս.Հ., Ղուկասյան Է.Խ., Սահակյան Դ.Լ., Դավթյան Մ.Ռ., Հայրապետյան Ա.Հ.,</i> Հայաստանի սահմանամերձ Դեբեդ գետի ջրակենսաբանական առանձնահատկությունների հետազոտում.....	75
<i>Հովհաննիսյան Ռ.Հ., Իվանյան Մ.Ս., Դավթյան Ա.Ա., Լ.Ռ., Համբարյան Լ.Ռ.; Մկրտչյան Ժ.Հ., Հովսեփյան Ա.Ա., Մամյան Ա.Ս.</i> Սօանա լճի նրա ջրահավաք ավազանի հիդրոէկոլոգիական ուսումնասիրություններ (2009թ.).....	81
<i>Դավթյան Մ.Ա., Նավասարդյան Լ.Հ., Մարության Ս.Վ., Նավասարդյան Ա.Լ.</i> Տարբեր օրգանիզմների ԴՆԹ-ի համեմատական ուսումնասիրումը ֆյուլուրոսցենտային անալիզի եղանակով.....	86
<i>Վարդանյան Ն.Ս., Մարկոսյան Լ.Ս., Վարդանյան Ա.Կ.</i> Ցինկի խտանյութից պղնձի, ցինկի և այլ արժեքավոր մետաղների ընտրողական կորզումը քեմոլիթոտրոֆ բակտերիաների համակեցության միջոցով.....	90
<i>Սեմերջյան Զ.Բ., Զաքարյան Հ.Ս., Ռամազյան Ն.Վ., Ավագյան Հ.Ռ.</i> Երկպարույր Ռնթ-ի ազդեցությունը նուկլեինաթթուների և մարկերային սպիտակուցի սինթեզի վրա <i>HeLa</i> բջջիջներում in vitro պայմաններում.....	95
<i>Փանոսյան Հ.Հ.</i> Դիլիջանի երկրաջերմային անոմալիաներով տեղանքներից մեկուսացված ջերմասեր բացիլների շտամների բնեռային լիպիդների և ճարպաթթուների կազմը.....	100
(Համառոտ հաղորդումներ)	
<i>Նիկողոսյան Վ.Գ.,</i> Ացետիլլենային եղանակով ազոտֆիքսող միկրոօրգանիզմների և նրանց համակեցությունների նիտրոգենագային ակտիվության ուսումնասիրությունների մասին	107
<i>Պրոֆեսոր Գուրգեն Ապրիկյանը 80 տարեկան է</i>	110

СОДЕРЖАНИЕ

•Экспериментальные и теоретические статьи•

Дюкова К.Г. Разработка эффективных условий биосинтеза, выделения и очистки тирозин-фенол-лиазы из бактерий <i>Citrobacter freundii</i>	6
Аадзаде А., Григорян К. Загрязненность среды и физико-химические параметры реки Баликли в Иране.....	14
Абовян А.Ю. Наличие токсических и дурнопахнущих веществ при начальной стадии порчи мяса.....	20
Мацакян В.Г. Основные лесные сообщества верхнего пояса и их взаимоотношение в Гугарском районе Лорийского марза.....	24
Аракелян А., Акопян С., Жамгарян Л., Амбарцумян М., Аракелова Э., Овсепян Т., Григорян Г., Морган П.Б., Бояджян А. Y402H функциональный полиморфизм фактора H комплемента у больных ишемическим инсультом.....	34
Даллакян М.Р., Гукасян Э.Х., Акопян С.А., Барсегян Н.Э. Оценка качества воды реки Раздан различными методами биоиндикации.....	40
Хачатрян Т.С., Карапетян И.Р., Топузян В.О., Киприян Т.К., Арутюнян Э.Ю. Исследование влияния йодметилата 2 – (диметиламино) этилового амида N – (п– метоксибензоил) – DL – фенилаланина на внеклеточную фоновую активность одиночных мотонейронов спинного мозга крыс при левосторонней латеральной гемисекции.....	46
Гюльханданян А.Г., Гюльханданян Л.Ж., Газарян Р.К., Гюльханданян Г.В. Исследование связывания катионных порфиринов с бычьим сывороточным альбумином методом флуоресцентной спектроскопии.....	52
Есаян А.Г., Ованесян Н.А. Оценка генетического разнообразия популяций <i>Triticum boeoticum</i> and <i>Triticum urartu</i> с применением RAPD маркеров.....	57
Саркисян А.М., Мовсесян А.С., Месропян А.Р. Сохраняемость инсектицидов вида <i>Bacillus thuringiensis</i> в лесных биоценозах после опрыскивания.....	63
Каримзаде Г., Габриелян В., Фазли Х. Исследование популяционной динамики и биологических параметров анчоусой кильки (<i>Clupeonella engrauliformis</i>) южной части Каспийского моря (провинция Мазандаран).....	67
Акопян С.А., Гукасян Э.Х., Саакян Д.Л., Даллакян М.Р., Айрапетян А.О. Исследование гидробиологических особенностей приграничной реки Дебед Армении	75
Оганесян Р.О., Иванян М.С., Давтян А.А., Гамбарян Л.Р., Мкртчян Ж.Г., Овсепян А.А., Мамян А.С. Гидроэкологические исследования озера Севан и его основных притоков (2009г.).	81
Давтян М.А., Навасардян Л.А., Марутян С.В., Навасардян А.Л. Сравнительное исследование ДНК разных организмов методом флуоресцентного анализа.....	86
Варданян Н.С., Маркосян Л. С., Варданян А.К. Селективное извлечение меди, цинка и других ценных металлов из цинкового концентрата ассоциацией хемолитотрофных бактерий	90
Семерджян З.Б., Закарян О.С., Рамазян Н.В., Авагян Г.Р. Воздействие дсРНК на синтез нуклеиновых кислот и маркерного белка в клетках HeLa в условиях in vitro.....	95
Паносян О.А., Состав полярных липидов и жирных кислот штаммов термофильных бацилл, изолированных из участков с геотермальными аномалиями Дилижана (Армения)	100
•Краткие сообщения •	
Никогосян В.Г. Об исследовании нитрогеназной активности азотфиксирующих микроорганизмов и их сообществ ацетиленовым методом.....	107
Профессору Априкяну Гургену Вардевановичу – 80 лет.....	110

CONTENTS

•Experimental and Theoretical articles•

Dyukova K.G. Development of the efficient conditions of biosynthesis, isolation and purification of tyrosin phenol-lyase from <i>Citrobacter freundii</i>	6
Ahadzadeha A., Grigoryan K. Environmental pollutions and physicochemical parameters in Baliqly river in Iran.....	14
Abovyan A. The presence of toxic and foul-smelling substances at the initial stage of spoilage of meat.....	20
Macakyan V.G. Main communities and their interactions of the forest upner ares in Gugarge region of Lori marz	24
Arakelyan A., Hakobyan S., Zhamgaryan L., Hambardzumyan M., Arakelova E., Hovsepyan T., Grigoryan G., Morgan P. B., Boyajyan A. Complement factor H Y402H functional polymorphism in patients with ischemic stroke.....	34
Dallakyan M.R., Ghukasyan E.Kh., Hakobyan S.H., Barseghyan N.E. Assesment of water quality of the Hrazdan river by different bioindication methods.....	40
Khachatryan T.S., Karapetyan I.R., Topuzyan V.O., <u>Kipriyan T.K.</u> , Haroutiunyan E.Yu. Investigation of the influence of iodmethyle 2 – (dimethylamino) ethyl amid N – (p- metoxybenzoill) – DL-fenilalanyn on extracellular background activity of single motoneurons of spinal cord under its left-side lateral hemisection	46
Gyulkhandanyan A.G., Gyulkhandanyan L.Zh., Ghazaryan R.K., Gyulkhandanyan G.V. Study of cationic porphyrins binding to bovine serum albumin by method of fluorescent spectroscopy.....	52
Yesayan A.H., Hovhannisyan N.A. Assessment of genetic diversity of <i>Triticum boeoticum</i> and <i>Triticum urartu</i> populations by application of RAPD markers.....	57
Sargsyan A.M., Movsesyan H.S., Mesropyan H.R. Persistence of insecticides of <i>Bacillus thuringiensis</i> species in forest biocenosis after spraying.....	63
Karimzade Gh., Gabrielyan B., Fazli H. Study of population dynamics and biological parameters of Anchovy kilka (<i>Clupeonella engrauliformis</i>) in southeast part of Caspian Sea (Mazandaran province)	67
Hakobyan S.H., Ghukasyan E.Kh., Sahakyan D.L., Dallaqyan M.R., Hayrapetyan A.H. Study on Hydrobiological peculiarities in Armenian part of transbordary river Debed.....	75
Hovhannisyan R.H., Ivanyan M.S., Davtyan A.A., Hambaryan L.R., Mkrtchyan Zh.H., Hovsepyan A.A., Mamyan A.S. Hydroecological investigations of lake Sevan and its catchment basin (2009).....	81
Davtyan M.A., Navasardyan L.A., Mautyan S.V., Navasardyan A.L. Comparative investigation of DNA of different organizms by fluorescence analysis.....	86
Vardanyan N.S., Markosyan L.S., Vardanyan A.K. Selective recovery of copper, zinc and other valuable metals from zinc concentrate by association of <i>Chemolithotrophic bacteria</i>	90
Semerjyan Z.B., Zakaryan H.S., Ramazyan N.V., Avagyan, H.R. The influence of DsRNA on the synthesis of nucleic acids and VEGF marker protein in transformed HeLa cells during cultivation in vitro.....	95
Panosyan H.H., Polar lipid pattern and fatty acid composition of thermophilic bacilli isolated from a site of geothermal anomaly of Diligan (Armenia).....	100

• Short communications •

Nikoghosyan V.G. On investigation of the nitrogenase activity of nitrogen fixing microorganisms and their communities by the acetylene method.....	107
Professor Gurgen Aprikyan is 80 years old.....	110



Биолог. журн. Армении, 2 (62), 2010

РАЗРАБОТКА ЭФФЕКТИВНЫХ УСЛОВИЙ БИОСИНТЕЗА, ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ ТИРОЗИН-ФЕНОЛ-ЛИАЗЫ ИЗ БАКТЕРИЙ *CITROBACTER FREUNDII*.

К.Г. ДЮКОВА

ЗАО “НИИ Биотехнологии”

В работе приведены результаты исследований по разработке эффективной питательной среды для выращивания бактерии *Citrobacter freundii* 62, состоящей из доступных и дешевых компонентов. Предлагаемая нами синтетическая среда с добавлением L-аспарагиновой кислоты обеспечивает быстрый рост культуры с высокой удельной тирозин-фенол-лиазной (ТФЛ) активностью, которая на порядок превышает аналогичный показатель для ТФЛ *C. freundii*, известный из литературы.

Предложен эффективный метод очистки ТФЛ из клеток *C. freundii*, позволяющий получить фермент с высоким выходом и с применением минимального числа стадий очистки. В результате описанного нами метода очистки значение удельной активности ферментного препарата увеличивается в 6,1 раз, а общий выход активности составляет 40,2 %. Полученный очищенный ферментный препарат проявляет максимальную активность при температуре 35° и pH 8,5. Показано, что при хранении в глицерине в присутствии меркаптоэтанола период полуинактивации фермента увеличивается и составляет 15 сут.

Тирозин-фенол-лиаза □ *Citrobacter freundii* □ L-Тирозин

Աշխատանքում մշակվել է *Citrobacter freundii* 62 շտամի աճեցման սննդամիջավայր, որը կազմված է մատչելի և էժան բաղադրիչներից: Մեր կողմից առաջարկվող L-ասպարագինաթթվի հավելմամբ սինթետիկ սննդամիջավայրը ապահովում է կուլտուրայի արագ աճ և թիրոզին-ֆենոլ-լիազի (ԹՖԼ) բարձր ակտիվություն: Վերջինս մեկ կարգով գերազանցում է *C. freundii*-ի ԹՖԼ-ի գրականությունից հայտնի համանման ցուցանիշը:

Առաջարկված է *C. freundii* բջիջներից ԹՖԼ-ի մաքրման արդյունավետ եղանակ: Այն հնարավորություն է տալիս մաքրման նվազագույն փուլերի կիրառմամբ ստանալ բարձրաստիճան մաքրությամբ և ակտիվությամբ ֆերմենտային պատրաստուկ: Մեր կողմից նկարագրված մաքրման մեթոդի արդյունքում ֆերմենտային պրեպարատի տեսակարար ակտիվությունը աճում է ավելի քան 6,1 անգամ, իսկ ակտիվության ընդհանուր ելքը կազմում է 40,2 %: Ստացված մաքուր ֆերմենտային պրեպարատը մաքսիմալ ակտիվություն է ցուցաբերում 35° ջերմաստիճանում և 8,5 pH-ում: Ցույց է տրված, որ մերկապտոէթանոլի ներկայությամբ գլիցերինում պահելիս ֆերմենտի կիսահիսակտիվացման ժամանակը բազմակիորեն աճում է և կազմում է 15 օր:

Թիրոզին ֆենոլ-լիազ (*Citrobacter freundii*) L-թիրոզին

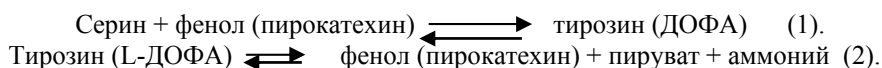
In this study the fermentation medium for growing *Citrobacter freundii* 62 strain, consisting of cheap and available components, was developed. Suggested synthetic growth medium with addition of L-aspartic acid provide the rapid

culture growth with high tyrosine-phenol-lyase (TPL) activity, which in order exceeds the analogous index for TPL of *C. freundii* known from literature.

An efficient method for TPL purification from *C. freundii* cells has been offered, which allows to obtain the purified enzyme in high yield using minimum of purification steps. As a result of described purification procedure the specific activity of preparation arises in 6.1 times, and the yield of activity makes up 40.2 %. The obtained purified enzyme preparation exhibits maximum activity at temperature 35 °C and pH 8.5. It was shown, that in case of keeping in glycerol in presence of mercaptoethanol the enzyme half lifetime increases many times making up 15 days.

Tyrosine phenol-lyase □ *Citrobacter freundii*, L □ tyrosine

Тирозин-фенол-лиаза (ТФЛ) – амбифункциональный, пиридоксальфосфат-зависимый фермент, обратимо катализирующий ряд реакций β-замещения (1) и α,β-элиминирования (2) [1, 3], [5,6]



Реакции, катализируемые этим ферментом, представляют большой теоретический и практический интерес. С биотехнологической точки зрения наибольший практический интерес представляют реакции синтеза тирозина и диоксифенилаланина (L-ДОФА) из фенола и пирокатехина соответственно. Для смещения равновесия в сторону синтеза указанные реакции проводят при наличии избытка пировиноградной кислоты и аммиака, но при низких концентрациях фенола (пирокатехина) в силу того, что он необратимо денатурирует ТФЛ.

Наиболее эффективными продуцентами ТФЛ являются штаммы бактерий *Erwinia herbicola*, *Citrobacter intermedius*, *Citrobacter freundii*. В ряде работ для получения высокой ТФЛ активности детально исследованы условия культивирования штаммов бактерий *E. herbicola* и *C. intermedius* [4,6,9]. В то же время аналогичные работы для *C. freundii* отсутствуют, и, тем самым фактически не выявлен истинный потенциал данной культуры в качестве продуцента ТФЛ.

Ряд исследований посвящен выделению ТФЛ в гомогенном состоянии из различных источников [1,2,7,8]. При этом описанные методы включают большое число стадий очистки, а выход фермента колеблется в пределах 5-40 %.

Целью настоящей работы является разработка доступной и дешевой среды, обеспечивающей образование и накопление ТФЛ *C. freundii*, а также усовершенствование способа выделения и очистки данного фермента.

Материал и методика: Условия эксперимента. Материалы и питательные среды.

В работе использовали следующие реактивы: аминокислоты, пиридоксаль-5'-фосфат, этилендиаминтетраацетат (ЭДТА), NADH, лактат-дегидрогеназа ("Reanal", Венгрия), 2-меркаптоэтанол (МЭ), пируват натрия, гидроксипатит производства ("Serva" Германия), дрожжевой экстракт ("BBL", США), диэтиламиноэтил (ДЭАЭ)-тойоперл 650М и тойоперл 55F ("Тоуо Soda", Япония), сефадекс G-25 С ("Pharmacia", Швеция). Все остальные реактивы марки х.ч. - коммерчески доступные, производства Армении и стран СНГ.

В качестве продуцента ТФЛ использовали бактерии *C. freundii* 62, полученные на кафедре микробиологии биологического факультета МГУ.

Клетки *C. freundii* 62 выращивали и поддерживали на следующих средах: мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА); среда № 1 на основе (МПБ), среда № 2 на основе гидролизата БВК, среда № 3 на основе гидролизата сои, среда № 4 синтетическая (бедная), среда № 5 синтетическая (обогащенная), среда № 6 на основе глицерина, среда № 7 на основе глицерина (обогащенная), среда № 8 на основе глюкозы, среда № 9 на основе глюкозы (обогащенная), среда № 10 синтетическая с добавлением аспарагиновой кислоты, среда № 11 синтетическая с добавлением аспарагиновой кислоты и глюкозы.

мясопептонный бульон / агар (МПБ, МПА) и гидролизат БВК – гидролизат биомассы дрожжей приготовлены согласно [3].

Гидролизат сои – гидролизат соевой муки готовили аналогично гидролизату БВК из расчета 50 г соевой муки на 100 мл 4 N серной кислоты.

Получение биомассы клеток *C. freundii*. Биомассу выращивали в колбах объемом 750 мл, содержащих по 100 мл питательной среды, в течение 19 ч на круговых качалках со скоростью вращения 200 об/мин при температуре 30°. Клетки осаждали центрифугированием при 5000 g в течение 40 мин (центрифуга K-26, Германия) при температуре 4°. Полученную биомассу дважды промывали в буфере А и сохраняли в замороженном состоянии при температуре -18°.

Выделение и очистка ТФЛ из *C. freundii*. Все работы по выделению и очистке ТФЛ из *C. freundii* проводили при температуре 4°.

Разрушение клеток. Дезинтеграцию клеток осуществляли ультразвуковой обработкой в течение 20 мин, при частоте звука 20 кГц и мощности 300 Вт (Labsonic 2000, В. Braun, Германия) в буфере А. Осадок удаляли центрифугированием при 20000 g в течение 20 мин (центрифуга K-24, Германия).

Фракционирование ферментного экстракта на ДЭАЭ - тойоперл 650М. Грубый ферментный экстракт подавали на колонку (2,5 x 15 см), содержащую анионит – ДЭАЭ - тойоперл 650М, уравновешенный буфером Б. Элюцию проводили линейным градиентом концентрации хлористого натрия (0-0,4 М) в буфере Б. Активные фракции собирали по 8-10 мл автоматическим коллектором "Isco" (США), объединяли и использовали на следующем этапе.

Фракционирование на гидроксиапатите. Объединенный раствор активных фракций наносили на колонку (2,5x 7см), содержащую гидроксиапатит. Адсорбированные белки элюировали линейным градиентом концентрации K₂Na-фосфатного буфера (0-0,3 М), рН 7,3 с 10 мМ меркаптоэтанолом. Фракции, обладающие активностью, объединяли и высаливали белок сульфатом аммония при 75%-ном насыщении. Осадок отделяли центрифугированием и растворяли в минимальном объеме буфера А.

Гель-фильтрация. Полученный концентрированный раствор белков пропускали через колонку (1,5 x 54 см), содержащую тойоперл 55F, уравновешенный буфером А. Калибровку колонки проводили используя следующие белки: ферритин (450 кДа), каталаза (240 кДа), альдолаза (60 кДа) и цитохром С (12,4 кДа). Фракции белков, имеющие ТФЛ активность, объединяли и обессоливали на колонке (4,5 x 24 см), содержащей уравновешенный буфером Б сефадекс G-25 С, после чего концентрировали на маленькой колонке (1 x 5 см), заполненной ДЭАЭ-тойоперлом 650 М.

Определение чистоты препаратов ТФЛ. Чистоту полученного препарата ТФЛ определяли с помощью нативного диск-электрофореза в столбиках 7,7 %-ного полиакриламидного геля (ПААГ) с системой буферов Лаемли, согласно инструкции, предложенной фирмой Фармация [12], рН гелей 8,8, напряжение 4 мА/гель. Белковые зоны выявляли красителем - кумаси бриллиантовым голубым R- 250.

Измерение активности ТФЛ. Активность ТФЛ измеряли в реакции α , β элиминирования тирозина по накоплению образующегося пирувата в реакционной среде следующего состава: 2,5 мМ L-тирозина, 0,1 мМ пиридоксальфосфата, бу-фер А [5]. Общий объем реакционной смеси составлял 1 мл, температура 30°. Реак-цию начинали добавлением 10 мкл ферментного препарата, останавливали через 10 мин кипячением пробирок с реакционной смесью в течение 3-5 мин на кипящей водяной бане. Пируват, образующийся в реакционной смеси, определяли по убыли поглощения NADH в реакции, катализируемой лактатдегидрогеназой на UV-VIS спектрофотометре "Perkin Elmer 340", США. За единицу активности фермента принимали количество пирувата (мкмоль), которое образует 1 мг ферментного препарата за 1 мин при температуре 30°. Концентрацию белка измеряли методом Гровса и Дейвиса по поглощению при длине волны 224 – 236 нм [10].

Определение температурного и рН оптимумов. Активность фермента измеряли при разных температурах, в интервале от 20 до 60° и при разных рН, в интервале от 5 до 10, используя 50мМ трис-фосфатный буфер с соответствующими значениями рН.

Результаты и обсуждение. Влияние состава среды на ТФЛ активность. В целях определения влияния состава среды на активность ТФЛ проведен подбор оптимального состава питательной среды для выращивания клеток *C. freundii*,

продуцирующих фермент ТФЛ. Опробированы синтетические и полноценные среды с некоторыми вариациями добавок, всего 11 сред (табл. 1). Результаты полученных данных, характеризующие удельную ТФЛ активность клеточных экстрактов, общий выход биомассы и суммарную активность в зависимости от состава питательной среды представлены в табл. 2.

Таблица 1. Составы питательных сред для культивирования *C. freundii*, pH 6.6-6.7.

Компо- Ненты среды (%) №	Гидролизат БВК	Гидролизат сои	Дрожжевой экст.	Глицерин	Глюкоза	L-Asp	L-Tyr	Пиридоксин	Фумаровая к-та	MgSO ₄	FeSO ₄	KH ₂ PO ₄
1*	-	-	1.0	-	-	-	0.2	0.01	-	-	-	-
2	2.5	-	1.0	-	-	-	0.2	0.01	1.0	-	-	-
3	-	2.5	1.0	-	-	-	0.2	0.01	1.0	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	0.25	0.01	-	0.1	0.001	0.5
5	-	-	1.0	-	-	-	0.25	0.01	-	0.1	0.001	0.5
6	-	-	-	2.0	-	-	0.2	0.01	-	0.1	0.001	0.5
7	-	-	1.0	2.0	-	-	0.2	0.01	-	0.1	0.001	0.5
8	-	-	-	-	2.0	-	0.2	0.01	-	0.1	0.001	0.5
9	-	-	1.0	-	2.0	-	0.2	0.01	-	0.1	0.001	0.5
10	-	-	-	-	-	2.0	0.2	0.01	-	0.1	0.001	0.5
11	-	-	1.0	-	-	2.0	0.2	0.01	-	0.1	0.001	0.5

* **примечание:** среда на основе МПБ с указанными добавками.

Буферные растворы:

Буфер А: 50 mM K₂Na-фосфат, pH 8,0; 10 mM МЭ.

Буфер Б: 10 mM K₂Na-фосфат, pH 7,3 10 mM МЭ.

Полученные результаты показывают, что бактерии *C. freundii* обнаруживают высокую ТФЛ активность при выращивании на богатой среде № 1 с мясным бульоном и пептоном. При концентрации в среде 2,5 % гидролизатов БВК и сои (среды № 2, № 3) наблюдается такой же рост микроорганизмов и накопление ТФЛ, как и в случае среды N 1. На синтетической (бедной) среде № 4, содержащей L-тирозин в качестве единственного источника углерода и азота, наблюдается медленный рост культуры с низкой удельной ТФЛ активностью. Недостатками данной среды являются медленный рост культуры и низкое суммарное количество синтезируемого белка. Введение в среду № 4 дрожжевого экстракта приводит к повышению удельной ТФЛ активности и значительному росту биомассы клеток, однако при этом происходит и увеличение количества посторонних белков (среда № 5). Глюкоза считается хорошим источником углерода, стимулирующим рост клеток. Однако при использовании ее в качестве единственного источника углерода в концентрации 2% не наблюдали ни достаточно хорошего роста клеток, ни аккумуляции фермента (среды № 8, № 9). Аналогичный эффект был получен исследователями для ТФЛ из *E. herbicola* [6].

Авторы считают, что введение в состав питательной среды глюкозы является причиной катаболической репрессии в образовании индуцибельного фермента ТФЛ из *E.herbicola*. Замена глюкозы глицерином, не являющимся катаболическим репрессором, в качестве единственного источника углерода, не произвела ожидаемого положительного эффекта на рост клеток и активность ТФЛ (среды № 6 и № 4). Основываясь на результатах полученных в работе [4], по потреблению определенных аминокислот в процессе роста клеток *C. intermedius* с высоким содержанием ТФЛ, мы ввели в бедную питательную среду № 4 в качестве источника углерода и азота наряду с L-тирозином и L-аспарагиновую кислоту (среда № 10). Это привело к значительному повышению удельной ТФЛ активности и обеспечило быстрый рост и накопление биомассы клеток. Добавление же дополнительно дрожжевого экстракта (среда № 11) способствовало лишь накоплению посторонних белков, о чем свидетельствует большое количество биомассы клеток и низкая удельная активность ТФЛ.

Таблица 2. Общий выход биомассы и удельная активность ТФЛ в зависимости от состава питательной среды.

Среда №	Общий выход биомассы, г/л среды	Удельная активность, ед	Общая активность, ед
1	9.91	0.204	202,0
2	10.36	0.227	235,0
3	9.89	0.232	229,0
4	0.31	0,009	0,3
5	10.17	0.176	179,0
6	0	0	0
7	1.64	0	0
8	0	0	0
9	1.22	0	0
10	8,46	0.330	279,0
11	10, 50	0,053	550,0

Таким образом, для выращивания бактерии *C. freundii* наилучшими показателями обладает среда № 10, которая не содержит пищевых продуктов и многокомпонентной смеси индивидуальных дорогих аминокислот и состоит из доступных и дешевых компонентов. Предлагаемая нами синтетическая среда с добавлением L-аспарагиновой кислоты обеспечивает быстрый рост культуры с высокой удельной ТФЛ активностью. Удельная активность ТФЛ *C. freundii*, полученная при выращивании на среде № 10, на порядок превышает аналогичный показатель для ТФЛ *C. freundii*, известный из литературы [1].

Выделение и очистка ТФЛ из *C. Freundii*. Клеточный экстракт с максимальной ТФЛ активностью далее использовали для выделения и очистки фермента.

Нами был применен способ очистки фермента, включающий следующие стадии: хроматографию на ионообменнике, содержащем ДЭАЭ - тойоперл 650М, хроматографию на гидроксипатите, гель - фильтрацию через тойоперл 55F с последующим обессоливанием и концентрированием полученного препарата ТФЛ. Результаты выделения и очистки ТФЛ представлены в табл. 3.

Благодаря примененной трехэтапной схеме очистки белка, была достигнута удельная активность 1,41 Ед/мг, что соответствует показателям значений активности очищенных препаратов ТФЛ, известных из литературы [1,2,7,8]. В результате очистки значение удельной активности фермента увеличивается в 6,1 раз, а

общий выход составляет 40,2 %. Необходимо отметить, что высокое содержание ТФЛ в клетках, полученных нами на среде № 10, позволило существенно сократить число стадий очистки по сравнению со способом выделения ТФЛ, описанным в работе [2]. В частности, в предлагаемой нами схеме очистки для извлечения фермента из клеток используется простой метод ультразвуковой обработки, тогда как в литературе разрушение клеток проводят на прессе Френча с последующими многочисленными экстракциями дебриса тритоном X 100. Исключен трудоемкий и продолжительный процесс осаждения белка сернокислым аммонием с последующим диализом полученного осадка, предшествующий каждому этапу очистки; отсутствует стадия повторной гель-фильтрации.

Таблица 3. Результаты очистки ТФЛ из *C. freundii*.

Этапы	Объем, мл	Белок, мг/мл	Удельная акт., ед/мг	Выход, %
Разрушение и получение клеточного экстракта	56	15,9	0,23	100,0
Хроматография на ДЭАЭ- тойоперле 650М	45	3,2	0,65	45,1
Хроматография на гидроксиапатите	10	7,5	1,22	44,8
Гель-фильтрация через тойоперл 55F	15	3,9	1,41	40,2

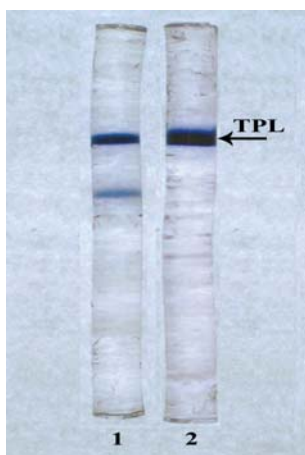


Рис.1. Результаты электрофореза ТФЛ из *C. freundii* 62 в 7,7 %ном полиакриламидном геле: 1 – 10 мкг препарата ТФЛ после гидроксипатита, 2 – 30 мкг очищенного препарата ТФЛ.

Методом аналитического электрофореза в 7,7 %ном полиакриламидном геле проведена оценка степени чистоты полученного препарата ТФЛ. Показано наличие единственной белковой полосы, соответствующей активности ТФЛ, доказанной измерением активности фермента в кусках разрезанного геля (рис.1). Таким образом, разработанный метод выделения позволяет получить гомогенный препарат фермента ТФЛ.

Определение молекулярной массы ТФЛ *C. freundii*. Результаты определения молекулярной массы ТФЛ методом гель-фильтрации приведены на рис.2. Из представленных результатов видно, что молекулярная масса ТФЛ, выделенной

нами из *C. freundii*, составляет 205 КДа. Для сравнения отметим, что, согласно японским исследователям, молекулярная масса ТФЛ, выделенной из *E. intermedia*, 170 КДа [6], а ТФЛ из *E. herbicola* - 259 КДа [7].

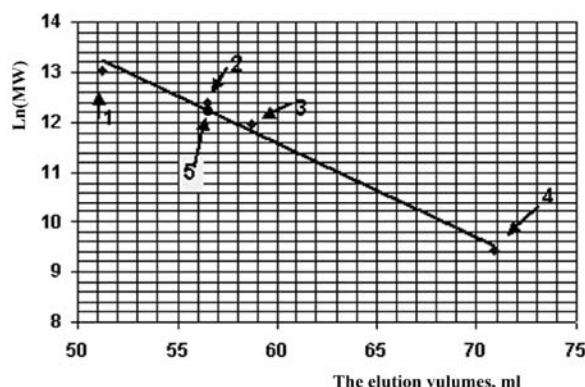


Рис. 2. Калибровочная кривая зависимости логарифмов молекулярных масс белков 1- ферритин, 2 - каталаза, 3 - альдолаза, 4 - цитохром C, 5 – ТФЛ от величины их элюционных объемов.

Свойства очищенной ТФЛ. Нами были изучены зависимости активности очищенной ТФЛ от температуры и pH. Данный фермент имеет температурный оптимум около 35° и pH оптимум около 8,5, что отображено на рис. 3 и 4. В области кислых pH, при значениях ниже pH 5.5 фермент подвергается необратимой инактивации, в области же щелочных pH в пределах значений pH 10-12, ТФЛ проявляет незначительную активность (точки на кривой не указаны). Полученные значения оптимума pH для ТФЛ из *C. freundii* близки значениям, полученным для ТФЛ, выделенных из различных источников. Для ТФЛ из *E. herbicola* оптимум pH около 8.2, из *E. intermedia* - около 8.5 [7, 8]

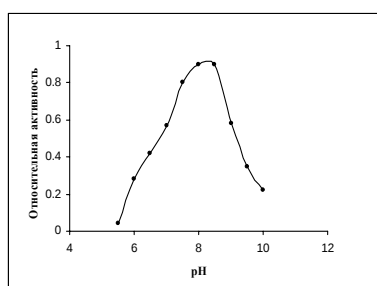


Рис. 3. Влияние pH на активность очищенной ТФЛ *C. freundii*.

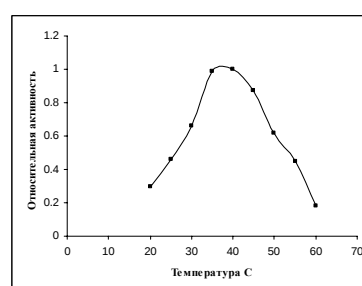


Рис. 4. Влияние температуры на активность очищенной ТФЛ *C. freundii*.

При хранении очищенного фермента в буфере Б в течение трех суток при температуре 4° его активность снижается десятикратно, а по истечении 15 сут фермент инактивируется полностью. С целью повышения стабильности ТФЛ при хранении был проведен поиск возможных стабилизаторов. Исследовано влияние глицерина, ЭДТА, МЭ, фенилметилсульфонилфторида, индивидуально и в сочетании друг с другом. Полученные результаты показали, что дольше всего ТФЛ сохраняет активность при хранении в глицерине с МЭ. В течение 15 сут ее активность снижается в 2 раза, а по истечении 2 месяцев в 10 раз. Данный факт дополнительно подтверждает предположение о возможности участия SH-групп ТФЛ в катализе или в поддержании стабильной конформации фермента [1, 2, 7].

Таким образом, в результате проведенной работы разработана питательная среда для выращивания бактерии *C. freundii*, состоящая из доступных и дешевых компонентов. Предлагаемая нами синтетическая среда с добавлением L-аспарагиновой кислоты обеспечивает быстрый рост культуры с высокой удельной ТФЛ активностью, которая на порядок превышает аналогичный показатель для ТФЛ *C. freundii*, известный из литературы [1].

Предложен эффективный метод очистки ТФЛ из клеток *C. freundii*, позволяющий получить фермент с высоким выходом и с применением минимального числа стадий очистки. В результате применения описанного нами метода очистки значение удельной активности ферментного препарата увеличивается в 6,1 раз, а общий выход составляет 40,2 %. Полученный очищенный ферментный препарат имеет максимальную активность при температуре 35° и pH 8,5. Показано, что при хранении в глицерине с МЭ период полуинактивации фермента многократно увеличивается и составляет 15 сут.

Автор благодарит профессора Г. П. Алебяна и кандидата биологических наук А.А. Амбарцумяна за участие в обсуждении экспериментальных данных, а также за ценные и критические замечания в ходе оформления статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Демидкина Т.В., Мягих Т.В., Фалеев Н. Г., Беликов В. М. Выделение и некоторые свойства тирозин-фенол-лиазы из *Citrobacter intermedius*. Биохимия, 49, вып. 1, с. 32-36, 1984.
2. Сысцев В.А., Тысячная И.В., Яковлева В.И., Куплетская М.Б., Березин И.В. Выделение, очистка и некоторые свойства тирозин-фенол-лиазы из клеток *Citrobacter freundii*. Биохимия, 45, вып. 5, с. 32-36, 1980.
3. Теплер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И.. Практикум по микробиологии. С. 56-62, Изд. "Колос", Москва, 1979.
4. Фалеев Н. Г., Садовникова М. С., Цыряпкин В. А., Недоспасов Л. В., Беликов В. М. Селективное потребление различных аминокислот клетками *Citrobacter intermedius*, продуцирующими тирозин-фенол-лиазу, новый подход к составлению питательной среды. Прикладная биохимия и микробиология, 28, вып. 2, 1992.
5. Enei H., Matsu H., Nakazawa H., Okumura S., Yamada H. Synthesis of L-tyrosine or 3,4-dihydroxyphenyl -L-alanine from DL-serine and phenol or pirocatechol. Agr. Biol. Chem., 37, 3, p. 493-499, 1973.
6. Enei H., Yamashita K., Okumura S., Yamada H. Culture conditions for the preparation of cells containing high tyrosine phenol lyase activity. Agr. Biol. Chem., 37, 3, 485-492, 1973.
7. Kumagai H., Kashima N., Torii H., Yamada H., Ehei H., Okumura S. Purification, crystallization and properties of tyrosine phenol lyase from *Erwinia herbicola*. Agr. Biol. Chem., 36, 3, p. 472-482, 1972.
8. Kumagai H., Yamada H. Tyrosine phenol lyase. 1. Purification, crystallization, and properties. The Journal of Biological Chemistry, 245, 7, p. 1767-1772, 1970.
9. Para G., Baratti J. Effect of cultural conditions on the production of tyrosine phenol-lyase by *Erwinia herbicola*. Appl. Envir. Microbiology, 48, 6, p. 1256—1258, 1984.
10. Peterson G. Methods in Enzymology, 91, 1, p. 95-119, 1983.
11. Phillips R., Demidkina T., Zakomirdina L., Bruno S., Ronda L., Mozzarelli A. Crystals of tryptophan indol lyase and tyrosine phenol lyase form stable quinonoid complexes. The J. of Biol. Chem. 277, 24, p. 21592-21597, 2002.
12. Polyacrylamide Gel Electrophoresis, laboratory techniques. Pharmacia Fine Chemicals, Sweden.

Поступила 13.10.2009.



Biolog. Journal of Armenia, 2 (62), 2010

ENVIRONMENTAL POLLUTIONS AND PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS IN BALIQLY RIVER IN IRAN

A. AHADZADEH^A, K. GRIGORYAN^B

^aIslamic Aazd University Ardabil branch

^bHead of Department of Ecology and Nature Protection
of Faculty of Biology of Yerevan State University

Address : ardabil-Islamic Aazd University SQ.C.POST 5615731567 P.O.Box 467

E Mail : AliAhadzadeh@iauArdabil.ac.ir

Baliqly river of Ardabil, With regard to existence of some factors – like intact green space and natural views, the limpid and cool mineral water with high oxygen content and proper fields for establishment of residential units, the red-spotted trout and sport tourism groups-the region around the origin of this river is of outmost importance. The river flows from the middle of the city and about 350-4000 tons/day of urban, rural and agriculture waste off loaded to the river. So the importance of studying the conditions of chemical and physical pollution is emerged. Factors like physical and chemical parameters, the amount of anion and cation, stiffness, discharge, TDS, BOD, fecal and total coli form bacteria, Ts (air temperature), Tw (water temperature) were evaluated. Based on the results of this experiment it is concluded that despite the increase of pollutants in downstream of city in comparison to the upstream, the amount of cations and anions, turbidity, TDS and stiffness were under the critical limit and mitted to the international standards. Additionally pH, the amount of total and fecal ColiForm did not increased significantly.

Spring -Baliqly River – Pollution - Shoorabil lake

Բալիքլի գետի ջրային ավազանը բնութագրվում է կանաչ տարածքների, որակյալ հանքային ջրերի, բնակավայրերի հաստատման համար բարենպաստ պայմանների, սպորտային տուրիզմի զարգացման համար հնարավորությունների առկայությամբ:

Արդաբիլ քաղաքի միջնամասում՝ օրվա ընթացքում գետ են թափվում մոտ 350-400 տոննա քաղաքային, գյուղական և գյուղատնտեսական թափոններ, ուստի գետի աղտոտվածության ուսումնասիրությունները հանդիսանում են հրատապ:

Մեր կողմից ուսումնասիրվել են գետի ջրերի կոշտությունը, հանքայնացման աստիճանը, ԹԿՊ-ն, կոլիֆորմ բակտերիաները, օդի ու ջրի ջերմաստիճանները և այլն:

Բացահայտվել է, որ գետի ստորին հոսանքում դիտվում է գետի ջրերի նկատելի աղտոտում, սակայն ուսումնասիրված ցուցանիշների արժեքները չեն գերազանցում միջազգային չափորոշիչները:

Աղբյուր - Բալիքլի գետ - աղտոտում - Շուրաբիլ լիճ

Бассейн реки Баликли характеризуется наличием зеленых территорий, качественных минеральных вод, благоприятных условий для развития населенных пунктов, возможностей для развития спортивного туризма. В средней части города Ардабил в течение суток в реку вливается около 350-400 тонн городских, сельских и сельскохозяйственных отходов. В связи с этим становится актуальным изучение степени загрязненности вод реки Баликли.

Нами изучены следующие показатели: жесткость и степень минерализации вод реки Баликли, динамика численности колиформных бактерий, БПК, колебания температур воздуха и воды.

Установлено, что в нижнем течении реки наблюдается заметное загрязнение воды, однако при этом, значения изученных показателей не превышают международные нормативы.

Родник - река Баликли – загрязнение - озеро Шурабил

Ardabil – with northern latitude of 38°15', and eastern altitude of 48°17', and with the height of 1450 m a.s.l – is one of the highest city of Iran. Ardabil Township – Center of a province by the same name – is the vastest township with an extent of 4071.1 square kilometers. On the west of Talesh mountains Astara and Hashtpar on the north Khalkhal and on the east of this city the 4811 m. Sabalan mountain arrogantly and gravely stand over the township like an eagle opening its wings [1].

The centre is the city of Ardebil at the height of 1450 meters from the sea level and all around there is a fertile and fecund prairie as vast as 45 km², with much crops and diligent and skillful farmers.

Ardabil province due to its special geographical location having mountains and plains, prairies, rivers and being a neighbor to Gilan province and the Caspian sea and also being on the way of the Mediterranean and Siberian weather fronts, has a varying climate[2]. Shoorabil lake with an extent of 250 hectares and a height of 1364 meters from sea level lies in the form of a closed sedimentary basin in the south mountainsides of ardabil inside the city, and is surrounded by low hills (Fig.1, Image 1) [3].

Baliqly river is originated from Mt sabalan and alongside it's direction provide water for the fields of several villages. It's direction up to Fandogloo village is north to south after which it nearly turn to west – east direction – the length of it's main branch is 87 km. Highest point of this river, 4401m a.s.l, is located in the heights of Mt.Sabalan and its lowest point, 1444 m is located in the position where Hydro metering station exist (Image 3,4).

Wind direction is south west-north- East during the cold months. And it has 96 frozen days in a year. Its coldness reach to -38° and has a relative humidity of 51 to 81 [4].

Baliqly formed by the joining of Aghlaghan river's branches and join to karasu and Aras river's valley and finally pour to Caspian sea. Its water is supplied by the springs of mountainous area and melting of snow[5].

Material and Methods. For controlling and specifying some factors such as the degree of elements, anions and cations and physical and chemical parameters sampling points, with the observance of required standards were established. Then by means of Nansen, sampling equipment, in 9 given month and at 3 different depths (sea level, 35cm, and bottom of the sea) the sampling performed. After sampling some factors like external condition of weather, place, time and hour of sampling, geographical and physical position. Then for stabilizing the sample and for preventing the growth of micro-organisms, it submerged into 65% acid nitric till the PH of the sample reduced to 2-2.5 [6].

Water samples were send to the contracted laboratory in dark containers, respectively.

We take some photographs from the natural condition of the river and the spring beside it and then primary and required data were classified and evaluated. In field operations we use multy- parameter instrument of US HACH inc, with special electrodes of session [7].

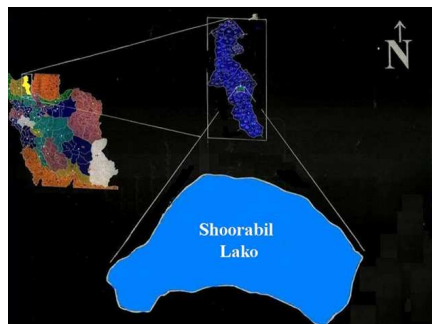


Fig. Local Lake Shoorabil the Ardabil province and country



Image 2: Photo river in the city of Ardabil Baliqly

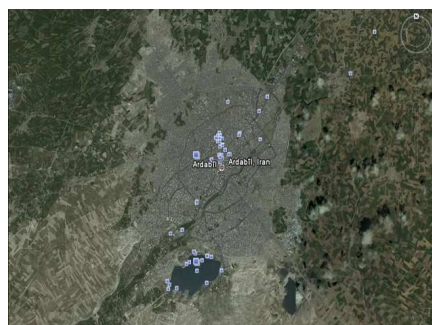


Image 1: Satellite Images Shoorabil lakes and rivers across the city Baliqly goes.

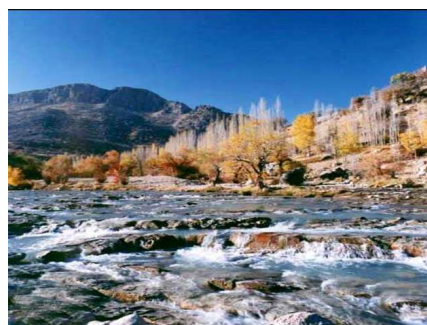


Image 3: Photo river before Baliqly to Ardabil

Hypotheses and primary questions of research are:

- 1-Does the ecosystem and natural condition of the region is intact or not?
- 2-Which factors threaten the natural condition of Baliqly chay River?
- 3- How we can remove or reduce the visible pollutions of the region?
- 4- Where is river polluted with demestic and human waste waters.

Results and Discussion. Most of the microbial pollutions of the river's water is reported from the April to June month of each year.

The sedimentary slimes of this region include Methane and Hydrogen oxidizing bacteria fermentative non-atmospheric and azotes stabilizing bacteria and etc. World health organization has announced the suitable temperature of surface waters between 10 – 20° C based on the results of this experiment it was concluded that the temperature of Baliqly chay River is inside the normal range of cold and mountainous regions (Chart 1-3).

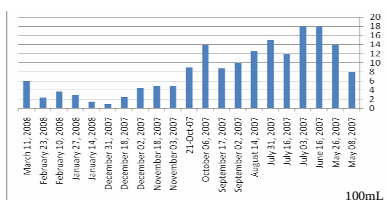


Chart 1: The amount of Water temperature in water Baliqly chay .°/

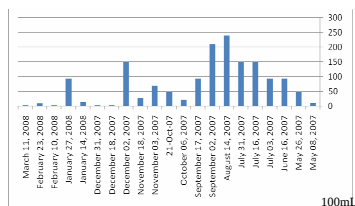


Chart 2: The amount of total coliform in water Baliqly chay .

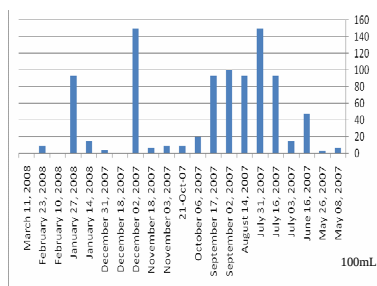


Chart 3: The amount of total coliform fecal in water Baliqly chay

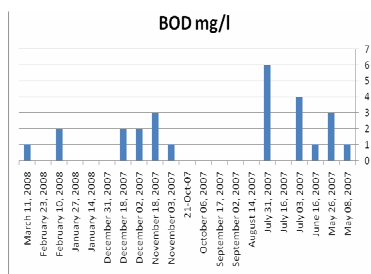


Chart 4: Value BOD River water Baliqly chay

Chemical Oxygen Demand (BOD) measured during the year indicates the proper status of BOD and plenty of oxygen available effectively have prevented the increase of BOD (chart 4).

Total Dissolved Solids (TDS) is higher than standards and it's minor changes can be due to seasonal winds that carry the dust into the river and increase suspended solids in water (Chart 5).

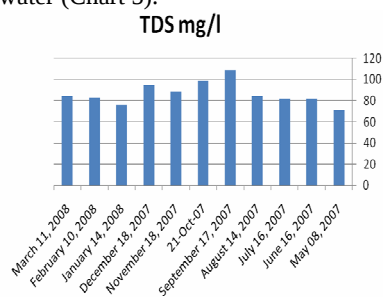


Chart 5: Value TDS River water Baliqly chay.

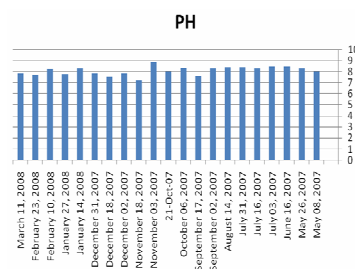


Chart 6: pH value of water Baliqly chay

In all of the sampling stations PH was above the 7.1 during a total year and its maximum amount was 8.85 (chart 6).

Uniform during the year and in September and October in the amount reaches the river offers the World Health Organization acceptable levels for hardness 100 mg is (chart 7 and 8) [8].

The amount of phosphate had not a considerable fluctuation during the year and observed sudden increase can be a result of application of phosphate fertilizers and leakage of their residuals into the river (chart 9).

The amount of chlorine in nearly all of months and years was not less than 70 mm that can be an indicator of suitable self-purification for river (chart 10).

Discharging of corruptible and biological material to the Baliqlıy chay river cause variation in the density of oxygen and some other physical, chemical and biological changes.

Thus these processes and their products along with oxygen resource effect significantly Aghlaaghaan's ecology[8].

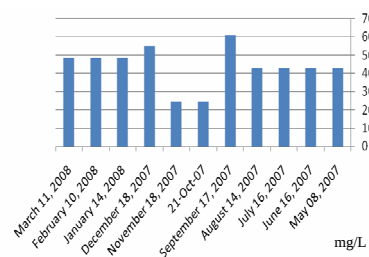


Chart 7: Amount of calcium carbonate upstream Baliqlıy chay

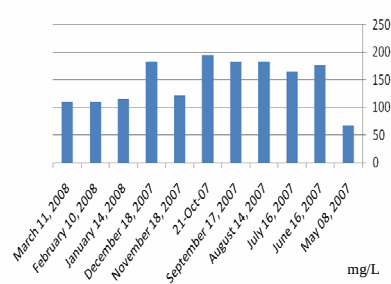


Chart 8: Amount of calcium carbonate downstream Baliqlıy chay

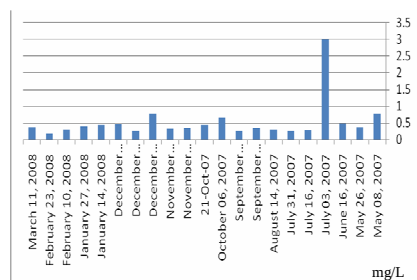


Chart 9: Amount of phosphate in water Baliqlıy chay

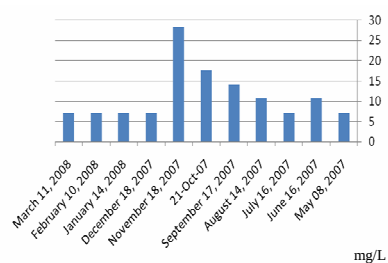


Chart 10: Amount of chloride in water Baliqlıy chay

Results of studying the measured parameters are:

There is no evidence of carbonate and its amount was zero.

Total stiffness of the river before and after reaching to Ardabil is quite different; and total stiffness of its exit point is nearly twice bigger than its entrance point.

In the months when the amount of fecal cloniom is very high at the same time and place the amount of total cloniom is also high.

The solutions proposed.

Following actions is effective to protect rivers from pollution:

1. preventing discharge of untreated urban and industrial wastes to the river
2. training and information the People through different ways
3. Dredging the river path in some a reassesses, especially in entry and exit locations to the city
4. Preventing the construction of contemning factories in River privacy
5. Necessary to create green space along the river

6. Prevent from entering the contaminated pesticides and fertilizers into the river
7. Changing and reform traditional irrigation methods
8. Prevention of waste discharge in River.

REFERENCES

1. Ardabil State Province website. Statistics of Ardabil Province in 2007. Available from: <http://www.ostan-ar.ir/portal/Home>, 2007.
2. *Esfandiari Darabad, F.* Topographical situation of Ardabil region. Final report of research project (in Persian), pp.66-68, 2008.
3. *Ahadzadeh, A.* Investigation and determination of the rate of natural and artificial radioactivity in Shoorabil Lake by radiometric method. Ms. Thesis, Islamic Azad University, north Tehran branch. pp.25-28, 2006.
4. Meteorology website of Ardabil province. Available from: <http://www.ardebilmet.ir>
5. *Shakoury, B. and Parivand, y.* A View in the Ecological Situation of Ardabil Province. Islamic Azad University of Ardabil press. 176p., 2008.
6. *Daneshvar, N.* Water Chemistry, Amidi publications, Tabriz, Iran. 202p., 2005.
7. *Keller, C.* Radiochemistry. A.E.O.I. Publications. 267p., 1993.
8. *Esmali Sari, A.* Pollution, Health & Environmental Standard. Mehr Press pp.113-117, 2005.

Received 15.10.2009



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(62), 2010

ՀՈՏԱՎԵՏ, ԹՈՒՆԱՎՈՐ ՆՅՈՒԹԵՐԻ ԱՌԱՋԱՑՈՒՄԸ ՄՍԻ ՓՉԱՑՄԱՆ ՆԱԽԱԿԱՆ ՓՈԻԼՈՒՄ

Ա.ՅՈՒԱԲՈՎՅԱՆ

Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան

Մսի վերամշակման պրակտիկայում որոշ հեղինակներ ավտոլիզը անվանում են ջերմակիզում։ Չօդափոխվող տարածքում դարաված գոլորշավուն մսեղիքը երկար պահպանում է իր սկզբնական ջերմությունը, ինչի շնորհիվ պրոտեոլիտիկ էնդոֆերմենտները (էնդոպրոտեազը էնդոպեպտազը) չեն դադարեցնում իրենց գործունեությունը։ Սպիտակուցների ճեղքումը ընթանում է խորը փակուղմանի, որն ուղեկցվում է ոչ միայն տհաճ, անդուր հոտով փանաչա-դեղնավուն երանգի առաջացմամբ, այլ նաև նպաստում է շրջակա միջավայրից ներթափանցած նեխային միկրոֆլորայի զարգացմանը։

Հետազոտությունների արդյունքում ջերմակիզված մսում հայտնաբերվել են այնպիսի թունավոր նյութեր, ինչպիսիք են ինդոլը, ամոնիակը, ծծմբաջրածինը, որոնց գոյացման հավանական պատճառը մսի փչացման նախնական փուլն է։

Միս - թունավոր գազեր - սպիտակուցների ճեղքում (ջերմակիզում)

В мясоперерабатывающей практике, по мнению некоторых авторов, автолиз мяса можно назвать “загаром мяса”. Процесс этот сопровождается выделением зловонных веществ, которые придают мясу неприятный, зловонно-кислый запах и зеленовато-желтоватый цвет.

Мясо парное, сложенное навалом в непрветриваемом помещении, долго сохраняет свое первоначальное тепло, вследствие чего протеолитические ферменты (эндопротеаза и эндопептаза) не прекращают своего действия. Исследованиями были выявлены такие токсические вещества в мясе, под-вергнутому загару, как индол, аммиак и сероводород, что, по-видимому, связано с отсутствием окислительно-восстановительных процессов в клетках (ненормированные условия окружающей среды), в связи с чем распад белков протекает глубоко и односторонне, и продукты распада накапливаются в большом количестве.

Мясо - токсические газы - загар мяса - распад белков

In practice, meat autolysis is called “tan meat”. This process is accompanied by foul-smelling substances, which give the meat an unpleasant odor and a greenish-yellowish color.

Fresh meat, composed of bulk in unventilated rooms, retains its original heat for a long time preventing proteolytic enzymes (endoprotease and endopeptaza) from stopping the action.

As a result of studies, toxic substances, such as indole, ammonia and hydrogen sulfide were revealed in tan meat due to lack of redox processes in cells. Therefore, the decomposition of proteins takes place deeply and one-sided and products decay accumulate in large quantities.

Meat - toxic substances - “tan meat” - disintegration of proteins

Միսը, ըստ իր ֆիզիկա-քիմիական ցուցանիշների հանդիսանում է բազմա-
դիսպերս համակարգ: Թթուների աղերի ավելցուկները խաթարում են սպիտակուցների
հատկություններն, ազդում վերջիններիս իզոլեկտրիկ կետի վրա և մասնակիորեն ջրա-
զրկում նրանց: Բարձր ջերմաստիճանը ևս փոփոխում է սպիտակուցների կոլոիդ վիճակը,
ենթարկելով նրանց կնճռոտման, կոագուլյա-ցիայի, առաջացնելով նստվածք, իսկ ջուրը այդ
պրոցեսի ժամանակ լրիվ դուրս է մղվում: Այսպիսով, միսը լրիվ ջրազրկվում է: Հայտնի է, որ
մկաններում գլիկոլիզի ընթացքի վրա ազդում է շրջակա միջավայրի ջերմաստիճանը:
Ամենակարճոր գործոնը, որը ապահովում է գլիկոլիտիկ օպրոտեոլիտիկ ֆերմենտների
երկարատև ազդեցությունը, համարվում է ցուրտը: Որպես կանոն, ինչքան ցածր է մսի
պահպանման ռեժիմի և տեղափոխման ջերմաստիճանը, այնքան բարձր է նրա որակը:
Օպտիմալ ջերմաստիճանը այդ դեպքում հանդիսանում է 1-3°: Բայց երբ խախտվում են
տեղափոխման և պահպանման կանոնները, իջնում է հյուսվածքների ֆերմենտների
ակտիվությունը, ինչն էլ նպաստում է պրոտեոլիտիկ միկրոֆլորայի բազմացմանը, որի
կենսագործունեության արգասիքներն էլ քայքայում են ֆերմենտները: Մսի որակը նվազում է
նաև նրանում ամինո-ամոնյակային ազոտի տեսքով կուտակվող սպիտակուցային
փոխազդման միջանկյալ և վերջնական նյութերից:

Մկաններում թթուների չնչին կուտակումը սպիտակուցների հիդրոլիզից
առաջացած նյութերի մեծ քանակությունը նպաստում են ջրածնային իոնների կոն-
ցենտրացիայի շեղմանը դեպի հիմնային միջավայր, որի հետևանքով առաջանում են
բարենպաստ պայմաններ միկրոֆլորայի զարգացման համար, ինչն էլ կրճատում է մսի
պահպանման ժամկետը [3,6]:

Բացի վերը նշվածից, չօդափոխվող տարածքում դարսված մսեղիքը երկար
պահպանում է իր սկզբնական ջերմությունը (ջերմակիզում՝ մկանների խորքում
ջերմաստիճանը 29-30°, երբ pH=7,2-7,8), ինչի շնորհիվ պրոտեոլիտիկ էնդոֆերմեն-
տները (էնդոպրոտեազան էնդոպեպտազան) չեն դադարեցնում իրենց գործունեությունը:
Սպիտակուցների ճեղքումը ընթանում է խորը միակողմանի, որն ուղեկցվում է ոչ միայն
տհաճ, անդուր հոտով կանաչա-դեղնավուն գույնի առաջացումով (բջիջների լիզիսի
արտահայտվածության դեպքում), այլ նաև նպաստում է շրջակա միջավայրից ներ-
թափանցած նեխային միկրոֆլորայի զարգացմանը: Որքանով է սննդի անվտանգության
տեսակետից անվտանգ այդպիսի միսը ուղարկել առօրյի կետեր՝ համարելով նրան առողջ
և բուլված կենդանիներից ստացված, անտեսելով մնացած գործոնները, որոնք առաջացնում
են ոչ ակնհայտ հյուսվածքների քայքայում, պուտրեցիին, կադավերին և այլ ուժեղ հոտավետ
նյութերի գոյացում: Որքանով է իրական այդ նյութերի առկայությունը մսի հյուսվածքներում
և բացի այդ ինչ անցանկալի փոփոխություններ կարող են առաջանալ մսում, հաշվի առնելով
նաև նախասպանողային պահվածքը:

Նյութ և մեթոդ: Մենք կատարել ենք հետազոտություններ տավարի 1-ին և խոզի ճարպային
կատեգորիաների մսեղիքների նմուշների վրա, որոնք սպառման նպատակով Երևան էին բերվել
Նոյեմբերյանի շրջանից: Հետազոտության ենթարկվել են 5 գլուխ խ.ե.կ 1-ին կատեգորիայի և 5 գլուխ խոզի
մսեղիք ճարպոտ կատեգորիայի: Որպես ստուգիչ խումբ հանդիսացել են նույնպես 5 գլուխ խ.ե.կ 5 գլուխ
խոզի մսեղիք վերը նշված բուլվածության տեսակի և նույն տնտեսությունից:

Հետազոտության ընթացքում պարզվեց, որ չէին պահպանվել տեղափոխման և պահպանման
կանոնները (+35° ջերմաստիճան, 75% խոնավություն):

Հետազոտությունները կատարվել են Հանրապետական անասնաբուժական հակահա-
մաճարակային օախտորոշիչ կենտրոնի ՓԲԸ-ում ՀՊԱՀ-ի Անասնաբուժական սանիտարիայի,
փորձաքննության և գոտիզիենայի ամբիոնի գիտական լաբորատորիայում:

Փորձերը դրվել են պետիցիդների, անտիբիոտիկների, ծանր մետաղների և որոշ թունավոր
գազերի հայտնաբերման նպատակով: Քլորոգանական պետիցիդները որոշվել են նրբաշերտ
քրոմատոգրաֆիայի, ինդուլ՝ Մորելի, ամոնիակը՝ Էբերի, անտիբիոտիկները՝ MYK 4.2.026-95
արագընթաց եղանակներով, ծանր մետաղներից արսենը՝ Ջանգեր-Բլեկի սարքավորման օգնությամբ,
ծծմբաջրածինը՝ քացախաթթվային կապարի օգնությամբ [4]:

Արդյունքներ և քննարկում: Ինչպես երևում է աղյուսակից, հետազոտություն-
ների ժամանակ ծանր մետաղներ /Ar/, պետիցիդներ /ԴՆՏ/ և անտիբիոտիկներ չեն
հայտնաբերվել, ինչը խոսում է այն մասին, որ կենդանու սնունդը և պահվածքը
համապատասխանել են պահպանման նորմատիվներին:

Պատճառներից մեկն էլ կարող է լինել այն հանգամանքը, որ վերը նշված նյութերը մկանների մեջ կուտակվելու հակում չունեն և հեշտությամբ արտազատվում են օրգանիզմից երիկամների, լյարդի, կրծագեղձի միջոցով [5]: Բացի այդ, հավանաբար պարարտանյութերը բույսերի պաշտպանության միջոցները տվյալ տարածքում օգտագործվել են թույլատրելի քանակներով և էական ազդեցություն չեն թողել կենդանիների օրգանիզմների վրա և չեն կուտակվել որպես այդպիսին օրգանիզմում (միս, լյարդ, երիկամներ): Հետո՞ւայեւ, այդ կենդանիներից ստացված մսեղիքի սխալ պահպանման ☐ ոչ ճիշտ տեղափոխման արդյունքում վերը նշված թունավոր նյութերը չէին կարող գոյանալ: Սակայն հասունացման փուլի խախտման կամ կենսաքիմիական պրոցեսների խաթարման հետո՞ւանքով, որոնք տեղի են ունենում մսեղիքի սխալ պահպանման ☐ տեղափոխման ժամանակ, առաջանում են այնպիսի գազատոքսիկ նյութեր, ինչպիսիք են ինդոլը, ծծմբաջրածինը ☐ ամոնիակը [2,5]:

Աղյուսակ 1. Թունավոր նյութերի առկայության ցուցանիշները

Կենդանու տեսակը	pH		Օրգանոլեպտիկ ցուցանիշներ (հոտ, գույն և այլն)		Պեստիցիդներ ԴՂՏ, մգ/կգ, անտիբիոտիկներ մգ/կգ, ծանր մետաղներ Ar, մգ/կգ		Թունավոր գազեր					
							ինդոլ		H ₂ S		NH ₃	
	ստուգիչ	հետազ.	ստուգիչ	հետազ.	ստուգիչ	հետազ.	ստուգիչ	հետազ.	ստուգիչ	հետազ.	ստուգիչ	հետազ.
Տավար, Լ-ին կատեգորիա	5, 9	6,1	Ունի չորացման կեղև, գույնը բաց վարդագույն, հոտը տավարի մսին նման	Տեղ տեղ խոնավացած, թեթևակի կաշուն, մզացած գույն է թթվահոտ	-	-	-	+	-	+	-	+
Խոզ, ճարպալից կատեգորիա	5, 8	6,3	Ճարպը ունի ալիսակ գույն, փափուկ է, հոտը խոզի մսին բնորոշ	Ճարպը ունի նոթրագույն գունավորում, կաշուն է մաշկի, մաշկը կաշվաճառ է կծկալ	-	-	-	+	-	+	-	+

Ինչպես երևում է աղյուսակից, ստուգիչ նմուշներում վերոհիշյալ գազերը բացակայում են՝ ի տարբերություն հետազոտվող նմուշների, որոնց մեջ հայտնաբերվել է նկատելի քանակությամբ ինդոլ: Դա կարող էր լինել տրիպտոֆան, թիրոզին ամինաթթուների քայքայման, ինչպես նաև մանրէների ներգործության հետո՞ւանքով: Ամինաթթուների արագ քայքայումը հավանաբար տեղի է ունենում հասունացման փուլերի խախտման հետո՞ւանքով, որոնք անխուսափելի են ոչ ճիշտ պայմաններում պահպանված ☐ տեղափոխված մսեղիքում: Միաժամանակ այդպիսի մսեղիքում զարգանում բազմաճանաչում են ինդոլ առաջացնող մանրէներ:

Հարկ է նշել, որ փորձերի արդյունքներում առաջացած ամոնիակը տարբեր ամինաթթուների և ազոտ պարունակող էքստրակտիվ նյութերի խախտված փոխհարաբերության արդյունք է, որը տեղի է ունենում ջերմակիզման ☐ լորձապատման փուլե-րում, հանդիսանալով մսեղիքի փչացման առաջնային փուլի նախապայման:

Հայտնի է, որ մսեղիքում ամոնիակի ☐ ծծմբաջրածնի առկայությունը վկայում է putrescin, pseudomonas, aspergillus այլ խմբերի մանրէների զարգացման մասին: Ծծմբաջրածինը միանալով հեմոգլոբինի հետ առաջացնում է ծծմբահեմոգլոբին, որը ինքնին արդեն համարվելով թունավոր նյութ, օս հանդիսանում է մսեղիքի որակագերծման ցուցանիշ (մսեղիքի փչացման առաջնային գործոն) [6]:

Այսպիսով, կատարված հետազոտությունների արդյունքների հիման վրա հարկ էնք համարում նշել, որ մսեղիքի ջերմակիզման ընթացքում խախտվում են կենսաքիմիական պրոցեսները ոչ միայն մակերեսային, այլ նաև խորանիստ շերտերում, ինչի մասին վկայում էին լաբորատոր փորձերի օրգանոլեպտիկ հետազոտությունների արդյունքները (տհաճ հոտ խորանիստ շերտերում): Գիտական նորույթը կայանում է նրանում, որ ջերմակիզմանը ենթարկված մսեղիքը սպառման նպատակով մինչև այսօր օգտագործվել է միայն մակերեսային շերտը մաքրելով: Ջերմակիզումը, հանդիսանալով մսեղիքի լորձապատման թթվության սկզբնական պրոցես, միջնային ժամանակ ընթանում է վերը նշված փուլերի որոշ նշաններով չի կարելի դիտարկել այս փուլը անվտանգ սննդի տեսակետից մաքրել միայն վերին շերտը: Մեր փորձերի արդյունքներից երևում է, որ այդպիսի մսեղիքը արդեն խորանիստ շերտերում պարունակում է ինդոլ, H₂S և NH₃, որոնք մարդու մոտ կարող են առաջացնել թունավորումներ:

Հիմնվելով փորձաքննության արդյունքների վրա անհրաժեշտ է կատարել հետագա հետազոտություններ նշված մսեղիքի սննդային արժեքի վերաբերյալ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Боровков М.Ф. , Фролов В.П., Серко С.А.* Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства: Учебник /Под. ред.проф. М.Ф. Боровкова/. СПб.: Изд-во “Лань”, 2007.
2. *Житенко П.В., Боровков М.Ф.* Ветеринарно-санитарная экспертиза продуктов животноводства. Справочник, М., 1998.
3. *Заяс Ю.Ф.* Качество мяса и мясопродуктов. М., 1981.
4. *Сморозинцев А.А.* Биохимия мяса. М., 1952.
5. *Шур И.В.* Руководство по ветеринарно-санитарной экспертизе и гигиене переработки животных продуктов.-М., 1972.
6. *W. Helferich, C K. Winter, Woodhead,* Food toxicology, 2000.

Ստացվել է 01.02.2009



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(62), 2010

ՀՀ ԼՈՌԻ ԽԱՐՁԻ ԳՈՒԳԱՐՔԻ ՏԱՐԱԾԱՇՐՋԱՆԻ ԱՆՏԱՌԻ ՎԵՐԻՆ ԳՈՏՈՒ ՀԻՄՆԱԿԱՆ ՀԱՄԱԿԵՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԵՎ ԴՐԱՆՑ ՓՈԽՀԱՐԱԲԵՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Վ.Գ. ՄԱՅԱԿՅԱՆ

Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան

Ուսումնասիրվել են ՀՀ Լոռու մարզի Գուգարքի տարածաշրջանի բարձրադիր գոտու (1700-2200 մ) անտառային հիմնական համակեցությունները և դրանց կրած փոփոխությունները:

Անտառի վերին գոտում 90-ական թվականներից մարդածին բացասական գործոնի մեծացման հետևանքով տեղի է ունեցել անտառային հիմնական համակեցությունների տնտեսապես անցանկալի տեսակափոխություն: Արդյունքում տնտեսապես արժեքավոր ծառատեսակները՝ հաճարենին և կաղնին փոխարինվել են համեմատաբար ցածր արդյունավետություն ունեցող կաղամախու և կոճղաշիվային ծազման բոխու ծառատեսակներով:

*Անտառի վերին գոտի - անտառային համակեցություն - ծառատեսակ -
բնական վերած - տեսակափոխություն*

Изучены лесные сообщества верхнего пояса (1700-2200 м) Гугарского района Лорийского марза. Под воздействием отрицательного антропогенного фактора в указанной зоне начиная с 90-х годов произошла нежелательная смена пород, в результате чего такие ценные породы как бук и дуб уступили место осине и порослевому грабу.

*Верхний пояс леса - лесное сообщество - древесная порода -
естественное возобновление - смена пород*

The forest communities at the upper belt (1700-2200 m) of Gugarq region (Lori Marz) in the Republic of Armenia are explored. The undesirable changes in sorts took place under the negative anthropogenic impacts in the high forest zone (since 1990ies). As a result such valuable trees as birch, oak were replaced by poplar and reel hornbeam.

*Forest high belt - forest community - tree species -
natural regeneration - change of species*

Գուգարքի տարածաշրջանում անտառածածկ տարածքները տեղաբաշխված են Փոքր Կովկաս լեռնահամակարգի Փամբակ, Բազում և Հալաբ լեռնաշղթաների տարբեր կողմնադրության լանջերին՝ ծովի մակարդակից 1100-2300 (2400) մ բարձրությունների վրա, ընդ որում մինչև 1200մ բարձրության վրա տեղաբաշխված են անտառների ընդամենը 4.8% (967.4 հա), իսկ 1201-1700 մ՝ 37.8% (7555հա): Անտառների հիմնական զանգվածները գտնվում են անտառի վերին գոտում՝ 1700 մ(ից բարձր՝ 57% (11.4 հազ. հա) [3]:

Անտառային վերին գոտին բնորոշվում է էկոլոգիական խիստ և բարդ պայմաններով, որտեղ անտառային համակեցությունների տարածվածությունը, դենդրոբազմազանությունը, ինչպես նաև փոխազդեցությունը միմյանց ու արտաքին միջավայրի հետ անմիջականորեն պայմանավորված են էկոլոգիական գործոնների բարդ փոխհարաբերությամբ [7, 10, 12]:

Անտառային համակեցությունների ուղղաձիգ տարածման սահմանների կրճատման և տնտեսապես անցանկալի տեսակափոխության հիմնական պատճառը անթորպոզեն անհեռատես գործունեությունն է, որին նպաստում են էկոլոգիական բարդ պրոցեսները [5, 8, 9, 12, 17]:

Վերջին տարիներին անտառածածկ տարածքների վրա մարդածին բացասական գործոնի հետևանքով ավելի ինտենսիվ է ընթանում անցանկալի տեսակափոխություն, որի արդյունքում տնտեսապես արժեքավոր ծառատեսակները փոխարինվում են համեմատաբար ցածրարժեք տեսակներով:

Մեր ուսումնասիրությունների նպատակն է եղել բացահայտել Գուգարքի տարածաշրջանի անտառի վերին գոտում (1700-2200 մ) գլխավոր անտառկազմող ծառատեսակների արդի վիճակը, տեսակափոխության պատճառները և դինամիկան:

Նյութ և մեթոդ. Ուսումնասիրությունները կատարվել են Գուգարքի անտառտնտեսության տարածքում 2007-2009 թթ. ընթացքում: Փորձահրապարակները տեղադրվել են տարբեր դիրքադրության լանջերին, որտեղ ծառատեսակների աճման պայմանների և վիճակի գնահատումը կատարվել է համատարած հաշվառման մեթոդով [6]:

Արդյունքներ և քննարկում: Գուգարքի տարածաշրջանի անտառի վերին գոտում տարածված հիմնական համակեցություններն են հաճարկուտները (4290 հա), կաղնուտները (2955 հա), բոխուտները (1293 հա) և մասամբ կեչուտներն (904 հա) ու սոճուտները (արհեստական տնկարկներ 702.9 հա, բնական ծառուտներ 61.2 հա) [3]:

Այսպես, Խնձորուտի անտառապետության 12-րդ քառակուսու հատված 20-ում (1900 մ) կեչուտների հարևանությամբ նախկին հաճարենու ծառուտները, համատարած հատվելով, հաջորդ 2-3 տարվա ընթացքում ծածկվել են կեչու ինքնացանքով՝ այսինքն ընթանում է տեսակափոխություն: Ներկայումս ինքնացանքի արդյունքում տվյալ տարածքը վեր է ածված մատուց կեչու առատ մացառուտների: Հատկապես մեծ չափերի է հասնում արմատական անտառների ինտենսիվ տեսակափոխությունը կաղամախով, որը տեղի է ունենում այն դեպքում, երբ ծառուտում կաղամախին չի ենթարկվում հատման[3]: Խնձորուտի անտառապետության 6-րդ քառակուսու հատված 9-ում հատված են բոլոր տեսակի ծառերը (8հ 2թիս 1բխ + կխ, 1850 մ), բացի կաղամախուց[1]: Նշված տարածքներն այժմ զբաղեցված են բացառապես կաղամախով (1 հա վրա 15-25 հազ.հատ), որի մատղաշը, արագորեն միակցելով սաղարթները, հանդիսանում է ուժեղ մրցակից արմատական ծառատեսակների մատղաշի համար (հաճարենի):

Հաճարենու և կաղնու փոխարինումը բոխով գրեթե ամենուր է: Շատ հետա-գոտողներ [4,9,11,13,14,16] գտնում են, որ բոխու համակեցությունները նման պայմաններում ունեն երկրորդային ծագում, որոնց ի հայտ գալը անթորպոզեն գործունեության հետևանք է:

Հաճարկուտներում, որտեղ նախկինում բոխին նույնպես ներկայացված է եղել, դարձյալ նկատվում է տնտեսապես անցանկալի տեսակափոխություն: Համատարած հատված հաճարկուտներում տեղադրված փորձահրապարակներում կատարած ուսումնասիրությունների արդյունքներն ամփոփված են աղ. 1-ում:

Հաճարենին, իհարկե, լավ աճում ու զարգանում է անտառաճման բարենպաստ պայմաններում, ինչպիսիք են ներկայացված հատվածները: Սակայն մարդածին բացասական գործոնի ազդեցության տակ (համատարած հատումներ) բավականին թուլացվել է հաճարենու վերաճը, քանի որ հաճարենու կոճղաշիվային վերականգնումը չունի անտառտնտեսական նշանակություն, իսկ սերմնային առանձնյակներն էլ զարգանում են ավելի դանդաղ, համեմատած մնացած տեսակների հետ (բոխի, կաղամախի և այլն) և միաժամանակ շատ են տուժում բաց տարածությունների բարձր լուսավորված պայմաններում [2, 16]: Ինչպես երևում է աղ. 1-ից, կաղամախու և բոխու մատղաշը ըստ թվաքանակի՝ առավել է հաճարենու մատղաշից: Այստեղից կարելի է ենթադրել, որ համատարած հատումներից հետո մատղաշ՝ ինքնացանք հաճարենիները, կտրուկ լուսավորվելով հայտնվել են սթրեսային վիճակում:

Հաճարենու հատումներից հետո առաջացած լուսավորված տարածքներում հաջողությամբ սկսում են զարգանալ բացի հաճարենուց, մնացած բոլոր տեսակների ինքնացանքը (համեմատաբար արագաճ տեսակները), որին նպաստում է հաճարենու ստվերացնող սաղարթի բացակայությունը:

Մեր կարծիքով հաճաբենիների անհամեմատ մեծ քանակությունը ոչնչացել է հատումների հետևանքով առաջացած անտառածածկի պայմանների կտրուկ փոփոխության պատճառով: Հաճաբենու մատղաշի մեծ մասը ոչնչացել է արևային ուժեղ ճառագայթումից, իսկ մի մասն էլ պահպանվել է համեմատաբար ստվերոտ պայմաններում՝ բոխու և ենթանտառային տեսակների սաղարթի տակ:

Աղյուսակ 1. Բնական վերաճը համատարած հատված հաճաբկուտներում

Տեղադրման վայրը. / զբաղեցրած տարածքը, հա.	Ծ.Մ.Բ. (մ) և լանջի դիրքավորումը	Անտառածածկի պայմանները և անտառային տիպը	Ծառուտի ցուցանիշները մինչև համատարած հատումները				Ներկայիս բնական վերաճը			
			Ծառուտի կազմը	Մատղաշի ցուցանիշները			Կազմը	Բարձրություն (մ)	Տարիքը	Քանակը (հազ. հատ/հա)
				Կազմը	Տարիքը	Քանակը (հազ. հատ/հա)				
Խնձորուտ ԱՊՊ քառ. 8, հատ. 4/3.7 հա	1800, ՀՄ-ԱՄ	ԲՅ / ՏԴՊ	8հ 1կխ 1թխ +կչ	6հ 2կխ 1թխ 1կչ	5-10	3.0	7կխ 2հ 1լր +բ	4	15-20	18.5
Վանաձոր ԱՊՊ քառ. 29, հատ. 27/3 հա	1900, ՀՄ-ԱՄ	Բ3 / ՏԴՊ	8հ 2բ +կ	5հ 4բ 1կ	10	2.5	6բ 3հ 1թխ +կչ	3.5	20	14.0
Եղեգնուտ ԱՊՊ քառ. 28, հատ. 13.8/3.8 հա	2000, ՀՄ-ԱՄ	Բ3 / ՏԴՊ	7հ 2բ 1կչ	5հ 3բ 1կչ 1թխ	10-15	2.0	5բ 3հ 1կչ 1թխ +ուռ	2.5-3	15	16.0

Ծանոթություն. ապ (անտառապետություն, տրխ (տարախոտային, հ (հաճաբենի, կխ (կաղամախի, թխ (թխկի, կչ (կեչի, լր (լորենի, բ (բոխի, կ (կաղնի, ուռ (ուռենի, հց (հացենի, ս - սոճի

Բնակչության և անտառային տարածքի պահպանման հաճաբենիները ժամանակի ընթացքում աստիճանաբար զարգանալով կզբաղեցնեն ծառուտի երկրորդ, իսկ 100-120 տարեկանում ամենայն հավանականությամբ առաջին շարահարկը, վերադարձնելով իրեն ծառուտի կազմում ոչ միայն շարահարկային գերիշխանության, այլ նաև կստեղծի իր վերադարձության համար առանձնահատուկ պայմաններ՝ հաճաբենու անտառների արմատական տիպը:

Մեր կողմից ուսումնասիրված հատված կաղնուտների արդյունքները ամփոփված են աղ. 2-ում:

Կաղնու հանդեպ բոխու բարձր էկոլոգիական ճկունությունը՝ ստվերադիմացկուն լինելը, հզոր ու խիտ փռացաշերտ ստեղծելու ունակությունը, գրեթե ամեն տարի առատ սերմ տալը ստեղծում են անբարենպաստ պայմաններ կաղնու վերաճի համար: Մյուս կողմից, կաղնու առավելությունն է օդի ու խոնավության նկատմամբ քաղաքահանջ լինելը, երկարակեցությունը, երկրորդ հասակադասից սկսած արագ աճը:

Այս պայմաններում հաճախ որոշիչ գործոն է հանդիսանում սաղարթի ներքո կաղնու մատղաշի էկոլոգիական ճկունությունը, որի շնորհիվ հարմարվում ու դիմանում է այնքան ժամանակ, մինչև կստեղծվի համապատասխան լուսային ռեժիմ:

Բոխու վերաճը նույնպես ընդունակ է երիտասարդ ժամանակ տանել ստվերային որոշակի ճնշվածություն: Մակայն բոխու զարգացումը կաղնու սաղարթի ներքո շնորհիվ բարձր ստվերաստարության ընթանում է ավելի լավ: Այսպես մեր կողմից ուսումնասիրված Վահագնի անտառապետության (1850 մ) 8-րդ քառակուսու 10-րդ հատվածում միակցված կաղնու սաղարթի տակ գտնվող բոխու առանձնյակները (1 հա վրա 1460 հատ, միջին բարձրությունը 6-8 մ) շուրջ 50 տարի գտնվում են դանդաղ զարգացման փուլում: Ընդ որում սաղարթը լավ զարգացած է, խիտ, տերևային մեծ մակերեսով: Փարթամ սաղարթն ու իր կողմից ստեղծված հզոր փռացաշերտը խոչընդոտում են կաղնու սերմերի ծլարձակմանը ու մատղաշի գոյացմանը:

Շլարձակված կաղնիների զանգվածային ոչնչացում մեր կողմից դիտվել է 2007թ. ամռանը, որի պատճառը ըստ մեր ուսումնասիրությունների, բարձր լրիվության ենթանտառն է:

Աղյուսակ 2. Բնական վերածը համատարած հատված կաղնուտներում

Տեղադրման վայրը. / զբաղեցրած տարածքը, հա	ԾՄԲ, մ կաղնի դիրքադրությունը	Անտառաձևան պայմանները և անտառային տիպը	Ծառուտի ցուցանիշները մինչ համատարած հատումները				Ներկայիս բնական վերածը			
			Ծառուտի կազմը	Մատուցողի ցուցանիշները			Կազմը	Բարձրությունը, մ	Տարիքը	Քանակը, հազ հատ/հա
				Կազմը	Տարիքը	Քանակը, հազ հատ/հա				
Փամբակ ԱՊ քառ. 28, հատ. 6/8.4 հա	1800 ՀՎ-ԱԱ	B ₃ / SԴՊ	7կ 2բ 1թխ +հց	5բ 4կ 1թխ	15	2.5	7բ 2կ 1թխ +ս	3.5-4	30	12.0
Փամբակ ԱՊ քառ. 28, հատ. 9/8.3 հա	1900 ՀՎ-ԱԱ	B ₃ / SԴՊ	6կ 3բ 1թխ +կչ	5բ 3կ 1հց 1թխ	10	3.0	6բ 2կ 2հ 9 +թխ	3	25	10.0
Փամբակ ԱՊ քառ. 9, հատ. 30/12.8 հա	2000 ՀՎ-ԱԱ	C ₃ / SԴՊ	7կ 3բ +կչ	5բ 4կ 1կչ	10-15	2.0	6բ 2կչ 1կ 1թխ	2.5-3	15	11.0

Ծանոթություն. ապ (անտառպետություն, տրխ (տարախտային, հ (հաճարենի, կխ (կաղամախի, թխ (թխկի, կչ (կեչի, լր (լորենի, բ (բոխի, կ (կաղնի, ուո (ուռենի, հց (հացենի, ս - սոճի

Այս ամենի հիման վրա կարելի է ենթադրել, որ բոխու հետագա ներթափանցումը կաղնուտում կավարտվի այնպես, որ անտառի երկրորդ շարահարկը հուսալիորեն կզբաղեցնի բոխին: Այսպիսով, ծառուտը աստիճանաբար ձեռք է բերում երեք շարահարկ՝ առաջինը կաղնուց, երկրորդը բոխուց և երրորդը՝ բոխու մատղաշից: Այս պայմաններում կաղնու սերմնաբուսակների աճի համար ստեղծվում են անբարենպաստ պայմաններ, քանի որ ձևավորվում է բոխու երիտասարդ առանձնյակների ձևավորված հուսալի շարահարկը:

Այսպիսի ծառուտներում կատարված կաղնու ուժեղ ու միջին ինտենսիվության հատումների արդյունքում 1990-ական թվականների և հետագա տարիներին ստեղծվել է այնպիսի վիճակ, որ բոխին իր ինտենսիվ աճով արագ դուրս է մղել կաղնուն[1, 3]:

Նշված ծառատեսակների փոխհարաբերության մեկ այլ դեպք է նկատվում հարավային դիրքադրության չոր ու աղքատ հողերում: Այստեղ բոխին չի գերազանցում 6-8 մ բարձրությունը (A2, B1, B2 անտառաձևան պայմաններում), չնայած, միևնույն պայմաններում կաղնին էլ իր առավելագույն աճով 140-160 տարեկանում հասնում է 13-14 մ բարձրության (Մարգահովիտ ապ. քառ. 6-ի, հատ. 9, 10, 13; Փամբակ ապ. քառ. 3-ի հատ. 17, 18, 26, 28)[1]:

Այս պարագայում բոխու ճնշված վիճակը գլխավորապես ոչ թե մրցակցության արդյունք է, այլ միջավայրի անբարենպաստ պայմանների հետևանք: Այսպիսով, անտառի այս տիպերում բոխին չի փոխարինում կաղնուն, չի հանդիսանում ծառուտի գլխավոր տարր, անկախ այն բանից, հատումներ իրականացվել են ծառուտում թե ոչ:

Համատարած հատված գերհասուն կաղնուտներում բոխին անմիջապես գրավում է ազատ տարածքները: Դա պայմանավորված է գերհասուն կաղնու վեգետատիվ բազմացման ունակության կորստով, ընդ որում առկա սերմնային առանձնյակներն էլ ոչնչանում են, ճնշվելով բոխու սաղարթից: Հարկ է նշել, որ միջին հասունության կաղնուտներում, հատումներից հետո կաղնին առողջ կոճղաշիվեր է գոյացնում, թողնելով երկրորդ շարահարկում բոխու առանձնյակներին:

Հետաքրքրություն է ներկայացնում կաղնու և հաճարենու փոխհարաբերությունը անտառի վերին գոտում: Վերջինս, ինչպես և կաղնին, ձևավորելով միատարր ծառուտներ, ի տարբերություն կաղնուն, ձգտում է աճման ավելի բարենպաստ պայմանների: Հողի խոնավության ու բերրիության նկատմամբ պահանջկոտությունը, ինչը միաժամանակ գուցակցվում է սովորատարության հետ, սահմանափակում է հաճարենուն գոյացնել խառը կազմով ծառուտներ կաղնու հետ:

Եզրակացություն:

1. Տեսակների փոփոխությունը մեծ չափերի է հասնում խոնավ, հարուստ հողերում: Անտառաճման այս պայմանները համապատասխանում են բոխու, կաղամախու, կեչու, թխկու էկոլոգիական պահանջներին: Յուրաքանչյուր տեսակի ազատ տարածություն զբաղեցնելը կախված է մի քանի գործոններից՝

- տեսակը գտնվում է նախկին ծառուտի կազմում,
- տեսակը գտնվում է նախկին ծառուտի հարևանությամբ,
- տեսակը ընդունակ է բազմաձև թե սերմնային, թե վեգետատիվ

ճանապարհով;

- տեսակի մատղաշը վնասվում է արևային ուղիղ ճառագայթներից ու

սառնամանիքներից:

2. Աղքատ ու չոր աճատեղերում տեսակափոխություն չի նկատվում: Հատատեղերը կամ վերականգնվում են նույն տեսակներով կամ վերածվում բացատների, արոտավայրերի, որոնցում կենսական է արհեստական անտառվերականգնման միջոցառումների անցկացումը:

3. Համատարած հատված տարածքներում կարծրատերևավորները փոխարինվում են փափկատերևավորների կամ ցածրարժեք կոճղաշիվային ծագման կարծրատերևավորների:

4. Հաճարենու և կաղնու փոխարինումը բոխիով, կաղամախիով, կեչիով տնտեսական տեսանկյունից պետք է դիտել, որպես անցանկալի տեսակափոխություն: Անտառային տնտեսության վարումը այս տարածքներում պետք է ուղղել հիմնական ծառատեսակների աճեցման, ցանկալի ծառուտների ձևի, ծագման, ձևավորման ու կարգավորման ուղղությամբ, անտառկուլտուրական միջոցառումների, վերակառուցողական ու խնամքի հատումների միջոցով:

Մյուս կողմից, անտառային տնտեսության մեջ տնտեսական ու կենսաբանական հակասությունները պետք է լուծել խառը ծառուտների ստեղծմամբ ու ձևավորմամբ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Անտառշինության նյութեր

- Գուգարքի անտառտնտեսության անտառկառավարման պլանների ու անտառտաքսացիոն նկարագրությունների նախնական տարբերակ, Երևան, 215 էջ, 2008.
- Проект организации и развития лесного хозяйства, пояснительная записка; Таксационные описания лесничества Гугарского лесхоза, 1, Тбилиси, 182с., 1992, 176с., 1962.

2. Վարդանյան Օ.Հ. Ծառագիտություն. Ե., 370 էջ, 2005.

3. Վարդանյան Օ.Հ., Մացակյան Վ.Գ. ՀՀ Լոռու մարզի Գուգարքի տարածաշրջանի անտառի վերին գոտու փոփոխության դինամիկան վերջին 50 տարում: ՀՀ ԳԱԱ Հայաստանի կենսաբ. Հանդես, 3, էջ 16-22, 2009.

4. Թարոշենկո Գ. Դ. Հայաստանի կաղնին: Գյուղատնտես. Կյանք, N 5, էջ 25-34, 1927:

5. *Абрамян А. Г.* Динамика и взаимоотношения основных растительных группировок верхнего предела лесов северной Армении. - ИЗВ. (АН Арм ССР), биол. и с.-х. науки, 9, 9, с. 85-93, 1956.
6. *Анучин Н. П.* Лесная таксация. 5 изд. М., 255 с., 1982.
7. *Варданян Ж. А.* Вертикальные пределы распространения лесов в Вайке. Биолог. журн. Армении, 34, 7, с. 741-745, 1981.
8. *Варданян Ж. А.* Деревья и кустарники Армении в природе и культуре. Ереван, 367с., 2003.
9. *Гроссгейм А. А.* Очерк растительного покрова Закавказья (Азербайджана, Армении и Грузии). Тифлис, 40с., 1930.
10. *Гулисашвили В. З.* Альпийская граница древесной растительности на Кавказе в связи с почвенно-климатическими условиями. Изв. Всес. Геогр. Общ., 90, 2, с.158-163, 1958.
11. *Долуханов А. Г.* Леса Зангезура. Тр. БИН АН Арм. ССР, 6, с. 65-134, 1949.
12. *Долуханов А.Г.* Закономерности географического разнообразия растительности у верхних пределов леса в горах Закавказья. Пробл. бот., М-Л., 8, с.196-208, 1966.
13. *Махатадзе Л. Б.* Леса Северной Армении. Типы лесов, естественное возобновление, хозяйственные мероприятия. Тр. Кироваканск. ЛОС, 1941, 1, с. 107-191. Махатадзе Л. Б. Дубравы Армении. Ереван, 327 с. ,1957.
14. *Сосновский Д. И.* Опыт классификации растительных формаций Грузии. Закавк. краевед. сб., сер. А, т. 1, Тифлис, с. 1-19, 1930.
15. *Ярошенко Г. Д.* Буковые леса Армении. Ереван, 178 с., 1962.
16. *Ярошенко П. Д.* Смены растительного покрова Закавказья в их связи с почвенно-климатическими изменениями и деятельностью человека. М. –Л., 242 с., 1956.
17. *Боровков М.Ф. , Фролов В.П., Серко С.А.* Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства: Учебник /Под. ред.проф. М.Ф. Боровкова/. СПб.: Изд-во “Лань”, 2007.

Մուղղվել է 06.04.2010



Биол. журн. Армении, 2 (62), 2010

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ РАЗВИТИЯ МИКРОГАМЕТОФИТА РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПЛОДОВЫХ ДЕРЕВЬЕВ СЕМЕЙСТВА *ROSACEAE* JUSS

С.Г. ЕРВАНДЯН¹, А.А. НЕБИШ², Р.М. АРУТЮНЯН²

¹Ереванский госуниверситет, биол. факультет, лаборатория общей биологии,

²Ереванский госуниверситет, биол. факультет, кафедра генетики и цитологии

Приведены результаты исследования стерильности пыльцы ряда генотипов плодовых культур семейства *Rosaceae* Juss., произрастающих в зоне размещения Армянской атомной электростанции (ААЭС) и на контрольном участке Норагюх. Показано, что у большинства исследуемых форм в основном сформирована высокофертильная пыльца. Генотипы с низким уровнем стерильности пыльцы (персик, слива) можно рекомендовать для биоиндикации загрязнения окружающей среды.

Пыльца – стерильность – фертильность

Ներկայացված են Հայկական ատոմային էլեկտրակայանի (ՀԱԷԿ) շրջակայքում և ստուգիչ տարածքում՝ Նորագյուղում աճող *Rosaceae* Juss. ընտանիքի պտղատու ծառերի մի շարք գենոտիպերի ծաղկափռչու ամլության հետազոտման արդյունքները: Ցույց է տրված, որ ուսումնասիրվող ձևերի մեծամասնության մոտ ձևավորված է բարձր ֆերտիլությամբ ծաղկափռչի: Ծաղկափռչու ամլության ցածր մակարդակ ունեցող գենոտիպերը (դեղձ, սալոր), կարելի է երաշխավորել շրջակա միջավայրի աղտոտվածության կենսաինդիկացիայի համար:

Ծաղկափռչի – ամլություն – ֆերտիլություն

The results of pollen sterility analyses of some fruit trees of family *Rosaceae* Juss. grown within adjacent to Armenian Nuclear Power Plant (ANPP) and the control region Noragyugh are described. It is shown that the majority of studied genotypes are characterized with high levels of fertility. Genotypes with low level of pollen sterility (peach, plum) can be recommended for bioindication of environmental pollution.

Pollen–sterility–fertility

Генетические последствия действия загрязнителей окружающей среды приводят к вырождению природных популяций, повышению дефектности пыльцевых зерен и зародышевых мешков, ограничению репродуктивных возможностей растений. Создание систем биологической индикации поможет выявлению наличия генетической активности окружающей среды, оценить реакции разных биотипов биосферы на воздействие этих факторов. С этой целью наряду с традиционными

методами учета мутаций использовался тест на определение стерильности пыльцы растений [1, 3-5, 11, 13, 15]. Анализ мужского гаметофитного поколения является чувствительным методом выявления генетических воздействий различного характера, и по эффективности его часто сравнивают с гаплоидным набором хромосом микроорганизмов [7]. По данным Sharma [16], пыльцевой анализ можно использовать для индикации гаметоцидного действия. Задача настоящего сообщения – анализ микрогаметофита растений из семейства Rosaceae Juss., произрастающих в зоне размещения Армянской атомной электростанции (ААЭС), с целью оценки состояния этой системы и возможности выбора относительно подходящих таксонов для работ в мониторинговых исследованиях.

ААЭС расположена в северо-восточной части Араратской равнины рядом с поселком Мецамор. Площадь промплощадки ее равна 55,6 га. Почвы полупустынные бурые, карбонатные культурно-поливные и новоосвоенные каменистые – киры, а также солончаки. Непосредственно вокруг ААЭС земли используются в сельскохозяйственном производстве. В тридцатикилометровой зоне находятся наиболее орошаемые земли Араратской равнины, которые отличаются высокой сельскохозяйственной продуктивностью, особенно для виноградарства и плодводства.

Материал и методика. В качестве объекта исследования использован мужской гаметофит (цветочная пыльца) некоторых генотипов плодовых (сем. Rosaceae Juss.). Материал собран в двух пунктах: контрольный на расстоянии около 30 км от ААЭС – опытная станция Ереванского государственного университета - Норагюх и в зоне размещения ААЭС – опытный пункт. В эксперименте использованы следующие генотипы: сорт шалах абрикоса обыкновенного *Armeniaca vulgaris* L. ($2n=16$), сорт нариндж персика обыкновенного *Persica vulgaris* Mill. ($2n=16$), сорта малача и дзмернук груши обыкновенной *Pyrus communis* L. ($2n=34$, 51, 68), слива домашняя *Prunus domestica* L. ($2n=16$, 24, 32, 48, 64) из семейства Rosaceae Juss.. Микроскопический анализ выполнен по общепринятой методике [9]. В каждом варианте подсчитано по 10000 пыльцевых зерен, окрашенных ацетокармином.

Норагюх расположен в северо-восточной части Араратской равнины на высоте 850-1000 м над ур. моря. Территория характеризуется бурыми и полупустынными почвами с характерной растительностью. Климат жаркий, сухой, морозно- и заморозноопасный. Здесь самая высокая среднегодовая температура в июле $+24... +26^{\circ}$, в январе $-4... -6^{\circ}$. Среднегодовое количество осадков составляет около 300 мм. Преобладают северо-восточный и юго-западный ветры. Средняя годовая скорость ветра небольшая – от 1,1 до 2,0 м/с.

За годы исследований фон радиоактивного излучения на контрольном участке (Норагюх) и в зоне ААЭС находился в пределах нормы и составлял в среднем 15-16 мкР/ч. Сравнительный анализ содержания радионуклидов в почве, в частности ^{137}Cs , выявил некоторое повышение в зоне ААЭС до 19,4 Бк/кг по сравнению с контрольным участком – 12,0 Бк/кг [12].

Нами на протяжении ряда лет изучалось действие ААЭС на мужскую генеративную сферу плодовых культур [2, 3, 14]. У ряда злаковых и овоще-бахчевых культур (пшеница, ячмень, помидор, перец, баклажан и др.) под воздействием ААЭС наблюдалось повышение стерильности пыльцы и уровня хромосомных aberrаций апикальной меристемы [8, 10].

Полученные результаты статистически обрабатывали с применением статистической компьютерной программы ANOVA.

Результаты и обсуждение. Изменение средовых факторов способно вызывать вариабельность уровней дефектов пыльцевых зерен, зародышевых мешков и ограничивать репродуктивные возможности растений. Качество и конкурентоспособность пыльцы может модифицироваться условиями среды и генотипическими особенностями. При этом влияние внешней среды опосредуется биологическими свойствами генотипов (видов, сортов). Об этом свидетельствуют проведенные нами исследования на разных образцах из семейства Rosaceae Juss.

Сопоставление данных микроскопического анализа выявило четкую вариативность микрогаметофитных значений как по отдельным генотипам, так и по разным годам исследования. При этом изменение климатических факторов приводит к вариации результатов. Среди исследуемых образцов семейства *Rosaceae* Juss. можно выделить генотипы с низкой, средней и высокой степенью стерильности. У гаплоидного поколения персика и сливы доля стерильных пыльцевых зерен составила от 2% до 12%. Более широкой амплитудой изменчивости признака отличались сорта груши, со значениями от $4,17 \pm 0,20\%$ в опытном и $21,40 \pm 0,41\%$ в контрольном пунктах у сорта малача и соответственно $18,0 \pm 0,41\%$ и $27,22 \pm 0,45\%$ у сорта Дзмернук. При этом по отдельным годам зарегистрированы неоднозначные результаты.

Из года в год по пунктам исследования у сорта шалах абрикоса обыкновенного наблюдался повышенный уровень стерильности пыльцы (табл.). Таким образом, в пределах семейства *Rosaceae* Juss. четко наблюдалась видовая специфичность вне зависимости от места проведения опытов.

Таблица. Уровень стерильности пыльцевых зерен разных генотипов плодовых деревьев семейства *Rosaceae* Juss.

Объект год	Стерильность пыльцы, %									
	Норагюх					Мецамор				
	1999	2000	2001	2003	2004	1999	2000	2001	2003	2004
Персик	$12,80 \pm 0,33$	$4,39 \pm 0,21$	$2,86 \pm 0,17$	$2,24 \pm 0,15$	-	$8,4 \pm 0,28$	$11,31 \pm 0,32$	$6,10 \pm 0,24$	$7,67 \pm 0,27$	
Абрикос, с. Шалах	$46,06 \pm 0,50$	$46,22 \pm 0,71$	$54,40 \pm 0,50$	$49,97 \pm 0,50$	$35,13 \pm 0,48$	$55,58 \pm 0,50$	$93,64 \pm 0,24$	$80,44 \pm 0,40$	-	$50,15 \pm 0,50$
Груша, с. Малача	$21,40 \pm 0,41$	$5,16 \pm 0,22$	$16,22 \pm 0,37$	$8,10 \pm 0,27$	$4,11 \pm 0,20$	$4,17 \pm 0,20$	$4,56 \pm 0,21$	$4,98 \pm 0,22$	-	$4,72 \pm 0,21$
Груша, с. Дзмернук	$27,22 \pm 0,45$	$13,10 \pm 0,34$	$19,55 \pm 0,40$	$38,09 \pm 0,49$	$20,90 \pm 0,41$	$18,0 \pm 0,41$	$20,29 \pm 0,40$	$9,30 \pm 0,29$	$22,22 \pm 0,42$	$20,14 \pm 0,40$
Слива	$9,96 \pm 0,30$	$12,40 \pm 0,33$	$3,80 \pm 0,19$	$7,89 \pm 0,27$	-	$6,30 \pm 0,24$	$3,07 \pm 0,17$	-	-	-
Яблоня	-	$1,32 \pm 0,11$	$0,86 \pm 0,09$	$1,55 \pm 0,12$	$2,06 \pm 0,14$	-	$9,07 \pm 0,29$	$1,43 \pm 0,12$	-	$7,2 \pm 0,26$

Для изученных таксонов плодовых культур обнаружена достоверная корреляция между ними по уровню стерильности пыльцы ($r=0,93$, $p<0,05$). Следовательно, нельзя однозначно оценивать действие ААЭС на пыльцу изученных объектов. Необходимы дальнейшие исследования для увеличения диапазона и выбора наиболее чувствительных тест-объектов.

Одним из критериев пригодности того или иного вида в качестве биоиндикаторов, помимо его распространенности, является достаточно низкая стерильность пыльцы. Фертильная пыльца обеспечивает сильную конкуренцию, способствуя выживанию здоровых растений [4]. В этом случае проявляется влияние микрогаметофитной конкуренции на отдельные генотипы, так как приблизительно 60% структурных генов экспрессируются и в спорофите [6]. Максимальная стерильность других образцов может стать основой для слабой микрогаметофитной конкуренции и образования полиморфных популяций (абрикос, груша) с новыми приспособлениями к средовым факторам. На основе приведенных результатов пригодными в качестве биоиндикаторов можно считать генотипы с невысоким (до 13%) показателем стерильности пыльцы (персик, слива). Их можно рекомендовать для биоиндикации загрязнения окружающей среды токсическими и мутагенными веществами по их гаметоцидному действию.

Микрогаметофитное поколение плодовых культур (как и спорофитное) отличается широким полиморфизмом. За некоторым исключением у большинства

изученных объектов вне зависимости от пункта и года эксперимента формируется полноценная пыльца. Особые отклонения, которые были бы свойственны мужскому гаплоидному поколению растений, выросших в пределах ААЭС, не зарегистрированы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Горовая А.И., Дигурко В.М., Скворцова П.М.*, Цитогенетическая оценка мутагенного фона в промышленном Приднестровье. *Цитология и генетика*. 29, 5, с. 17-22, 1995.
2. *Ервандян С.Г., Симосян Е.Г., Небиш А.А., Бегларян С.А., Арутюнян Р.М., Сихчян Г.Л.*, Микрогаметофитная система и индикация загрязнения среды (II сообщение), *Биолог. журн. Армении*, 53, с.3-4, 2001.
3. *Ервандян С.Г., Небиш А.А., Симосян Е.Г., Арутюнян Р.М.*, Об использовании микрогаметофитного поколения в семействе Розоцветных (*Rosaceae* Juss.) для биоиндикации природной среды в Армении. *Экология*. № 4. с. 314-317, 2005.
4. *Куприянов П.Г.* Соотносительная роль факторов, вызывающих появление дефектов пыльцевых зерен у растений в природе. *Апомиксис и цитозембриология растений*. Саратов: Изд-во Саратовск. ун-та, вып. 5. с. 32-35, 1983.
5. *Куриный А.И.*, К проблеме предупреждения генетических последствий применения пестицидов: реальность и необходимость. *Цитология и генетика*. 17, 4, с. 32-35, 1983.
6. *Лях В.А.*, Микрогаметофитный отбор и его роль в эволюции покрытосеменных растений. *Цитология и генетика*, 29, 6, с.76-82, 1995.
7. *Никифоров Ю.Л.* Первый советско-американский симпозиум "Генетические влияния загрязнения окружающей среды на человека". *Успехи современной биологии*. 78, 2(5), с. 74, 1974.
8. *Оганесян Дж.О., Петросян К.Р., Варданян К.А., Семерджян С.П.* Результаты радиационного мониторинга в зоне действия Армянской АЭС. Научный центр земледелия и защиты растений МСХ РА. Сб. научных трудов. Эчмиадзин, N 5. с. 146-158, 2001.
9. *Паушева В.П.*, Практикум по цитологии растений. М.: Агроиздат, 256 с., 1988.
10. *Петросян К.Р., Варданян К.А., Оганесян Дж.О., Семерджян С.П.* Результаты цитогенетических повреждений растений томата, возделываемых в зоне действия Армянской АЭС. Мат.-лы международной научной конференции "Основные вопросы селекции, семеноводства и технологии возделывания овоще-бахчевых культур". Ереван, с. 107-109, 2000.
11. *Amano E.* Flow system for automethod analysis of maize pollen. *Environ. Health Perspect.*, 37, p. 165-168. 1981.
12. *Aroutiounian R.M., Aghajanyan E.A., Atoyants A.L., Pogosyan V.S., Pyuskyulyan K.A.* Application of Trad-SH and Trad-MN tests for the estimation of soils genotoxicity in the zone of Armenian Nuclear Power Plant. *Proceedings of International conference "Unification and optimization of radiation monitoring on NPP location regions"*. Armenia, Yerevan, September 22-26, p. 223-225, 2004.
13. *Constantin M.S.* Plant genetic systems with potential for the detection of atmospheric mutagens. *Genotoxic Effects of Airborne Agents*. Eds. Tice R.R., Costa D.L. and Schaich K.M., New York, London: Plenum Press, p. 159-177, 1982.
14. *Ervandyan S.G., Nebish A.A., Aroutiounian R.M.* Estimates of genotoxic effect by the pollen analysis of vines and fruit trees. *Korean J. Environ. Biol.*, 24, 4, p. 368-371. 2006.
15. *Nilan R.A., Rosichan J.J., Arenar P., Hodgdon A.Z.* Pollen genetic markers for detection of mutagens in the environment. *Environ Health Perspect.*, 37, p. 19-25. 1981.
16. *Sharma C.B.*, Environmental Agents. Workshop BARC, Bombay. *Collect. Articles and Lab. Meth.*, p. 27-31. 1982.

Поступила 13.10.2009.



COMPLEMENT FACTOR H Y402H FUNCTIONAL POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE

A.ARAKELYAN¹, S. HAKOBYAN², L. ZHAMGARYAN¹,
M. HAMBARDZUMYAN¹, E. ARAKELOVA¹, T. HOVSEPYAN¹,
G. GRIGORYAN³, P. B. MORGAN², A. BOYAJYAN¹

¹Institute of Molecular Biology NAS RA, imb@sci.am

²Cardiff University, Great Britain, morganbp@cardiff.ac.uk

³“St. Gregory the Illuminator” Scientific Medical Center MH RA, haycowl@web.am

The present study was focused on the assessment of Y402H functional polymorphism of the complement alternative pathway regulator, factor H, in ischemic stroke. For this purpose comparative determination of the blood serum levels of total factor H and its 402H and 402Y variants in 39 patients with ischemic stroke and the same number of age- and sex-matched healthy subjects was performed. In addition, the correlation between these parameters and blood level of C-reactive protein was assessed, and genotype frequency of Y402H polymorphism among patients with ischemic stroke and healthy individuals were determined. The results obtained suggest implication of factor H, particularly its 402H variant, in postischemic inflammatory response.

Ischemic stroke – factor H – Y402H polymorphism – C-reactive protein

Տվյալ աշխատանքը ուղղված է գնահատելու կոմպլեմենտի այլընտրանքային ուղու կարգավորիչի՝ H գործոնի Y402H ֆունկցիոնալ պոլիմորֆիզմը իշեմիկ կաթվածի ժամանակ: Այդ նպատակով իրագործվել է H գործոնի, նրա 402H և 402Y տարբերակների մակարդակների համեմատական որոշումը 39 իշեմիկ կաթվածով հիվանդների և նրանց սեռով ու հասակով համապատասխանող նույն քանակի առողջ անձանց արյան շիճուկում: Բացի դրանից, գնահատվել է նաև որոշված չափանիշների և արյան մեջ C-ռեակտիվ սպիտակուցի մակարդակների միջև համապատասխանությունը, որոշվել է Y402H պոլիմորֆիզմի հաճախականությունը հիվանդների և առողջների մոտ: Ստացված արդյունքները վկայում են, որ H գործոնը, մասնավորապես իր 402H տարբերակը, ներգրավված է հետիշեմիկ բորբոքային պատասխանի մեջ:

Իշեմիկ կաթված (H գործոն (Y402H) պոլիմորֆիզմ (C-ռեակտիվ սպիտակուց

В настоящей работе дана оценка Y402H функционального полиморфизма регулятора альтернативного пути комплемента, фактора H, при ишемическом инсульте. С этой целью было проведено сравнительное определение уровней фактора H и его 402H и 402Y вариантов в сыворотке крови 39 больных ишемическим инсультом и такого же количества здоровых лиц, соответствующих больным по возрасту и полу. Кроме того, проведена оценка корреляции между определенными параметрами и уровнем C-реактивного белка, а также определены частоты Y402H полиморфизма у больных и здоровых лиц. Полученные данные свидетельствуют о вовлечении фактора H, в частности его 402H варианты, в постишемический воспалительный ответ.

Ишемический инсульт - фактор H - Y402H полиморфизм - C-реактивный белок

The inflammatory response plays a decisive role in pathophysiology of ischemic stroke (IS): on the one hand the response is pointed toward the removal of necrotic tissue from the ischemic area; whereas, on the other hand, it enlarges the ischemic area and the severity of disease [reviewed in 6]. In addition, the systemic inflammation also plays a central role in IS [reviewed in 6].

The complement system is a major mediator of inflammation. It is a cytotoxic host defense system that normally functions to eliminate foreign pathogens and to opsonize necrotic and apoptotic cells. Activation of complement by the classical, alternative and lectin pathways generates opsonins, anaphylatoxins, chemotaxins, and membranolytic complexes. Complement dysfunction, alterations in its regulatory mechanisms and undesirable activation, contributes to pathology of many human diseases by damaging tissue and promoting inflammation [4, 14, 24, 27].

In multiple animal models of stroke it has been shown that complement plays a key role in stroke outcome, and complement depletion improves neurological function after cerebral ischemia [reviewed in 6]. Few studies, including our own, demonstrated increased complement activities, levels of complement components and their activation products in the central nervous system and circulation after human IS onset [2, 9, 13, 20, 26]. It has been proposed that decreased expression of complement regulators is a possible mechanism of tissue damage during ischaemia [19, 21]. However, data on complement regulators in stroke are very limited.

Complement factor H (fH) is the major fluid-phase regulator of the alternative pathway of complement and plays a key role in controlling complement activation [4, 14, 24, 27]. Within the fH molecule there are binding sites for C-reactive protein (CRP) [7, 8, 11], systemic inflammatory marker [reviewed in 22], predictor of risk of coronary events [5, 18], and indicator of IS severity and outcome [reviewed in 6, 19]. A common T→C single nucleotide polymorphism (1277T>C) in exon 9 of the fH gene (rs1061170) resulting in Tyr(Y)-to-His (H) substitution at position 402 (Y402H) of the fH polypeptide chain, has been shown to associate with some diseased conditions characterised by altered inflammatory response, including atypical hemolytic uremic syndrome, age-related macular degeneration (AMD), and coronary heart disease [15, 17, 23, 30]. The Y402H polymorphism occurs in the SCR7 region of the gene which has the overlapping binding sites for CRP [7, 8, 11]. It has been shown that carriers of 402H have an increased risk for cardiovascular mortality and AMD, and the association of the Y402H polymorphism with increased CRP levels has been reported [12, 15, 17, 30]. Two reports were focused on association of Y402H polymorphism with IS, and the results obtained are controversial [23, 28].

Our previous studies demonstrated alterations in the alternative complement pathway [2, 3] in IS. In the present study we performed comparative determination of the blood levels of total fH and its 402H and 402Y variants in patients with IS and healthy subjects. In addition, the analysis of correlation between these parameters and blood level of CRP was performed, and genotype frequency of fH Y402H polymorphism among IS-patients and healthy subjects was studied.

Material and Methods. Thirty nine patients (females 27; mean age $\pm$ SD 67 $\pm$ 12 years) with acute IS symptoms developed within 24 hours and the same number of sex- and age-matched healthy controls entered the study. The patients were recruited from “St. Gregory the Illuminator” Scientific Medical Center of the Ministry of Health of Armenia. Stroke subtype was classified according to TOAST definitions [1]. Eight patients had cardioembolic stroke, and 31 - large vessel atherothromboembolic stroke. Stroke severity was scored using the US National Institutes of Health Stroke Scale. In this trial, patients with moderately severe baseline strokes (median score 17; lesion volume $\pm$ SD 65541 $\pm$ 63745mm³) were involved. Diagnosis of IS was based on clinical history and neurological examination and was confirmed by brain computed tomography (CT) imaging and basal laboratory tests. Thirty two patients presented anatomically relevant CT hypodense areas in subcortical parts of cerebral hemispheres and 7 in brain stem. Twenty eight

patients had hyperlipidemia, 18 had hypertension, 8 had arterial fibrillation, 10 had coronary artery disease, and 8 had diabetes mellitus; 19 patients were current smokers, and 9 were alcohol consumers. Three patients previously had stroke and 13 patients had positive family history of IS (6 - maternal heredity, 7 - paternal heredity). Thirty nine age- and sex-matched healthy volunteers without family history of IS, myocardial infarction, and diabetes mellitus served as a control group. No special studies have been performed to assess the progress of atherosclerotic process in the healthy subjects group. Subjects with concurrent diseases or conditions interfering with the aim of this study, such as inflammatory, infectious, or autoimmune diseases, vasculitis, myocardial infarction, cancer, hematological diseases, severe renal or liver failure, gynecologic or urologic diseases, any surgical interventions within the previous 12 months, and those on immunomodulator drugs, were not included in the study. All subjects were Armenians living in Armenia. Informed consent was obtained from all study participants or their legal representatives. The Ethics Committee of the Institute of Molecular Biology has approved the study.

Blood sampling of IS-patients was performed at admission, before any medication was applied. Practically fasting blood samples were collected by venipuncture at 9:00-10:00 a.m. (first sampling) in appropriate tubes and kept on ice for 60 min. After that the blood was centrifuged at 3000g for 15min at 4°C to separate serum from blood corpuscles. The obtained serum samples were stored in aliquots at -30°C and thawed immediately prior to use.

Concentrations of total fH and fH 402H variant in the serum of study subjects were measured by in-house enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as described earlier [9] on "Stat Fax 3200" (Awareness Technology Inc., USA) apparatus in 96-well microplates at 492 nm. Concentration of fH 402Y variant was calculated by subtraction of fH 402H variant level from total fH concentration and expressed in milligrams per 1 liter of serum (mg/L). The ratio of 402H and 402Y levels was used to identify genotype frequency of Y402H polymorphism as described earlier [9].

Concentration of CRP was measured by immunonephelometric assay on a BN II analyzer (Dade Behring, Germany), using commercially available kits (Dade Behring, Germany), as described by the manufacturers. Concentration of CRP was expressed in milligrams per 1 liter of serum (mg/L).

SNPanalyzer web-based software [29] was used to perform essential statistical analyses of genotype and allelic frequency data. The distributions of genotypes for all studied SNPs were checked for correspondence to the Hardy-Weinberg (H-W) equilibrium. Allelic (gene) and phenotype frequencies in the patients and control groups were compared. Allelic and phenotype frequencies were calculated according to the observed number of genotypes. The significance of differences between phenotype and allele frequencies in both groups was calculated using Pearson's Chi-square test.

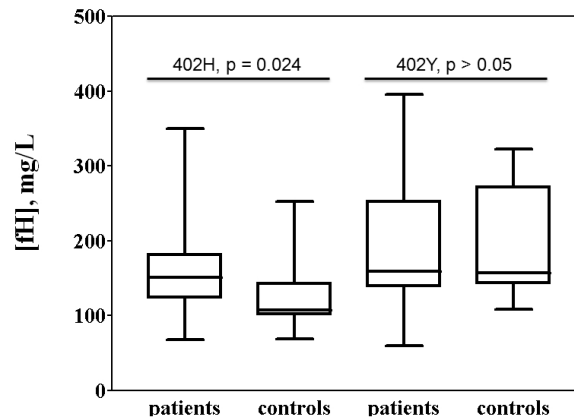
For analysis of the total fH, its variants and CRP levels "Graphpad Prism" (GraphPad Software Inc., USA) software was applied. Group statistics, otherwise indicated, was expressed as mean±SD. The unpaired two-tailed Student's t-test was used for evaluation of intergroup differences in the levels of total fH, its 402H and 402Y variants, and CRP. Pearson's correlation coefficient (r) was calculated to assess relationships between measured parameters. P values less than 0.05 were considered significant.

Results and Discussion. We observed a significantly increased serum levels of total fH in IS-patients compared to controls (294.1±44.8 vs. 265.6±28.4; $p=0.0042$). According to the results obtained, genotype frequencies of fH Y402H polymorphism in IS-patient and control subjects did not differ significantly from each other ($p>0.5$). Further analysis showed that the levels of 402H variant were significantly higher in heterozygous IS-patients compared to control subject ($p=0.024$), whereas no difference in 402Y variant levels between IS-patients and control subjects was observed ($p>0.05$). In case of patients, we found no difference between total fH levels of mutant variant carriers (YH+HH) and standard variant homozygotes (YY) (296.6±50.4 vs 293.0±41.9; $p>0.05$), whereas in control subjects the total levels of fH in YH+HH were significantly lower than YY (255.0±24.4 vs 283.2±27.32; $p=0.05$). The results obtained are summarized in Table 1 and Figure 1.

The data are expressed as whisker box plots; the box represents the 25th–75th percentiles, the median is indicated by a horizontal bar across the box, the whiskers on each box represent the 10th–90th percentiles.

Table 1. Genotype, allele, and carriage frequency of fH Y402H polymorphism among IS-patients and healthy controls

Target	Controls		Patients		P
		Absolute number (Relative number, %)		Absolute number (Relative number, %)	
Genotype	YY	14 (0.36)		13 (0.33)	>0.05
	HY	22 (0.56)		22 (0.57)	
	HH	3 (0.08)		4 (0.10)	
Allele	Y	50 (0.64)		48 (0.61)	>0.05
	H	28 (0.36)		30 (0.39)	
Carriage	Y	36 (0.92)		35 (0.90)	>0.05
	H	25 (0.64)		26 (0.67)	

**Fig. 1.** The levels of fH 402H and fH 402Y variants in the blood of heterozygous IS-patients and control subjects.

We found significantly higher serum CRP levels in IS-patients compared to controls (23.3 ± 17.6 vs. 4.25 ± 2.2 , $p = 0.00002$). The levels of CRP in the serum of fH 402 heterozygous IS-patients correlated with the levels of fH 402H variant ($r = 0.52$, $p = 0.002$), but not with the fH 402Y variant levels ($r = -0.06$, $p = 0.731$). No correlation was observed between the levels of CRP and fH variants in control subjects (402H: $r = 0.02$, $p = 0.97$; 402Y: $r = 0.35$, $p = 0.28$).

In this paper we focused our attention on Y402H functional polymorphism of complement alternative pathway regulator, fH, in IS by evaluating the levels of total fH, and its 402H and 402Y variants in the blood of patients with IS and healthy subjects. The data obtained demonstrated that in IS-patients the levels of total fH are higher than in controls due to increased levels of its 402H mutant variant, which may be responsible for alterations in the alternative complement cascade demonstrated in our previous studies [2, 3].

As it was mentioned in the introduction, the data relevant to association of fH Y402H genetic polymorphism with IS, presented only in two reports, are controversial [23, 28]. This discrepancy may reflect population differences of study subjects. Our present data, indicating no association between Y402H polymorphism and IS in Armenian population, are consistent with the one of this reports [23]. However, the *sample size of our study* does not allow definite conclusion.

Our data also demonstrated positive correlation between the levels of CRP in the blood of fH 402 heterozygous IS-patients with the levels of fH 402H variant. That may reflect diminished binding of denaturated CRP to fH 402H variant [10], since decreased level of blood Ca²⁺ in IS [16] may promote CRP denaturation [10].

Thus, the present findings clearly demonstrated the involvement of fH, particularly its 402H variant in the development of systemic posts ischemic inflammatory response.

Acknowledgment

The study was supported by Cardiff International Collaboration Award (ref. BMP/JLD A.A.).

REFERENCES

1. Adams H.P., Bendixen B.H., Kappelle L.J. TOAST Investigators. Classification of subtype of acute ischemic stroke: definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. Stroke, 24, 35-41, 1993.
2. Boyadjyan A.S., Sim R.B., Eganyan M.N. et al. The dynamics of complement activation in acute ischemic stroke. Immunology (Moscow), 25, 4, 221-224, 2004.
3. Boyadjyan A., Ayyazyan V., Manukyan L. Involvement of alternative and classical pathways of complement activation in the pathogenesis of ischemic stroke. Clin. Biochem., 38, 9, 857-858, 2005.
4. Cole D.S., Morgan B.P. Beyond lysis: how complement influences cell fate. Clin. Sci., 104, 5, 455-466, 2003.
5. Danesh J., Wheeler J.G., Hirschfield G.M. et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. N. Engl. J. Med., 350, 1387-1397, 2004.
6. Di Napoli M., Arakelyan A., Boyadjyan A. et al. The acute phase inflammatory response in stroke: systemic inflammation and neuroinflammation. Progress in Inflammation Research (Ed. Pitzer J. A), USA: Nova Science Publishers Inc., Chapter 3, p. 95-145, 2005.
7. Giannakis E., Jokiranta T.S., Male D.A. et al. A common site within factor H SCR 7 responsible for binding heparin, C-reactive protein and streptococcal M protein. Eur. J. Immunol., 33, 962-969, 2003.
8. Giannakis E., Male D.A., Ormsby R.J. et al. Multiple ligand binding sites on domain seven of human complement factor H. Int. Immunopharmacol., 1, 433-443, 2001.
9. Hakobyan S., Harris C.L., Tortajada A. et al. Measurement of factor H variants in plasma using variant-specific monoclonal antibodies: application to assessing risk of age-related macular degeneration. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 49, 1983-1990, 2008.
10. Hakobyan S., Harris C.L., Vandenberg C.W. et al. Complement factor H binds to denatured rather than to native pentameric C-reactive protein. J. Biol. Chem., 283, 30451-30460, 2008.
11. Jarva H., Jokiranta T.S., Hellwege J. et al. Regulation of complement activation by C-reactive protein: targeting the complement inhibitory activity of factor H by an interaction with short consensus repeat domains 7 and 8-11. J. Immunol., 163, 3957-3962, 1999.
12. Kim I.K., Ji F., Morrison M.A. et al. Comprehensive analysis of CRP, CFH Y402H and environmental risk factors on risk of neovascular age-related macular degeneration. Mol. Vis., 14, 1487-1495, 2008.
13. Lindsberg P.J., Öhman J., Lehto T. et al. Complement activation in the central nervous system following blood-brain barrier damage in man. Ann. Neurol., 40, 4, 587-596, 1996.
14. Mollnes T.E., Song W.-C., Lambris J.D. Complement in inflammatory tissue damage and disease. Trends Immunol. Today, 23, 2, 61-66, 2002.

15. Mooijaart S.P., Koeijvoets K.M., Sijbrands E.J. *et al.* Complement Factor H polymorphism Y402H associates with inflammation, visual acuity, and cardiovascular mortality in the elderly population at large. *Exp. Gerontol.*, 42, 1116-1122, 2007.
16. Ovbiagele B., Starkman S., Teal P. *et al.* Serum calcium as prognosticator in ischemic stroke. *Stroke*, 39, 2231-2236, 2008.
17. Pai J.K., Manson J.E., Rexrode K.M. *et al.* Complement factor H (Y402H) polymorphism and risk of coronary heart disease in US men and women. *Eur. Heart J.*, 28, 11, 1297-1303, 2007.
18. Pai J.K., Pischon T., Ma J. *et al.* Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N. Eng. J. Med.* 351, 2599-2610, 2004.
19. Pedersen E.D., Loberg E.M., Vege E. *et al.* In situ deposition of complement in human acute brain ischaemia. *Scand. J. Immunol.*, 69, 6, 555-562, 2009.
20. Pedersen E.D., Waje-Andreassen U., Vedeler C.A. *et al.* Systemic complement activation following human acute ischaemic stroke. *Clin. Exp. Immunol.*, 137, 1, 117-122, 2004.
21. Pedersen E.D., Aass H.C., Rootwelt T. *et al.* CD59 efficiently protects human NT2-N neurons against complement-mediated damage. *Scand. J. Immunol.*, 66, 2-3, 345-351, 2007.
22. Progress in Inflammation Research (Ed. Pitzer J. A), USA: Nova Science Publishers Inc., 1-194, 2005.
23. Robert Y.L., Zee R.Y.L., Diehl K.A., Ridker P.M. Complement factor H Y402H gene polymorphism, C-reactive protein, and risk of incident myocardial infarction, ischaemic stroke, and venous thromboembolism: A nested case-control study. *Atherosclerosis*, 187, 332-335, 2006.
24. Sakamoto M., Fujisawa Y., Nishioka K. Physiologic role of the complement system in host defense, disease, and malnutrition. *Nutrition*, 14, 4, 391-398, 1998.
25. Sienkiewicz-Jarosz H., Galecka-Wolska M., Bidziński A. *et al.* Predictive value of selected biochemical markers of brain damage for functional outcome in ischaemic stroke patients. *Neurol. Neurochir. Pol.*, 43, 126-1233, 2009.
26. Széplaki G., Szegedi R., Hirschberg K. *et al.* Strong complement activation after acute ischemic stroke is associated with unfavorable outcomes. *Atherosclerosis*. 204, 1, 315-320, 2009.
27. VanOss C.J. In: The human complement system in health and disease. New York: M. Dekker, 423-455, 1998.
28. Volcik K.A., Ballantyne C.M., Braun M.C. *et al.* Association of the complement factor H Y402H polymorphism with cardiovascular disease is dependent upon hypertension. *Am. J. Hypertens.*, 21, 5, 533-538, 2008.
29. Yoo J., Seo B., Kim Y. SNPalyzer: a web-based integrated workbench for single-nucleotide polymorphism analysis. *Nucleic Acids Res.*, 33(Web Server issue), W483-498, 2005.
30. Zareparsa S., Branham K.E., Li M., *et al.* Strong association of the Y402H variant in complement factor H at 1q32 with susceptibility to age-related macular degeneration. *Am. J. Hum. Genet.*, 77, 149-153, 2005.

Received 25.02.2010.



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(62), 2010

ՀՐԱԶԴԱՆ ԳԵՏԻ ԶՐԻ ՈՐԱԿԻ ԳՆԱՀԱՏՈՒՄԸ ԿԵՆՍԱԲԱՅԱՀԱՅՏՄԱՆ ՏԱՐԲԵՐ ՄԵԹՈԴՆԵՐՈՎ

Մ.Ռ. ԴԱԼԼԱՔՅԱՆ, Է.Խ. ՂՈՒԿԱՅԱՆ, Ս.Հ. ՀԱԿՈԲՅԱՆ,
Ն.Է. ԲԱՐՍԵՂՅԱՆ

ՀՀ. ԳԱԱ Կենդանաբանության և Հիդրոէկոլոգիայի գիտական կենտրոնի
Հիդրոէկոլոգիայի և ձկնաբանության ինստիտուտ

Հրազդան գետի ջրի որակի գնահատման նպատակով 2004-2006թ. մեր կողմից ուսումնասիրվել է գետի հատակային ֆաունան և բացահայտվել են հիմնական կենսաբացահայտիչ հանդիսացող խմբերը: Զրի որակի գնահատումը կատարվել է ջրակենսաբանական մի քանի մեթոդների (BMWP ASPT, EBI և FBI) համադրության ճանապարհով: Ուսումնասիրվել է կիրառված կենսաբանական գործակիցների և որոշ հիդրոբիոլոգիական ցուցանիշների (հանքային ազոտ, ֆոսֆատ, թԿՊ5) կապը: Մարմարիկի ստորին հոսանքում և Հրազդան գետի Գետամեջ գյուղից հետո ընկած հատվածում ջրի որակը գնահատվել է շատ լավ (հավանական է թույլ օրգանական աղտոտվածություն), Հրազդան գետի Բջնի գյուղից հետո և Արզնի ձորում ընկած հատվածներում ջրի որակը գնահատվել է լավ (հավանական է որոշակի օրգանական աղտոտվածություն), իսկ Հրազդան գետին Մարմարիկ վտակի խառնվելուց հետո ընկած հատվածում ջրի որակը գնահատվել է միջին (հավանական է որոշ օրգանական աղտոտվածություն):

Կենսաբացահայտում (գետերի ջրի որակ (հատակային ֆաունա

Для оценки качества воды реки Раздан с 2004 по 2006 годы нами исследовалась донная фауна реки и были определены основные группы биоиндикаторов. При помощи четырех методов биоиндикации (BMWP ASPT, EBI и FBI) была проведена оценка качества воды на различных участках реки. Проводились работы по определению связи между примененными биотическими индексами и некоторыми гидрохимическими показателями (минеральный азот, фосфат, ПБК5). В нижнем течении р. Мармарик и на участке с.Гетамеч качество воды оценено как “очень хорошее” (наличие слабого органического загрязнения). После с. Бжни и на участке ущелья Арзни качество воды оценено как “хорошее” (возможно некоторое органическое загрязнение), а на участке р. Раздан после впадения р. Мармарик качество воды оценено как “посредственное” (возможно среднее органическое загрязнение).

Биоиндикация – качество воды рек – донная фауна

In order to estimate the water quality of Hrazdan River in 2004-2006 the bottom community of the river was studied and the main bio-indicators were identified. Four different biotic coefficients (BMWP ASPT, EBI and FBI) to study several parts of the river (the studying points) were used. Relation of the biotic coefficients and the hydro-chemical indicators of water (mineral Nitrogen, Phosphate, BOD5) was studied. At the dawn stream of Marmarik River and at the river section flowing out of Getamech village the water quality of the river was

estimated to be “good” (probably having some level of organic pollution). At the section of the river flowing out of the Bjni village and at the section at Arzni dzor the water quality of the river was estimated to be “good” (probably having some level of organic pollution). At the section where Marmarik stream joins Hrazdan River the quality of water was estimated to be “medium” (probably having some level of organic pollution).

Bio-indication – water quality of river – bottom community

Հրազդան գետը Արաքս գետի խոշոր վտակներից է, որը կարևոր նշանակություն ունի Հայաստանի տնտեսության զարգացման գործում [1]: Հրազդան գետի ջրի որակի վերահսկումը կարևոր է ջրային ռեսուրսների կառավարման, մասնավորապես գետի արդյունավետ օգտագործման տեսակետից:

Հատակային ֆաունային պատկանող բազմաթիվ խմբեր հանդիսանում են ջրի որակի կենսաբազմապայմաններ: Ջրի որակի գնահատման հիմք կարող են ծառայել հատակային կենդանիների բազմազանությունը կամ համակենցությունների կառուցվածքային (հասակային, կարգաբանական), քանակական և ֆունկցիոնալ ցուցանիշները (օրինակ՝ խմբերի առանձնացումն ըստ սնման տիպի), բիոտիկ գործակիցները:

Կենսաբազմապայմաններն ընտրում են ըստ էկոլոգիական առանձնահատկությունների և բաժանում հետևյալ խմբերի՝

- անհատական, որի հիմքում ընկած են առանձնյակների չափսը, պտղաբերությունը, անոմալ առանձնյակների առկայությունը և այլն,
- գործընթացային, որի հիմքում ընկած են որևէ պրոցեսի արագության աճը կամ նվազումը (օրինակ՝ ֆոտոսինթեզի արագությունը),
- կառուցվածքային, որի հիմքում ընկած են տեսակային կառուցվածքը, տոլերանտ և ոչ տոլերանտ տեսակների քանակը, բիոտիկ գործակիցները և այլն,
- էկոհամակարգային, որի հիմքում ընկած են տեսակային բազմազանությունը և ֆունկցիոնալ կառուցվածքը [10]:

Դաշտային ուսումնասիրությունների ժամանակ կենսաբազմապայմանների օգնությամբ կարելի է ստանալ շատ կարևոր տեղեկություններ նրանց կենսապայմանների մասին: Ջրավազանների ջրի որակի բազմաթիվ ուսումնասիրություններ հիմնված են քիմիական անալիզի վրա, որը բացահայտում է իրականության միայն մի մասը: Բսկ կենսաբազմապայմանների օգնությամբ կարելի է տալ ջրավազանի ինտեգրալ գնահատականը: Սակայն մինչ այդ անհրաժեշտ է ուսումնասիրել և բացահայտել ջրավազանի կենսաբազմազանությունը և ընտրել այն տեսակները, որոնք կարելի է օգտագործել որպես կենսաբազմապայմաններ [11]:

Նյութ և մեթոդ: Հրազդան գետի և նրա գլխավոր վտակ՝ Մարմարիկի հատակային ֆաունայի ջրակենսաբանական հետազոտություններն իրականացվել են 2004-2006 թ.: Փորձանմուշներ են վերցվել Հրազդանի էկոհամակարգի հետևյալ հատվածներից՝

Մարմարիկի ստորին հոսանք,
Հրազդան գետից՝ Մարմարիկ վտակի խառնվելուց հետո,
Բջնի գյուղից հետո,
Արզնու ձոր,
Գետամեջ գյուղի տարածք:

Տարբեր բիոտոպերից քարից, ավազից և մակրոֆիտներից հավաքված փորձանմուշները ֆիքսվել և մշակվել են ջրակենսաբանության մեջ ընդունված հայտնի մեթոդներով [5-8]:

Հրազդան գետի ջրի որակի գնահատման համար կիրառվել են կենսաբազմապայմանի հետևյալ գործակիցները՝ BMWP (Biological monitoring Working Party Index), ASPT (Average Score Per Taxon Index), EBI (Extended Biotic Index) և FBI (Family Biotic Index) [10]:

BMWP գործակիցը մշակվել է Մեծ Բրիտանիայի քաղցրահամ ջրերի էկոլոգիայի ինստիտուտի կողմից: BMWP գործակցի որոշման վրա հիմնված կենսաբազմապայմանի մեթոդը հիմք է հանդիսանում հոսող ջրային համակարգերի էկոլոգիական վիճակի գնահատման համար [10]:

BMWP գործակցի արժեքը որոշվում է բոլոր կարգաբանական խմբերին պատկանող ընտանիքներին համարժեք միավորների գումարով:

Կենսաբազմապայման ASPT գործակիցն ներկայացնում է BMWP գործակցի և հայտնաբերված կարգաբանական խմբերի ընդհանուր թվի հարաբերությունը ($ASPT = BMWP/n$, n - հայտնաբերված կարգաբանական խմբերի ընդհանուր թիվն է):

ASPT գործակիցը կրճատում է պատահաբար հայտնաբերված կարգաբանական խմբերի դերը, որոնք ունենում են բարձր ցուցանիշներ: Ուստի ASPT և BMWP գործակիցների համատեղ կիրառումը հնարավորություն է տալիս ավելի ճշգրիտ գնահատել ջրի որակը:

Աղյուսակ 1. Զրի որակի գնահատումը ըստ BMWP գործակցի

Գործակցի արժեքը	Զրի որակը
>150	լավագույն
101-150	շատ լավ
51-100	լավ
26-50	ոչ բարձր
<25	վատ

Աղյուսակ 2. Զրի որակի գնահատումը ըստ ASPT գործակցի

ASPT	Զրի որակը
5+	գերազանց
4.5-4.9	շատ լավ
4.1-4.4	լավ
3.6-4.0	միջին
3.1-3.5	գրեթե վատ
2.1-3.0	վատ
0-2.0	շատ վատ

Կենսաբացահայտման EBI գործակիցը Վուդլիվի գործակցի ձևափոխված տարբերակն է: Այս մեթոդի հիմքում ընկած է տարբեր տեսակի աղտոտվածության նկատմամբ խմբերի զգայունության աստիճանը (միօրիկ-*Ephemeroptera*, թավաթևանք-*Trichoptera*, զարնանաթևիկ-*Plecoptera*): Մեր կողմից կիրառված հաջորդ գործակիցը՝ FBI գործակիցը, ընդգրկում է մեծ թվով ջրային անողնաշարավորների կարգաբանական խմբեր և ներկայացված է հետևյալ բանաձևով. $FBI = ((Xi(ti)/n, որտեղ, Xi$ -ին՝ կարգաբանական խմբում առանձնյակների թիվն է, ti -ին՝ կարգաբանական խմբի տոկերանտության ցուցանիշը (միավորը), n -ը՝ փորձանմուշում առկա բոլոր առանձնյակների թիվը [10]:

Աղյուսակ 3. Զրի որակի գնահատումը ըստ EBI գործակցի

EBI գործակցի արժեքը	Զրի որակը
10-12-...	բարձր
8-9	լավ
6-7	ոչ բարձր
4-5	ցածր
1-3	վատ

Որպես հետազոտվող նմուշներ հանդիսացել են սպանդի ենթարկված և սպառման ներկայացված մետղիքը իրեն համապատասխանող ներքին օրգաններով (յարդ, թոքեր, փայծաղ), ինչպես նաև վերջավորությունները, գլուխը, ավշային հանգույցները, ֆերմենտատիվ նյութերը, ստամոքսաղիքային ուղու չմարված պարունակության հետ միասին: Հռմբի վերաբերյալ տվյալները վերցվել են № 2 անասնաբուժական վկայականներից: Հետազոտությունները կատարվել են ՀԴԱՀ-ի անասնաբուժական սանիտարիայի, փորձաքննության և զոոհիգիենայի ամբիոնի գիտական լաբորատորիայում և խորենացու 64 հասցեյում գտնվող ԱՍՓԼ-ում:

Արդյունքներ և քննարկում: Հրազդան գետի հատակային ֆաունայի ջրակենսաբանական ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ գետի տարբեր հատվածներում հանդիպում են հիդրոբիոնոմների հետևյալ կարգաբանական խմբերը՝ սակավախոզան որդեր (*Oligochaeta*), տզուկներ (*Hirudinea*), փորտանի փափկամարմիններ (*Gastro-poda*), կողավողեր (*Gammaridae*), միջատներից՝ թավաթևանքներ (*Trichoptera*), միօրիկներ (*Ephemeroptera*), խիրոնոմիդներ (*Chironomidae*), սիմուլիդներ (*Simuliidae*), մկակներ (*Tibulidae*), քոռուկներ (*Tabanidae*), կարծրաթևավորներ (*Coleoptera*): Թավաթևանքներից հայտնաբերվել են հետևյալ ընտանիքները՝ *Rhyacophilidae* (Martynov), *Hydroptilidae* (Stephens), *Hydropsychidae* (Curtis), *Limnophilidae* (Kolenati), *Psychomyiidae* (Kolenati) [2], [3]:

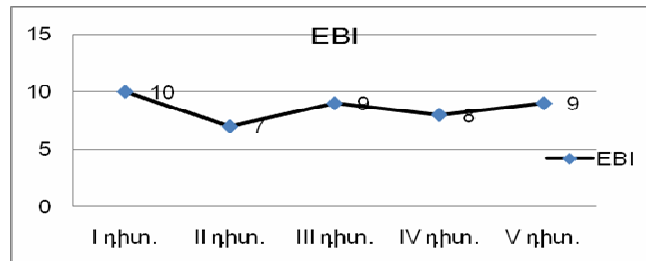
Տզրուկներից հայտնաբերվել են հետևյալ տեսակները՝ *Glossiphonia complanata* (Lukin), *Glossiphonia heteroclita* (Lukin), *Helobdella stagnalis* (Lukin), *Piscicola respirans* (Troschel), *Haemopsis sanguisuga* (Lukin), *Hepobdella octoculata* (Lukin), *Hepobdella lineata* (O.F. Muller) [4]: Միօրիկներից հայտնաբերվել են հետևյալ ընտանիքները՝ *Baetis*, *Ephemerella*, *Heptageniidae*, *Ceanidae* [9]:

I-ին դիտակետի համար EBI գործակիցը հավասար է 10-ի, այսինքն գետի ջուրը գնահատվել է որպես բարձրե որակ ունեցող (աղ.4):

Աղյուսակ 4. Հրազդան գետի տարբեր հատվածների ջրի որակը 7 կենսաբանական գործակիցների արժեքները

Գործակից	Ջրի որակը և գործակցի արժեքը, դիտակետ				
	I	II	III	IV	V
EBI	բարձր որակե10	ոչ բարձր որակե 7	լավ որակե 9	լավ որակե 8	լավ որակե9
FBI	շատ լավ որակե 4 (հավանական է թույլ օրգ. աղտ.)	լավ որակե 4,57 (հավանական է որոշ օրգ. աղտ.)	լավ որակե 4,58 (հավանական է որոշ օրգ. աղտ.)	լավ որակե 4,68 (հավանական է որոշ օրգ. աղտ.)	շատ լավ որակե 3,8 (հավանական է թույլ օրգ. աղտ.)
BM WP	լավ որակե, 56դտ.)	ոչ բարձրե 39	լավ որակե 76	լավ որակե 73	լավ որակե 54
ASP T	գերազանցե 7	միջին որակե 3.9	գերազանցե 5,6	գերազանցե 5,6	գերազանցե 5,4

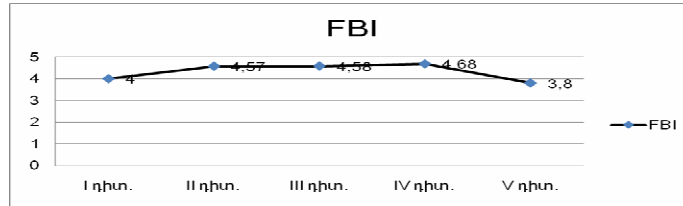
Ըստ EBI գործակցի՝ III, IV և V դիտակետերում ջրի որակը գնահատվել է որպես լավ, իսկ II-ը՝ ոչ բարձր (նկ.1.), որտեղ գրանցվել է ԹԿՊ5-ի համեմատաբար բարձր արժեք՝ 1.91 մգ Օ₂/լ:



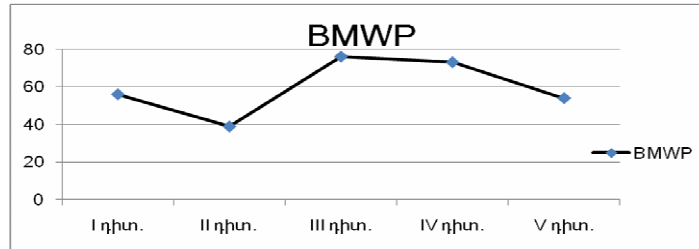
Նկ. 1. Հրազդան գետի տարբեր դիտակետերի ջրի որակի գնահատումը ըստ EBI գործակցի

Ըստ FBI գործակցի I և V դիտակետերում ջրի որակը գնահատվել է որպես շատ լավ, որտեղ հավանական է թույլ օրգանական աղտոտվածություն, իսկ III, IV և II դիտակետերի էկոլոգիական վիճակը՝ որպես լավ, որտեղ հավանական է որոշակի օրգանական աղտոտվածություն (նկ. 2.):

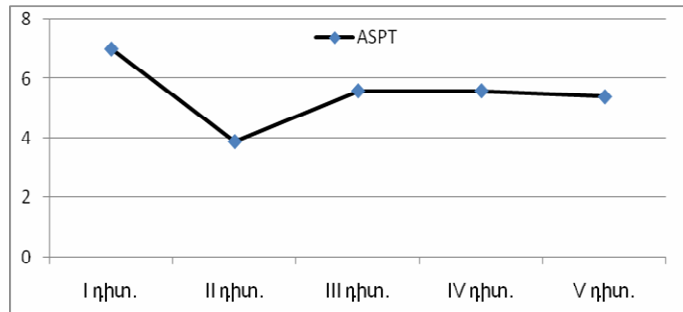
Ինչպես երևում է նկար 3-ից և 4-ից, II դիտակետում գրանցվել է BMWP և ASPT գործակիցների նվազագույն արժեք, և ջրի որակը գնահատվել է որպես ոչ բարձր ըստ BMWP գործակցի և միջին՝ ըստ ASPT գործակցի:



Նկ. 2. Հրազդան գետի տարբեր դիտակետերի ջրի որակի գնահատումը ըստ FBI գործակցի



Նկ. 3. Հրազդան գետի տարբեր դիտակետերի ջրի որակի գնահատումը ըստ BMWP գործակցի



Նկ. 4. Հրազդան գետի տարբեր դիտակետերի ջրի որակի գնահատումը ըստ ASPT գործակցի

Ինչպես երևում է աղ. 4-ից, III և IV դիտակետերում ջրի որակը, ըստ FBI, EBI և BNWP գործակիցների, գնահատվել է որպես ,լավ, իսկ ըստ ASPT գործակցի գնահատվել է որպես ,գերազանցել:

Կիրառված կենսաբազմապատման գործակիցների և հիդրոքիմիական ցուցա-նիշների միջև կախվածության ուսումնասիրությունից պարզվել է, որ օրգանական նյութի և հանքային ազոտի քանակի փոփոխման նկատմամբ առավել զգայուն է BNWP գործակիցը. կախվածության գործակիցը հավասար է եղել 0.68: Թթվածնի և ֆոսֆատ իոնի նկատմամբ առավել զգայուն է եղել FBI գործակիցը, կորելացիոն գործակիցները համապատասխանաբար հավասար են եղել 0.82 և 0.88:

Այսպիսով, Հրազդան գետի գլխավոր վտակ Մարմարիկը, որտեղ գրանցվել է ջրի բարձր որակ, հավանաբար, պետք է ունենար դրական ազդեցություն Հրազդան գետի ջրի որակի ձևավորման վրա: Մինչդեռ Մարմարիկը Հրազդան գետին խառնվելուց հետո ընկած հատվածում (Հրազդան քաղաքի տարածքում) դիտվում է գետի ջրի համեմատաբար ցածր որակ:

Վերջինիս պատճառը այն է, որ Հրազդան գետը, հոսելով Հրազդան քաղաքի տարածքով, իր մեջ է ներառում կենցաղային և արդյունաբերական հոսքաջրեր: Հետագայում աղտոտման լուրջ աղբյուրների բացակայության և ինքնամաքման պրոցեսների շնորհիվ Հրազդան գետի ջրի որակը աստիճանաբար վերականգնվում է (Բջնի գյուղի տարածք, Արզնի ձոր) և արդեն Գետամեջ գյուղի տարածքում (նախքան Երևան քաղաքը) ջրի որակը գնահատվում է շատ լավ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Չիլինգարյան Լ.Ա. և ուրիշներ*, Հայաստանի գետերի ու լճերի ջրագրությունը. Երևան, 24 էջ, 2002:
2. *Лепнева С.Г.* Фауна СССР /Ручейники// Личинки и куколки подотряда кольчатощупиковых (Annalipalpia). 2, вып.1, Изд-во “Наука”, М.-Л., с. 560 (ст.50-129), 1964.
3. *Лепнева С.Г.* Фауна СССР /Ручейники// Личинки и куколки подотряда цельнощупиковых (Integripalpia). 2, вып. 2, Изд-во “Наука”, М.-Л., с. 560, 1966.
4. *Лукин Е. И.* Фауна СССР. Пиявки /Пиявки пресных и солоноватых водоемов. 1, Академия наук СССР Зоологический институт (новая серия № 109). Изд-во “Наука” Ленинградское отделение. Л., с. 484, ст.47-74, 1976.
5. *Макрушин А.Б.* Биологический анализ качества вод. Под редакцией Г.Г. Винберга. Л., с. 46-51, 1974.
6. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах // Зообентос и его продукция. Л., с. 3-9, 1983.
7. Методика сбора и обработки зообентоса водоемов и оценка их экологического состояния по биологическим показателям, выпуск 1, Пермь, 49, 2001.
8. *Митропольский В.И. и Мордохай-Болтовской Ф.Д.* Макробентос. Зообентос и другие биоценозы, связанные с субстратом. /Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. Изд-во “Наука”, М., ст. 158-178, 1975.
9. Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР (Планктон, Бентос), Главное управление гидрометеорологической службы при Совете министров СССР Зоологический институт АН СССР, Гидрометеиздат Л., с.,510, 1977.
10. *Семеченко В.П.* Принципы и системы биоиндикации текучих вод. Изд. Орех, Минск, с. 125, 2004.
11. *Jesper Goodley Dannisoe*, SCWP, South Caucasus Water Program. Workshop details, May 2007.

Մտացվել է 01.06.2009



Биол. журн. Армении, 2 (62), 2010

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЙОДМЕТИЛАТА 2-(ДИМЕТИЛАМИНО) ЭТИЛОВОГО АМИДА N-(П-МЕТОКСИБЕНЗОИЛ)-DL-ФЕНИЛАЛАНИНА НА ВНЕКЛЕТОЧНУЮ ФОНОВУЮ ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ОДИНОЧНЫХ МОТОНЕЙРОНОВ СПИННОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ЛЕВОСТОРОННЕЙ ЛАТЕРАЛЬНОЙ ГЕМИСЕКЦИИ

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

*Институт тонкой органической химии им. А. Л. Миндзояна НАН РА,
Ереванский базовый медицинский колледж № 1*

Обсуждается вопрос применения йодметилата 2 – (диметиламино) этилового амида N – (п – метоксибензоил) – DL – фенилаланина у крыс с левосторонней латеральной гемисекцией спинного мозга. Полученные результаты свидетельствуют о положительном эффекте данного соединения на фоновую активность одиночных мотонейронов спинного мозга. Регистрация и анализ внеклеточной фоновой активности одиночных мотонейронов спинного мозга проводились посредством специальных программ в режиме on – line.

Мотонейроны – спинной мозг – фоновая активность– йодметилат 2 – (диметиламино) этилового амида N – (п – метоксибензоил) – DL – фенилаланина – гемисекция

Ուսումնասիրվել է յոդմեթիլատ 2 (դիմեթիլամին) էթիլ ամիդի N (n (մեթ(օքսի)բենզոիլ)(DL(ֆենիլալանինի ազդեցությունը առնետների մոտ ողնուղեղի լատերալ կիսահատման դեպքում: Ստացված տվյալները վկայում են առնետների ողնուղեղի առանձին շարժանեյրոնների էլակետային ակտիվության վրա դրական միացության դրական ազդեցության մասին: Ողնուղեղի առանձին շարժանեյրոնների արտաբջջային էլակետային ակտիվության գրանցումը և վերլուծությունը կատարվել են հատուկ ծրագրերով՝ on(line ռեժիմում:

Շարժանեյրոններ (ողնուղեղ (էլակետային ակտիվություն (յոդմեթիլատ 2 (դիմեթիլամին) էթիլ ամիդ N (n (մեթօքսիբենզոիլ) (DL (ֆենիլալանինի (կիսահատում

In these series of investigations the issue of the use of iod-methylate 2 – (dimethylamino) ethyl N – (p – metoxybenzoil) – DL – fenilalanyn amid on rats with the left – side lateral hemisection of spinal cord is discussed. The obtained results show the protective effect of that substance on rats spinal cord single motoneurons background activity. The recording and analysis of the extracellular background activity of single motoneurons of spinal cord were done by means of a special software in on–line mode.

*Motoneurons – spinal cord – background activity – of iodomethylate 2 –
(dimethylamino) ethyl N – (p – metoxybenzoil) – DL – fenilalanyn amid –
hemisection*

Общеизвестно, что тяжёлая клиническая картина, высокая смертность, слабая результативность лечебных воздействий при органических повреждениях спинного мозга (СМ) вызывают чувство глубокой неудовлетворенности, как у клиницистов (нейрохирургов, невропатологов), так и у представителей теоретической медицины (нейрофизиологов, биохимиков, фармакологов, нейрогистохимиков и др.). Достижения медицинской науки во второй половине 20-го века способствовали снижению смертности при травматической болезни СМ [4]. Однако стойкость соматических и вегетативных нейрогенных нарушений является причиной инвалидизации подавляющего большинства больных с поражениями СМ, во время которых нарушается проведение нервных импульсов. Вышеизложенное свидетельствует о важности и актуальности проведения соответствующих научных исследований, направленных на разработку новых способов лечения этого весьма тяжёлого недуга. Исходя из публикаций, посвящённых восстановительным процессам повреждённого СМ, можно выделить три пути исследования: 1) исследование этих процессов без применения каких-либо препаратов; 2) применение реиннервации изолированного вследствие перерезки каудального участка СМ; 3) поиски средств, стимулирующих и благоприятствующих росту волокон повреждённых путей СМ.

Результаты исследований, полученные на 1-м пути, свидетельствуют о том, что проблема восстановления проводимости СМ у млекопитающих, после таких его тяжёлых поражений, как полная хордотомия, упиралась в непреодолимое до последнего времени препятствие главным образом потому, что в месте повреждения образовывался плотный рубцовый барьер, блокирующий позднее наблюдаемый регенеративный рост нервных волокон. Данные, полученные на 2-м и в особенности на 3-м пути исследований с применением некоторых препаратов (пиромен, пирогенал, пиронин, АКГГ, кортизон, антибластические вещества, NGF, гормональные и ферментные препараты и др.) и определённых воздействий (облучение, применение резорбирующихся трансплантатов, милипора и др.), показали, что при полной хордотомии можно добиться разной степени и продолжительности восстановления функций СМ и прорастания интраспинальных волокон. Однако малочисленность положительных результатов, их нестойкость, не всегда имеющееся соответствие регенерации и полноценности восстановления функций, разноречивость результатов в отношении одного и того же препарата (например, пиромена) или способа воздействия (например, тканевых трансплантатов), наличие побочных действий (например, от антибластических веществ) и т.д. указывают на необходимость углубленного изучения этой сложной, но в то же время важной проблемы как в теоретическом, так и в практическом отношениях. В работах [1 - 3, 5, 10] рассматриваются вопросы о состоянии восстановительных процессов при повреждении СМ у млекопитающих и при воздействиях в этих случаях разных препаратов. Помимо обсуждения большого литературного материала по данной проблеме центральное место занимают оригинальные экспериментальные данные с помощью электрофизиологических, нейроморфологических, гистохимических методик и математической статистике по сравнительному изучению эффективности как отдельных препаратов натурального и синтетического происхождения, так и их разных сочетаний и способов воздействия при повреждениях СМ.

Известно, что в корригировании соматических и нейрогенных нарушений не второстепенна роль производных холина (эферы и амиды), заслуживающих существенного внимания с точки зрения особенностей их синтеза и биологической

активности и являющихся по химической структуре синтетическими аналогами нейромедиатора ацетилхолина [1, 6, 11, 12]. Согласно результатам исследований [12, 14–17], производными холина естественного происхождения осуществляется ряд важнейших функций в организме человека и животных. Вместе с тем продолжают отсутствовать сведения относительно применения эфиров и амидов холина при спинномозговых повреждениях различной степени выраженности.

В данной экспериментальной работе, учитывая особенности морфофизиологических, биохимических, гистохимических процессов повреждённого СМ и системы нейроэндокринной регуляции организма [6], проводится попытка исследования микроэлектрофизиологическими методами влияния одного из синтезированного нами амидов холина – йодметилата 2-(диметиламино) этилового амида N – (п- метоксibenzoил) – DL-фенилаланина (ЙДЭАФ) при левосторонней латеральной гемисекции (ГМС) СМ крыс с целью дальнейшего изучения его воздействия на ингибирование роста рубцовой ткани, с одной стороны, а с другой – стимуляции этим соединением роста нервных волокон, чтобы добиться стойкого восстановления проводимости СМ.

Материал и методика. Эксперименты поставлены на 30 белых крысах – самцах, массой (210–230 г), разделённых на следующие подопытные группы: первая – 10 экз. – интактные животные; вторая – 10 экз. – животные с левосторонней латеральной ГМС СМ на уровне Т8–Т9; третья – 10 экз. – животные с левосторонней латеральной ГМС СМ на уровне Т8–Т9, получавшие в течение 1 месяца ежедневно сочетанные инъекции ЙДЭАФ в место повреждения СМ (дозировка – 200 мкг/кг массы животного, индивидуально). После проведения клинических наблюдений и дачи препаратов на всех 3 группах животных были поставлены электрофизиологические эксперименты. Микроэлектрофизиологическими методами посредством стеклянных микроэлектродов производили экстраклеточную регистрацию внеклеточной фоновой электрической активности (ФА) одиночных мотонейронов (МН) вентрального рога СМ крыс. Отведение активности исследуемых МН проводили стеклянным микроэлектродом с диаметром кончика 1–2 мк, заполненным 2М раствором NaCl. Регистрацию ФА МН проводили с помощью специально разработанной математической программы, обеспечивающей в режиме on-line селекцию спайков посредством амплитудной дискриминации спайков и последующим построением кумулятивной импульсной гистограммы для выбора необходимого режима записи вызванной активности одиночных МН СМ. Анализ полученных данных осуществляли по алгоритму, подробно описанному в наших предыдущих статьях [7, 8]. Более подробно с программной методикой наших экспериментов можно ознакомиться в работе [5].

Результаты и обсуждение. На рис. 1 демонстрируется пример кумулятивной (рис. 1, а) и суммированной (рис. 1, в) престаимульных гистограмм ФА одиночного МН (глубина 1200 мкм) в норме (рис. 1, 1, а, б, в); у животных с левосторонней латеральной ГМС СМ (глубина 1200 мкм, рис. 1, 2, а, б, в) и у животных с левосторонней латеральной ГМС СМ, получавших в течение 1 месяца ЙДЭАФ в вышесказанной дозировке (глубина 1200 мкм, рис. 1, 3, а, б, в). Как следует из приведённого рисунка, последствия спинномозгового повреждения проявляются в виде урежения вызванной пачечной активности одиночного мотонейрона по сравнению с нормой. Данный эффект хорошо виден на кумулятивной престаимульной гистограмме (рис. 1, 2, а, 1), где наблюдается резкое уменьшение числа импульсов в пачке, а также на суммированной (17 исп.) гистограмме (рис. 1, 2, в). Из рис. видно, что ЙДЭАФ вызывает учащение престаимульной активности МН, сопровождающееся исчезновением пачечной активности и восстановлением практически до нормы регулярного разряда МН (рис. 1, 3, а, б, в).

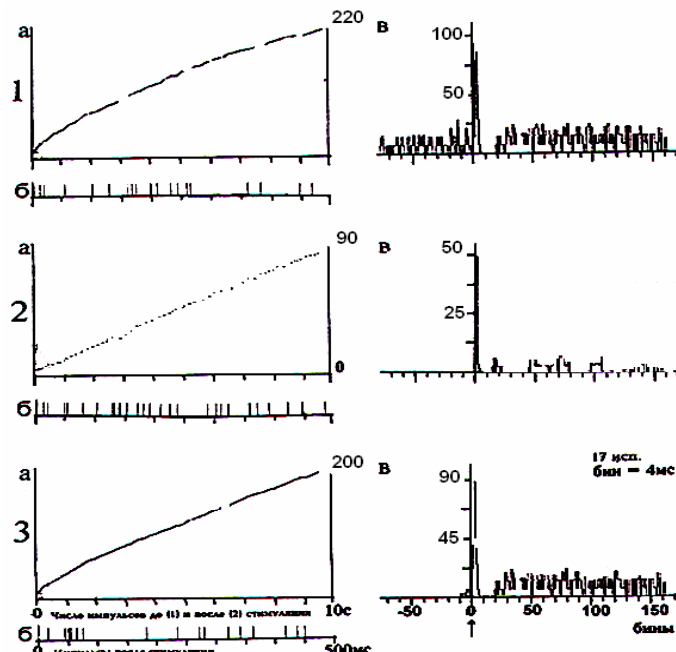


Рис. 1. Кумулятивные (а) и суммированные (в) престоимые гистограммы внеклеточной фоновой активности одиночного мотонейрона (глубина 1200 мкм) вентрального рога спинного мозга крыс в норме (1 а, б, в); одиночного мотонейрона (глубина 1200 мкм) вентрального рога спинного мозга крыс при левосторонней латеральной гемисекции спинного мозга (2 а, б, в) и одиночного мотонейрона (глубина 1200 мкм) вентрального рога спинного мозга у крыс, получавших в течение 1 месяца ежедневно инъекции йодметилата 2 – (диметиламино) этилового амида N – (п – метоксибензоил) – DL – фенилаланина в место повреждения (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.

Ранее нами было описано влияние сочетанного комплекса тироксина и другого производного холина – йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира–N-(п-метоксибензоил)–DL–фенилаланина на электрическую активность повреждённых травмой одиночных МН СМ крыс [2], а также применение сочетанного комплекса тироксина и йодметилата 2– диметиламино) этилового эфира – N – (п – метоксибензоил) – DL – фенилаланина при патологии щитовидной железы у крыс – экспериментальном гипотиреозе и его влияние на изменение вызванной активности одиночных МН СМ [5] и зарегистрировано наличие стойких положительных результатов. Другие исследования свидетельствуют о благотворном влиянии йодметилата 2 – (диметиламино) этилового эфира – N – (п – метоксибензоил) – DL – фенилаланина на фоновую и вызванную активность одиночных пирамидных нейронов IV слоя коры больших полушарий головного мозга крыс при латеральной ГМС СМ [3], а также эффекты малых доз йод-метилата 2 – (диметиламино) этилового эфира – N – (п – метоксибензоил) – DL – фенилаланина на вызванную электрическую активность одиночных мотонейронов спинного мозга крыс при латеральной ГМС СМ [9]. Амиды холина, в частности ЙДЭАФ, оказывают более стойкий протекторный эффект в отношении ФА одиночных МН

СМ при левосторонней латеральной ГМС СМ вследствие, вероятно, особенностей химической структуры амидов, не подвергающихся в организме гидролизу в отличие от эфиров холина.

Анализируя проведенные исследования, можно прийти к выводу о том, что в целом имеется положительный эффект от применения ЙДЭАФ при органических повреждениях СМ у крыс с левосторонней латеральной ГМС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глебов Р.Н., Крыжановский Г.Н. Функциональная биохимия синапсов. М., Медицина, с. 196 – 219, 1978.
2. Киприян Т.К., Топузян В.О., Карапетян И.Р., Хачатрян Т.С. Анализ влияния сочетанного комплекса тироксина и йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира-N-(п-метоксибензоил)-DL-фенил-аланина на электрическую активность повреждённых травмой одиночных мотонейронов спинного мозга крыс. В сб. Международная научная конференция «Актуальные проблемы интегративной деятельности и пластичности нервной системы» посвящ. 80 – летию со дня рождения академика НАН РА и чл. – корр. РАН В. В. Фанарджяна, Ереван, Изд. «Гитутюн» НАН РА, с. 154 – 158, 2009.
3. Киприян Т.К., Топузян В.О., Карапетян И.Р., Арутюнян Э.Ю., Хачатрян Т.С. Влияние йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира -N-(п-метоксибензоил)-DL-фенилаланина на фоновую и вызванную активность одиночных пирамидных нейронов IV слоя коры больших полушарий головного мозга крыс при латеральной гемисекции спинного мозга. Ж. Мед. Наука Армении, XLIX, 2, с. 31 – 34, 2009.
4. Матинян Л.А., Андреасян А.С. Ферментотерапия при органических повреждениях спинного мозга. Изд. АН АрмССР, Ереван, с. 22, 1973.
5. Матинян Л.А., Нагапетян Х.О., Хачатрян Т.С. Протекция сочетанным комплексом тироксина и йодметилата 2 – (диметиламино) этилового эфира – N-(п-метоксибензоил)-DL-фенилаланина вызванной активности одиночных мотонейронов спинного мозга крыс при экспериментальном гипотиреозе. В сб. Международная научная конференция «Актуальные проблемы интегративной деятельности и пластичности нервной системы» посвящ. 80 – летию со дня рождения академика НАН РА и чл.-корр. РАН В. В. Фанарджяна, Ереван, Изд. «Гитутюн» НАН РА, с. 175–178, 2009.
6. Ткачук В.А. Молекулярные механизмы нейроэндокринной регуляции. Ж. Соросовский образовательный журнал, № 6, с. 5–10, 1998.
7. Хачатрян Т.С., Матинян Л.А., Андреасян А.С., Киприян Т.К. Роль тироксина в изменении электрической активности интернейронов и мотонейронов повреждённого спинного мозга крыс. Ж. Вопросы теоретической и клинической медицины, 2002, 5, 1 (25), 40 – 45.
8. Хачатрян Т.С. Действие лидазы и тироксина на фоновую электрическую активность одиночных пирамидных нейронов коры больших полушарий крыс. Биолог. журн. Армении, 59, 3–4, 198–202, 2007.
9. Хачатрян Т.С., Топузян В.О., Карапетян И.Р., Арутюнян Э.Ю., Киприян Т.К. Эффекты малых доз йодметилата 2-(диметиламино) этилового эфира -N-(п-метоксибензоил)-DL-фенилаланина на вызванную электрическую активность одиночных мотонейронов спинного мозга крыс при латеральной гемисекции спинного мозга. Ж. Биолог. Журн. Армении, 61, 2, с. 53 – 56, 2009.
10. Benes V. Poraneni michi.1965. Praha, 184.
11. Bhinu V.S., Schafer U.A., Li R., Huang J., Hannoufa A. J. Targeted modulation of sinapine biosynthesis pathway for seed quality improvement in Brassica napus. Transgenic Res., 1, pp. 31–44. 2009.

12. *Bottcher C., von Roepenack – Lahaye E., Schmidt J., Clemens S., Scheel D.* Analysis of phenolic choline esters from seeds of *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* by capillary liquid chromatography/electrospray- tandem mass spectrometry. *J. Mass spectrum.*, 2009, 4, 44, pp. 466 – 476.
13. *Fawcett J.V.* Binding spinal cord injuries. *J. Rehabil. Med.*, 9, 40, pp. 780–782, 2008.
14. *Genovese T., Esposito E., Mazzon E., Muia C., Di Paola R., Meli R., Bramanti P., Cuzzocrea S.* Absence of endogenous interleukin-10 enhances secondary inflammatory process after spinal cord compression injury in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 7, pp. 20–29, 2008.
15. *Iasnetsov V. V., Pravdivtsev V. A., Motin V. G., Karsanova S. K., Ivanov Iu. V.* Modification by various neuromediators and regulatory peptides of the impulsation activity of neurons in the medial vestibular nucleus. *J. Aviakosm. Ekolog. Med.*, 3, 42, pp. 61–63, 2008.
16. *Perez-Orribo L., Perez-Lorensu P.J., Roldan – Delgado H., Garcia-Conde M., Spreafico M., Garcia – Marin V.* Intraoperative neurophysiological monitoring of the spinal cord: our experience. *J. Rev. Neurol.*, 5, 47, pp. 236 – 241, 2008.
17. *Placzek A.N., Dani J.A.* . Synaptic plasticity within midbrain dopamine centers contributes to nicotine addiction. *J. Nebr. Symp. Motiv.*, 55, pp. 5–5, 2009.

Поступила 09.11.2009.



Biolog. Journal of Armenia, 2 (62), 2010

STUDY OF CATIONIC PORPHYRINS BINDING TO BOVINE SERUM ALBUMIN BY METHOD OF FLUORESCENT SPECTROSCOPY

A.G. GYULKHANDANYAN¹, L. Zh. GYULKHANDANYAN²,
R.K. GHAZARYAN³, G.V. GYULKHANDANYAN²

¹Faculty of Biology, Yerevan State University, Armenia;

²Institute of Biochemistry, NAS of Armenia, Yerevan, Armenia;

³Department of Organic Chemistry, Yerevan State Medical University, Armenia

It is shown that methods of the fluorescent spectra analysis allow determining the binding constants of porphyrins with the bovine serum albumin (BSA) and their localization on the protein globule correctly enough. Low values of binding constants of cationic porphyrins prove sorption of porphyrins on the surface of proteins.

Cationic porphyrins – serum albumin – fluorescent spectroscopy

Ցույց է տրված, որ ֆլուորեսցենտային սպեկտրերի վերլուծության մեթոդները թույլ են տալիս բավականին ճշգրիտ որոշել պորֆիրինների կապման հաստատունները ցուլի շիճուկային ալբումինի (ՅՇԱ) հետ և նրանց տեղայնացումը սպիտակուցի վրա: Կատիոնային պորֆիրինների կապման հաստատունների փոքր արժեքները վկայում են սպիտակուցի մակերևույթի վրա պորֆիրինների սորբցիայի մասին:

*Կատիոնային պորֆիրիններ (շիճուկային ալբումին /
ֆլուորեսցենտային սպեկտրոսկոպիա*

Показано, что методы флуоресцентного анализа позволяют достаточно корректно определять константы связывания порфиринов с бычьим сывороточным альбумином (БСА) и их локализацию на белковой глобуле. Низкие значения констант связывания катионных порфиринов свидетельствуют о сорбции порфиринов на поверхности белка.

Катионные порфирины - сывороточный альбумин - флуоресцентная спектроскопия

The use of visible light in combination with administration of the photosensitizing drug is the key feature of photodynamic therapy of tumors (PDT) [3, 7]. Photosensitizers (PSs) which show high selectivity of accumulation in relation to tumor cells and tissues are introduced into the organism of the patient and then the tumor area is being illuminated by light. PSs excited by light reacting with surrounding molecules generate radicals and reactive oxygen species which destroy tumors due to cytotoxicity [3, 7]. The photosensitizers of cationic nature (basically porphyrin-related compounds) show especially high selectivity *in vivo* [18]. The main carriers of porphyrins are large proteins of blood (serum albumin and hemoglobin) [6, 20] and also high and low density

lipoproteins [12, 14]. Serum albumin plays an important role in the system of blood plasma proteins in the context of its relatively large quantities (about 60 % of plasma proteins) as well as of its functions (binding and transport of fatty acids, steroids, porphyrins, bilirubin, thyroxin, etc.) [19]. The aim of the present work was a study of binding of new cationic porphyrins [17, 10] to bovine serum albumin *in vitro* and determination of binding constants of porphyrin-protein complex by a method of fluorescent spectroscopy.

Material and Methods. BSA was purchased from Sigma-Aldrich Chemical Co. (USA). New water-soluble cationic porphyrins and metalloporphyrins with different central atoms of metal (Zn, Ag, Co, Fe, Mn, Cu, etc.) and different peripheral functional groups (oxyethyl, butyl, allyl, and methallyl) were synthesized at the Yerevan State Medical University according to the methods described in works [17, 10]. The following 8 new cationic porphyrins and metalloporphyrins were used in the present work: meso-tetra-[4-N-(2'-oxyethyl) pyridyl]porphyrin (TOE4PyP), Zn-TOE4PyP; meso-tetra-[4-N-(2'-butyl) pyridyl]porphyrin (TBut4PyP), Zn-TBut4PyP; meso-tetra-[4-N-(2'-allyl)pyridyl] porphyrin (TAlI4PyP), Zn-TAlI4PyP, Co-TAlI4PyP; Co-meso-tetra-[4-N-(2'-methallyl) pyridyl]porphyrin (Co-TMetAlI4PyP). The binding ability of these preparations was compared with the well-known photosensitizer chlorin e_6 (Chl, "The enterprise on manufacture of diagnostic and medicinal preparations", Minsk, Belorussia). All other reagents were of analytical grade.

The concentration of BSA in a solution was regulated by absorption (A) on 279 nm considering the absorption of its 1 % solution to be $A_{279} = 6.67$ [21].

Fluorescent emission spectra of BSA solution and BSA-porphyrin complex were measured with ETC-273 FP-6500 spectrofluorometer (JASCO, Japan) in 1 cm quartz cell and recorded in a region from 300 to 450 nm (excitation at 295 nm). The binding of the porphyrins to BSA was studied by titration of the protein with increasing concentrations of the porphyrins and monitoring the changes in the fluorescence spectra of protein-bound versus free porphyrin. For the quantitative analysis of the interaction between porphyrins with BSA, the Stern–Volmer equation was used. For static quenching, fluorescence quenching can be analyzed using modified Stern–Volmer relation [16]:

$$I_0 / I_0 - I = 1 / fK[C_p] + 1 / f \quad (1)$$

where I and I_0 are the fluorescence intensities of BSA in the presence and absence of quencher (porphyrin), respectively; K is the Stern–Volmer quenching constant and $[C_p]$ is quencher concentration; f is the fraction of the initial fluorescence accessible to quencher. The plots of $I_0 / I_0 - I$ versus $1/[C_p]$ yields $1/f$ as the intercept, and $1/fK$ as the slope. In a number of works it was shown that the binding constant in the reaction of complex formation was the constant of static quenching which arose from the formation of a dark complex between fluorophore and quencher [2, 8]. Proceeding from these results we will consider that determining Stern–Volmer constant K we determine protein-porphyrin binding constants.

When determining the values I and I_0 of the fluorescent intensity we used the software of spectra processing "Spectra Manager for Spectra Analysis, Version 1.53.00, JASCO Corporation, 2000". This program corrects the value of fluorescent intensity I in view of spectra asymmetry and deviation from a base (zero) line. The value of K is determined according to relation of Stern–Volmer (1). The results of experiments have been processed statistically with use of Student criterion.

Results and Discussion. It is proven that the photosensitizers upon administration distribute and bind to serum proteins [12.] There are two complementary spectral methods for research of the protein binding to ligand *in vitro*: absorption and fluorescent spectroscopy. The method of absorption spectroscopy showed that study of protein-ligand binding should be carried out at sufficiently low concentration of proteins because of their possible dimerization and polymerization at larger concentrations. In this case formation of isobestic point (the common point of spectral curves intersection) is a good criterion of two-component system (the protein and ligand monomers) presence in the solution [1]. The investigations carried out earlier by the method of absorption spectroscopy demonstrated the competence of such an approach; the binding constants

of new cationic porphyrins with some blood proteins (serum albumin and hemoglobin) were obtained [13, 20]. However the investigations of this kind by the method of absorption spectroscopy at low concentration of proteins are limited by the factor of sensitivity of measurements. The method of fluorescent spectroscopy is considerably more sensitive than absorption spectroscopy and allows registering a signal from 10^{-17} M of a fluorescent substance solution [5]. To preserve linear dependence of fluorescence signal strength (I) and concentration of substance (c), the optical density of solution $A = \epsilon cL$ should be less than 0.1 (ϵ is a molecular factor of extinction, L is a thickness of a solution layer) [5]. The concentration of BSA was equal to 1.5×10^{-6} M in all experiments with studying of BSA solution titration by solutions of various porphyrins which corresponds to absorption value of $A = 0.0667 < 0.1$. A typical series of fluorescence spectra of BSA solution (in 0.01 M the phosphate buffer pH 7.2) is presented in Fig. 1 at titration by increasing concentrations of porphyrin Zn-TOE4PyP (ratio $C_{\text{porph}} / C_{\text{prot}} = 0.88; 1.31; 2.36; 3.77; 5.17; 9.61; 17.93$).

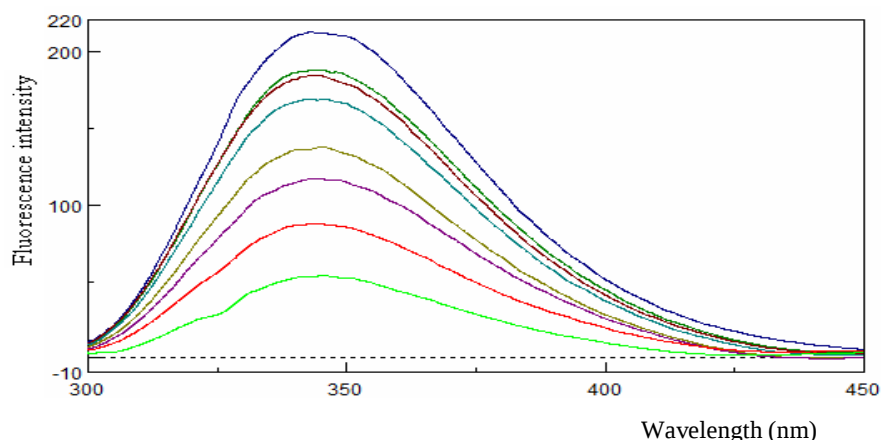


Figure 1. Fluorescence spectra ($\lambda_{\text{exc}} = 295$ nm) obtained via titration of BSA solution with porphyrin Zn-TOE4PyP (the top curve is a spectrum of BSA fluorescence without addition of porphyrin, decreasing curves are the fluorescence of BSA-porphyrin complex upon addition of increasing concentration of porphyrin).

For determination of binding constants K according to relation of Stern–Volmer (1) the adsorption isotherms in coordinates $I_0/I_0 - I$ vs $1/[C_{\text{porph}}]$ have been plotted. In Fig. 2 experimentally obtained values $I_0/I_0 - I$ for increasing concentrations of porphyrin Zn-TOE4PyP at the wave length which corresponds to the point of BSA fluorescence maximum ($\lambda_{\text{emiss}} = 345$ nm) are presented as points. The points have been obtained via the program of spectra processing "Spectra Manager for Spectra Analysis, ver. 1.53.00, JASCO Corporation, 2000" which also considered the fact of small dilution of a porphyrin solution at each step of the protein next portion addition.

According to the above-stated, the binding constant (K) to BSA has been determined for each investigated porphyrin. The results of determination of binding constants for 8 new porphyrins and metalloporphyrins as well as for the known photosensitizer chlorin c_6 (Chl) to the BSA are presented in Table 1.

From the results of the Table 1 it follows, that the metalloporphyrins bind a little bit better than porphyrins without metal (except for Zn-TOE4PyP). The high binding constant of Chl with BSA is close to results of work [15] in which the binding constant of BSA with Chl was obtained via two independent methods of the fluorescent analysis.

The constant of static fluorescence quenching ($K_{st} = 4.1 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$) determined from the data on quenching of protein fluorescence, practically coincides with the binding constant ($K_{bind} = 3.6 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$), found from the polarizing measurements of Chl luminescence [15]. Such coincidence of results testifies to practically full quenching of protein fluorescence at incorporation of Chl in the protein globule. Our data together with the results of work [15], and also with present-day ideas about binding of heme in subdomain I B of serum albumin [9] allow drawing the conclusion on incorporation of chlorin e6 in nonpolar (hydrophobic/waterproof) sites of a protein matrix.

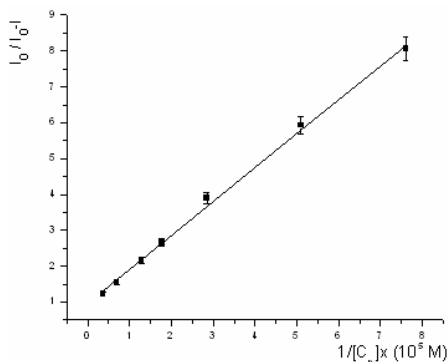


Fig. 2. Absorption isotherm of metalloporphyrin Zn-TOE4PyP to BSA

Table 1. The binding constants of porphyrins and metalloporphyrins to BSA

NN	Porphyrins and metalloporphyrins	BSA $K \times 10^{-5}, (\text{M}^{-1})$
1.	TOEt4PyP	3.48 ± 0.21
2.	Zn-TOEt4PyP	1.01 ± 0.05
3.	TBut4PyP	0.95 ± 0.05
4.	Zn-TBut4PyP	2.29 ± 0.14
5.	TAll4PyP	1.01 ± 0.05
6.	Zn-TAll4PyP	1.02 ± 0.05
7.	Co-TAll4PyP	2.25 ± 0.13
8.	Co-TMetAll4PyP	1.95 ± 0.12
9.	Chlorin e ₆	6.44 ± 0.32

Relatively lower values of cationic porphyrins binding constants ($0.95\text{--}3.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) prove absorption of porphyrins on the surface of proteins and also binding electrostatic character of porphyrins positively charged groups with negatively charged amino acids residues on a surface of BSA (at pH 7.4 negative charge of SA is equal to 18 [4]). These results are also in agreement with conclusions of work [13] that being positively charged the cationic porphyrins bind on surface of BSA and are not capable of getting into hydrophobic subdomains of BSA.

Thus, methods of the fluorescent analysis allow determining the binding constants of porphyrins with protein and the porphyrins localization on protein globule correctly enough. Electrostatic character of porphyrins binding to SA, probably, allows them to compete with fatty acids for binding places on albumin; the method of the fluorescent analysis is perspective for studying the processes of competitive binding of these substances on serum albumin.

REFERENCES

1. Bernstein I.Y., Kaminski I.Y. Spectrophotometric analyse in organic chemistry. "Chimia", Leningrad, 1975.
2. Bian H., Zhang H., Yu Q., Chen Z., Liang H. Chem. Pharm. Bull., 55(6), 871-875, 2007.
3. Bonnett R. Chem. Soc. Rev., 24, 19-33, 1995.
4. Cheger S.I. Carrier function of serum albumin. "Acad. of Sci. Soc. Rep. Romania", Bucharest, pp. 19-80, 1975.
5. Chernitski E.A., Slobojanina E.I. Spectral luminescence analysis in medicine. "Nauka i Technika", Minsk, 1989.
6. Cohen S., Margalit R. Biochem. J., 270, 325-330, 1990.
7. Dougherty T.J., Gomer C.G., Henderson B.W., Jori G., Kessel D., Korbek M., Moan J., Peng Q. J. Natl. Cancer Inst., 90(12), 889-905, 1998.
8. Eftink M.R., Ghiron C.A. J. Phys. Chem., 80, 486-493, 1976.
9. Fasano F., Curry S., Terreno E., Galliano M., Fanali G., Narciso P., Notari S., and Ascenzi P. IUBMB Life, 57(12), 787-796, 2005.
10. Ghazaryan R.K., Sahakyan L.A., Tovmasyan A.G., Vardanyan S.G., Gazaryan A., Aloyan L., Gyulkhandanyan G.V., Hovhannesyan V.E. ISTC 7th International Seminar, Scientific Advances in Chemistry: Heterocycles, Catalysis and Polymers as Driving Forces, November, 2004, Abstracts, p.40, Yekaterinburg, Russia, 2004.
11. Gyulkhandanyan A.G. Biolog. J. Armenia, 61, 2009 (in press).
12. Hudson R., and Boyle R.M. J. Porphyrins Phthalocyanines, 8, 954-975, 2004.
13. Karapetyan N.G., Madakyan V.N. Bioorganicheskaya khimiya, 30(2), 172-177, 2004.
14. Kessel D. Cancer Lett., 33, 183-188, 1986.
15. Kochubeev G.A., Frolov A.A., Zenkevich E.I., Gurinovich G.P. Molekulyarnaya biologiya, 22(4), 968-975, 1988.
16. Lakowitz J.R. Principles of Fluorescence Spectroscopy, 2nd ed., Kluwer Academic Publishers/Plenum Press, New York, 1999.
17. Madakyan V.N., Kazaryan R.K., Khachatryan M.A., Stepanyan A.S., Kurtikyan T.S., Ordyan M.B. Khimiya geterociklicheskih soedineni, 2, 212-216, 1986.
18. Morgan J. and Oseroff A.R. Drug Deliv. Rev., 49, 71-86, 2001.
19. Peters T., All about albumin. Biochemistry, genetics and medical applications, Academic Press, San Diego, CA, 1996.
20. Sil S., Bose T., Roy D., and Chakraborti A.S. J. Biosci., 29(3), 101-111, 2004.
21. Sogami M., Foster J.F. Biochemistry, 7(6), 2172-2182, 1968.

Received 25.03.2010.



Biol. Journal of Armenia, 2 (62), 2010

ASSESSMENT OF GENETIC DIVERSITY OF *TRITICUM BOEOTICUM* AND *TRITICUM URARTU* POPULATIONS BY APPLICATION OF RAPD MARKERS

YESAYAN A.H., HOVHANNISYAN N.A.

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

E-mail: ayesayan@ysu.am, bionellibiotech@yahoo.com

18 RAPD markers were successfully amplified with *T. urartu* and *T. boeoticum* populations. The marker system proved to be effective in genetic assessment of 10 populations analysed. In the RAPD analysis a total of 114 bands were screened among which 55 were polymorphic across 10 populations of *T. boeoticum* and *T. urartu*. Dendrogram using UPGMA was originated from Nei's genetic distance. The RAPD dendrogram showed genetic differences among populations from the nearby geographical areas. Obtained results are showing importance of further investigations of genetic structure and genetic diversity within and between populations of studied plants with more valuable sampling to conclude more precisely the relationship between diversity and geographical origin.

Triticum boeoticum - *Triticum urartu* – PCR - RAPD markers - dendrogram

18 RAPD մարկերներ հաջողությամբ ամպլիֆիկացվել են *T. urartu* և *T. boeoticum* պոպուլյացիաների բույսերի ԴՆԹ-ներից: Ընտրված մարկերային համակարգը արդյունավետ է 10 ուսումնասիրվող պոպուլյացիաների համար: RAPD վերլուծության արդյունքում գնահատվել է 114 ամպլիֆիկացված հատվածներ, որոնցից 55 պոլիմորֆ էին: Նեի գենետիկական հեռավորության գնահատման արդյունքում կառուցվել է UPGMA դենդրոգրամ: Ըստ RAPD դենդրոգրամի տարբեր, մոտ աշխարհագրական պոպուլյացիաների միջև, բացահայտվել են գենետիկական տարբերություններ: Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս ուսումնասիրվող բույսերի ներ- և միջպոպուլյացիոն գենետիկական կառուցվածքի ուսումնասիրությունների կարևորությունը գենետիկական բազմազանության և աշխարհագրական տարածվածության միջև փոխադարձ կապերի բացահայտման համար:

Triticum boeoticum (*Triticum urartu*) ՊՇՌ (RAPD մարկերներ (դենդրոգրամ

18 RAPD маркеров были успешно амплифицированы с ДНК популяций растений *T. urartu* и *T. boeoticum*. Выбранная система маркеров оказалась эффективной для оценки 10 исследуемых популяций. В результате RAPD анализа было оценено 114 амплифицированных фрагментов, из которых 55 оказались полиморфными. На основе оценки генетического расстояния Ней была построена UPGMA дендрограмма. По RAPD дендрограмме были выявлены генетические различия среди популяций, произрастающих в географически близко расположенных районах.

Полученные результаты показывают важность дальнейших исследований внутри- и межпопуляционной генетической структуры и генетического разнообразия исследуемых растений для более точного определения взаимосвязей между генетическим разнообразием и географическим распространением.

Triticum boeoticum - *triticum urartu* - ПЦР - RAPD маркеры - дендрограмма

Armenia is one of the main centers of distribution of wild wheat sites and domestication of common and emmer wheat [12, 3]. The genus *Triticum* comprises species of different ploidy levels from diploid ($2n = 14$) to hexaploid ($2n = 42$).

Triticum boeoticum Boiss. with the genome AbAb has been reported as a valuable source of desirable genes conferring protein quality, amino-acid content or resistance [8].

The habitats of wild wheat in Armenia are potentially the ideal areas to explore germplasm for suitable genes for introgression into cultivated wheat [11]. Therefore, it is supposed that the populations of *T. boeoticum* in this region contain high levels of genetic diversity and can be potential donors of useful genes for abiotic and biotic stress tolerance for breeding purposes.

Molecular markers provide a good estimate of genetic diversity since they are almost unlimited in number and are not influenced by the environment [10]. Different DNA markers have been developed in recent years such as RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms), AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphisms), RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNAs) and microsatellites SSRs (Simple Sequence Repeats) which can be used either separately or in combination, to assess genetic diversity. Molecular markers and their combinations were widely used for measuring genetic diversity in wheat cultivars and related wild species [1,4,5,6] but, our knowledge regarding molecular genetic variation in wild wheat relatives in Armenia is limited.

The main goal of this study was to evaluate genetic variability among populations of *T. boeoticum* and *T. urartu* from Armenia using RAPD.

Materials and Methodology. Accessions of wild wheat were obtained from seed banks of the Armenian State Agrarian University, ICARDA and IPK (Gatersleben, Germany) and from wild (Table 1)

Table 1. List of studied diploid wheat – *Triticum boeoticum* and *Triticum urartu*

N	Species	Geographical region	Accession numbers Gatersleben (TRI), ICARDA (IG)
1	<i>T. boeoticum</i>	Armenia (Erebuni Res.)	Erebuni Res.
2	<i>T. boeoticum</i>	Armenia (Yerevan)	IG126246
3	<i>T. boeoticum</i>	Armenia (Eghegnadzor)	-
4	<i>T. boeoticum</i>	Armenia (Kotayk)	IG 44938
5	<i>T. boeoticum</i>	Armenia (Ararat)	IG126286
6	<i>T. boeoticum</i>	Armenia (Vayots Dzor)	IG 137411
7	<i>T. urartu</i>	Iraq (Ninawa)	IG 109084
8	<i>T. urartu</i>	Iran (East Azerbaijan)	IG 45777
9	<i>T. urartu</i>	Turkey (Gaziandep)	IG 116203
10	<i>T. urartu</i>	Armenia	TRI6735

DNA isolation. DNA from young seedling was extracted by application two CTAB modified protocols [2]. DNA extracted by modified Doyle protocol with addition activated charcoal was used for RAPD analysis. DNA from young 7 – day-old seedlings were extracted by application a modified CTAB method [2].

PCR amplification and gel electrophoresis. For RAPD analyses 18 10 mer primers were used: OPA01, OPA02, OPA03, OPA04, OPA05, OPA11, OPA 13, OPA 18, OPE03, OPE04, OPE07, OPE11, OPE15, OPE20, OPC 02, OPC 05, OPC 11, OPC19 (Operon technologies).

Each sample contained 0.05 µl of Taq polymerase (Gatersleben, Genomzentrum), 2.5 µl PCR buffer, 10 µM of forward/reverse primers, 2.5 mM of each dNTP and about 50 ng of plant DNA. PCR conditions Biokom PCR amplifier the PCR programs were well workable on all machines. PCR amplification programs for RAPD markers are described in table 2.

Table 2. PCR amplification programs for different primer combinations used in 11 wild accessions of *Triticeae*

PCR programs for amplification RAPD markers	
OPA01, OPA02, OPA03, OPA04, OPA05, OPA11, OPA 13, OPA 18, OPE03, OPE04, OPE07, OPE11, OPE15, OPE20, OPC 02, OPC 05, OPC 11, OPC19	94°C – 1.5 min, 40 cycles (94°C – 30 sec., 36°C – 1 min, 72°C – 1 min), 72°C – 10 min

PCR amplified RAPD DNA fragments were electrophoresed in 2% agarose gels at 110 V for about 2 hours, stained with ethidium bromide, visualized under UV light and photographed. Gel images were captured in TIF files and analyzed with the POPGENE32 software. The bands were scored in binary notation, with 1 and 0 for presence and absence of bands, respectively. Binary matrix was used to estimate the genetic similarities between pairs, by employing Nei index.

These coefficients were used to construct dendrogram using the unweighted pair group method with arithmetic averages (UPGMA), employing the Popgene 32 and treeview software.

Results and Discussion. 18 RAPD markers were amplified with 4 accessions of *T. urartu* and 6 of *T. boeoticum*. The marker system have proved highly effective in genetic assessment of 10 populations analysed. In the RAPD analysis by using 18 primers, a total of 114 bands were screened among which 55 were polymorphic (50%) across 10 populations of *T. boeoticum* and *T. urartu* (average of 6,2 bands per primer). The highest and the lowest number of polymorphic bands per assay unit were 2 and 15 respectively.

The observed number of allele, effective number of allele, Nei's gene diversity, Shannon's Information index and percentage of polymorphic were calculated and dendrogram was originated. The results obtained are presented in tab.3.

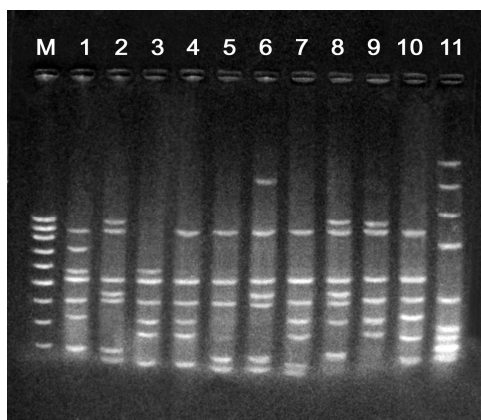
The amplified DNA fragments normally ranged from 100 to 2000 bp. An example of RAPD pattern, obtained with primer OPA02, is shown in Fig. 1.

The genetic similarity was estimated between pairs of populations (Tab.4). Estimates of genetic identity of RAPDs ranged from 0.11 to 0.98 with an average of 0.58.

The dendrogram using UPGMA as the clustering method, was originated from Nei's genetic distance (Fig. 2 and Tab. 4) based on the RAPD. Cluster analyses have separated 10 populations into two major groups based on their RAPD fragment similarities, and within group of *T. boeoticum* populations' three sub clusters was formed. The RAPD dendrogram showed the genetic differences among populations from the nearby geographical areas. These results are in good agreement with other analyses on genetic diversity carried out in different crop species and their wild relatives [6,7,9].

Table 3. Genetic diversity of *Triticum boeoticum* and *Triticum urartu* populations by RAPD marks

N	Population name	Observed number of alleles	Effective number of alleles	Nei's gene diversity	Shannon's Information index	The percentage of polymorphic loci %
1	<i>T. boeoticum</i> Yerevan	1.7500	1.3446	0.2069	0.3209	55.34
2	<i>T. boeoticum</i> Ararat	2.0000	1.6032	0.3497	0.5217	54.16
3	<i>T. boeoticum</i> Vayots Dzor	2.0000	1.6286	0.3673	0.5455	53.94
4	<i>T. boeoticum</i> Kotayk	1.9583	1.6481	0.3735	0.5493	50.00
5	<i>T. boeoticum</i> Yeghegnadzor	1.9583	1.6446	0.3735	0.5498	54.61
6	<i>T. boeoticum</i> Van	1.9583	1.6503	0.3754	0.5513	52.50
7	<i>T. boeoticum</i> Erebuni	1.9583	1.6192	0.3633	0.5391	54.17
8	<i>T. urartu</i> Armenia	2.0000	1.5881	0.3495	0.5267	55.68
9	<i>T. urartu</i> Erebuni	2.0000	1.6377	0.3799	0.5646	53.46
10	<i>T. urartu</i> Iraq	1.9583	1.6737	0.3899	0.5705	55.00
11	<i>T. urartu</i> Iran	2.0000	1.6097	0.3656	0.5462	51.67

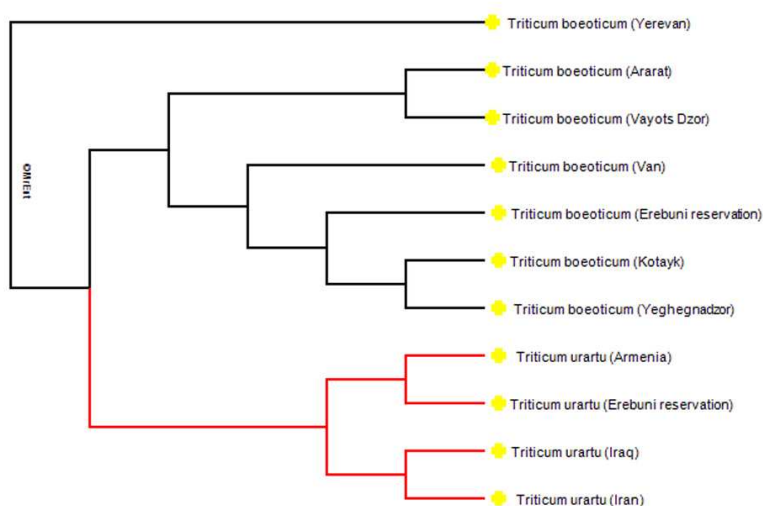
**Fig. 1.** RAPD patterns of 10 genotypes within the *T. boeoticum* (lines 1-7) and *T. urartu* (8-10) obtained with primer OPA02. M: DNA size markers (DNA Molecular Weight Marker, Fermentas, 100 bp ladder).

Although a limited number of accessions for each species was considered, there was a clear separation between and within accessions of *T. boeoticum* and *T. urartu* in the study. It is possible that this separation between populations may be due to predominance of self fertilization and geographic distribution.

Table 4. Nei's Original Measures of Genetic Identity and Genetic distance

pop ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	****	0.9684	0.9565	0.9231	0.7216	0.7737	0.9131	0.1113	0.1124	0.1885	0.1704
2	0.0321	****	0.9845	0.9683	0.7668	0.9415	0.9637	0.1538	0.1548	0.1444	0.1386
3	0.0445	0.0156	****	0.9832	0.9824	0.9637	0.9747	0.1453	0.1416	0.1346	0.1268
4	0.0800	0.0322	0.0170	****	0.9986	0.9807	0.9859	0.1368	0.1306	0.1346	0.1341
5	0.2817	0.0338	0.0177	0.0014	****	0.9842	0.9903	0.1413	0.1375	0.1376	0.1381
6	0.2350	0.0602	0.0370	0.0194	0.0159	****	0.9754	0.1097	0.1189	0.1286	0.1298
7	0.0909	0.0370	0.0256	0.0142	0.0097	0.0249	****	0.1533	0.1525	0.1563	0.1558
8	0.8867	0.0473	0.0563	0.0653	0.0605	0.0946	0.0478	****	0.9776	0.9516	0.9538
9	0.8917	0.0462	0.0602	0.0720	0.0645	0.0846	0.0486	0.0227	****	0.9779	0.9644
10	0.9182	0.0572	0.0676	0.0677	0.0644	0.0741	0.0447	0.0496	0.0224	****	0.9867
11	0.9388	0.0634	0.0760	0.0682	0.0639	0.0728	0.0452	0.0473	0.0362	0.0134	****

Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal).

**Fig. 2** Dendrogram of 7 *T.boeoticum* and 4 *T.urartu* populations based on Nei genetic distance using UPGMA as the clustering method

According to our results the species *T.boeoticum* shows a high diversity comparable with the results obtained in West Iran [9]. From the results obtained, it becomes evident that geographically close regions could be ecologically quite different, which is the main driving factor in the high site-specific diversity in the close region.

Obtained results are showing importance of further investigations of genetic structure and genetic diversity within and between populations of studied plants with more valuable sampling to conclude more precisely the relationship between diversity and geographical origin.

ACKNOWLEDGEMENTS

The project was supported in by the ANSEF grant No.1838. Authors wish to thank ICARDA seed bank and IPK for providing seed materials.

REFERENCES

1. *Bohn M, Utz HF, Melchinger AE.* Crop Science 39, 228-237, 1999
2. *Doyle J, Doyle J.* Focus 12, 13-15, 1990.
3. *Kimber G., Feldman M.* Special Report No. 353, University of Missouri, Columbia. 1987.
4. *Medini M., Hamza S., Rebai A., Baum M.* Genet. Resour. Crop Evol., 52, 21–31. 2005.
5. *Mizumoto K., Hirosawa S., Nakamura C., Takumi S.* Hereditas 137, 208–214. 2002.
6. *Naghavi M. R., Mardi M., Pirseyedi S.M., Kazemi M., Potki P., Ghaffari, M. R.* Genet. Resour. Crop Evol. 54, 237-250, 2006.
7. *Naghavi M. R., Malaki1 M., Alizadeh H. , Pirseiedi M., Mardi M.* J. Agr. Sci. Tech. 11, 585-598, 2009.
8. *Ovesna J., Kucera L., Bockova R., Holubec V.* Czech Journal of Genetics and Plant Breeding 38, 117–124, 2000
9. *Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S., Rafalski A.* Mol. Breed. 2, 225–238, 1996.
10. *Prasad M., Varshney R.K., Roy J.K., Balyan H S., Gupta P.K.* Theor. Appl. Genet. 100, 584– 592, 2000.
11. *Van Slageren MW.* Wild Wheats: a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. & Spach) Eig (Poaceae). Wageningen Agricultural University Papers, 94–97, the Netherlands, 1994.
12. *Vavilov N.I.* Inst Appl Bot Plant Breed, Leningrad. 1926.

Received 02.05.2010



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(62), 2010

BACILLUS THURINGIENSIS ՏԵՍԱԿԻ ՄԻՋԱՏԱՍՊԱՆՆԵՐԻ ՊԱՀՊԱՆԵԼԻՌԻԹՅՈՒՆԸ ԱՆՏԱՌԱՑԻՆ ԿԵՆՍԱՑԵՆՈՋՆԵՐՈՒՄ ՑՈՂՈՒՄԻՑ ՀԵՏՈ

Ա.Մ. ՄԱՐԳՍՅԱՆ¹, Հ.Ս. ՄՈՎՍԵՍՅԱՆ², Հ.Ռ. ՄԵՍՐՈՊՅԱՆ¹

¹ Երկրագործության փոխտնօրենի պաշտպանության գիտական կենտրոն, Էջմիածին, E-mail: mhasmik@inbox.ru

² Երևանի պետական համալսարան, կենսաբանության ֆակուլտետ, էկոլոգիայի և բնության պահպանության ամբիոն, E-mail: hasmikmov@yahoo.com

Bacillus thuringiensis տեսակի բակտերիական միջատասպանները ցողումից հետո կաղնու, հաճաքենու բոխու տերթների վրա պահպանվում են 1-2, իսկ գորշ, ճակար-բոնատային փոխազդող անտառային հողատիպերում՝ 3-4 ամիս:

Անտառային կենսացենոզում պահպանված բակտերիական հարուցիչները չեն կորցնում մայրական (չցողված) շտամին բնորոշ՝ սպոր բյուրեղ (էնդոթոքսին) առաջացնելու հատկությունները:

Միջատասպան բակտերիաներ - բյուրեղ առաջացնող բակտերիաների պահպանելիություն - անտառային ծառատեսակներ - անտառային հողատիպեր

Бактериальные инсектициды вида *Bacillus thuringiensis* после опрыскивания сохраняются на листьях дуба, бука и граба в течение 1-2, а в бурых, дерново-карбонатных и коричневых лесных типах почв – в течение 3-4 месяцев.

Сохранившиеся в лесном биоценозе бактериальные возбудители не теряют присущую материнскому (неопрысканному) штамму способность образо-вывать споры и кристаллы (эндотоксин).

Инсектицидные бактерии – сохраняемость кристаллофоров – лесные древесные породы – лесные типы почв

Bacterial insecticides of *Bacillus thuringiensis* species after spraying are being preserved on oak, beech and hornbeam leaves during 1-2 months and in brown, sod-carbonate and cinnamonic forest soil types – during 3-4 months. Insecticide bacteria preserved in forest bioce-nosis don't lose their ability of spore formation and crystal (endotoxin) yielding which is specific to maternal (non-sprayed) strain.

Insecticide bacteria – persistence of crystal-forming bacteria – forest arboreal species – forest soil types

Անտառների պաշտպանության ոլորտում կատարվող հետազոտություններում հաճախ շեշտադրվում է միայն օգտագործվող ինսեկտիցիդների կենսաբանական տնտեսական արդյունավետությունը և անտեսվում՝ միջատասպանների մնացորդային քանակությունը ցողումից հետո:

Մեր նպատակն է եղել տարբեր անտառտեղամասերում միանվագ ցողումից հետո բացահայտել *Bacillus thuringiensis* (BT) տեսակի տեղական բակտերիական միջատասպանների մնացորդային քանակները անտառային հիմնական ծառատեսակների (կաղնի,

հաճաբենի, բոխի) տերօների վրա անտառային հիմնական հողատիպերում (գորշ, դարչնագույն, ճակարբոնատային):

BACILLUS THURINGIENSIS ՏԵՍԱԿԻ ՄԻՋԱՍԱՊԱՆՆԵՐԻ ՊԱՇՊԱՆԵԼԻՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՆՏԱՌԱՑԻՆ ԿԵԼՍԱՑԵԼՈՋՆԵՐՈՒՄ...

Անտառային հիմնական ծառատեսակների վրա *BT* տեսակի (բյուրեղ առաջացնող) բակտերիաների մնացորդային քանակության բացահայտումը ցողումից հետո հնարավորություն կընձեռի կրկնակի ցողման անհրաժեշտության դեպքում ֆիտոֆագերի դեմ պայքարն իրականացնել բակտերիական պատրաստուկների էկոլոգիային և տնտեսապես արդարացված՝ համեմատաբար ցածր չափաքանակներով:

Ցողման արդյունքում հող ներմուծված բակտերիական հարուցիչների քանակության բացահայտմամբ հնարավոր կլինի բուսաճման շրջանում մանրէաբանական և ագրոքիմիական հետազոտությունների արդյունքներով կանխատեսել կիրառվող պատրաստուկների ազդեցությունը հողի բերրիությունը պայմանավորող հիմնական ցուցանիշների վրա:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտության նյութ են հանդիսացել տեղական բակտերիական միջատասպանները (BT κ 6-1, BT κ 6-2, BT(SAR)-49, BT(SAR)-54, BT(SAR)-86), առևտրային *ԲՏԲ* պատրաստուկը (հարուցիչը՝ *BT subsp. thuringiensis*), անտառային ծառատեսակներից՝ արևելյան կաղնին (*Quercus macranthera*), արևելյան հաճաբենին (*Fagus orientalis*), սովորական բոխին (*Carpinus betulus*), անտառային՝ գորշ, ճակարբոնատային և դարչնագույն հողատիպերը:

Անտառփորձատեղամասերում ցողումները կատարվել են *AO-2* մակնիշի մեջքի սրակիչով:

Միջատասպան բյուրեղ առաջացնող բակտերիաների անջատումը ցողված անտառային հիմնական ծառատեսակների տերևներից և հողատիպերից իրականացվել է Պետրիի թասերում, մնացորդային ազարի (*ՄՊԱ*) վրա նոսրացման եղանակով [4]: Փորձնական յուրաքանչյուր տարբերակ ունեցել է 5-ական կրկնություն: Ցանքսով Պետրիի թասերը պահվել են թերմոստատում՝ 28-30° պայմաններում: Թասերի ինկուբացիայի շրջանը տևել է 3-4 օր:

Ստուգիչ են հանդիսացել մայիսի 15-ին և 16-ին (ցողման օրեր) տերևների վրա և հողատիպեր ներմուծված միջատասպանների քանակությունները: Մայիսի 15-ին ցողումները կատարվել են Իջևանի և Նոյեմբերյանի, իսկ 16-ին՝ Շամշադինի անտառտեղամասերում:

Գորշ, ճակարբոնատային և դարչնագույն ցողված անտառային հողերը, որպես փորձանմուշներ, լաբորատորիա են տեղափոխվել համապատասխանաբար՝ Շամշադինի, Իջևանի և Նոյեմբերյանի անտառտեղամասերից:

Հողի նմուշները վերցվել են 0-10 սմ զենետիկական հորիզոնից: Կաղնու, հաճաբենու և բոխու տերևները վերցվել են համապատասխանաբար՝ Իջևանի, Շամշադինի և Նոյեմբերյանի անտառտեղամասերից:

Հետազոտությունները կատարվել են 2009թ., վեգետացիայի շրջանում՝ մայիսից հոկտեմբեր:

Բակտերիական հարուցիչների վեգետատիվ բջիջների, սպորների և էնդոթոյն բյուրեղների ներկումը կատարվել է համապատասխան մեթոդով [3]:

Հետազոտության արդյունքները ենթարկվել են մաթեմատիկական վերլուծության՝ համաձայն մեթոդական ձեռնարկների [1, 2]:

Արդյունքներ և քննարկում: Լաբորատոր հետազոտության արդյունքներով հաստատվել է (աղ.1), որ անտառային հիմնական ծառատեսակների տերևների վրա ցողումից հետո միջատասպան բակտերիաների քանակությունները հունիսից օգոստոս ստուգիչի համեմատությամբ նվազում են: Այսպես, BT κ 6-1, BT κ 6-2, BT(SAR)-49, BT(SAR)-54, BT(SAR)-86 - *BT subsp. thuringiensis* հարուցիչների քանակությունները 1գ կաղնու տերօի վրա ցողումից 1 ամիս անց (հունիս) կազմել են համապատասխանաբար՝ 4,12, 4,16, 3,44, 5,00, 1,06, 3,72 մլն □ ստուգիչի համեմատությամբ նվազել են համապատասխանաբար՝ 14,9, 20,0, 20,4, 15,0, 72,1 35,9%-ով, իսկ հաճաբենու բոխու տարբերակներում նշված ցուցանիշները նույն ամսում կազմել են համապատասխանաբար՝ 2,80, 3,24, 3,92, 2,84, 1,28, 2,12 մլն (նվազեցումը համապատասխանաբար՝ 23,1, 35,2, 24,0, 23,7, 68,9, 41,1%) □ 3,80, 4,08, 3,00, 2,52, 1,44, 1,76 մլն (նվազեցումը համապատասխանաբար՝ 10,4, 10,5, 25,0, 17,1, 59,6, 60,0%):

Բակտերիական հարուցիչների քանակության նվազումը կաղնու, հաճաբենու □ բոխու տերևների վրա ցողումից 2 ամիս անց (հուլիս) ստուգիչի համեմատությամբ տատանվել է համապատասխանաբար՝ 64,6%-ից (BT(SAR)-54) - 83,1% (BT κ 6-2), 64,8%-ից (BT κ 6-1) - 76,8% (BT κ 6-2), 50,0%-ից (BT(SAR)-54) 79,1% (BT *subsp. thuringiensis*) սահմաններում:

Հուլիսին՝ BT(SAR)-86-ը, օգոստոսին՝ բակտերիական միջատասպանների մյուս 5 ենթատեսակները անտառային հիմնական ծառատեսակների տերօների վրա ապրելունակություն չեն դրսևորել:

Մաթեմատիկական հաշվարկներով հաստատվել է, որ հունիսին կադնու տերօների վրա BT κ6-1-ի և BT(SAR)-54-ի, բոխու տերօների վրա BT κ6-2-ի քանակությունները արժանահավատորեն չեն տարբերվել համապատասխան ստուգիչների ցուցանիշներից (P0,95 և n=5-ի դեպքում, Ստյոքենտի չափանիշի հաշվարկային համապատասխանաբար 2,449, 2,437, 1,841 ցուցանիշները եղել են փոքր Ստ. չափանիշի աղյուսակային 2,571 ցուցիչից):

Մնացած բոլոր տարբերակներում ըստ ամիսների ստուգիչի համեմատությամբ գրանցվել է բակտերիական միջատասպանների քանակության նվազեցման արժանահավատ տարբերություն (P0,95 և n=5-ի դեպքում, չափանիշի հաշվարկային ցուցանիշները՝ 2,740 - 23,881 > 2,571 չափանիշի աղյուսակային ցուցիչից):

Աղյուսակ 1. BT տեսակի բակտերիական միջատասպանների մնացորդային քանակությունը անտառային հիմնական ծառատեսակների տերևների վրա ցողումից հետո

Ամիսներ	Բակտերիական հարուցիչների քանակությունը 1գ տերևի վրա, մլն											
	BT κ6-1	Ստյուդենտի t (հաշվ.)	BT κ6-2	Ստյուդենտի t (հաշվ.)	BT(SAR)-49	Ստյուդենտի t (հաշվ.)	BT(SAR)-54	Ստյուդենտի t (հաշվ.)	BT(SAR)-86	Ստյուդենտի t (հաշվ.)	BT subsp. thuringiensis	Ստյուդենտի t (հաշվ.)
Մայիս (ստուգիչ)	$\frac{4,84^1}{\frac{3,64^{*2}}{4,24^3}}$		$\frac{5,20}{5,00}$ 4,56		$\frac{4,32}{5,16}$ 4,00		$\frac{5,88}{3,72}$ 3,04		$\frac{3,80}{4,12}$ 3,56		$\frac{5,80}{3,60}$ 4,40	
Հունիս	$\frac{4,12(14,9)^{*}}{2,80(23,1)}$ 3,80(10,4)	2,449 5,250 5,727	$\frac{4,16(20,0)}{3,24(35,2)}$ 4,08(10,5)	3,263 5,416 1,841	$\frac{3,44(20,4)}{3,92(24,0)}$ 3,00(25,0)	4,400 3,314 5,590	$\frac{5,00(15,0)}{2,84(23,7)}$ 2,52(17,1)	2,437 4,195 2,740	$\frac{1,00(72,1)}{1,28(68,9)}$ 1,44(59,6)	22,666 19,691 15,299	$\frac{3,72(35,9)}{2,12(41,1)}$ 1,76(60,0)	8,072 7,552 10,023
Հուլիս	$\frac{1,04(78,5)}{1,28(64,8)}$ 0,96(77,4)	16,175 23,881 15,782	$\frac{0,88(83,1)}{1,16(76,8)}$ 2,04(55,3)	16,281 13,442 15,278	$\frac{1,00(76,9)}{1,32(74,4)}$ 0,88(78,0)	20,433 12,800 19,203	$\frac{2,08(64,6)}{1,20(67,8)}$ 1,52(50,0)	17,952 16,835 8,497	ՄՊԱ-ի վրա աճ չի տվել	–	$\frac{1,68(71,0)}{1,00(72,2)}$ 0,92(79,1)	17,664 15,577 13,504
Օգոստոս	Չարուցիչները ՄՊԱ-ի վրա աճ չեն տվել											

Ծանոթագրություն. 1,2,3 - բակտերիական հարուցիչների քանակությունն է համապատասխանաբար կադնու, հաճարենու և բոխու տերևների վրա,

-□-□ - հաշվարկներ չեն կատարվել,

* - փակագծերում՝ հարուցիչների քանակության նվազեցման տոկոսն է ստուգիչի համեմատությամբ:

Աղյուսակ 2. BT տեսակի բակտերիական միջատասպանների մնացորդային քանակությունը անտառային հիմնական հողատիպերում ցողումից հետո

Ամիսներ	Բակտերիական հարուցիչների քանակությունը 1գ հողում, մլն								
	BT κ6-1	Ստյու- դենտի t _{կրթ} (հաշվ.)	BT κ6-2	Ստյու- դենտի t _{կրթ} (հաշվ.)	BT(SAR)-49	Ստյու- դենտի t _{կրթ} (հաշվ.)	BT(SAR)-54	Ստյու- դենտի t _{կրթ} (հաշվ.)	BT(SAR)-86
Մայիս (ստուգիչ)	$\frac{5,40^1}{4,36^2}$ 6,12 ³		$\frac{4,84}{4,48}$ 6,76		$\frac{5,56}{4,72}$ 6,32		$\frac{6,20}{5,96}$ 4,92		$\frac{5,12}{6,44}$ 5,64
Յունիս	$\frac{4,92(8,9)^{*}}{3,72(14,7)}$ 5,24(14,4)	1,455 2,921 2,729	$\frac{4,40(9,1)}{3,68(17,9)}$ 5,52(18,4)	2,415 2,814 2,955	$\frac{4,96(10,8)}{3,88(17,8)}$ 5,40(14,6)	2,032 3,202 2,769	$\frac{5,56(10,3)}{4,92(17,5)}$ 2,820 4,36(11,4)	1,933 2,820 3,130	$\frac{4,12(19,5)}{4,56(29,2)}$ 5,190 4,88(13,5)
Յուլիս	$\frac{3,48(35,6)}{3,56(18,4)}$ 4,04(34,0)	5,488 3,848 6,858	$\frac{3,84(20,7)}{2,88(35,7)}$ 3,68(45,6)	5,661 5,142 8,006	$\frac{4,20(24,5)}{3,24(31,4)}$ 4,52(28,5)	4,882 6,254 4,867	$\frac{5,00(19,4)}{4,60(22,8)}$ 3,20(35,0)	4,140 3,516 7,374	$\frac{3,80(25,8)}{3,96(38,5)}$ 4,40(22,0)
Օգոս- տոս	$\frac{2,12(60,8)}{2,84(34,9)}$ 2,56(58,2)	10,675 13,432 11,737	$\frac{1,60(67,0)}{1,44(67,9)}$ 1,32(80,5)	22,047 10,749 15,448	$\frac{1,96(64,8)}{1,88(60,2)}$ 2,44(61,4)	15,321 12,359 12,523	$\frac{3,04(51,0)}{2,28(61,8)}$ 1,48(69,9)	10,114 9,978 23,851	$\frac{2,00(60,9)}{1,72(73,3)}$ 1,68(70,2)
Սեպտեմ- բեր	$\frac{1,52(71,9)}{1,16(73,4)}$ 0,88(85,6)	12,628 17,056 19,977	$\frac{1,24(74,4)}{1,08(75,9)}$ 0,92(86,4)	25,980 12,268 16,584	$\frac{1,36(75,5)}{0,96(79,7)}$ 1,08(82,9)	19,147 17,926 17,994	$\frac{1,60(74,2)}{1,24(79,2)}$ 1,28(74,0)	18,152 13,671 23,863	ՄՊԱ-ի վրա աճ չի տվել
Չոկոնմե- բեր	Չարուցիչները ՄՊԱ-ի վրա աճ չեն տվել								

Ծանոթագրություն. 1,2,3 - բակտերիական հարուցիչների քանակությունն է

համապատասխանաբար ճմա-կարբոնատային, դարչնագույն և գորշ հողատիպերում,

□-□ - հաշվարկներ չեն կատարվել,

* - փակագծերում՝ հարուցիչների քանակության նվազեցման տոկոսն է ստուգիչի համեմատությամբ:

Անտառային հիմնական ծառատեսակների տերևների վրա մայիսից հուլիս ժամանակահատվածում պահպանված միջատասպան բակտերիաների բոլոր ենթատեսակները ՄՊԱ-ի վրա դրսևորել են մայրական (կենսացենոզ չներմուծված) շտամներին բնորոշ՝ սպորներ քյուրեղներ (էնդոթոյն) առաջացնելու ունակություն:

Բակտերիական միջատասպանների քանակության նվազեցման միտում գոյումից հետո գրանցվել է նաև անտառային հիմնական հողատիպերում (աղ. 2): BT κ6-1, BT κ6-2, BT (SAR)-49- BT (SAR)-54 միջատասպանները անտառային երեք հողատիպերում պահպանվել են 4 ամիս (մայիսից սեպտեմբեր), իսկ BT (SAR)-86-ը՝ 3 ամիս (մայիսից օգոստոս):

Մայիսին (ստուգիչ) ճմակաբեռնատային հող ներմուծված այդ հողում 1 ամիս (հունիս) պահպանված բակտերիական հարուցիչների քանակություններն ըստ էության եղել են նույնական (BT κ6-1, BT κ6-2, BT (SAR)-49, BT (SAR)-54 և BT *subsp. thuringiensis* տարբերակներում, P0,95 (n=5-ի դեպքում, t չափանիշի հաշվարկային 1,455-2,415 ցուցանիշները եղել են փոքր t չափանիշի 2,571 աղյուսակային ցուցիչից): Հունիսին հարուցիչների քանակության արժանահավատ տարբերություն ստուգիչի համեմատությամբ արձանագրվել է անտառային գորշ և դարչնագույն հողատիպերում: Բակտերիա-կան հարուցիչների քանակությունները նշված 2 հողատիպերում հունիսին ընդհանուր առմամբ տատանվել են 2,80-5,52 մլն/գ հողի, իսկ t չափանիշի հաշվարկային արժեքները՝ 2,729-6,901-ի սահմաններում:

BT (SAR)-86 հարուցիչի քանակության էական տարբերություն ստուգիչի համեմատությամբ արձանագրվել է հունիսից օգոստոս, իսկ սեպտեմբերին՝ հարուցիչն անտառային հողատիպերում չի պահպանվել:

BT κ6-1, BT κ6-2, BT (SAR)-49, BT (SAR)-54 - BT *subsp. thuringiensis* միջատասպանների քանակությունների նվազումը անտառային հողատիպերում ստուգիչի համեմատությամբ հունիս, հուլիս, օգոստոս և սեպտեմբեր ամիսներին կազմել է համապատասխանաբար՝ 8,9-31,4, 18,4-51,5, 34,9-80,5 և 71,9-86,4%:

Հոկտեմբերին փորձնական վերոնշյալ հարուցիչները ՄՊԱ-ի վրա աճ չեն տվել:

Անտառային հողերում պահպանված բակտերիական միջատասպանները դրսևորել են մայրական շտամներին բնորոշ՝ սպոր քյուրեղ առաջացնելու ունակություն:

Այսպիսով, հետազոտության արդյունքներով հաստատվել է, որ գոյումից հետո BT տեսակի տեղական բակտերիական միջատասպանները (քանակության նվազման միտումով) Հայաստանի անտառային հիմնական ծառատեսակների տերևների վրա անտառային հիմնական հողատիպերում պահպանվում են համա-պատասխանաբար 1-2 և 3-4 ամիս:

Ցողման արդյունքում անտառային կենսացենոզ ներմուծված BT-ի բոլոր ենթատեսակները դրսևորել են մայրական շտամներին բնորոշ՝ սպոր քյուրեղ (էնդոթոյն) առաջացնելու ունակություն:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л., изд-во “Медгиз”, 180 с., 1962.
2. Бернстейн А. Справочник статистических решений. М., изд-во “Статистика”, 162 с., 1968.
3. Иванов Г.М., Гукасян А.Б. Окраска кристаллов и вегетативных клеток энтомопатогенных бактерий. Микробиология, 35, В.1, с. 179-180, 1966.
4. Практикум по микробиологии (под редакцией проф. Н.С. Егорова). М., Московск. ун-т., с. 56-65, 1976.

Մտացվել է 16.09.2009



Biol. Journal of Armenia, 2 (62), 2010

STUDY OF POPULATION DYNAMICS AND BIOLOGICAL PARAMETERS OF ANCHOVY KILKA (*CLUPEONELLA ENGRAULIFORMIS*) IN SOUTHEAST PART OF CASPIAN SEA (MAZANDARAN PROVINCE)

GH. KARIMZADEH*, B. GABRIELIAN**, H. FAZLI***

* Administrator of Fishing Office, Mazandaran Province Fisheries Administration,
Ph.D student, post box 466, Tel: 00989111152191, Fax: 00981125231452,
e-mail: karimzadehg@yahoo.com

** Director of Institute of Hydroecology and Ichthyology of National Academy of Sciences,
Armenia, Ph.D, 7 Paruyr Sevak str. 0014, Yerevan, Armenia
Tel/Fax. +37410-207592; e-mail: gabrielb@sci.am

*** Research Assistant, Caspian Sea Ecology Research Center, PhD in stock assessment, Sari,
Iran, post box 961, Tel: 00989111540791, e-mail: hn_fazli@yahoo.com

Population dynamics and biological parameters of anchovy kilka *Clupeonella engrauliformis* have been studied. The age structure of population, length-weight ratio, sex ratio, sexual maturity stages, growth parameters, natural and fishing mortality coefficients have been estimated. It was found that anchovy kilka has gradually decreased in catches during 1997-2008 due to several factors including fishing pressure, invasion of species using the same resource base. It was concluded that alongside with the main factor – fishery, other environmental factors also influence anchovy kilka population and cumulative effect of all the factors may lead to stock depletion.

Growth – sexual maturity stage – Caspian Sea – over-fishing – kilka

Իրականացվել է անչոուսային կիլկայի (*Clupeonella engrauliformis*) կենսաբանական ցուցանիշների և պոպուլյացիոն փոփոխությունների հետազոտում: Տրվել են պոպուլյացիայի հասակային կառուցվածքի գնահատականը, կշիռ-երկարության և սեռերի հարաբերությունը, հասունացման փուլը, աճի ցուցանիշները, բնական և արդյունագործական մահացության գործակիցները: Բացահայտվել է, որ 1997-2008թթ. անչոուսային կիլկայի մասնաբաժինը ձկան ընդհանուր որսաչափում արդյունագործական ծանրաբեռնվածությունը ներառող տարբեր գործոնների ազդեցության և սննդառության տեսակետից մրցակիցների ներխուժման արդյունքում աստիճանաբար նվազել է: Կատարվել է եզրակացություն, որ հիմնական գործոնի՝ արդյունահանման, հետ մեկտեղ, գոյություն են ունեցել նաև այլ գործոններ, որոնք ազդել են անչոուսային կիլկայի պոպուլյացիայի վրա և դրանց կուտակային ազդեցությունը կարող է հանգեցնել կիլկայի պաշարների կրճատման:

Աճ - հասունության փուլ - Կասպից ծով (գերորդ) (կիլկա)

Проведено исследование популяционной динамики и биологических параметров анчоусной кильки (*Clupeonella engrauliformis*). Дана оценка возрастной структуры популяции, соотношения веса-длины, полов, стадий зрелости, параметров роста, коэффициентов естественной и промысловой смертности. Выявлено, что доля анчоусной кильки в уловах 1997-2008гг. постепенно снизилась вследствие различных факторов, включающих промысловую нагрузку, вторжение пищевых конкурентов.

Было сделано заключение, что наряду с главным фактором - промыслом, существуют также и другие факторы, влияющие на популяцию анчоусной кильки, и их кумулятивный эффект может привести к подрыву ее запасов.

Рост – стадии зрелости – Каспийское море – перелов – килька

Three species of kilka fishes, belonging to Clupeidae family - anchovy kilka (*Clupeonella engrauliformis*, Svetovidov, 1941), bigeye kilka (*Clupeonella grimmi*, Kessler, 1877) and common kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*, Bordin, 1904) are inhabiting in the Caspian Sea. Kilka fishes are pelagic fishes living in schools and are one of the most abundant fishes in Caspian Sea because of feeding on zooplankton. They are considered as Caspian Sea bread as many other aquatic animals feed on them. Distribution of these fishes in the middle and southern Caspian Sea is related to existence of specific sea currents and feeding pattern [1]. All three kilka species are present in commercial catches with use of under-water electric lights and fishing pumps. In the past, anchovy kilka amounted to 80-90 percent of total kilka catch in Caspian Sea.

Anchovy kilka forms dense population in the depth of 30 m in the middle and southern Caspian Sea. In Winter, anchovy kilka live in southern part of the Caspian Sea, in Spring it migrates to middle Caspian. Feeding period in Summer often takes place in the middle and southern Caspian [2]. Anchovy kilka spawns at depths of 50-200 m in southern part of Caspian Sea [17, 18, 19].

Previous studies on population characteristics of anchovy kilka in Caspian Sea's Iranian waters were limited to studies in distribution [2] and stock assessment [1, 3, 4]. However, quantitative assessments are necessary for management and effective exploitation of the existing stock [13]. Despite of its economic and ecologic importance as a main commercial and food species in the Caspian Sea, there are no sufficient data on sex, growth and mortality of kilka in the southeast part of the Caspian Sea (territory of Mazandaran province). However, such data are especially important related to ecological changes occurred in the Caspian Sea. Moreover, invader species ctenophore *Mnemiopsis leidyi* which appeared in 1999 [5] have affected all components of the ecosystem used by kilka. Also, one of the purposes of catch and biology study is recognition of human and natural factors affecting fish population [14]. Thus, the aim of the present study is filling in the information gap of anchovy kilka population biology, catch assessment and creating a base for effective and optimal management of anchovy kilka catch in Mazandaran zone.

Material and Methods. During the sampling period (January-December 2008) 60 kg of kilka fishes have been used, 2770 fishes were allocated to biometry study, from which 338 were anchovy kilka. The samples were provided from landing in Babolsar harbor in Mazandaran province. The samples for this study were caught at depths of 40-100 m by conical lift nets equipped with underwater electric lights.

The samples were transported to the laboratory for conducting measurements. The samples were initially sorted into size bins. Then, the total weight (to the nearest 0.1 g), sex and maturity stages of ovary were determined. Sexual maturity classification was carried out based on six macroscopic stages in ovarian development (stage II is not ripe; stage III is almost ripe; stage IV is ripe; stage V is ripe and running and stage VI is spent) as defined by Biswas [6].

Age determination method. Age determination of anchovy kilka has been done with use of otoliths. Otoliths were provided at each biometry stage and of each length classes (144 specimen including both females and males). Otoliths were put in special plate containing glycerin. Age determination was done using stereomicroscope with light glinted from top with background being black [7].

Data analysis method. The length-weight relationship was calculated as following by statistical package in SPSS 11:

$$W = aL^b$$

where W is the fish weight (g), L - fork length (mm), a and b are the parameters [8].

Van Bertalanfi growth parameters were estimated using a non-linear estimation method [9] with use of software FISAT:

$$L_t = L_{\infty} [1 - \exp^{-k(t-t_0)}]$$

where t is age, L_t - fish length at t age, t_0 - age virtual assay in length of 0, L_{∞} - computed possibly maximal length for this species, k - growth coefficient.

Survival rate (S) was calculated using the catch curve method [10]. The instantaneous coefficient of total mortality (Z) was transformed from the survival rate as $Z = -\ln S$.

Natural mortality coefficient (M) was estimated from tentative Pauly formula [11]:

$$\log(M) = -0.0066 - 0.279 \log(L_{\infty}) + 0.6543 \log(K) + 0.4634 \log(T)$$

where T is the water annual average temperature of fish habitat. In this study, T was 12°C .

Fishing mortality coefficient (F) was calculated using the following formula:

$$Z = M + F$$

Exploitation rate (E) was calculated by [12]:

$$E = \frac{F}{F + M}$$

For determination of reproduction time, gonadosomatic index (GSI) was used [8]:

$$GSI = \frac{w}{W} \times 100$$

where w is gonad weight (g) and W is body weight (g).

Results and discussion.

Catch composition of three kilka species

All three kilka fishes (common, anchovy and bigeye) are present in catches. The most abundant in the catches are common kilka (88.06 percent) and the least - bigeye kilka (4.13 percent). Anchovy kilka abundance amounted to 7.81 percent. The most abundance occurred in February (up to 27.2 percent) and the least - in June (up to 5.5 percent).

Catch, effort and CPUE for anchovy kilka

Total catch of anchovy kilka in 2008 was 954 tons (Table 1).

Table 1. Catch, effort and CPUE of anchovy kilka in southeast part of Caspian Sea in 2008

Month	Catch	Effort	CPUE
Jan	22.8	327	0.07
Feb	259.1	681	0.381
Mar	51.7	417	0.124
Apr	8.1	125	0.065
May*	0	0	0
Jun	5.3	51	0.104
Jul	91.5	643	0.142
Aug	160.7	828	0.194
Sep	69.8	453	0.154
Oct	24.8	218	0.114
Nov	138.5	523	0.265
Dec	121.6	779	0.156
total	953.9	5045	0.19

The highest catch was observed in February (up to 259.1 tones) and the lowest - in June (up to 5.3 tones).

The highest fishing effort was in August (828 vessels per night) and the lowest effort was in June (51 vessels per night).

Maximum Catch Per Unit of Effort (CPUE) amount for anchovy kilka was in February up to 0.381 tons per vessel per night and its minimum was in April up to 0.065 tons per vessel per night.

Average length and weight for anchovy kilka

The study of the year 2008 shows that in the harvested fish, females have a more extended length range but there is no significant difference about the weight. Fork length average of anchovy kilka (male and female) was 116.4 ± 13 mm. About 46 percent of length abundance has belonged to 115-125 mm length classes. Average weight of anchovy kilka was 11.4 ± 3 g, about 67 percent of weight abundance has belonged to 8.4-13.6 g weight classes (Fig 1).

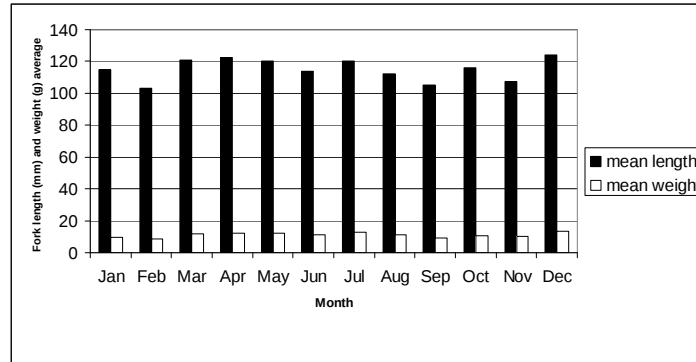


Fig. 1. Monthly fork length and weight average of anchovy kilka in southeast part of Caspian Sea in 2008

Van Bertalanfi population growth parameters and equation for anchovy kilka

Growth parameters (L_{∞} , k , t_0) for anchovy kilka have been estimated according to length and age data (Fig 2).

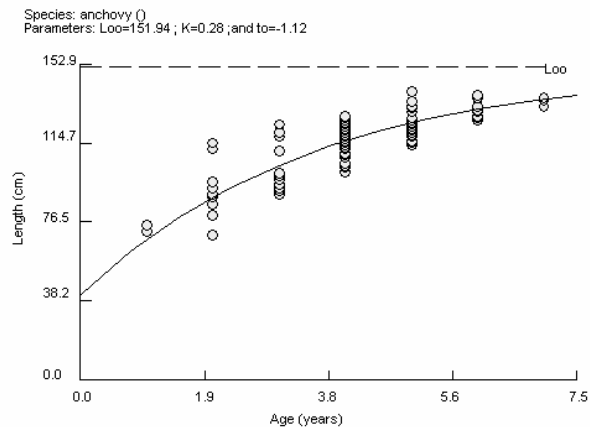


Fig. 2. Van Bertalanffi growth curve of anchovy kilka in southeast part of Caspian Sea in 2008.

The growth equation used is as follows:

$$L_t = 151.94 \left[1 - \exp^{-0.28(t+1.12)} \right]$$

Relation between fork length and weight for anchovy kilka

The fork length and weight regression of anchovy kilka was $W = 0.000349 FL^{2.18}$ ($R = 0.908$). With considering that calculated b was 2.18 ($b < 3$), growth pattern of this fish is negative allometric ($p < 0.05$).

Sex ratio for anchovy kilka

The sex ratio of female:male was 1:0.5 for adult anchovy kilka ($n = 338$) where females were dominant (Table 2).

Table 2. Sex ratio (%%) of anchovy kilka in southeast part of Caspian Sea in 2008

Month	Male	Female
Jan	26	74
Feb	28	72
Mar	22	78
Apr	32	78
May	35	75
Jun	29	61
Jul	35	65
Aug	42	58
Sep	56	44
Oct	53	47
Nov	44	56
Dec	22	78

It can be seen that males of anchovy kilka were dominant in September and October.

Spawning and GSI changes for anchovy kilka

Study of sexual maturity stages in various months showed that the abundance of 4 and 5 sexual maturity stages increased starting April and reached to its maximum level in October, November and December. Spawning has been completely done in January and February, relative share of immature fishes (on stages 2, 3) was above 60 percent (Fig. 3).

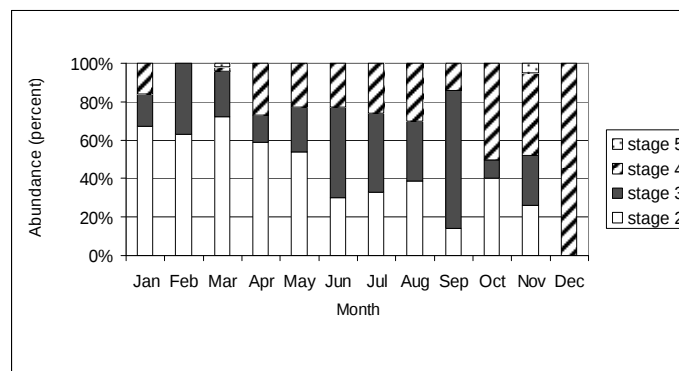


Fig. 3. Monthly abundance percent of sexual maturity stages of anchovy kilka in southeast part of Caspian Sea in 2008.

GSI amount of anchovy kilka begins to increase from May. The highest amount of GSI was in December. It decreases from January reaching the minimum in February which indicates end of spawning. Afterwards, GSI amount does not tangibly increase during early spring and gonads are in rest. In late Spring and Summer, GSI amount begins to increase (Fig. 4).

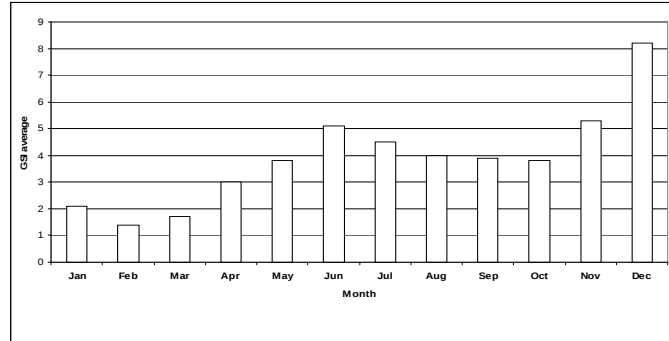


Fig. 4. Monthly GSI average of anchovy kilka in southeast part of Caspian Sea in 2008

Natural, fishing and total mortality coefficients, survival rate and exploitation rate for anchovy kilka

According to catch curve method, annual survival rate of anchovy kilka has been estimated up to $0,343_{yr^{-1}}$. Based on this survival rate, total mortality coefficient (Z) of anchovy kilka has been estimated up to $1,07_{yr^{-1}}$. Natural mortality coefficient of anchovy kilka, estimated by tentative Pauly (1999) method, was $0,633_{yr^{-1}}$. Fishing mortality coefficient for anchovy kilka was $0,437_{yr^{-1}}$. Therefore, the exploitation rate of anchovy kilka has been estimated up to 0.408.

Age structure for anchovy kilka

Anchovy kilka population consisted of 7 age groups. 4-year age group appropriates 40.97 percent of total abundance and forms a dominant population. Age average in females was 4.225 ± 0.735 and its minimum and maximum were 2 and 7, respectively ($n=78$). Age average in males was 3.872 ± 0.746 and its minimum and maximum were 1 and 7, respectively ($n=66$) (Fig. 5).

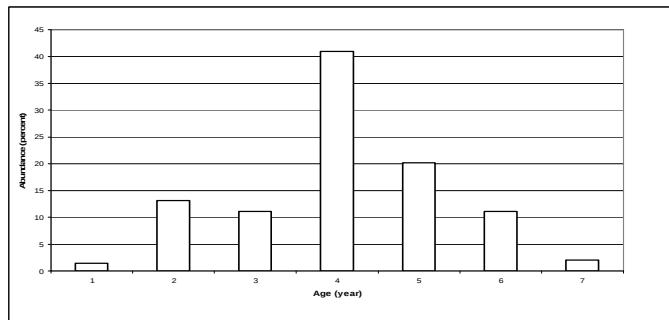


Fig 5. Age abundance percent of anchovy kilka in southeast part of Caspian Sea in 2008

Catch at age analysis for anchovy kilka

From January to December 2008, 4-year old fishes have the highest catch (up to 40.97 percent, 390.86 tons) followed by 5-year old fishes with catch amounting to 20.14 percent (192.12 tons) and 2-years-old catch amount was 13.19 percent (125.87 tons) and 3 and 6-year old ones (each of 11.11 percent and 106 tons) (Table 3).

Table 3. Catch at age of anchovy kilka in southeast part of Caspian Sea in 2008

Age	1	2	3	4	5	6	7	Total
Number	2	19	16	59	29	16	3	144
Abundance (percent)	1.39	13.19	11.11	40.97	20.14	11.11	2.08	100
Catch (ton)	13.25	125.87	106.00	390.86	192.12	106.00	19.87	954.0

Kilka catch in Mazandaran zone decreased from 28 thousands tons in 1999 to 7.8 thousands tons in 2003 and then increased and reached to 13.2 thousands tons in 2005 (adopted from Mazandaran fisheries administration statistics during 1999-2005). Anchovy kilka catch decreased during this period (1998-2008) from about 26 thousands tons to 954 tons and CPUE decreased from 3.736 tons (per vessel per night) to 0.19 tons.

Anchovy kilka age study shows that 3-year old fish constituted the largest age group during 1997 and 1999 but 2-year old fish have increased in 2000. Afterwards, 3-year old fish were dominant again in 2001-2003 and 4-year old fish have appropriated to the most catch in 2004 [4].

Fork length average of anchovy kilka in southeast Caspian in 1997 was 95.2 mm. Then, it gradually decreased during 1998, 1999 and 2000 and reached to 87.8 mm but increased again after 2001 [4] reaching to 116.4 mm in 2008.

Weight average of anchovy kilka in 1997 was 6.1 gr gradually decreasing during 1998, 1999 and 2000 and reaching 4.4 gr, but increasing after 2001 [4] and reaching 11.4 gr in 2008.

Exploitation rate of anchovy kilka in this study (catch per fish stock) has been estimated up to 0.41. Also, their catch amount decreased by 2008 and as a result their age in catch increased.

Based on these data, it might be concluded that anchovy kilka stock decreased during 1997-2000 mainly due to over-fishing. This was accompanied with juvenilization of the population, reflected in reduction of average length and weight of population. Further increase of stock followed by increase of average length and weight and age of the fish was a result of regulated fishery and application of nature protection measures in Southern Caspian areas by Iranian government. Decrease of the fishing pressure is also reflected in decrease of share of fishing mortality and consequently in increase of the share of natural mortality in the total mortality by 2008.

Investigation in 1997-2004 shows that male were dominant in the catches, whereas change of female:male ratio towards increase of females was observed for 2008. This also confirms existence of relatively improved habitat conditions. Observed peak of males during September-October 2008 can be attributed to seasonal variation of responses to light disturbance by different sexes. Ben-Yami [15] reported that there were different responding behaviors of fish to light. A key hypothesis is that fish are attracted to light for feeding. It is well-known that artificial light attracts many aquatic organisms [16] and perhaps the motivation for attraction is related to increased prey density within the lighted area. With development of gonads, females appear to be less attracted to light. As they approach spawning time, they cease feeding and disappear from the catches. In the case of males, they continue feeding during spawning period and it seems that their response to light disturbance remains unchanged [15].

It should also be noted that these changes coincided with ecological changes caused by invasion of ctenophore species. Negative allometric growth of anchovy kilka observed for 2008 shows that the fish feeds insufficiently, which might be a result of the effect caused by the invader. Besides, global climatic changes such as Caspian Sea level

change might affect the numbers of anchovy kilka due to changes of conditions of natural reproduction. Also, anchovy kilka is affected by predators such as seal, sturgeon, etc. Thus, alongside with the main factor – fishery, there still exist other environmental factors influencing anchovy kilka population and cumulative effect of all factors may lead to stock depletion.

REFERENCES

1. Pourgholam, R; Sedov, V; Yermalchev, V; Besharat, K and Fazli, H. Stock assessment of kilka fishes by hydro acoustic method, 1994-1995. Final report, Mazandaran Fisheries Research Center. 125 p. (in Persian, 1996.
2. Besharat, K and Khatib S. Determination of commercial catch region in the Iranian coastal zone, 1990-1991. Final report, Mazandaran Fisheries Research Center. 105p. (in Persian), 1993.
3. Fazli, H. and Besharat, K. Kilka fishes stock assessment with fishing zones monitoring and hydroacoustic method. Fisheries Research Center of Mazandaran Province. 105 p., 1998.
4. Fazli, H et al., Population ecological parameters and biomass of anchovy kilka (*Clupeonella engrauliformis*) in the Caspian Sea. Fisheries sciences. 73, 285-294, 2007.
5. Ivanov O.I., A.M. Kamakim, V.B. Ushvitzhev, T. Shiganova, O. Zhukova, N. Aladin, S.I. Wilson, G.R. Harbison, Dumont H.J. Invasion of Caspian Sea by the comb jellyfish *Mnemiopsis leidyi* (Ctenophora). Biological invasions 2, 255-258, 2000.
6. Biswas, S.P. Manual of Methods in fish biology. South Asian Publishers, PVT Ltd, New Delhi, India. 157p. , 1993.
7. Chilton, D. E. and Richard, J. Beamish. Age determination methods for fishes studied by the Ground fish program at the Pacific Biological Station. Con. Spec. Publ. Aguat. Sci. 69:102p., 1982.
8. Bagenal, T.B. Methods of assessment of fish production in freshwater. Blackwell scientific publication. 365p. ,1978.
9. Pauly. Length-converted catch curves. A powerful tool for fisheries research in the tropics (Part III). ICLARM Fishbyte. 2, 3, 9-10. 1984.
10. Ricker W.E. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Bulletin of Fisheries Research Board of Canada. 191, 1-382, 1975.
11. Pauly D. On interrelationships between natural mortality, growth parameters and mean environment temperature in 175 fish stock. J. Cons. CIEM. 39, 3, pp.175-192, 1999.
12. Sparre, D. and Venema, S.C. Introduction to tropical fish stock assessment. Part 1 manual. FAO fish Tech. PUB. (306.1) Rev. 1, 376 p., 1992.
13. Tie volivastov, Flix favorite, Catch and stock fluctuations . Translator: Fatemi, M. R., 1998. Tehran. Iran Fisheries jointstock. 197p., 1988.
14. Ball and Rao, Basic Fish Biology. Translator: Adeli, A. 1999. Agricultural Sciences Pub. 164p., 1984.
15. Ben-Yami, M. Fishing with light. FAO of the united nations, Fishing News Books. 121p., 1976.
16. Maeda, H. Analytical studies on marine lamp-communities. Publication of the Seto Marine Biological Laboratory. 1, 4, 195-213, 1951.
17. Berg, Freshwater Fishes of the u.s.s.r and adjacent countries. Israel program For Scientific translation. vol2, pp:65-175, 1948.
18. Kaspririkh. Ecological Features of the Caspian kilka (Genus *Clupeonella*). Caspian Fisheries research institute. Pp:150, 1978.
19. Sedov, S.I. and Rychagova T.L. Morphological characteristics of anchovy kilka, *Clupeonella engrauliformis* (Clupeidae) in winter and spring. Scripta Publishing Co. UDC 597. 5. pp. 140-153, 1984.

Received 02.03.2010



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(62), 2010

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՍԱՀՄԱՆԱՄԵՐՁ ԴԵԲԵԴ ԳԵՏԻ ՋՐԱԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒՄ

Ս.Հ. ՀԱԿՈԲՅԱՆ, Է.Խ. ՂՈՒԿԱՍՅԱՆ, Դ.Լ. ՍԱՀԱԿՅԱՆ,
Մ.Ռ. ԴԱԼԼԱՔՅԱՆ, Ա.Հ.ՀԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Կենդանաբանության Հիդրոէկոլոգիայի գիտական կենտրոնի
Հիդրոէկոլոգիայի ձկնաբանության ինստիտուտ

Հայաստանի սահմանամերձ Դեբեդ գետի □ նրա վտակների էկոլոգիական հիմնախնդիրների բացահայտման նպատակով 2008թ. կատարվել են հիդրոքիմիական և ջրակենսաբանական հետազոտություններ: Ուսումնասիրվել են գետի ջրակենսաբանական առանձնահատկությունները ռեոբիոտների դերը նրա ինքնամաքման պրոցեսում: Աղտոտվածության ազդեցությունը հատակային ֆաունայի վրա բացահայտելու համար հաշվարկվել է Շենոն-Վինների տեսակային բազմազանության գործակիցը: Հիդրոքիմիական □ ջրակենսաբանական ցուցանիշներով Դեբեդ գետի ջրերի որակը գնահատվել է որպես չափավոր աղտոտված: Շնոլ գետի հարուստ կենսաբազմազանությունը արդյունք է սահմանափակ անթրոպոգեն ազդեցության: Հետազոտությունների արդյունքների համաձայն առավել աղտոտված են Ախթալա գետի ստորին հոսանքները:

Գետերի ինքնամաքում (հիդրոքիմիական ցուցանիշներ (ջրակենսաբանություն

С целью выявления основных экологических проблем приграничной реки Дебед и ее притоков в 2008 г. проведены гидрохимические и гидробиологические исследования. Рассмотрены гидробиологические особенности реки, а также роль реобентоса в процессе ее самоочищения. Для выявления влияния загрязнения на донную фауну рассчитан коэффициент видового разнообразия Шенон-Виннера. По гидрохимическим и гидробиологическим показателям качество вод р. Дебед оценено как “умеренно загрязненное”. Богатое биоразнообразие реки Шнох является результатом незначительного антропогенного воздействия. По результатам исследований наибольшее загрязнение наблюдалось в нижнем течении реки Ахтала.

Самоочищение реки – гидрохимические показатели – гидробиология

In order to reveal the main environmental issues of Debed river, which is an Armenia's transboundary river, some hydrochemical and hydrobiological research was carried out in 2008. The core study was devoted to the hydrobiological characteristics and the role of reobionts in the process of the self-purification of the river. The impact of pollution on the bottom fauna was measured using Shenon-Vinnen coefficient of species diversity. Based on hydrobiological and hydrochemical indicators the level of pollution of the water of Debed river was estimated to be “mildly polluted”. The rich biodiversity of Shnogh river is the result of limited anthropogenic influence. The river Akhtala is extremely polluted in the downstream and necessary steps should be carried out to improve the ecological situation of the river.

Self-purification of the rivers (hydro chemical indicators (hydro biology

Հայաստանի ամենաջրառատ գետը՝ Դեբեդը, կազմավորվում է Ձորագետ և Փամ- բակ վտակների միախառնումից: Փամբակ վտակի հետ միասին Դեբեդի երկարությունը կազմում է 178 կմ: Հանրապետության սահմաններում Դեբեդի գետային ավազանի մակերեսը կազմում է 3895 կմ², իսկ երկարությունը՝ 152 կմ: Գետի աջ վտակներն են Մարցը, Շնողը, ձախը՝ Ախթալան: Գետի տարեկան միջին ծախսը 35,5 մ³/վ է, հոսքը՝ 1120 մլն մ³:

Դեբեդ գետի ջրերն օգտագործվում են կենցաղային, արդյունաբերական, հիդրոէներգետիկ ոռոգման նպատակներով: Գետի բնապահպանական հիմնախնդիրները կապված են կենցաղային, գյուղատնտեսական, արդյունաբերական հոսքաջրերով, կոշտ կենցաղային թափոններով ջրերի աղտոտման, բնական ռեսուրսների ոչ արդյունավետ օգտագործման, ջրամատակարարման և ջրահեռացման համակարգ- գերում եղած թերությունների, հողերի էրոզիայի սողքերի առկայության հետ [2, [8]: Դեբեդը անդրասահմանային գետ է: Նրա էկոլոգիական վիճակի գնահատումը ունի ոչ միայն հանրապետական, այլև տարածաշրջանային նշանակություն:

Դեբեդի աջ վտակը՝ Շնողը, սկիզբ է առնում Գուգարաց լեռնաշղթայի հյուսիսային լանջերից: Երկարությունը 20 կմ է, ջրահավաք ավազանը՝ 114 կմ²: Տարեկան միջին ծախսը՝ 0,8 մ³/վ է: Զրահավաք ավազանի մեծ մասն անտառապատ է: Զրերն օգտագործվում են ոռոգման նպատակով [1]: Շնող գետի բենթաֆաունայի հետազոտությունները մեծ հետաքրքրություն են ներկայացնում նոր հանքավայրի շահագործման հետ կապված: Ավազանում իրականացվող ցանկացած տնտեսական գործունեություն արտացոլվում է նրա կենսաբազմազանության փոփոխություններում: Շնող և Դեբեդ գետերի կենսամոնիտորինգը թույլ կտա հետազայում գնահատել Թեղուտի հանքավայրի ազդեցությունը Դեբեդի գետային համակարգի վրա:

Նյութ և մեթոդ: Դեբեդ գետի հիմնախնդիրների բացահայտման նպատակով 2008թ. կատարվել են հիդրոքիմիական և ջրակենսաբանական հետազոտություններ:

Փորձանմուշներ են վերցվել Դեբեդ գետի վրա գտնվող 6 դիտակետերից, ինչպես նաև Ախթալա և Շնող վտակների գետաբերաններից (աղ. 1)

Աղյուսակ 1. Դեբեդ գետի դիտակետերի ընդհանուր բնութագիրը

Դիտակետ	Գետը	Նմուշառման վայրը	Բիոտոպը
Դ-1	Դեբեդ	Դեբեդ գետի ակունք՝ Փամբակ և Ձորագետ գետերի միախառնվելուց ցած	Հատակը հիմնականում ծածկված է խոշոր քարերով և ավազով, ջուրը մի փոքր պղտոր է, հոսքը արագ:
Դ-2	Դեբեդ	Ալավերդի քաղաքից հետո	Հատակը հիմնականում ծածկված է խոշոր քարերով, ափի մոտ կուտակված է մեծ քանակությամբ կենցաղային աղբ: Զուրը մի փոքր պղտոր է:
Ա-1	Ախթալա	Գետաբերան	Հատակը ծածկված է ավազ հիշեցնող պոչամբարի պուլպայով, ջրի գույնը մոխրագույն է:
Դ-3	Դեբեդ	Մինչև Ախթալա գետի թափվելը	Հատակը քարքարոտ է, ջուրը թափանցիկ, հոսքը արագ:
Դ-4	Դեբեդ	Ախթալա գետի թափվելուց հետո	Հատակը քարքարոտ է, ափից հեռու ջուրը թափանցիկ է, ձախ ափի երկայնքով մոխրագույն ջրաշերտ է նկատվում:
Դ-5	Դեբեդ	Մինչև Շնող գետի թափվելը	Հատակը ավազոտ է, ջուրը թափանցիկ է, հոսքը՝ արագ:
Շ-1	Շնող	Գետաբերան, Դեբեդ գետը թափվելու վայրից 15 մ վերև	Հատակը մասամբ ավազոտ է, մասամբ քարքարոտ, ջուրը թափանցիկ է, հոսքը՝ արագ:
Դ-6	Դեբեդ	Պտղավանի ՀԷԿ-ի մերձակայք	Հատակը մասամբ ավազոտ է, մասամբ քարքարոտ, ջուրը թեթև պղտոր է, հոսքը կենտրոնական մասում՝ արագ, ափերի մոտ կան ծանծաղուտներ:

Ծանր մետաղների կոնցենտրացիաների փոփոխությունները բացահայտելու համար ջրի նմուշներ են վերցվել նաև Փամբակ գետից՝ Վանաձոր քաղաքից ներքև ընկած հատվածում:
Յուրաքանչյուր դիտակետից վերցվել է հատակային կենդանիների հինգ փորձանմուշ:
Համադրելի տվյալներ ստանալու համար նմուշները վերցվել են գետում գերակշռող, միանման բիոտոպերից, որոնք ֆիքսվել և մշակվել են ջրակենսաբանության մեջ ընդունված հայտնի մեթոդներով [5] [6]:

Աղտոտվածության ազդեցությունը հատակային ֆաունայի վրա բացահայտվելու համար հաշվարկվել է Շենոն-Վինների [8] տեսակային բազմազանության գործակիցը (BI):

$$BI = \sum_{i=1}^k x_i \log_2 x_i,$$

որտեղ BI (տեսակային բազմազանության գործակիցն է,
X / i կարգաբանական խմբի տեսակների թվի հարաբերությունն է տեսակների ընդհանուր թվին:

Գործակիցը որոշվում է 0-4 սանդղակով, 4-ը նիշով նշվում է ամենամեծ բազմազանությունը: 0 նշանակում է կենդանական աշխարհը բացակայում է:

Արդյունքներ և քննարկում: Դեբեդ գետի □ նրա խոշոր վտակների ջրաքիմիական հետազոտությունները ցույց են տվել, որ գետի ակունքից գետաբերան տեղաշարժվելիս առանձին ջրաքիմիական ցուցանիշներ փոփոխություններ են կրել:

Դեբեդը օրգանական նյութերով աղտոտվում է հիմնականում խոշոր բնակավայրերից հետո, ինչի մասին են վկայում ընդհանուր ազոտի բիքրոմատային օքսիդացման ցուցանիշները (աղ. 2): Ընդհանուր ազոտի արժեքները բարձր են Ալավերդի քաղաքից հետո, մինչ□ Շնող գետի թափվելու տեղում Պտղավանի ՀԷԿ-ի մերձակայքում: Վերջին երկու դիտակետերում օրգանական աղտոտվածության բարձր ցուցանիշները բացատրվում են նաև գետի ողջ երկայնքով սփռված սննդի օբյեկտների առկայությամբ:

Սուլֆատ իոնների բարձր կոնցենտրացիաներ են գրանցված Ախթալա վտակի թափվելուց հետո մինչ Շնող գետի միախառնվելը (62,1 67,7 մգ/լ): Երկու դիտակետերում էլ սուլֆատ իոնների բարձր կոնցենտրացիան Ախթալա վտակի ազդեցության հետ□անք է, վերջինիս մեջ են լցվում Ախթալայի պղնձամոլիբդենային կոմբինատի □ պոչամբարի հոսքաջրերը (աղ. 2):

Աղյուսակ 2. Դեբեդ գետի ջրաքիմիական ցուցանիշների փոփոխությունները ակունքից գետաբերան

Դիտակետի համարը	Կալցիումի իոն, մգ/լ	Մագնեզիումի իոն, մգ/լ	Ֆլորիդային առալին իոն, 1/մգ	Սուլֆատ իոն, 1/մգ	Զրոյիդ իոն, 1/մգ	Նիտրատ իոն, 1/մգ	Սիտիտ իոն, մգ/լ	Ամոնիում իոն, մգ/լ	Ընդհանուր ազոտ, մգ/լ	Ֆոսֆատմեղ, մգ/լ	Մեղիում, մգ/լ	Պղնձ օքսիդացում, մգ/լ	Բիքրոմ օքսիդացում, մգ/լ
Դ-2	52.1	9.7	152.6	45.3	12.5	4.66	0.11	0.3	1.28	0.07	9.25	0.56	6
Դ-3	44.09	4.86	134.24	32.22	11.12	3.64	0.22	0.28	1.108	0.06	9.46	0.72	4
Դ-4	68.14	14.58	146.45	67.73	9.73	3.455	0.14	0.34	1.09	0.04	8.82	0.8	5
Դ-5	68.14	19.44	219.67	62.13	11.12	3.51	0.06	0.53	1.22	0.02	8.60	0.8	7
Շ-1	52.10	7.29	143.40	34.09	9.73	3.22	0.142	0.202	0.93	0.063	9.03	0.48	4
Շ-6	44.09	14.58	155.60	39.70	11.12	3.59	0.30	0.47	1.27	0.11	8.60	0.8	12

Ծանր մետաղներից պղնձի, ցինկի կապարի կոնցենտրացիաները նույնպես աճում են գետի ակունքից գետաբերան շարժվելիս: Այրում քաղաքից հետո նկատվում է համապատասխան ցուցանիշների աճ (աղ. 3):

Աղյուսակ 3. Ծանր մետաղների կոնցենտրացիաների փոփոխությունները Դեբեդի ավազանում, մգ/լ

Դիտակետ	Cu	Zn	Pb
Վանաձորից ներք□	0,014211	0,009429	0,001222
Մարցի գետից ներք□	0,002674	0,001397	0,000953
մինչ□ Այրում	0,008295	0,017924	0,001128
Այրումից ներք□	0,008321	0,013982	0,001176

Դեբեղ գետի վրա տեղակայված դիտակետերի կենդանական աշխարհի հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ գետի էկոլոգիական վիճակը պայմանավորված է ոչ միայն արդյունազորական հոսքաջրերի ազդեցությամբ, այլև գետի ջրաբանական ռեժիմով: Գետի ափամերձ հատվածներում ավելի հաճախ են հանդիպում սապրոֆ հատակային կենդանիներ, քան գետի հորձանուտում, որտեղ հոսքի արագությունը առավելագույնն է: Ալավերդի քաղաքից հետո կենցաղային հոսքաջրերի ազդեցությունը առավել ակնառու է ավի երկարությամբ, որտեղ հոսքի արագությունը դանդաղ է, իսկ հատակը ծածկված է նստվածքով: Գետի միջին հատվածում, որտեղ հոսքի մեծ արագության հետևանքով ջրերը հարստանում են թթվածնով, հանդիպում են միօրիկներ և զարնանաթփիկներ (*Plecoptera*), որոնք բնորոշ են մաքուր ջրերին:

Ինչպես երևում է աղ. 4-ից, Դեբեղ գետում զոոբենթոսի առավելագույն կենսազանգված է գրանցված Ալավերդի քաղաքից հետո ընկած հատվածում, և մինչև Ախթալա գետի խառնվելը: Սակայն հարկ է նշել, որ այս դիտակետում բենթոսի մեծ կենսազանգվածը բացատրվում է փորձանմուշներում խոշոր կեղծ ձիատզրուկների (*Haemopsis sanguisuga*) առկայությամբ, որոնք հանդիսանում են կենցաղային աղբով ջրերի աղտոտման բացահայտիչ:

Աղյուսակ 4. Դեբեղ գետի հատակային կենդանիների թվաքանակը կենսազանգվածը

Կարգաբանական խումբ	Դ-1	Դ-2 (քաղ)	Դ-2 (տիղմ)	Դ-3	Դ-4	Դ-5	Դ-6 (քաղ)	Դ-6 (տիղմ)
Oligochaeta								
<i>Tubificidae spp.</i>					7 / 4.4			
Hirudinea								
<i>Haemopsis sanguisuga</i>			2 / 3600					
<i>Herpobdella octoculata</i>		2 / 61		4 / 161			2 / 58	
Crustacea (Amphipoda)								
<i>Gammarus lacustis</i>	9 / 52.8	5 / 13.2						
Plecoptera								
<i>Perla sp.</i>		2 / 316.8					2 / 28	
Ephemeroptera								
<i>Baetis s.str.</i>	9/ 53.8	24 / 80.4	24 / 82.4		2 / 22.2		7 / 35.0	7 / 22.4
<i>Baetis(B. petrovi)</i>				10 / 80.2		15 / 16.2		
<i>Ceanis moesta</i>			2 / 6.1			2 / 4.8		
<i>Epeurus (Caucasiron) sp.</i>		4 / 13.4					2 / 11.0	
<i>Ecdionurus s.str.</i>								2 / 7
Trichoptera								
<i>Hydropsyche pellucidula</i>	21 / 378	11 / 198		92 / 1408.3	9 / 24.4	9 / 360	22 / 396	22 / 165
<i>Rhyacophila nubia</i>				2 / 30.5			2 / 35.0	
Odonata								
<i>Gomphidae</i>				2 / 345				
Diptera								
- Chironomidae	14 / 4.5	12 / 32.1	10 / 29.5	15 / 8.6	16 / 4.4	24 / 49.2	27 / 11.0	
- Simuliidae				7 / 7.2			9 / 9.0	
- Blepharoceridae								
<i>Blepharocera sp.</i>		2 / 2.2		2 / 8				
- Limoniidae								2 / 6.2
Coleoptera					2 / 4.4			
Ընդամենը	53 / 489.1	62 / 717.1	38 / 13,718	134 / 2048.8	36 / 59.6	50 / 430.2	73 / 583.0	33 / 200.6
BI	1.90	2.42	1.34	1.75	1.72	1.67	2.31	1.35

Դեբեդ գետի տարբեր հատվածների համար գրանցված գործակիցների համեմատությունը ցույց է տալիս, որ, թեպետ Ախթալա վտակը գետաբերանում խիստ աղտոտված է հանքարդյունաբերության հոսքաջրերով, այդուհանդերձ Դեբեդ գետի վրա վերջինիս ազդեցությունը որոշիչ չէ: Կենսաբազմազանության գործակիցների արժեքները գրեթե հավասար են Ախթալա գետի թափվելուց առաջ (1.75) □ հետո (1.72), վերջինս վկայում է այն մասին, որ Դեբեդ գետի առատ ջրահոսքի հաշվին նոսրանում է աղտոտված նյութերի կոնցենտրացիան նվազում վերջինիս ազդեցությունը: Նման պատկեր է նկատվում նա□ 2-րդ կայանում՝ Ալավերդի քաղաքից մի քանի կմ անց: Ինքնամաքրման շնորհիվ գետի ջրի որակը ըստ՝ Վուդիվիսի բիոտիկ գործակցի գնահատվում է ,մաքուրե, ջուրը ,մաքուրե է նա□ D-6 դիտակետում՝ Պտղավանի ՀԷԿ-ի մոտ, ինչի մասին է վկայում Perla ցեղի զարնանաթփիկների □ թավաթփանքների (*Trichoptera*) օրսիֆիլ տեսակների *Rhya-cophila nubila* առկայությունը:

Ընդհանուր առմամբ Դեբեդ գետի բենթոֆաունայի կենսազանգվածը 2008թ. տատանվել է 0.5-15 գ/մ² սահմաններում: Նվազագույն կենսազանգված է (0.06 գ/մ²) գրանցվել Ախթալա գետի գետաբերանում, որն աղտոտված է հանքարդյունաբերական հոսքաջրերով:

Ուսումնասիրվել են նա□ Դեբեդ գետի երկու վտակների՝ Շնող և Ախթալա գետերի ազդեցությունը Դեբեդի վրա: Հետազոտությունները կատարվել են այդ գետերի գետաբերաններում:

Ախթալա գետի գետաբերանում Ախթալայի պոչամբարի հոսքաջրերի հետևանքով գետի գետաբերանում հատակային ֆաունան ամբողջությամբ բացակայում է:

Շնող գետն աչքի է ընկնում հատակային կենդանիների առատությամբ բազմազանությամբ (ավելի քան 15 տեսակ) (աղ. 5):

Աղյուսակ 5. Շնող գետի գետաբերանում հայտնաբերված հատակային կենդանիների թվաքանակը (հատ/մ²) կենսազանգվածը, (մգ/մ²)

Կարգաբանական խումբը	Թվաքանակը (հատ/մ ²)	Կենսազանգվածը (մգ/մ ²)
Plecoptera		
<i>Perla sp.</i>	11	880.0
<i>Leuctra sp.</i>	2	34.0
Ephemeroptera		
<i>Baetis sp.</i>	150	2100.0
<i>Baetis(B) petrovi</i>	146	2042.0
<i>Ceanis moesta</i>	2	28.5
<i>Ecdionurus kuraensis</i>	8	101.5
Trichoptera		
<i>Hydropsyche pellucidula</i>	2	41.0
<i>Rhyacophila nubia</i>	6	122.4
Odonata		
<i>Onychogomphus sp.</i>	4	450.0
Diptera		
- Chironomidae	22	13.2
- Simuliidae	4158	5874
- Tabanidae	2	7.3
- Blepharoceridae	2	2.0
Ընդամենը	4515	11695.9
Շենոն-Ուիվերի տեսակային բազմազանության գործակիցը	0,40	

Ինչպես երևում է աղ.5-ից, Շնող գետի բենթոսի թվաքանակը 1 մ² հասնում է 4,5 հազար առանձնյակի, իսկ կենսազանգվածը՝ 12գ: Ջրի մաքրության հարուստ կենսաբազմազանության մասին է վկայում Շենոնի-Ուիվերի տեսակային բազմազանության գործակցի առավելագույն արժեքը: Այստեղ մեկ կետում արդեն հայտնաբերված են զարնանաթփիկների (*Plecoptera*)՝ 2,միօրիկների (*Ephemeroptera*)՝ 4, թավաթփանքների (*Trichoptera*)՝ 2 տեսակներ, որոնք հանդիսանում են մաքուր ջրերի բնակիչներ:

Միմուլիդների մեծ թվաքանակը վկայում է նաև օրգանական նյութերի առկայության մասին, որը սահմանափակ քանակներով են չեն ազդում ջրի որակի վրա: Վերջինս կարևոր է ոչ միայն ջրօգտագործման տեսակետից, այլ որպես ձկների կերային բազա, ինչով հարուստ է Շնող գետը:

Պլանկտոնային հանրային ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ Դեբեդի ավազանի գետերը հարուստ չեն զոոպլանկտոնով, ինչը բնորոշ է լեռնային բոլոր գետերին:

Վերջինս բացատրվում է գետի արագ հոսքի արդյունքում պլանկտոնային օրգանիզմների բարձր մահացությամբ [7, 8]: Այսպիսով, Դեբեդ գետի ջրերը համաձայն ջրաքիմիական և ջրակենսաբանական ցուցանիշների դասվում են չափավոր աղտոտված (III դաս) ջրերի շարքին:

Կոշտ կենցաղային թափոնները և քաղաքային հոսքաջրերը լցվելով Դեբեդ գետ, կուտակումներ են առաջացնում ափամերձ մասերում, ստեղծելով անբարենպաստ պայմաններ հատակային ֆաունայի զարգացման համար:

Շնող գետի հարուստ կենսաբազմազանությունը արդյունք է սահմանափակ անթրոպոգեն ազդեցության:

Ախթալա գետը ստորին հոսանքներում գտնվում է ծայրահեղ վատ վիճակում անհրաժեշտ է իրականացնել համապատասխան միջոցառումներ նրա էկոլոգիական վիճակը բարելավելու համար:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Հայաստանի բնաշխարհ: Երևան: Հայկական հանրագիտարան. հրատարակչություն, 150, էջ 162, 2006:
2. *Մանասյան Մ.* Լոռու մարզ (Բնությունը, բնակչությունը, տնտեսությունը), Երևան: Երևանի պետական համալսարանի հրատարակչություն, 208 էջ, 2003:
3. *Даниелян А.А., Гамбарян Л.Р.* Исследования разнообразия фитопланктонного сообщества водосборного бассейна реки Дебед в Армении. Современные проблемы альгологии: Международная конференция, Ростов-на-Дону, с. 121-125, 2008.
4. *Даниелян А.А.* Исследования зоопланктонного сообщества в водосборном бассейне реки Дебед в Армении. Международная научно-практическая конференция молодых ученых по проблемам водных экосистем, УАН, Севастополь, Украина, с. 27-28, 2007.
5. Методика сбора и обработки зообентоса водоемов и оценка их экологического состояния по биологическим показателям, выпуск 1, Пермь, с. 49, 2001.
6. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидро-биологических исследованиях на пресноводных водоемах. Зообентос и его продукция. Л., с.3-9, 1983.
7. *Митропольский В. И. и Мордухай-Болтовской Ф. Д.* Макробентос. Зообентос и другие биоценозы, связанные с субстратом. Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. Наука, Москв, с.158-178, 1975.
8. Dannisie. Integrated River Basin Planning – Khrami/Debed, 2005.

Ստացվել է 26.03.2010



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(62), 2010

ՍԵՎԱՆԱ ԼՃԻ ԵՎ ՆՐԱ ՋՐԱՀԱՎԱՔ ԱՎԱԶԱՆԻ ՀԻՂՐՈՎՈՂՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ (2009թ.)

Ռ.Հ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ, Մ.Ս. ԻՎԱՆՅԱՆ, Ա.Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ, Լ.Ռ. ՀԱՄԲԱՐՑՅԱՆ,
Ժ.Հ. ՄԿՐՏՉՅԱՆ, Ա.Ա. ՀՈՎՍԵԹՅԱՆ, Ա.Ս. ՄԱՄՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Կենդանաբանության և Հիդրոէկոլոգիայի Գիտական կենտրոնի
Հիդրոէկոլոգիայի և ձկնաբանության ինստիտուտ,
E-mail: rhovan@sci.am,

Հոդվածում բերված են 2009թ. Սևանա լճի և նրա հիմնական վտակների ջրաֆիզիկական, ջրաքիմիական և ջրակենսաբանական ուսումնասիրությունների արդյունքները: Գնահատվել է լճի ջրահավաք ավազանում տնտեսական գործունեության ազդեցության դերը լճային էկոհամակարգի էվտրոֆացման և լիճ թափվող գետերի ջրերի որակի վատացման գործում:

Էկոլոգիա (էվտրոֆացում) (ֆիտոպլանկտոն (նախակենդանիներ (ինֆուզորիա (քլորոֆիլ a (կենսածին տարրեր

Приведены результаты гидрофизических, гидрохимических и гидро-биологических исследований озера Севан и его основных притоков. Оценено влияние хозяйственной деятельности на эвтрофирование и ухудшение качества воды озера и его притоков.

Экология – эвтрофирование – фитопланктон – простейшие – инфузории – хлорофилл а – биогенные элементы

In this article the investigation results of Lake Sevan and its tributaries waters are presented. The impact of economic activity has been assessed in the process of lake catchment basin eutrofication and tributaries waters quality worsening.

Ecology – eutrophication – phytoplankton – protozoa – infusorium – chlorophyll a – biogenic elements

Սևանա լճի այսօրվա էվտրոֆացված իրավիճակը պայմանավորված է ոչ միայն ներքաղաքային պրոցեսների անթրոպոգեն բացասական վերակառուցմամբ, այլ նաև նրա ջրահավաք ավազանում տնտեսության տարբեր ճյուղերի, էկոլոգիապես չհիմնավորված, ինտենսիվացմամբ և էքստենսիվացմամբ, որի արդյունքում մեծացել է լիճ թափվող կենսածին տարրերի, աղտոտող և տոքսիկ նյութերի քանակները:

Տնտեսության ինտենսիվացման և ռեկրեացիոն ծանրաբեռնվածության մեծացման պայմաններում լճի բնական ռեսուրսների պահպանման և արդյունավետ օգտագործման խնդիրների լուծումն անհնար է առանց ճրահավաք ավազան (Լիճե համակարգում քանակական և կառուցվածքաֆունկցիոնալ հիդրոէկոլոգիական փոխհարաբերությունների վերլուծության: Հայտնի է, որ նշված փոխհարաբերությունները կարգավորվում է լճում ֆիզիկական, քիմիական և կենսաբանական պրոցեսներով, որոնց վրա որոշիչ ազդեցություն են ունենում լիճ թափվող գետերի ջրերի հիդրոքիմիական որակը կազմավորող բաղադրիչները, որոնք ձևավորվում են ջրա հավաք ավազանում և ունեն պետրոգեն (բնածին) և / կամ տեխնոգեն (մարդածին) ծագում:

Սևանա ,Ջրահավաք ավազան (Լիճե լիմնոհամակարգում ջրահավաք ավազանի ազդեցության գործակիցը լճի վրա կազմում է 2.35: Ջրահավաք ավազանի նման մեծ ազդեցությունը լճային էկոհամակարգի վրա հիմնականում իրականացվում է գետերի միջոցով: Վտակներով Սևանա լիճ թափվող էվտրոֆացնող, աղտոտող և տոքսիկ նյութերը խթանում են էվտրոֆացման պրոցեսները և խորը բացասական ազդեցություն են ունենում ինչպես լճի տրոֆիկ շղթաների, այնպես էլ նրանց առանձին օղակների վրա: Հաշվի առնելով այս հանգամանքը, մեր կողմից իրականացվել է լիճ թափվող գետերի ջրաֆիզիկական, ջրաքիմիական և ջրակենսաբանական հետազոտություններ, նրանց ազդեցությունը լճի վրա գնահատելու նպատակով:

Նյութ և մեթոդ: Ջրաքիմիական ուսումնասիրությունների ընթացքում օգտագործվել են միջազգային ստանդարտներին համապատասխան սպեկտրո-ֆոտոմետրիկ, իոնոմետրիկ, ծավալային և այլ մեթոդներ [4]:

Ջրակենսաբանական ուսումնասիրությունները կատարվել են 2008-2009թ. փետրվար և նոյեմբեր ամիսների ընթացքում Սևանա լիճ թափվող Գավառագետ, Լիճք, Արգիճի, Վարդենիկ, Արփա, Մակենիս, Մասրիկ, Ջկնագետ գետերից վերցված ջրերի նմուշներում:

Սևանա լճում փորձանմուշները վերցրել ենք 4-րդ դիտակետից (Փոքր Սևան):

Փորձանմուշներում ուսումնասիրել ենք ֆիտոպլանկտոնային համակեցության և նախակենդանիների որակական և քանակական կազմը: Նրանց նախնական և հետագա լաբորատոր մշակումները կատարել ենք՝ ըստ հիդրոէկոլոգիայում ընդունված մեթոդների [1, 2, 5, 6, 8, 9]:

Ստացված թվային տվյալների կորելիացիոն-ռեգրեսիոն վերլուծությունները կատարել ենք համակարգչային EXCEL ծրագրային փաթեթի միջոցով 95% ճշգրտությամբ ($p > 0.95$):

Սակերկության ջրերի որակի բնութագրումը կատարել ենք ջրերի որակի էկոլոգիական հետևյալ դասակարգմամբ [7]:

1. Դասակարգում ըստ ջրի հանքայնացման աստիճանի և իոնային կազմի:

2. Էկոլոգո-սանիտարական դասակարգում, որը ընդգրկում է ջրաֆիզիկական, ջրաքիմիական և ջրակենսաբանական ցուցանիշներ:

Սեր կողմից ընտրվել է ջրի որակի էկոլոգո-սանիտարական (տրոֆո-սապրոբայության) դասակարգում, որտեղ օգտագործել ենք ուսումնասիրության ընթացքում ստացված ջրաֆիզիկական, ջրաքիմիական և ջրակենսաբանական ցուցանիշները և նրանց մեծությունները:

Արդյունքներ և քննարկում: Սևանա լիճ թափվող գետերում կատարված ջրաքիմիական ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ նրանց ջրերում միջինացված հաշվարկներով, լուծված թթվածինի քանակությունը կազմել է 11.7 գ/մ³, pH-7.4, նիտրատինը՝ 0.08 գ/մ³, նիտրիտինը՝ 0.034 գ/մ³, ամոնիում իոնինը՝ 0.15 գ/մ³, ընդհանուր հանքային ազոտինը՝ 1.0 գ/մ³, ֆոսֆորինը՝ 0.36 գ/մ³, ԹԿՊ-ը 3 գՕ₂/մ³, ՊՕ-ն 1.4 գՕ/մ³, ԲՕ-14.2 գՕ₂/մ³:

Գետերի միջոցով Սևանա լիճ թափվող ազոտի և ֆոսֆորի քանակությունների վերահաշվարկները ցույց են տվել, որ 2009թ. գետերի միջոցով տնտեսության տարբեր ոլորտներից լիճ է թափվել մոտ 2071 տ ազոտ և 162.3 տ ֆոսֆոր (աղ.1), որոնց քանակությունները 2008թ. հետ համեմատած պակասել են 5-10% սահմաններում:

Տվյալների վերլուծությունը ցույց է տալիս, որ ըստ լիճ թափվող ազոտի քանակության (2071տ; աղ.1)՝ առաջնակարգ տեղ է զբաղեցնում բնակչությունը և արդյունաբերությունը (1055.3 տ), հաջորդը՝ բուսաբուծությունը (530.3 տ) և անասնաբուծությունը (485.4 տ):

Նշված ոլորտներից լիճ թափվող ֆոսֆորի (162.4 տ) մեծությունները համապատասխանաբար կազմում են 132.0; 24.7; 5.7 (աղ.1):

2009թ. լիճ է թափվել նաև 2128 տ հեշտ լուծվող և 1275 տ հեշտ օքսիդացվող օրգանական նյութեր, որոնց հաշվարկային քանակությունը էկվիվալենտ է ԹԿՊ-ի և ՊՕ-ի պրոցեսներում օգտագործված թթվածնի քանակությանը (հաշվարկները կատարվել են՝ ըստ գետերի ջրերում ԹԿՊ-ի և ՊՕ-ի մեծությունների, գ/մ³):

Ջրակենսաբանական ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ Գավառագետ, Լիճք, Արգիճի, Վարդենիկ, Արփա, Մաքենիս, Մասրիկ, Ջկնագետ գետերի ֆիտոպլանկտոնում գերակայել են ջրիմուռների երեք խմբեր, դրանք են՝ դիատոմայինները, կանաչները և կապտականաչները: Գերիշխող տեսակներն են *Navicula*, *Cocconeis*, *Meridion*, *Cymbella*, *Pinnularia*, *Surirella*, *Melosira*, *Fragilaria*: Իրենց բազմազանությամբ հասկապես աչքի են ընկել *Navicula* ցեղի տեսակները՝ *N. gracilis*, *N. pupula*, *N. tuscula*:

Հայտնաբերված տեսակները՝ ըստ ջրերի որակի սապրոբության աստիճանի, համապատասխանում են β և մեզոսապրոբային տեսակներին: Գետերում զարնանային պլանկտոնի ձևավորման հիմնական խմբերն են դիատոմային և կապտականաչ ջրիմուռները: Կանաչ ջրիմուռների դերը եղել է երկրորդային:

Դիատոմային ջրիմուռների առավելագույն թվաքանակը այս շրջանում եղել է 3776 հազ. բջ/լ, իսկ կենսազանգվածը՝ 16,5 գ/մ³: Կապտականաչների թվաքանակը հետազոտված շրջանում փոփոխվել է 4-508 հազ. բջ/լ, իսկ կենսազանգվածը՝ 0,009-7,12 գ/մ³:

Աղյուսակ 1. Տնտեսության տարբեր ոլորտներից Սևանա լիճ թափվող ազոտի և ֆոսֆորի քանակները և նրանց տոկոսային հարաբերությունները

Աղբյուրներ	Ազոտ		Ֆոսֆոր	
	տ/տարի	%	տ/տարի	%
Բնակչություն և արդյունաբերություն	1055.3	51.0	132.0	81.29
Բուսաբուծություն	530.3	26.0	24.7	15.22
Անասնապահություն	485.4	23.44	5.7	3.5
Ընդամենը	2071	100	162.4	100

Պետք է նշել, որ կապտականաչ ջրիմուռները հանդիսացել են պլանկտոնի մշտական ներկայացուցիչներ, և նրանց կազմի մեջ մեծ թիվ են կազմել տոքսիկ համարվող տեսակները, որոնք հայտնի են գրականությունից որպես էվտրոֆիկատոր-տեսակներ, օրինակ *Spirulina sp.* և *Microcystis aeruginosa* տեսակներին պատկանող ցեղերի ներկայացուցիչները:

Կանաչ ջրիմուռները միշտ չէ որ արձանագրված են եղել պլանկտոնում, նրանց թվաքանակը փոփոխվել է 4,088,0 հազ. բջ/լ, իսկ կենսազանգվածը՝ 0,02-4,0 գ/մ³: Տարվա կտրվածքով նշված ցուցանիշների առավելագույն մեծությունները գրանցվել են Մասրիկ գետի պլանկտոնում:

Հետազոտված շրջանի յուրահատկություններից է, որ դեղնականաչ ջրիմուռներից հայտնաբերված է միայն մի տեսակ *Tribonema* ցեղից: Նրա թվաքանակը Արփա գետի պլանկտոնում կազմել է 76.0 հազ. բջ/լ, իսկ կենսազանգվածը՝ 0,11գ /մ³:

Այսպիսով՝ Սևանա լճի հիմնական վտակների ֆիտոպլանկտոնի ուսումնասիրությունները ցույց են տվել:

1. Իրենց թվաքանակով և բազմազանությամբ գերակշռել են դիատոմային ջրիմուռները, ինչը բնորոշ է ռեոպլանկտոնին: Վերը նշված տեսակների մեջ հատկապես դիատոմային ջրիմուռների խմբում՝ մեծ թիվ են կազմում աղտոտվածության կենսա-ինդիկատոր ձևերը, որոնք են *Melosira varians*, *Fragilaria capucina*, *Stephanodiscus hantzschii*, տեսակները: Կապտականաչ ջրիմուռների բաժնում *Microcystis aeruginosa* և *Spirulina abbreviata*, *Oscillatoria limnetica*, *Aphanizomenon* f-a. և կանաչ ջրիմուռների խմբում *Ulothrix subtilissima* - *Characium* sp տեսակները:

2. Հետազոտված շրջանում արձանագրված չէ պլանկտոնային ջրիմուռների օձաղ-կումո, ինչի մասին վկայում են ֆիտոպլանկտոնի թվային մեծությունները և վիզուալ դիտարկումները (ջրի մակերեսին թաղանթների բացակայությունը, տհաճ հոտի բացակա-յությունը, ջրի գունավորումը):

3. Սևանա վտակներում տոքսիկ ցիանոբակտերիաների *Microcystis aeruginosa*, *Spirulina abbreviata*, *Oscillatoria limnetica*, *Aphanizomenon* f-a տեսակների առկայությունը խոսում է այն մասին, որ վտակների ջրօգտագործումը կարող է վնասակար լինել մարդու և կենդանիների համար:

Սևանա լիճ թափվող վերը նշված գետերում նախակենդանիների ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ինֆուզորիաների առավելագույն տեսակային կազմը և քանակությունը գրանցվել է մայիս և հունիս ամիսներին (*Coleps hirtus* (*Kinetofragminophora*), *Paramecium caudatum* (*Oligohymenophora*), *Oxytrichidae*): Նախակենդանիների աճը նշված ամիսներին բացատրվում է ինֆուզորիաների համար սնունդ հանդիսացող՝ օրգանական նյութերի քանակության մեծացմամբ, բակտերիաների և ջրիմուռների մասսայական զարգացմամբ: Հուլիս ամսին ինֆուզորիաների քանակը նվազում է, որը պայմանավորված է այդ ժամանակահատվածում զոոպլանկտոնի քանակական աճով, և որպես հետևանք ինֆուզորիաների և զոոպլանկտոնի միջև սննդային մրցակցության մեծացմամբ: Հատկապես դա նկատելի է Մասրիկ գետի ջրերում:

Օգտագործելով քննարկված ջրաքիմիական և ջրակենսաբանական ցուցանիշների թվային մեծությունները, մեր կողմից որոշվել է ուսումնասիրված գետերի ջրերի էկոլոգիական որակը: Պարզվել է, որ *Ձկնագետը* համապատասխանում է՝ մաքուր և չափավոր աղտոտված, *Գալառագետը*՝ շատ աղտոտված, *Լիճքը*՝ շատ մաքուր-չափավոր աղտոտված, *Արգիճին*՝ թույլ աղտոտված(չափավոր աղտոտված, *Վարդենիկը*՝ մաքուր(թույլ աղտոտված, *Արփան*՝ թույլ աղտոտված(չափավոր աղտոտված, *Կարճ-աղբյուր*՝ թույլ աղտոտված(չափավոր աղտոտված, *Մասրիկը*՝ մաքուր և չափավոր աղտոտված որակի ջրերին:

Սևանա լճում կատարված *ջրաֆիզիկական* հետազոտությունների արդյունքում պարզվել է, որ լճում ջերմաստիճանային տատանումները ըստ խորությունների կազմում են՝ մակերեսին (8,8°; 10 մ-ում՝ 8,0°; 30 մ-ում՝ 6.3°; 60 մ-ում՝ 4,2°: Թափանցելիությունը լճում գրանցվել է 3,5 մ:

Ջրաքիմիական ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ լճում միջին հաշվարկներով լուծված թթվածինի քանակությունը կազմել է 7,14 գ/մ³, рН (8,6, կայցիում իոնը՝ 27,6 գ/մ³, քլորիդինը՝ 62,3 գ/մ³, նիտրատինը՝ 0.08 գ/մ³, նիտրիտինը՝ 0.002 գ/մ³, ամոնիում իոնինը՝ 0,17գ/մ³, ընդհանուր հանքային ազոտինը՝ 0.25 գ N/մ³, ֆոսֆորինը՝ 0,024 գ P/մ³, ԹԿՊ₅-ը 2,35 գՕ₂/մ³, ՊՕ-ն 1,99 գՕ/մ³, ԲՕ-22,3 գ Օ₂/մ³:

Համապատասխան վերահաշվարկներից պարզվում է նաև, որ այդ ժամանակահատվածում Սևանա լճի ջրերում հանքային ազոտի քանակությունը եղել է 9175 տ, իսկ ֆոսֆորինը՝ 880,8 տ: Գետերով լիճ թափվող ազոտի քանակությունը (2071 տ) կազմել է լճում ազոտի քանակության 22,7 % -ը, իսկ ֆոսֆորը (162,3 տ)՝ 18,4 %-ը:

Լիճ թափվող և լճում եղած ազոտի և ֆոսֆորի քանակությունների տոկոսային հարաբերությունների նշված մեծությունները կրկին անգամ ապացուցում է ջրահավաք ավազանի որոշիչ դերը լճում ընթացող էվտրոֆացնող պրոցեսների վրա:

Ջրակենսաբանական ուսումնասիրությունների արդյունքում լճում հայտնաբերվել է պլանկտոնային ջրիմուռների 31 տեսակ, որոնցից 7-ը (22%)՝ դիատոմային, 14-ը (45%)՝ կանաչ, 6-ը (19%)՝ կապտականաչ և 4 այլ խմբերի ջրիմուռների ներկայացուցիչներ:

Քանակապես գերակայել են կանաչ ջրիմուռները՝ կազմելով համակեցության միջին թվաքանակի 68 %-ը և միջին կենսազանգվածի 65%-ը: Սուրբումինանտ հանդիսացել են դիատոմային ջրիմուռները՝ համապատասխանաբար կազմելով պլանկտոնի 28 % և 22 %-ը: Առանձին տեսակներից ըստ թվաքանակի առավելագույն նշանակություն է ունեցել *Cyclotella spp.*-ը, որը կազմել է ընդհանուրի 26%-ը: Ըստ կենսազանգվածի գերակայել են *Oocysis* ցեղի ներկայացուցիչները՝ կազմելով ֆիտոպլանկտոնային համակեցության 47%: Ֆիտոպլանկտոնում կանաչ ջրիմուռներից զգալի ներդրում են ունեցել *Ankistrodesmus spp.*-ը, *Crucigenia quadricauda*-ն, դիատոմայիններից՝ *Stephanodiscus astrae*-ն, իսկ կապտա-կանաչ ջրիմուռներից՝ *Aphanothece clathrata*-ն:

Ֆիտոպլանկտոնի թվաքանակի և կենսազանգվածի մեծությունները ըստ խորությունների բերված են աղ. 2-ում:

Աղյուսակ 2. Փոքր Սևանի ֆիտոպլանկտոնի թվաքանակի (համարիչ) և կենսազանգվածի (հայտարար) արժեքները

Ֆիտոպլանկտոնի խմբերը	Թվաքանակ [$\times 10^3$ առանձ./լ]				
	Կենսազանգված, գ/մ ³				
	Խորություն, մ				
	0	10	30	60	միջին
Bacillariophyta	333.3 0.52	373.3 0.58	668.0 0.97	561.3 0.78	484.0 0.71
Chlorophyta	1336.0 3.85	525.3 1.58	365.3 1.16	2528.0 1.64	1188.6 2.06
Cyanophyta	105.3 0.24	64.0 0.14	45.3 0.87	70.7 0.36	71.3 1.61
Այլ	8.3 0.04	9.3 0.04	10.7 0.04	4.0 0.02	8.1 0.03
Ընդամենը	1783.0 4.65	972.0 2.34	1089.3 3.04	3164.0 2.77	1752.1 3.20

Համապատասխան հաշվարկները ցույց են տալիս, որ ջրիմուռների տարեկան միջին թվաքանակը մեկ լիտրում կազմել է մոտ 1.8 հազ. առանձնյակ, իսկ միջին կենսազանգվածը 3.20 գ/մ³, ինչը ըստ ընդունված սանդղակի [9]՝ համապատասխանում է մեզոտրոֆ լճերի կենսազանգվածի ցուցանիշին:

Քլորոֆիլ a-ի առավելագույն կոնցենտրացիան գրանցվել է լճի մակերեսից մինչև 10 մ խորությունն ընկած հատվածում, ինչը նշված խորություններում, ըստ քլորոֆիլ a-ի միջին արժեքի՝ 3.57 մկգ/լ լուսային օպտիմալ պայմանների առկայության հետևանք է [5] (աղ. 3):

Աղյուսակ 3. Փոքր Սևանի ֆիտոպլանկտոնի քանակական արժեքները՝ ըստ քլորոֆիլ a-ի պարունակության

Խորությունը, մ	Քլորոֆիլ a-ի կոնցենտրացիան, մկգ/լ
0	4.44
10	4.01
30	2.31
60	3.50
Միջինը	3.57

Այսպիսով՝ լճի բնական ռեսուրսների պահպանման և արդյունավետ օգտագործման խնդիրների լուծումն անհնար է առանց ,Ջրահավաք ավազան (Լիճե համակարգում հիդրոբիոտոնների քանակական և կառուցվածքա-ֆունկցիոնալ փոխհարաբերությունների ուսումնասիրության, որտեղ պետք է հաշվի առնվի, որ լճային էկոհամակարգի վերակառուցումը ղեկավարող միակ ռադիկալ միջոցառումը լճի մակարդակի արհեստական բարձրացումն է Բալթիկ ծովի մակարդակից մինչև 1903.5 մ բարձրությունը, քանի որ այն մեխանիզմները, որոնք լճի մակարդակի իջեցման ժամանակ գործել են դրական, մակարդակի բարձրացման ժամանակ կգործեն բացասական փոխկապակցված կապերով:

Անհրաժեշտ է արմատապես վերանայել Սևանա լճի բնական ռեսուրսների օգտագործման տնտեսական և էներգետիկ սկզբունքները, նպատակ ունենալով բնականին մոտ վերականգնել և պահպանել լճի ամբողջական էկոհամակարգը, որի իրականացման ամենաառաջնահերթը և անհետաձգելի միջոցառումը պետք է լինի օրենքով հաստատագրված լճի ջրային *դրական հաշվեկշռի* ամենամյա ապա-հովումը:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Գուրնիչ Ա.Ա.*, Քաղցրահամ ջրերի ջրիմուռներ: Երևան, 1973.
2. *Абакумов В.А.* Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. Л., Гидрометеиздат, 1983.
3. *Гамбарян Л.*, Сукцессия фитопланктона в период повторного понижения уровня озера Севан, Автореф.канд. дисс., Ереван, 2001.
4. *Лурье Ю. Ю.* Унифицированные методы анализа вод. "Химия", М., 448с., 1984.
5. *Парпаров А.С.* Первичная продукция и содержание хлорофилла "а" в фитопланктоне оз. Севан. Тр. СГБС, Ереван, XVII, с. 89-99, 1979.
6. *Прошкина-Лавренко А.И., Макарова И.В.* Водоросли Каспийского моря. "Наука" Л., 1968.
7. *Романенко В.Д.; Окисюк О.П.* Экологическая оценка воздействия гидротехнического строительства на водные объекты. АН УССР, Киев, Наукова Думка, 255с., 1990.
8. *Судницына Д.Н.* Экология водорослей Псковской области. Учебное пособие. Печатается по решению кафедры ботаники и редакционно-издательского совета ПГПУ им. С.М. Кирова, Псков с.892, 2005.
9. *Трифонов И.С.* Экология и сукцессия озерного фитопланктона. Л., 183с., 1990.
10. *Царенко П.М.* Краткий определитель хлорококковых водорослей Украинской ССР, Киев, с. 206., 1990.
11. *Heinz Streble*, Das Leben im Wassertropfen, Stuttgart, Kosmos, 2001.

Մտացվել է 26.02.2010



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(62), 2010

ՏԱՐԲԵՐ ՕՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ ԴՆԹ-Ի ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ ՖԼՅՈՒՈՐԵՍՑԵՆՏԱՑԻՆ ԱՆԱԼԻԶԻ ԵՂԱՆԱԿՈՎ

Մ.Ա. ԴԱՎԹՅԱՆ, Լ.Հ. ՆԱՎԱՍԱՐԴՅԱՆ, Ս.Վ. ՄԱՐԴԻԹՅԱՆ,
Ա.Լ. ՆԱՎԱՍԱՐԴՅԱՆ

Երևանի պետական համալսարան, կենսաքիմիայի ամբիոն

Կատարվել է էուկարիոտ և պրոկարիոտ մի շարք օրգանիզմներից՝ հավի ճուղի արյան էրիթրոցիտներից, հորթի թիմուսից, խմորասնկերից, բակտերիաներից անջատված ԴՆԹ-ի ֆլյուորեսցենտային ցուցանիշների ուսումնասիրում՝ ԴՆԹ-ն տիտրելով էթիդիումի բրոմիդով: Ցույց է տրվել, որ պրոկարիոտ բջիջներից անջատված ԴՆԹ-ն ավելի արագ է հագեցնում էթիդիումի բրոմիդով, քան էուկարիոտ բջիջներից անջատված ԴՆԹ-ն: Ընդ որում, ստորակարգ էուկարիոտ խմորասնկային բջիջների ԴՆԹ-ն ավելի արագ է հագեցնում ներկանյութով, քան բարձրակարգ էուկարիոտների ԴՆԹ-ն: Հավա-նական է, որ այս տարբերությունները կապված են էվոլյուցիոն տեսանկյունից ԴՆԹ-ի կազմակերպման մակարդակի բարձրացման հետ և բնութագրում են ԴՆԹ-ի փաթեթա-վորման տարբեր մակարդակները հետազոտված բջիջներում:

Ֆլյուորեսցենցիա (էթիդիումի բրոմիդ) էուկարիոտ և պրոկարիոտ ԴՆԹ

Исследовались флюоресцентные показатели ДНК, выделенной из эукариотических и прокариотических организмов – из эритроцитов крови цыпленка, тимуса теленка, дрожжей и бактерий путем титрования ДНК бромистым этидием. Показано, что скорость насыщения бромистым этидием для про-кариотической ДНК выше по сравнению с эукариотической ДНК. При этом ДНК низших эукариот – дрожжей насыщается бромистым этидием быстрее, чем ДНК высших эукариот. Возможно, что эти различия связаны с повышением уровня организации ДНК в эволюционном аспекте и характеризуют различные степени упаковки ДНК в исследованных клетках.

Флюоресценция – бромистый этидий – эукариотическая и прокариотическая ДНК

The investigation of fluorescent parameters of DNA isolated from various eukariot and prokariot organisms – thymus, chicken erythrocytes, yeasts and bacteria, was implemented by titration of DNA with ethidium bromide. It has been shown that the speed of saturation of DNA with ethidium bromide is higher for prokariot cells, than for eukariots. Thus, DNA of the lower eukariots – yeasts, is saturated with ethidium bromide faster, than DNA of the higher eukariots. These distinctions are probably connected with increase in the level of the organization of DNA in evolution aspect and characterize various degrees of packing of DNA in the investigated cells.

Fluorescence – ethidium bromide – eukariot and prokariot DNA

Կենսաբանական մակրոմոլեկուլների կառուցվածքի ուսումնասիրման ժամանակակից ճշգրիտ մեթոդներից մեկը հանդիսանում է ֆյուորեսցենտային անալիզը: Այս մեթոդը թույլ է տալիս բացահայտել ուսումնասիրվող մոլեկուլների կառուցվածքային առանձնահատկությունները, ինչպես նաև կառուցվածքային փոփոխությունների ի հայտ գալը տարբեր ստրեսային գործոնների ազդեցության պայմաններում: ԴՆԹ-ի ֆյուորեսցենտային հատկությունների վերաբերյալ գրականության մեջ եղած տվյալները [3], ինչպես նաև մեր կողմից նախկինում ստացված արդյունքները [1,2], ցույց են տվել, որ ԴՆԹ-ն, գրգռվելով 280 նմ երկարության լույսով, տալիս է ֆյուորեսցենցիա, որի ինտենսիվությունը մոտ 3 կարգով ցածր է գրգռման ինտենսիվության համեմատությամբ: Այդ պատճառով ԴՆԹ-ի սեփական ֆյուորեսցենցիայի ուսումնասիրությունը էական ինֆորմացիա չի տալիս հետազոտվող համակարգերի կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ վիճակի մասին: Այս տեսակետից նուկլեինաթթուների ֆյուորեսցենտային ցուցանիշների ուսումնասիրման պրոցեսում ընդունված է օգտագործել ֆյուորեսցենտային զոնդավորման մեթոդը: Որպես ֆյուորեսցենտային զոնդ մեր կողմից ընտրվել է էթիդիումի բրոմիդը: Այն փոխազդում է ԴՆԹ-ի հետ ինտերկալացիայի մեխանիզմով, այսինքն՝ ներդրվելով ԴՆԹ-ի երկշղթա պարույրի մեջ, որի արդյունքում փոխվում է ներկանյութի սեփական ֆյուորեսցենտային սպեկտրը:

Մեր աշխատանքի նպատակն է եղել պրոկարիոտ և էուկարիոտ բջիջներից անջատված ԴՆԹ-ի ֆյուորեսցենտային ցուցանիշների ուսումնասիրումը՝ ԴՆԹ-ի լուծույթում էթիդիումի բրոմիդի քանակության աստիճանական բարձրացման պայմաններում, կամ, ինչպես ընդունված է անվանել այս մեթոդը գրականության մեջ, ԴՆԹ-ն տիտրելով էթիդիումի բրոմիդով:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտության օբյեկտ է հանդիսացել հետևյալ պրոկարիոտ և էուկարիոտ բջիջներից անջատված ԴՆԹ-ն.

հավի ճտի արյան էրիթրոցիտներից անջատված ԴՆԹ (Reanal), որը լուծվել է 0.1xSSC-ում՝ 0.5 մգ/մլ կոնցենտրացիայով, հորթի թիմուսից անջատված ԴՆԹ, որը լուծվել է 0.1xSSC-ում՝ 0.5 մգ/մլ կոնցենտրացիայով, նավթային ածխաջրածիններ յուրացնող *C.guilliermondii* խմորասնկային բջիջներից անջատված ԴՆԹ:

E.coli վայրի տիպի բակտերիաներից անջատված ԴՆԹ: Բակտերիալ կենսազանգվածն ստացել ենք ՀՀ Ագրարային համալսարանի մոլեկուլային կենսաբանության և կենսատեխնոլոգիայի լաբորատորիայից:

Մտորամիջավայրի պատրաստումը և խմորասնկային կենսազանգվածի ստացումը: Խմորասնկային բջիջներն աճեցրել ենք հեղուկ սնտրամիջավայրում [1], թափահարող սարքի վրա (200-250 պտ/ր), որն ապահովում է անհրաժեշտ աերացիան, 4000 լ/ր լուսավորության և 30° ջերմաստիճանի պայմաններում: 24-ժամյա ինկուբացիայից հետո խմորասնկային կենսազանգվածը կուլտուրալ միջավայրից առանձնացրել ենք ցենտրիֆուգման եղանակով՝ 4000 պտ/ր արագությամբ, 10 ր տոնոդությամբ (LL/TP-1): Խմորասնկային բջիջները թորած ջրով լվանալուց հետո որոշել ենք թաց կենսազանգվածի կշիռը:

Հետազոտված օբյեկտներից ԴՆԹ-ի անջատումը և մաքրումը: Խմորասնկային և *E.coli* բակտերիալ բջիջներից ԴՆԹ-ի անջատումն իրականացրել ենք Մարմուրի մեթոդի [5] մոդիֆիկացիայով [1]: Արդյունքում ստացել ենք մաքուր ԴՆԹ, որը համապատասխանում է մաքրության, նատիվության և պոլիմերության գրականությունից հայտնի չափանիշներին [4]:

ԴՆԹ-ի ֆյուորեսցենտային ցուցանիշների ուսումնասիրությունը կատարվել է FluoroMax™ ֆյուորեսցենտային սպեկտրոֆոտոմետրի օգնությամբ: Տվյալների մշակումը կատարել ենք DM3000F ծրագրի կիրառման միջոցով: ԴՆԹ-ի ուսումնասիրման համար մեր փորձերում որպես ֆյուորեսցենտային զոնդ օգտագործել ենք էթիդիումի բրոմիդը կամ 2.7-դիամինո-10-էթիլ-9-դիֆենիլֆենանտրիդիում բրոմիդը, ընդ որում ԴՆԹ-էթիդիումի բրոմիդ կոմպլեքսի գրգռման ալիքի երկարությունը կազմել է (≈510 նմ, իսկ առաքման ալիքի երկարությունը՝ (≈584 նմ [1]: Ուսումնասիրել ենք ԴՆԹ-ի ֆյուորեսցենտային ցուցանիշները ԴՆԹ-ի լուծույթում էթիդիումի բրոմիդի քանակության աստիճանական բարձրացման պայմաններում, կամ, ինչպես ընդունված է անվանել ուսումնասիրման այս եղանակը գրականության մեջ, ԴՆԹ-ն տիտրելով էթիդիումի բրոմիդով:

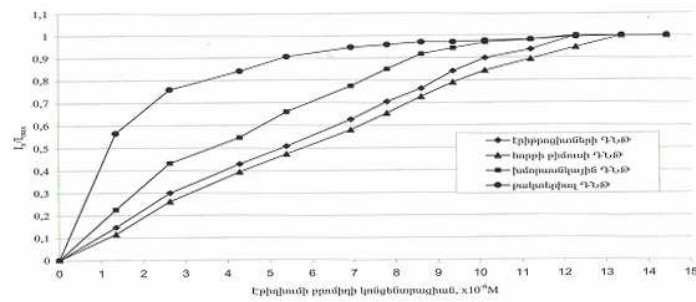
Արդյունքներ և քննարկում: Տարբեր օբյեկտներից անջատված ԴՆԹ-ի ֆյուորեսցենտային հատկությունների ուսումնասիրման արդյունքները ցույց են տվել, որ էթիդիումի բրոմիդի կոնցենտրացիայի աստիճանական բարձրացման պայմաններում դիտվում է ԴՆԹ-էթիդիումի բրոմիդ կոմպլեքսների ֆյուորեսցենցիայի ինտենսիվության աճ՝ մինչև ներկանյութի որոշակի կոնցենտրացիան (աղ.1), որից հետո էթիդիումի բրոմիդի կոնցենտրացիան ավելացնելիս ֆյուորեսցենցիայի ինտենսիվության աճ այլևս չի դիտվում:

ԴՆԹ-ի ֆյուորեսցենցիայի տվյալները համեմատելի դարձնելու նպատակով ստացված կորերը բերվել են նույն մասշտաբին, այսինքն՝ ֆյուորեսցենցիայի բացարձակ արժեքների փոխարեն դիտարկվել են նրանց հարաբերական մեծությունները՝ I_x/I_{max} (նկ.1):

Աղյուսակ 1. Տարբեր օրգանիզմներից անջատված ԴՆԹ-ի ֆյուտրեպենտային տիրումը էթիդիումի բրոմիդով

C _{ԵԲ} , x10 ⁻⁶	C _{ԴՆԹ} , x10 ⁻⁵	C _{ԵԲ} : C _{ԴՆԹ}		Ֆյուտրեպենտային ինտենսիվությունը			
				Բակտերիալ ԴՆԹ, x10 ⁵ քվ/լ	Խմորա- սնկային ԴՆԹ, x10 ⁵ քվ/լ	Հորթի թի- մուսի ԴՆԹ, x10 ⁵ քվ/լ	Էրիթրո- ցիտոնե- րի ԴՆԹ, x10 ⁵ քվ/լ
1.19	7.75	0.015	1:66.6	0.96(0.08)	0.6(0.05)	0.22(0.01)	0.82(0.08)
4.65	7.57	0.060	1:16.6	1.54(0.12)	3.20(0.2)	0.81(0.03)	3.03(0.2)
5.76	7.51	0.077	1:12.9	1.61(0.13)	3.90(0.1)	1.05(0.09)	6.87(0.3)
6.87	7.45	0.097	1:10.3	1.63(0.11)	4.50(0.2)	1.21(0.08)	4.18(0.2)
7.95	7.39	0.107	1:9.3	1.65(0.08)	4.86(0.11)	1.3(0.11)	4.57(0.24)
9.02	7.34	0.123	1:8.1	1.65(0.09)	5.00(0.09)	1.5(0.09)	4.82(0.19)
10.08	7.29	0.138	1:7.3	1.66(0.11)	5.14(0.3)	1.6(0.11)	5.01(0.25)
11.11	7.23	0.150	1:6.6	1.67(0.12)	5.20(0.1)	1.7(0.07)	5.11(0.18)
12.13	7.18	0.169	1:5.9	1.69(0.05)	5.30(0.2)	1.8(0.1)	5.12(0.17)

Տանդազրություն. C_{ԵԲ}-ն էթիդիումի բրոմիդի կոնցենտրացիան լուծույթում, C_{ԴՆԹ} ԴՆԹ-ի կոնցենտրացիան լուծույթում, C_{ԵԲ}: C_{ԴՆԹ}՝ էթիդիումի բրոմիդի և ԴՆԹ-ի խտությունների հարաբերակցությունը:



Նկ. 1. Տարբեր օրգանիզմներից անջատված ԴՆԹ-ի և էթիդիումի բրոմիդի կոմպլեքսի ֆյուտրեպենտային ինտենսիվության կախումը ներկանյութի կոնցենտրացիայից (մասշտաբավորված կոր)

Հազեցման կորերի մաթեմատիկական վերլուծություն կատարելիս ընդունված է աշխատել առավելագույն մեծության q արժեքի հետ, ուստի ստացված տվյալների քննարկման համար ևս ընտրել ենք I_0/I_{max} մեծության q արժեքը և դիտարկել այդ արժեքին բնորոշ էթիդիումի բրոմիդի կոնցենտրացիաները: Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ էթիդիումի բրոմիդի այն կոնցենտրացիան, որը բնութագրում է հավի ճտի արյան էրիթրոցիտներից անջատված ԴՆԹ-ի մոլեկուլի հետ ներկանյութի կապման կիսահազեցման վիճակը (աղ. 2), կազմում է 6×10^{-6} M, իսկ C_{ԵԲ}:C_{ԴՆԹ} հարաբերությունը՝ 1:12, այսինքն՝ ԴՆԹ-ի կիսահազեցումն էթիդիումի բրոմիդով տեղի է ունենում այն պայմաններում, երբ ԴՆԹ-ի 12 զույգ նուկլեոտիդին համապատասխանում է լուծույթում ներկանյութի 1 մոլեկուլ: Հորթի թիմուսից անջատված ԴՆԹ-ի ֆյուտրեպենտային ցուցանիշների ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ ԴՆԹ-ի հազեցումն էթիդիումի բրոմիդով տեղի է ունենում ներկանյութի կոնցենտրացիայի 5.45×10^{-6} M արժեքի կամ C_{ԵԲ}:C_{ԴՆԹ}=1:12.5 հարաբերության դեպքում: Այսպիսով, էուկարիոտ օրգանիզմներից անջատված բարձրամոլեկուլային ԴՆԹ-ի ֆյուտրեպենտային ուսումնասիրությունը ցույց է տալիս, որ ԴՆԹ-ի կիսահազեցումը ներկանյութով տեղի է ունենում լուծույթում էթիդիումի բրոմիդի այն կոնցենտրացիայի պայմաններում, երբ ներկանյութի 1 մոլեկուլին համապատասխանում է ԴՆԹ-ի 12 զույգ նուկլեոտիդ:

Աղյուսակ 2. Տարբեր օբյեկտներից անջատված ԴՆԹ-ի ֆյուորեսցենտային ցուցանիշները

Տարբերակ, ԴՆԹ	Ֆյուորեսցենցիայի ինտենսիվությունը $\times 10^3$ քվ/վ	Էթիդիումի բրոմիդի կոնցենտրացիան	
		С _{էթ} , $\times 10^{-6}$ М	С _{էթ} :С _{ԴՆԹ}
Հավի ճտի արյան Էրիթրոցիտների	1.09 (0.03)	6.0(0.05)	1:12
Հորթի թիմուսի	0.99(0.01)	5.45(0.03)	1:12.5
Խմորասնկային	2.34 (0.02)	3.49(0.03)	1:18
Բակտերիալ	1.05(0.01)	1.77(0.01)	1:43

Խմորասնկային բջիջներից անջատված ԴՆԹ-ի ֆյուորեսցենտային ցուցանիշների ուսումնասիրության արդյունքները ցույց են տվել, որ Էթիդիումի բրոմիդի այն կոնցենտրացիան, որը բնութագրում է խմորասնկային ԴՆԹ-ի հետ ներկանյութի կապման կիսահազեցման վիճակը, կազմում է 3.49×10^{-6} М (նկ.1), իսկ С_{էթ}:С_{ԴՆԹ} հարաբերությունը՝ 1:18, այսինքն՝ ԴՆԹ-ի կիսահազեցումն Էթիդիումի բրոմիդով տեղի է ունենում այն պայմաններում, երբ ԴՆԹ-ի 18 զույգ նուկլեոտիդին համապատասխանում է լուծույթում ներկանյութի 1 մոլեկուլ:

Աշխատանքի հաջորդ փուլում իրականացվել է պրոկարիոտ բջիջներից անջատված ԴՆԹ-ի ֆյուորեսցենտային հատկությունների համեմատական ուսումնասիրում: Հետազոտության օբյեկտ են հանդիսացել մարդու աղիքային միկրոֆլորայի *E.coli* վայրի տիպի բակտերիալ բջիջները: Ինչպես ցույց են տվել ստացված տվյալները, պրոկարիոտ ԴՆԹ-ի դեպքում ևս, ինչպես էուկարիոտ ԴՆԹ-ի տարբերակում, Էթիդիումի բրոմիդի կոնցենտրացիայի աստիճանական բարձրացման պայմաններում բարձրանում է ֆյուորեսցենցիայի ինտենսիվությունը, ընդ որում՝ ԴՆԹ-ի հազեցումը ներկանյութով տեղի է ունենում հետևյալ պայմաններում. ներկանյութի կոնցենտրացիան կազմում է 1.77×10^{-6} М, իսկ С_{էթ}:С_{ԴՆԹ}=1:43:

Ստացված տվյալները թույլ են տալիս ենթադրել, որ պրոկարիոտ բջիջներից անջատված ԴՆԹ-ն ավելի արագ է հազեցում Էթիդիումի բրոմիդով, քան էուկարիոտ բջիջներից անջատված ԴՆԹ-ն: Ընդ որում, էական տարբերություններ են դրսևորվում նաև բարձրակարգ և ստորակարգ էուկարիոտ բջիջներից անջատված ԴՆԹ-ի ֆյուորեսցենտային պատկերում. ստորակարգ էուկարիոտ խմորասնկային ԴՆԹ-ն ավելի արագ է հազեցում ներկանյութով, քան հավի ճտի արյան Էրիթրոցիտներից անջատված ԴՆԹ-ն, իսկ հորթի թիմուսից և հավի ճտի արյան Էրիթրոցիտներից անջատված ԴՆԹ-ի դեպքում այդ տեսակետից էական տարբերություններ չեն դրսևորվում: Հավանական է, որ այս տարբերությունները կապված են էվոլյուցիոն տեսանկյունից ԴՆԹ-ի կազմակերպման մակարդակի բարձրացման հետ և բնութագրում են ԴՆԹ-ի փաթեթավորման տարբեր մակարդակները հետազոտված բջիջներում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Навасардян Л.А., Давтян М.А., Марутян С.В.* Влияние рентгеновского облучения на ДНК одноклеточных организмов: 1-Флюоресцентные исследования. МАНЭБ, 6, стр.53-55, 2001.
2. *Навасардян Л.А., Давтян М.А., Марутян С.В.* Изменение флюоресцентных показателей ДНК дрожжей *Candida guilliermondii* НП-4 под влиянием рентгеновского облучения и репарации. 2 Межд. симпозиум “Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии. Труды”, Москва-Дубна, 2, стр.121-125, 2002.
3. *Юденфренд С.*, Флюоресцентный анализ в биологии и медицине, изд-во Мир, М., 1965.
4. *Britten R.J., Graham D.E., Neufeld B. R.*, In: Methods in enzymology, N.Y., Acad.Press, 1974.
5. *Marmur J. J.* Mol.Biol., 3, p.208, 1961.

Ստացվել է 25.02.10



Биол. журн. Армении, 2 (62), 2010

СЕЛЕКТИВНОЕ ИЗВЛЕЧЕНИЕ МЕДИ, ЦИНКА И ДРУГИХ ЦЕННЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ ЦИНКОВОГО КОНЦЕНТРАТА АССОЦИАЦИЕЙ ХЕМОЛИТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

Н.С. ВАРДАНЯН, Л.С. МАРКОСЯН, А.К. ВАРДАНЯН

Центр микробиологии и депонирования микроорганизмов НАН РА,
г.Абовян, e-mail: nvard@sci.am

Изучены закономерности бактериального выщелачивания образцов цинкового концентрата Зангезурского медно-молибденового комбината (ЗММК) ассоциацией железоокисляющих хемолитотрофных бактерий (ЖОХБ). Показано, что при выщелачивании цинкового концентрата с наибольшей скоростью выщелачивается цинк, затем медь и впоследствии и железо, что обусловлено электрохимическими потенциалами соответствующих минералов. Установлено также, что при биовыщелачивании данного концентрата проявляется эффект гальванопар. Содержащийся в цинковом концентрате минерал железа – пирит, выполняя роль катода, стимулирует окисление минералов цинка и меди, имеющих более низкий электрохимический потенциал. Применение метода бактериального выщелачивания позволяет осуществить селективное извлечение меди, цинка и других ценных металлов из цинкового концентрата, что при традиционных технологиях невозможно или экономически не выгодно.

*Ассоциация железоокисляющих бактерий – биовыщелачивание –
селективное извлечение металлов*

Ուսումնասիրվել են Զանգեզուրի պղնձամոլիբդենային կոմբինատի ցինկի խտանյութի բակտերիալ տարալվացման օրինաչափությունները: Ցույց է տրվել, որ երկաթ օքսիդացնող բակտերիաների համակցությունների միջոցով ցինկի խտանյութից առավել մեծ արագությամբ տարալվացվում է ցինկը, ապա պղինձը և վերջում երկաթը, ինչը պայմանավորված է համապատասխան ապարների էլեկտրաքիմիական պոտենցիալներով: Հաստատվել է նաև, որ խտանյութի կենսատարալվացման ընթացքում դրսևորվում է գալվանական էֆեկտ: Երկաթի ապարը՝ պիրիտը, հանդես գալով որպես կատոդ, խթանում է ավելի ցածր էլեկտրաքիմիական պոտենցիալ ունեցող ցինկի և պղնձի ապարների օքսիդացումը: Բակտերիալ տարալվացման եղանակի կիրառումը թույլ է տալիս իրականացնել պղնձի, ցինկի և մյուս արժեքավոր մետաղների ընտրողական կորզում ցինկի խտանյութից, ինչը ավանդական եղանակների դեպքում անհնար է կամ ոչ արդյունավետ:

*Երկաթ օքսիդացնող բակտերիաների համակցություն (
կենսատարալվացում (մետաղների ընտրողական կորզում*

The peculiarities of bioleaching of zinc concentrate from Zangezur copper-molybdenum plant by association of ferrous oxidizing chemolithotrophic bacteria have been investigated. It was revealed, that during zinc concentrate bioleaching the greatest bioleaching rate represents zinc, then copper and the smallest rate was observed for iron. Besides the galvanic effect was occurred. Pyrite as the mineral with highest electro-chemical potential sti-

mulates the oxidation of minerals of copper and zinc possessing smaller potential. Bacterial leaching allows realizing selective recovery of zinc, copper and other valuable metals, which is impossible or uneconomical by traditional technologies.

Association of ironoxidizing bacteria – bioleaching – selective recovery of metals

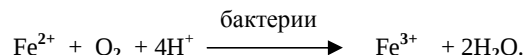
Полиметаллические руды относятся к наиболее труднообогатимым. Сложность их обогащения объясняется тонкой вкрапленностью различных сульфидов и их взаимным сростанием. Даже при тонком измельчении большая часть минералов цинка и меди находятся в сростках между собой и с пиритом, что не позволяет получать селективные некондиционные продукты при флотационном обогащении и приводит к значительным потерям цинка, меди, а также золота, серебра и других ценных элементов в отвалах и хвостах [1].

Чановое бактериальное выщелачивание является наиболее выгодным по экологическим и экономическим соображениям процессом для переработки вышеуказанных полиметаллических руд и концентратов.

Считают, что биовыщелачивание цинка происходит главным образом по непрямому механизму под действием трехвалентного железа (Fe^{3+}), являющегося продуктом окисления закисного железа и железосодержащих минералов бактериями. Окисление сфалерита (ZnS) ионами Fe^{3+} хорошо изучено [6,7]. Соответствующую реакцию можно представить следующим уравнением:



Согласно этим представлениям, роль хемолитотрофных бактерий, в частности, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, в процессе выщелачивания сфалерита сводится лишь к регенерации окислителя - Fe^{3+} согласно уравнению:



Однако в работах ряда авторов показано, что скорость окисления сфалерита в присутствии бактерий значительно выше, чем без них в тех же условиях [8, 10]. Установлено также, что наибольшую скорость окисления сфалерита обеспечивают умеренно термофильные бактерии *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* при 45° и экстремально термофильные бактерии [7, 12, 13]. Ряд авторов сообщают, что степень извлечения цинка с помощью *Leptospirillum ferrooxidans* выше, чем при использовании *A. ferrooxidans*, причем *L. ferrooxidans* проявляет высокую эффективность в окислении комплексных сульфидов даже в отсутствии сероокисляющих бактерий [9]. Вместе с тем нет данных, подтверждающих участие конкретных ферментов и ферментных систем бактерий в окислении сфалерита по прямому механизму.

Учитывая вышесказанное, для выщелачивания цинкового концентрата ЗМК (Армения) мы использовали железоокисляющую ассоциацию хемолитотрофных бактерий (ЖОХБ), состоящую из *A.ferrooxidans*, *L.ferrooxidans*, *S.thermosulfidooxidans*, а также сероокисляющих и других ацидофильных бактерий, проявляющую высокую эффективность в выщелачивании медного концентрата [4, 5].

Целью наших исследований являлось изучение возможностей селективного извлечения цинка и других ценных металлов из цинкового концентрата с помощью ассоциации хемолитотрофных бактерий.

Материал и методика. Объектом исследования служил образец цинкового концентрата ЗММК. Химический состав концентрата следующий: 2,64% меди, 58,7% цинка, 6,8% железа и 23,5% серы. Основные минералы представлены сфалеритом (ZnS), халькопиритом (CuFeS) и пиритом (FeS). Анализ цинкового концентрата был проведен общепринятыми в минералогии методами и любезно предоставлен нам ЗММК.

Для бактериального выщелачивания цинкового концентрата использовали ассоциацию ЖОХБ, полученную при инкубировании проб полиметаллической руды Ахтала (Армения) на среде 9К, содержащей двухвалентное железо в качестве источника энергии [2].

Образец концентрата измельчали до частиц размером 0,063 мм. Навески измельченного образца помещали в колбы Эрленмейера объемом 250 мл, смачивали дистиллированной водой и стерилизовали при 0,5 атм в течение 30 м. Затем их заполняли 50 мл питательной среды 9К без железа и (кроме контрольных вариантов) засеивали полученной культурой ЖОХБ. Выщелачивание проводили в периодическом режиме на качалке (180об./мин) при 30°C.

Интенсивность выщелачивания концентрата оценивали по количеству выщелоченных меди, цинка и железа, а также по снижению pH среды и увеличению титра использованных культур бактерий.

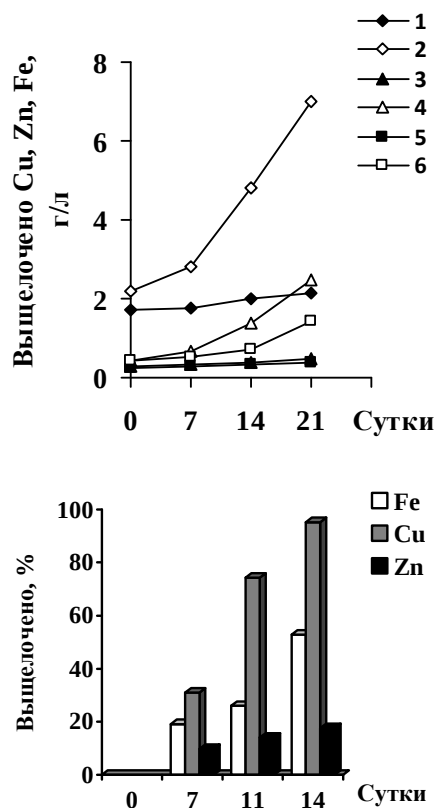
Количество Fe^{2+} и Fe^{3+} определяли комплексонометрическим методом с трилоном Б [3]. Количество выщелоченных меди, цинка и общего железа определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре AAS 1N (Carl Zeiss, Германия).

За ростом бактерий наблюдали с использованием микроскопа МБИ-3 (ЛОМО, Россия) с фазово-контрастным устройством. Количество жизнеспособных клеток определяли методом предельных разведений, наиболее вероятное число их рассчитывали по таблицам Мак-Креди [2].

Опыты проводили в трехкратной повторности. Данные обрабатывали статистически.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что применение ЖОХБ для выщелачивания цинкового концентрата позволяет увеличить извлечение цинка в 3,3, меди в 4-5 и железа в 2,0 раза по сравнению с неинкулированным контролем (рис. 1а). При этом с наибольшей скоростью выщелачивается цинк, затем медь. Скорость выщелачивания железа была значительно ниже. Так, скорость извлечения цинка в 2 и 10 раз превышала скорости извлечения меди и железа соответственно. Полученные результаты можно объяснить электрохимическими свойствами сульфидов указанных металлов, входящих в состав концентрата. Известно, что электрохимический потенциал сульфидных минералов является фундаментальной основой их окисления, который определяется энергией металл – сера связей в кристаллической решетке минералов [11]. В данной системе, содержащей смесь сульфидов металлов, в первую очередь окисляется минерал с более низким потенциалом. Сфалерит имеет низкий электродный потенциал и быстро окисляется. Минерал меди – халькопирит характеризуется более высоким потенциалом и окисляется менее активно. Наивысшим потенциалом в данной системе обладает пирит, который с трудом подвергается окислению, в том числе бактериальному.

Показано, что при выщелачивании цинкового концентрата проявляется эффект гальванопар. Содержащийся в цинковом концентрате высоко-потенциальный минерал железа – пирит, выполняя роль катода, стимулирует окислительный процесс низкопотенциальных минералов – сфалерита и халькопирита. Причем интенсивность окисления минерала - анода прямо пропорциональна разнице в величинах электродного потенциала партнеров гальванической пары. То есть, максимальной коррозии подвергается наиболее низкопотенциальный член этой системы, каковым является сфалерит. Кроме того, образовавшиеся в результате частичного выщелачивания пирита бактериями ионы Fe^{3+} , в свою очередь, окисляет сульфид цинка (непрямое окисление сфалерита).



б)

Рис.1.а) Кинетика выщелачивания цинка (1,2), меди (3,4) и железа (5,6) при химическом (1, 3, 5) и бактериальном окислении (2, 4, 6) цинкового концентрата,
б) извлечение цинка, меди и железа при выщелачивании цинкового концентрата сообществом хемолитотрофных бактерий (рН 2,0; плотность пульпы -2%; t 30°)

Несмотря на различие в скорости выщелачивания составляющих сульфидов, за 10 сут степень извлечения металлов из цинкового концентрата указанным сообществом ХБ достигала 95,2%, 52,9% и 20,6% для меди, железа и цинка соответственно (рис.1б).

Проведенные исследования показали также, что при снижении рН среды (рН 1,4-1,7) увеличивается скорость извлечения цинка, а при добавлении к среде биоокисления 2г/л Fe³⁺ в 3 раза возрастает скорость извлечения меди, тогда как скорость извлечения цинка уменьшается (1,3 раз), а окисление сульфида железа резко (в 2-3 раза) ингибируется.

Таким образом, учитывая разные скорости биоокисления сульфидов различных металлов, входящих в состав концентрата, обусловленные их электрохимическими свойствами и сложными взаимодействиями между ними, варьированием физико-химических параметров процесса бактериального выщелачивания можно осуществить селективное извлечение меди, цинка и других ценных металлов из цинкового концентрата, что при традиционных технологиях невозможно.

Работа выполнена при поддержке гранта ANSEF 2010 NS 2091.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алоян П.Г., Алоян Г.П., Давтян А.А., Маркосян А.А., Арутюнян Т.М., Степанян И.Г. Металлы: Черные, цветные, благородные, редкие металлы и редкие земли. ГЕОИД, Ереван, 2006.
2. Биоготехнология металлов. Практическое руководство. /под ред. Г.И. Каравайко, Дж. Росси, А.Азате, С. Грудева, З.А.Авакян). М.: Центр Международных проектов ГКНТ, 1989.
3. Резников А.А., Муликовская Е.П., Соколов И.Ю. Методы анализа природных вод. М.: Недра, 1970.
4. Нагдалян С.З., Кочарян Е.М., Варданын Н.С. Особенности сообщества хемолитотрофных бактерий при выщелачивании медного концентрата. Биолог. журнал. Армении, 61, 1, с.18-23. 2009.
5. Варданын Н.С., Нагдалян С.З. Периодическое выщелачивание упорных золотосодержащих пиритных руд. Прикл. биохимия и микробиология, 45, 4, с. 446-451, 2009.
6. Carranza F., Carcia M.J., Palentia I., Pereda J. Kinetic improvment of high-grade sulfides bioleaching by effects separation. Hydrometallurgy, 26, 67-76, 1990.
7. Deveci H., Akcil A., Alp I. Bioleaching of complex zink sulfides using mesophilic and thermophilic bacteria: comparative importance of pH and iron. Hydrometallurgy, 73, 3-4, 293-303, 2004.
8. Fowler T.A., Crundwell F.K. Leaching of Zinc Sulfide by *Thiobacillus ferrooxidans*: Bacterial Oxidation of the Sulfur Product Layer Increases the Rate of Zinc Sulfide Dissolution at High Concentrations of Ferrous Ions. Appl. Environ. Microbiol., 65, 12, 5285-5292, 1999.
9. Giaveno A., Lavalle L., Chiacchiarini P., Donati E. Bioleaching of zink from low-grade complex sulfide ores in an airolift by isolated *L. ferrooxidans*. Hydrometallurgy, 89, 1-2, 117-126, 2007.
10. Harneit K., Goksel A., Kock D., Klock J.-H., Gehrke T., Sand W. Adhesion to metal sulfide surfaces by cells of *Acidothiobacillus ferrooxidans*, *Acidothiobacillus thiooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans*. Hydrometallurgy, 83, 245-254, 2006.
11. Olson G.J., Brierley J.A., Brierley C.I. Bioleaching rewiew part B: Progress in Bioleaching: Applications of microbial processes by the minerals industries. Appl. Environ. Microbiol. 63, 249- 257, 2003.
12. Rehman M., Anvar M.A., Akhtar K. et al. Bioleaching of high-grade Pb-Zn ore by mesophilic and moderately thermophilic iron and sulphur oxidizers. Hydrometallurgy, 97, 1-2, p. 1-7, 2009.
13. Sandstrom A., Petersson S. Bioleaching of complex sulfide ore with moderate thermophilic and extreme thermophilic microorganisms. Hydrobiology, 46, 181-190, 1997.

Поступила 21.05.2010.



Биол. журн. Армении, 2 (62), 2010

ВОЗДЕЙСТВИЕ дсРНК НА СИНТЕЗ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И МАРКЕРНОГО БЕЛКА В КЛЕТКАХ HeLa В УСЛОВИЯХ IN VITRO

З.Б. СЕМЕРДЖЯН, О.С. ЗАКАРЯН, Н.В. РАМАЗЯН, Г.Р. АВАГЯН

Институт молекулярной биологии НАН РА

Методами цитофотометрии и цитоморфометрии исследовали физиологические показатели поведения клеток карциномы шейки матки человека (HeLa) в процессе культивирования до и после введения в среду двуспиральной РНК.

Под действием дсРНК повышается содержание ДНК в ядрах и ядрышках клеток, полностью исчезают диплоидные клетки, увеличивается число тетраплоидных и появляются октаплоидные клетки. Повышается содержание РНК в ядрышках и цитоплазме клеток. Возрастает среднее количество ядрышек на ядро. Полученные данные объясняются блоком клеток в фазе G2. Процент анеуплоидных клеток снижается с 85 до 64.

С увеличением времени инкубации синтез маркерного для клеток HeLa васкулярного эндотелиального ростового фактора (VEGF) в популяции клеток возрастает, а при действии дсРНК в течение 24 ч его синтез в клетках значительно снижается. Затем происходит восстановление уровня VEGF до контрольных значений, что объясняется кратковременным эффектом воздействия дсРНК.

*Двухспиральная РНК – культура клеток HeLa – ядро – ядрышко –
ДНК – РНК*

Ցիտոֆոտոմետրիայի և ցիտոմորֆոմետրիայի մեթոդներով ուսումնասիրվել է մարդու արգանդի վզիկի բջիջների (HeLa) վարքագծի ֆիզիոլոգիական ցուցանիշները կուլտիվացիայի ընթացքում միջավայրի մեջ երկպարույր ՌՆԹ-ի ներմուծման և առանց վերջինիս ազդեցության պայմաններում:

Երկպարույր ՌՆԹ-ի ազդեցության տակ աճում է ԴՆԹ-ի քանակը բջջի կորիզներում, ամբողջովին անհետանում են դիպլոիդ բջիջները, ավելանում է տրիպլոիդների քանակը և ի հայտ են գալիս օկտապլոիդ բջիջներ: Ավելանում է նաև բջջի ցիտոպլազմայում և կորիզակներում ՌՆԹ-ի քանակը և կորիզում՝ կորիզակների միջին թիվը: Ստացված տվյալները բացատրվում են G2 փուլում բջիջների արգելակմամբ: Անետալոիդ բջիջների տոկոսն իջնում է 85 մինչև 64: Բջջիջների կուլտիվացման ընթացքում VEGF-ի սինթեզը բջիջների պոպուլյացիայում աճում է, իսկ երկպարույր ՌՆԹ-ի ազդեցությունից 24 ժամվա ընթացքում այն նկատելիորեն նվազում է: Այնուհետև կատարվում է VEGF-ի մակարդակի վերականգնում, ինչը բացատրվում է երկպարույր ՌՆԹ-ի կարճաժամկետ ազդեցությամբ:

Երկպարույր ՌՆԹ - բջջային կուլտուրա HeLa - կորիզ - կորիզակ - ԴՆԹ, ՌՆԹ

The biological behavior of human transformed HeLa cells and their nuclei and nucleoli under the influence of double-stranded low molecular RNA during cultivation were studied by methods of cytomorphometry and cytophotometry. The synthesis of vascular endothelial growth factor (VEGF) by HeLa cells were investigated as well.

Under the action of dsRNA increases the total DNA content of HeLa cells, diploid population disappears, 4 «c» population increases, appears 8c cells. The obtained results shown that dsRNA cause G2-block of HeLa cells and develop polyploid cells. During the cultivation period increases the VEGF synthesis. The influence of double-stranded RNA synthesis VEGF in cells decreased within 24 hours. Then occurs the restoration of the VEGF level to its level in control, which is explained with a short-time effect of the influence dsRNA.

Double-stranded RNA - cell line HeLa – nucleus – nucleolus – DNA - RNA

Двуспиральные рибонуклеиновые кислоты (дсРНК) являются биологически активными соединениями, обладающими широким спектром активности [2]. Ранее было показано, что Na-дсРНК и Ca-дсРНК обладают ингибирующими рост клеток свойствами [3,4].

Биологические эффекты дсРНК могут быть как результатом действия индуцированного эндогенного интерферона (ИФН), так и прямого воздействия дсРНК в зависимости от того, на каких культурах (ИФН-резистентных или нет) проводятся эксперименты. Линия HeLa является одной из первых постоянных клеточных линий человека. Она была выведена из клеток карциномы шейки матки. Известно, что клетки линии HeLa не способны производить интерферон (ИФН) [6], вследствие чего дсРНК не оказывает на них ИФН-опосредованного действия.

Васкулярный эндотелиальный ростовой фактор (VEGF) является известным стимулятором пролиферации для клеток эпителиального происхождения [7,8].

Целью работы было выявление воздействия дсРНК на содержание ДНК и РНК в клетках HeLa, изменение классов плоидности клеток и динамику синтеза маркерного для данной культуры белка – VEGF.

Материал и методика. Клетки. Клетки HeLa культивировались на покровных стеклах в среде Игл-DMEM с добавлением глутамина и 10%-ной фетальной бычьей сыворотки.

Определение VEGF в надосадочных пробах клеток HeLa. Антитела IgG к VEGF в надосадочной жидкости клеток HeLa определяли набором фирмы Diacclone Research методом ELISA, основанном на классической твердофазной иммуноферментной технике.

дсРНК. В качестве источника дсРНК использовали ларифан (Na⁺-дс-РНК) в дозе 16 мг/мл, который производится в Латвии в Институте микробиологии и был предоставлен др. Г. Фелдмане. Он получен из биомассы *Escherichia coli*, инфицированными амбермутантным фагом f2.

Цитофотометрия. Все препараты фиксировали в 96 %-ном этиловом спирте в течение 30 мин и окрашивали фуксином по Фельгену [5] Количественное определение комплекса ДНК-фуксин, площади и периметра ядра и каждого из ядрышек в отдельности и суммарно проводили при длине волны 575 нм на цитоспектрофотометре SMP 05 фирмы OPTON теле-визионным методом с оконтуриванием ядра и каждого из ядрышек в отдельности. В качестве эталона ДНК использовали лимфоциты доноров, на их основе выявляли распределение клеток культуры по плоидности (%) и определяли соотношение эу- и ануэуплоидных клеток, среднее число яд-рышек в ядрах в %.

Содержание РНК в ядрышках и цитоплазме определяли после окраски препаратов галлоцианин-хромовыми квасцами по методу Зандриттера [1] с последующей фотометрией препаратов при длине волны в 610 нм тем же методом.

Достоверность различий средних значений оценивали по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Выявлено, что в цитоплазме и ядрышках контрольной популяции клеток HeLa содержание РНК достоверно меньше, чем при воздействии дсРНК. Увеличение количества РНК в опыте происходит одновременно с увеличением площади цитоплазмы и достоверным увеличением среднего числа ядрышек на ядро, но при неизменной суммарной площади ядрышек.

Содержание РНК в цитоплазме, ядрышке и число ядрышек в ядре в среднем увеличивается на 20-25 % (табл. 1).

Таблица 1. Основные транскрипционные показатели клеток HeLa в норме и под действием дсРНК

Показатели	HeLa контроль 48 ч		HeLa + дсРНК	
	Цитоплазма	Ядрышко	Цитоплазма	Ядрышко
РНК ($\bar{x} \pm \sigma_x$)	255.7 $\pm$ 6.7	28.9 $\pm$ 1.3	305.2 $\pm$ 8.7*	37.2 $\pm$ 1.7*
Площадь (у.е)	144.8 $\pm$ 4.8	8.9 $\pm$ 0.4	199.4 $\pm$ 6.0*	8.9 $\pm$ 0.3
Среднее число ядрышек	-	2.3 $\pm$ 0.15	-	3.0 $\pm$ 0.16*

* $p < 0.01$ по сравнению с контролем

Таблица 2. Динамика содержания ДНК (с), площадь и периметр ядер и ядрышек клеток HeLa в контроле и при воздействии на нее дсРНК

Группы	Срок культивирования, ч	Ядро			Ядрышко		
		ДНК (с)	Площадь, у.е.	Периметр, у.е.	ДНК, у.е.	Площадь, у.е.	Периметр, у.е.
Контроль	48	3,8 $\pm$ 0,2*	77.9 $\pm$ 1.8	21.0 $\pm$ 0.3	8.7 $\pm$ 0.5*	6.3 $\pm$ 0.2	6.8 $\pm$ 0.3
дсРНК	24+24	4,6 $\pm$ 0,2*	80.1 $\pm$ 2.0	21.0 $\pm$ 0.5	11.7 $\pm$ 0.5*	6.7 $\pm$ 0.3	7.2 $\pm$ 0.4

* $p < 0.001$ по сравнению с контролем

Как видно из табл. 2, содержание ДНК в ядрах клеток HeLa при действии дсРНК увеличивается более чем на 20%, в то время как площадь и периметр ядер меняются незначительно. Такая же тенденция сохраняется и в ядрышках.

Как видно из рис 1 (а,б), в контрольной популяции клеток HeLa, которая в целом околотетраплоидная (3,8с), преобладают анеуплоидные клетки в районе 3с и 5с ДНК.

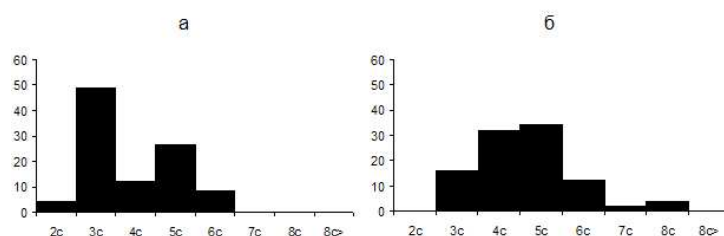


Рис. 1. Распределение ядер клеток культуры HeLa по плоидности в контроле (а) и при действии дсРНК (б)

Небольшая популяция диплоидных клеток составляет менее 5%. При действии дсРНК полиплоидия в клетках HeLa значительно увеличивается. Процент триплоидных клеток в контроле составляет около 50, в опыте их число уменьшается более чем вдвое. Увеличивается содержание тетраплоидных клеток, что, вероятнее всего, связано не с анеуплоидией, а с прохождением клетками S – фазы или задержкой их в G₂ – фазе митотического цикла.

Из рис. 1 видно, что гистограмма смещается вправо, что свидетельствует о повышенном накоплении ДНК (культура становится гипертетраплоидной – 4,6 с), исчезает диплоидная и увеличивается тетраплоидная популяции, появляются октаплоидные клетки. Процент анеуплоидных клеток снижается с 85 до 64.

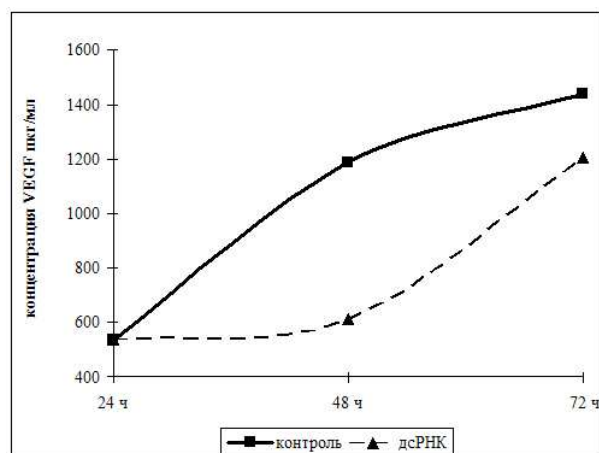


Рис. 2. Изменение содержания VEGF при действии дсРНК

Из рис. 2 видно, что в контроле концентрация VEGF в начале наблюдения составляла 537 пкг/мл, к 48 ч культивирования увеличилась до 1188 пкг/мл; к 72 ч она возрасла до 1440 пкг/мл. При действии дсРНК уровень VEGF в течение первых 24 ч по сравнению с исходным меняется незначительно, но ввиду того что дсРНК оказывает воздействие в течение ограниченного срока (около 24 ч) по окончании действия дсРНК содержание VEGF увеличивается до 1202 пкг/мл, что почти соответствует контролю.

Итак, под действием дсРНК транскрипционная активность клеток возрастает и к 24 ч от начала опыта содержание РНК в ядрышках и цитоплазме клеток достоверно выше, чем в контроле. Возрастает среднее количество ядрышек на ядро. Показано также увеличение содержания ДНК в ядрах клеток HeLa. Выявленное нами повышение транскрипционной активности клеток HeLa под действием дсРНК объясняется блоком клеток в фазе G_2 . Подтверждением блокирования клеток в фазе G_2 является возникновение 8с клеток, отсутствующих в контроле. Известно, что один из пиков наибольшей транскрипционной активности в условиях *in vitro* приходится на начальные этапы G_2 фазы [11], вследствие чего возрастает среднее количество ядрышек.

Кратковременный эффект дсРНК в отношении синтеза VEGF объясняется быстрой инактивацией молекулы дсРНК с распадом на отдельные нуклеотиды. По данным литературы [9], период полураспада дсРНК в клетках HeLa составляет всего около 30-40 мин. После этого в течение нескольких часов проявляются физиологические эффекты, вызванные дсРНК, а затем происходит восстановление клеточных показателей до контрольных значений. Согласно данным литературы [10], в условиях *in vitro* анеуплоидия клеток прямо коррелирует с повышенным синтезом VEGF, что, скорее всего, является причиной снижения синтеза VEGF.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Зандриттер В., Кифер Г., Рик В.* Галлоцианин-хромовые квасцы. В кн.: Введение в количественную цитохимию. М.: Мир. 240-264., 1969.
2. *Земсков В. М., Лидак М. Ю., Земсков А. М., Микстайс У. Я.* Низкомолекулярная РНК. Получение, гидролиз и применение в медицине. Рига. Зинатне, с.191.,1985.
3. *Каралова Е. М., Камалян Л. А., Аброян Л.О., Акопян Л. А., Гаспарян М. Г., Джагацпнян Н. Г., Каралян А., Тер-Погосян З. П., Магакян Ю. А.,* Цитология. 45, 8, 2003.
4. *Каралова Е. М., Камалян Л. А., Аброян Л.О., Акопян Л. А., Гаспарян М. Г., Джагацпнян Н. Г., Каралян А., Тер-Погосян З. П., Магакян Ю.А.* Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 137, 6, 2004.
5. *Магакян Ю. А., Каралова Е. М.* Цитофотометрия ДНК., Ереван. Изд-во АН АрмССР, 204 с., 1989.
6. *Cantell K.* Archives of Virology.10, 4, 510-521,1961
7. *Ferrara N. and Davis-Smyth T.,* Endocrine Reviews.18, 1, 4-25, 1997.
8. *Ferrara N.* Journal of Molecular Medicine, 77, 7, 527-543, 1999.
9. *Dynamics H.* Degradation and Chemical Modification of Non-Coding RNA.University of Michigan .Doctor diss. 2008.
10. *Hunter J. A. C., Skelly R H., Aylwin S. J. B., Geddes J. F., Evanson J., Besser G. M., Monson J. P., Burrin J. M.* European Journal of Endocrinology.148, 203–211, 2003.
11. *Silvestrini R., Di Marco A. and Dasdia T.,* Cancer Research. 30, 966-973, 1970.

Поступила 04.09.2009.



Biolog. Journal of Armenia, 2 (62), 2010

POLAR LIPID PATTERN AND FATTY ACID COMPOSITION OF THERMOPHILIC BACILLI ISOLATED FROM A SITE WITH GEOTHERMAL ANOMALY OF DILIJAN (ARMENIA)

H.H. PANOSYAN

Yerevan State University, Faculty of Biology, Department of Microbiology and Plant and Microbe Biotechnology, hpanosyan@yahoo.ca

Polar lipid (phospho-, glyco- and aminolipids) pattern and fatty acid (elongated, saturated and unsaturated, iso- and anteiso-branched fatty acids) composition of cytoplasmic membrane of seven thermophilic bacilli at the optimal growth temperature were analyzed. Phospholipids and particularly phosphoglycolipids as the main polar lipids found in isolates were studied. The predominance of branched chain of iso- and anteiso- fatty acids ranging from 73 to 89% of total fatty acids was shown. The strong presence of elongated, saturated and branched chain fatty acids and absence of unsaturated acids confirmed the membrane lipids structure and composition significance for thermophility formation of all tested isolates. Chemotaxonomic implications on the basis of branched chain fatty acid analysis were reported.

Polar lipids - fatty acids – thermophiles - Bacillus and related genera

Ուսումնասիրվել է յոթ ջերմասեր բացիլների (թերմոֆիլ) պլազմային մեմբրանի բևեռային լիպիդների (ֆոսֆոլիպիդներ, գլիկոլիպիդներ և ամինոլիպիդներ) և ճարպաթթուների (երկար շղթաներով, հագեցած և չհագեցած, իզո- և անթեիզո-ճյուղավորված ճարպաթթուներ) կազմը աճի օպտիմալ ջերմաստիճանում: Հաստատվել է, որ ֆոսֆոլիպիդները, մասնավորապես ֆոսֆոգլիկոլիպիդները, հանդիսանում են մեկուսացված բացիլների հիմնական բևեռային լիպիդները: Ցույց է տրվել երկար շղթաներով իզո- և անթեիզո-ճյուղավորված ճարպաթթուների գերակշռումը, որոնք կազմում են գումարային ճարպաթթուների 73-ից մինչև 89%: Երկար շղթաներով հագեցած, ճյուղավորված ճարպաթթուների գերակշռումը և չհագեցած ճարպաթթուների բացակայությունը հաստատում են թաղանթային լիպիդների կառուցվածքի և կազմի նշանակությունը ուսումնասիրված ջերմասեր բացիլների ջերմադիմացկունության համար: Ըստ ճյուղավորված շղթաներով ճարպաթթուների վերլուծության մեկուսացված բացիլները խմբավորվել են բեմոտաքսոնոմիայի նպատակով:

*Բևեռային լիպիդներ – ճարպաթթուներ – թերմոֆիլներ –
ցեղ Bacillus և հարակից տեսակներ*

Изучен состав полярных липидов (фосфо-, глико- и аминоклипидов) и жирных кислот (длинноцепочечные, насыщенные и ненасыщенные, изо- и антеизо-разветвленные жирные кислоты) цитоплазматической мембраны штаммов термофильных бацилл, при оптимальной для роста температуре. Установлено, что фосфолипиды, в частности, фосфогликолипиды, являются основными полярными липидами изолятов. Показано доминирование длинноцепочечных изо- и антеизо-разветвленных жирных кислот, состав-

ляющих 73-89 % суммарных жирных кислот. Наличие длинноцепочечных насыщенных и изо-разветвленных жирных кислот и отсутствие ненасыщенных жирных кислот подтверждает значение структуры и состава мембранных липидов для формирования термофилии изученных изолятов. Для хемотаксономических целей изоляты сгруппированы на основании анализа разветвленных жирных кислот.

*Полярные липиды - жирные кислоты - термофилы -
род Bacillus и родственные виды*

The ability of microbes to thrive in high-temperature environments has recently prompted researchers to study these microorganisms to understand better their interesting physiological traits [3]. The phenomenon of thermostability of microorganisms represents an intricate problem involving many factors, which could be responsible for the stability of entire cells and cellular components [1,5]. Cell membranes are an obvious target when subjected to severe treatments. In thermophilic species polar lipids form a large proportion of the cellular membrane fractions and usually include phospholipids and glycolipids [7, 16]. Comparative studies on the fatty acid (FA) composition of psychrophilic, mesophilic and thermophilic bacilli have shown that a certain preference for the synthesis of saturated, elongated and branched FAs existed at higher temperature [9, 14, 15]. This is determined by the changes occurring as a result of temperature alterations. In fact, microorganisms synthesize their lipids rapidly, and therefore, they must respond to a changing environment with equal rapidity, altering their membrane lipid composition. It is one of the adaptation mechanisms to allow the survival of thermophiles in extreme conditions [3, 5].

The analysis of the membrane lipids is also a useful chemotaxonomic approach for classification and identification of some bacteria. The significance of the branched-chain FA for classification of representatives of the genus *Bacillus* and related genera is impressive [8, 9, 17].

The aim of this study is to determine polar lipid and FA composition of seven thermophilic strains of bacilli isolated from soil sampled from the site with geothermal anomaly (Dilijan, Armenia) to ascertain lipids role in thermophily formation mechanism. Chemotaxonomic implications on the basis of fatty acid analysis were reported too.

Material and Methods. The objects of investigation were seven selected thermophilic bacilli designated as T-2, T-3, T-4, T-6, T-7, T-9 and T-10 isolated from the soil sampled from site with geothermal anomaly (40°44'27.7" N, 44°52'01.52" E) near the town of Dilijan [2].

Cultivation conditions. All cells were cultivated in a medium containing (g/l) NaCl, 5; CaCO₃, 3; yeast extract, 5; peptone, 5; glucose, 10; pH 7.2. Solid medium was prepared by the addition of 2% agar [2]. After incubation of slants at optimal temperature (for T-4 and T-7 at 50°, for T-2, T-3 and T-6 at 55°, and for T-9 and T-10 at 65°) for 24 hr cells were inoculated into flasks containing 5 ml of liquid medium and cultured in corresponding conditions on shaker. Up to 1 liter of liquid culture was obtained for each isolate by using gradual inoculation method. Cell growth was monitored by a spectrophotometer. Cultures were grown up to the late exponential phase (turbidity 0.5 OD at 540 nm) [13]. Cells were harvested by a centrifugation (10000 g, 15 min).

Lipid analysis. Total lipids were extracted from freshly harvested cells by CHCl₃/CH₃OH (1:1, v/v) mixture under shaken conditions overnight [4]. Solvents were removed with a rotavapor and lipids were weighed for calculation of lipid yield. Lipids were fractionated by thin layer chromatography (TLC) on silica gel (0.25 mm, F254, Merck KGA) [4]. The mixture of CHCl₃/CH₃OH/H₂O (65:25:4, v/v/v) was used as a solvent system for the initial monodimensional TLC experiment [4]. The phospholipids were identified by using also bidimensional TLC. The plate was developed in the first dimension in solvent system CHCl₃/CH₃OH/H₂O (65:25:4, v/v/v) and in second dimension in solvent system CHCl₃/CH₃OH/CH₃COOH/H₂O (85:12:15:4, v/v/v/v) [13]. Lipid solutions extracted from the strains *Thermus* sp. and *Bacillus* (*Geobacillus*)

thermoleovorans from the Collection of Extremophilic Bacilli at the Institute of Biomolecular Chemistry (C.N.R., Naples, Italy), as well as cardiolipin disodium salt from bovine heart (CL), rac1,2-dipalmitoyl-glycero-3-phosphoethanolamine (PEA), 2,3-dipalmitol glycero-1-phosphocholine (PC1), 1,2-dipalmitol-SN-glycero-3-phosphocholine monohydrate (PC₃), 1(3-SN-phosphatidyl)-rac-glycerol sodium salt (PG) and 3-SN-phosphatidyl-1-serine from bovine brain (PS) were used as standards.

Lipids were detected by spraying the plates with Cs₂SO₄ in H₂SO₄ (w/v) followed by heating at 100° for 5 min. Staining tests for complex lipids were performed by using specific reagents for phospho-, glyco- and aminolipids [6, 10, 11].

Fatty acid analysis. FA methyl esters (FAME) were obtained from complex lipids by acid methanolysis (CH₃OH/HCl anhydrous 9:1 at 80° overnight). Samples were treated repeatedly with the mixture of CH₃OH and CHCl₃ and dried under nitrogen until disappearance of HCl smell. The purity of samples was assessed by TLC analysis. Samples were eluted with N-hexane/CH₃CH₂OH (96:4 v/v), detected by exposure to J2 vapors and compared with standards. FAME analyses were performed by gas liquid chromatography (GLC, Carlo Erba HRGC 5300 Instrument, FID, OV 1.25m x 0.32mm, 0.25µm). Identification was accomplished by comparison with a standard mixture of FAMES. In addition to GLC, identification of each sample component was confirmed by mass spectroscopy analyses, which were performed with an GC-MS HP5890 series II TRIO 2000 VG analytical Instrument, using flame-ionization detector (FID) under following conditions: HP-5 column, temperature programme of 120° (1 min), from 120 to 230° at 2°/min, from 230° to 250° at 10°/min, injection volume 1µl. The identification of the compounds was performed by parallel runs of pure standards (Sigma), and by interpretation of mass spectra [13].

Results and discussion. The total lipid content of studied seven thermophilic isolates ranged between 1.8-2.64% of the cells biomass at the optimal growth temperature. Phospho-, glyco- and aminolipids of thermophilic isolates were extracted and fractionated by monodimensional TLC [4]. Phospho- and glycolipids formed a large proportion of the cellular membrane fractions for all seven isolates examined. The phospholipids represented the main polar lipids found in all isolates studied. The glyco- and phospholipids content of all studied bacilli compared with lipids extracted from *Thermus sp.* and *Bacillus (Geobacillus) thermoleovorans* is shown in figures 1 and 2. A major and some minor phosphoglycolipids were detected in each isolate. A major and a minor glycolipid, with the exception of minor phosphoglycolipids, were detected only for the isolate T-9 (Fig. 1). Other glycolipids were not visualized in chromatograms probably due to their absence in most of studied isolates. It was shown earlier that glycolipids were widely distributed within species of the *Bacillus* and related genus and their absence was reported only for few bacilli species [12, 13]. Recently It was recently reported also that relative proportion of the main glycolipids increase with growth temperature [18]. Presumably sugar-containing lipids increase the hydrogen-bonding capacity of the lipid bilayer surface, thus stabilizing the membrane at high temperatures. Consequently the high proportion of phosphoglycolipids in all isolates and additional glycolipids in strain of T-9 could contribute to the ability of the bacteria to grow at high temperature.

Analogy in aminolipid content between all studied bacilli was observed. Major aminolipids and aminoglycolipids and minor phospholipids, phosphoglycolipids, aminolipids, aminophospholipids and or their traces were also detected in isolates. As shown in Figures 1 and 2, in general, by phospho- and glycolipids content isolates T-9 and T-10 were similar to *Bacillus (Geobacillus) thermoleovorans* that indicated the belonging of these isolates to obligatory thermophilic ones of *Bacillus* or related genera. Analogy in polar lipids content of studied bacilli and *Thermus sp.* were not observed.

Analysis of mono- and bidimensional TLC of lipid extract from some of studied bacilli revealed components that could be identified as PEA (Fig. 3). For the isolates of

T-9 and T-10 were detected also PG and CL. Other tested phospholipids, probably due to their small amount were not identified.

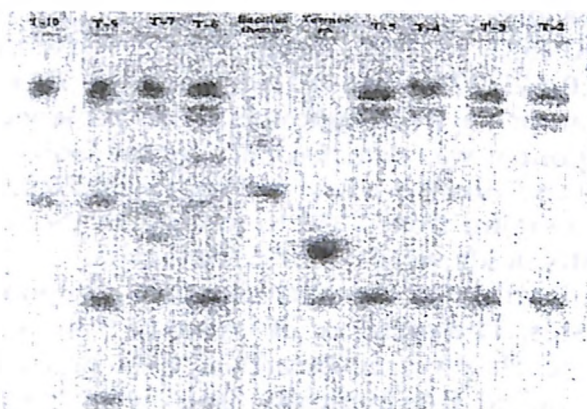


Figure 1. TLC of sugar containing lipids. The plates were treated with α -naphthol for detection glycolipids.

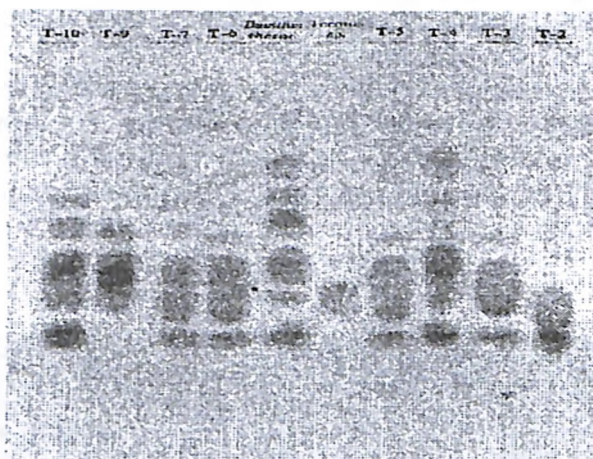


Figure 2. TLC of phospholipids. The plates were treated by specific reagent as reported Dittmer&Lester [6] for detection phospholipids.

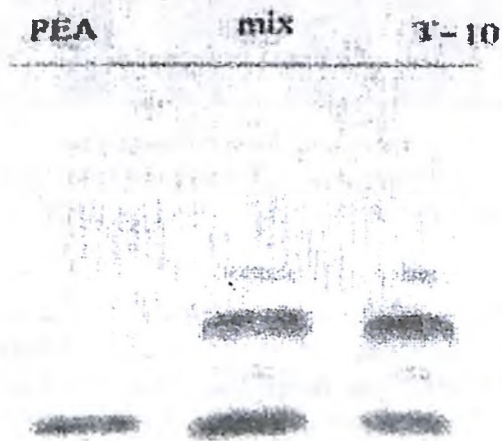


Figure 3. TLC of phospholipids of isolate T-10 compared with PEA using as standard. Mix – mixture of PEA and lipid solution extract of T-10.

The results for determination of FA composition of thermophilic isolates at the optimal temperature of growth are shown in Table 1. All isolates were characterized by the predominance of branched chain *iso*- and *anteiso*- FAs (mainly *i*C15:0, *ai*C15:0, *i*C17:0, *ai*C17:0, often *i*C16:0, *ai*C16:0, rarely *i*C14:0, *i*C18:0 *i*C19:0). The other major components were *n*C16:0 (11-27%) and *n*C18:0 (2-15%). FAs *n*C14:0, *n*C15:0, *n*C17:0 and *n*C19:0 were absent or in trace amounts. The presence of *i*C18:0, *i*C19:0 and *ai*C19:0 as a minor component was detected only for the isolate T-2. The ratio of normal and branched (both *iso*- and *anteiso*-) FAs are shown in figure 4. In general, branched FAs were predominant, ranging from 73% to more than 89 % of of all FAs measured, while straight chained fatty acids were minor components.

The branched-*iso*-family was the most abundant component of the FA mixture for major part of tested isolates. The presence of branched FAs is considered to be a means of maintaining membrane fluidity; *iso*-branched FAs generally have higher melting points, while *anteiso*-branched FAs typically have lower melting points. *Iso*-branched FAs of isolates T-2, T-3, T-6, T-9 and T-10 constituted 42-65% of total FAs and greatly predominated over *anteiso*-branched FAs, which constituted 17-35%. By contrast, *anteiso*-branched FAs of isolates T-4 and T-7 slightly predominated over the *iso*-branched. This can be explained by optimal growth temperature, which is the lowest among all tested strains (50° for both isolates).

Unsaturated acids were not detected. It is comprehensible: unsaturated FAs do not have appropriate properties suitable for maintaining membrane fluidity at higher temperature and they are not widespread in thermophilic microbes. Furthermore, in cold-adapted species the levels of unsaturated FAs or polyunsaturated FAs are known to be relatively high [3, 14].



Fig. 4. The comparison of normal and branched (*iso*- and *anteiso*-) FAs contents (weight per cent of fatty acids) of tested isolates.

The strong presence of elongated, saturated and branched-*iso*-FAs with high melting points and, on the other side, the absence of unsaturated acids with low melting points were detected for all tested thermophilic isolates. The melting point of the major membrane constituents can be regarded as a factor influencing the flexibility and stability of the membrane. In general the results of the present study are in agreement with previously published data [5, 7, 13-16], confirming that the membrane lipids structure and composition are fundamental for thermophily formation of bacilli isolates.

The importance of branched chain FA analysis for the chemotaxonomy of the genus *Bacillus* has been reviewed by T. Kaneda [9]. According to Kaneda it is possible to create fingerprints of the genus *Bacillus* by using FAs analysis. Later P. Kampfer [8] showed that the genus could be divided into major and minor groups based on the ratio of the quantitatively predominant FAs *i15C:0* and *ai15C:0*. The *ai15C:0* FA (12-methyltetradecanoic acid) was the predominant FA in the major group (*i15C:0/ai15C:0* < 2), and the *i15C:0* FA (13-methyltetradecanoic acid) was the predominant FA in the minor group (*i15C:0/ai15C:0* > 2) including mainly obligatory thermophiles.

The ratio of *i15C:0/ai15C:0* of studied thermophilic isolates varied between 0.3-10.5 (Table 1). Isolates T-9 and T-10 were characterized by a ratio of *i15C:0/ai15C:0* > 2 and could be grouped into minor group, while all others, exhibited a ratio of *i15C:0/ai15C:0* < 2, could be grouped into major group. Although isolates T-9 and T-10 could group in the same cluster, FA composition was different. The determination of FAs composition of isolate T-9 has shown high amounts of *iC17:0* suggesting a possible relationship with geobacilli which are known to be obligatory thermophiles. The isolates T-4 and T-7 possessed low amounts of *i17C:0* and the same value of *i15C:0/ai15C:0* ratio, indicating possible relationship between those isolates. The ratio of *i15C:0/ai15C:0* and relatively high amount of *i17C:0* content was similar for isolates T-2, T-3 and T-6. Moreover, the differences at the level of *i15C:0/ai15C:0* ratios and *ai17C:0* content indicate that isolates might be belonging to the different subgroups. Final identification can be proved by studies of other phenotypic and genotypic properties.

This research was carried out at the Institute of Biomolecular Chemistry (C.N.R.) Pozzuoli (Naples, Italy).

Acknowledgements

The research was supported by the FEBS Short Fellowship-2005. The invaluable assistance of Prof. B. Nicolaus, Dr. A. Poli and technical support of Mr. E. Pagnotta is to be highly emphasized.

REFERENCES

1. Александров В.Я. Макромолекулярные основы термофилии. Биология термофильных микроорганизмов. М. Наука, 57-68, 1986.
2. Паносян О.А., Тозалакян П.В., Гаспарян А.В., Попов Ю.Г. Новые экстремофильные формы бацилл из почв Армении Биолог. журн. Армении, 54, 1-2, 104-109, 2002.
3. Современная микробиология. Прокариоты. Под редакцией Й. Ленгелер, Г. Дреус и Г. Шлегеля. М., 2, Мир, 2005.
4. Bligh E.D., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Biophysiol. 37, 911-917, 1959.
5. Charlier D., Droogmans L. Microbial life at high temperature, the challenges, the strategies. Cell Mol. Life Sci., 62, 2974-2984, 2005.
6. Dittmer J.C., and Lester, E.L. A simple specific spray for the detection of phospholipids on thin layer chromatograms. J. Lip. Res., 5, 126-127, 1964.
7. Dreissen A.J.M., Albers S.V. Membrane adaptations of (hyper)thermophiles to high temperature. In Physiol Biotech Extremophiles, 104-116, 2007.
8. Kampfer P. Limits and Possibilities of Total Fatty Acid Analysis for Classification and Identification of *Bacillus Species*. System. Appl. Microbiol., 17, 86-98, 1994.
9. Kaneda T. Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function and taxonomic significance. Microbiol. Rev., 55, 288-302, 1991.

10. *Kates M.* Techniques of Lipidology (R.H. Burdon, P.M. Van Knippenberg, eds), Elsevier Science Publisher, Amsterdam. 1991.
11. *Kundu S.K.* Thin layer chromatography of neutral glycosphingolipids and gangliosides. In *Methods in Enzymology*, ed. by J.M. Lowenstain, Academic Press Inc., New York, pp. 185-204, 1981.
12. *O'Leary W.M., Wilkinson S.J.* Gram-positive bacteria. In *Microbial Lipids, 1*, (C. Ratledge, S.J. Wilkinson, eds.) New York, academic Press, 117-185, 1988.
13. *Nicolaus B., Manca M.C., Lama L., Esposito E. and Gambacorta A.* Effects of growth temperature on the polar lipid pattern and fatty acid composition of seven thermophilic isolates from the Antarctic Continent. *System. Appl. Microbiol.*, 18, 32-36, 1995.
14. *Russell, N.J. and Fukunaga N.* A comparison of thermal adaptation of membrane lipids in psychrophilic and thermophilic bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.*, 75, 171-182, 1990.
15. *Shen P.Y., Coles E., Foote J.L. and Stenesh J.* Fatty acid distribution in mesophilic and thermophilic strains of the genus *Bacillus*. *J. Bacteriol.*, 103, 2, 479, 1970.
16. *Siristova L., Melzoch K. and Rezanka T.* Fatty acids, unusual glycopospholipids and DNA analyses of thermophilic bacteria isolated from hot springs. *Extremophiles* 13, 101-109, 2009.
17. *Vandamme P., Pot B., Gillis M., De Vos P., Kersters K. and Swings J.* Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.*, 60, 407-438, 1996.
18. *Yang Y.L., Yang F.L., Jao S., Ch., Chen M.Y., Tsay S.S., Zou W., Wul S.H.* Structural elucidation of phosphoglycolipids from strains. *J.Lipid Res.* 47, 1823-1832, 2006.

Received 02.03.2010



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 2(62), 2010

ԱՅԵՏԻԼԵՆԱՅԻՆ ԵՂԱՆԱԿՈՎ ԱԶՈՏ ՖԻՔՍՈՂ
ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ ԵՎ ՆՐԱՆՑ
ՀԱՄԱԿԵՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՆԻՏՐՈԳԵՆԱԶԱՅԻՆ
ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Վ.Գ. ՆԻԿՈՂՈՍՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Միկրոբիոլոգիայի օ մանրէների ավանդադրման կենտրոն

Հետազոտվել են ագեստիլենային եղանակով ազոտի ֆիքսման մեծ ակտիվությամբ օժտված դիագոտորոֆների և դրանց համակեցությունների ընտրության հարցերը: Առաջարկվել է հեղուկ սննդամիջավայրում ակտիվ կուլտուրաների ընտրության հեշտացված եղանակ:

Նիտրոգենազային ակտիվություն - դիագոտորոֆներ - համակեցություն - ազոտֆիքսում

Ацетиленовым методом изучались вопросы отбора диазотрофов и их сообществ, наделенных высокой азотфиксирующей активностью. Предложен облегченный способ отбора активных культур в жидких средах.

Нитрогеназная активность – диазотрофы – сообщество – азотфиксация

The problems for selecting the diazotrophs and communities with high nitrogen-fixing activity were studied by the acetylene method. A simplified method has been suggested for choosing the active cultures in the liquid media.

Nitrogenase activity – diazotrophs – community – nitrogen fixation

Վերջին տասնամյակներում լայն տարածում է ստացել ազոտի ֆիքսման ակտիվության որոշման համար օգտագործվող ագեստիլենային եղանակը, որի արդյունքում ներկայումս այդ մեթոդի առանձնահատկությունների վերաբերյալ հայտնի են արժեքավոր շատ աշխատանքներ: Չնայած որոշակի ձեռքբերումների՝ այնուամենայնիվ ազոտֆիքսող միկրոօրգանիզմների, կամ նրանց համակեցությունների հիմնահարցը ագեստիլենային եղանակով ազոտի ֆիքսման ակտիվության ճշգրիտ որոշման որոշակի դժվարությունների հետ է առնչվում: Ցույց է տրված, որ որոշ միկրոօրգանիզմներ ունակ են օքսիդացնելու ինչպես ագեստիլենը և էթիլենը, այնպես էլ սինթեզելու դրանք [7]: Հայտնի է նաև, որ ագեստիլենի վերականգնման արագությունը մեծ չափով պայմանա-վորված է կուլտուրաների զարգացման պայմաններից [5], որի հետևանքով՝ ըստ վերականգնված էթիլենի ազոտի ֆիքսման ակտիվության վերահաշվարկի գործակիցը կարող է տատանվել 2,3-25-ի սահմաններում [8,9]: Բացի այդ, կան տեղեկություններ, որ ագեստիլենը ճնշում է միկրոօրգանիզմների զարգացումը [6], իսկ էթիլենի ճնշիչ ազդեցությունը հաստատվել է մեր ուսումնասիրություններում [3]: Ակնհայտ է, որ ներկայացվածը կարող է փորձերի սխալ արդյունքների ստացման պատճառ հանդիսանալ:

Նախկինում մեր կատարած ուսումնասիրությունները ցույց էին տվել, որ ագեստիլենային եղանակով ազոտոբակտերի ազոտի ֆիքսման ակտիվության որոշման համար անհրաժեշտ է նիտրոգենազային ակտիվությունը որոշել նրա զարգացման ընթացքում ամեն օր, քանի որ միայն այդ դեպքում են ստացված արդյունքները համընկնում ազոտի ընդհանուր

քանակությամբ (Կելդալի մեթոդ) որոշված արդյունքներին [4]:

Չնայած ներկայացված եղանակի ճշտությանը, այդ մեթոդը հնարավոր է օգտագործել միայն փորձարկվող կուլտուրաների սահմանափակ քանակի դեպքում: Իսկ ինչպես վարվել ակտիվ կուլտուրաների սելեկցիայի նպատակով մասսայական ուսումնասիրությունների դեպքում, երբ գործ ունենք հարյուրավոր կուլտուրաների հետ: Այդ հարցի պարզաբանման վերաբերյալ մեր ուսումնասիրությունների արդյունքները բերվում են սույն հոդվածում:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրությունների նյութ են հանդիսացել Հայաստանի տարբեր հողերից և այնտեղ մշակվող ցորենի ու գարու արմատային զոնայից նախնիներում մեր կողմից մեկուսացված ոչ սինթետիկ ազոտֆիքսատորները, ազոտֆիքսող միկրոօրգանիզմների համակցությունները [ԱՄՀ], ինչպես նաև ՀՀ ԱԱ Միկրոբիոլոգիայի և մանրէների ավանդադրման կենտրոնում պահպանվող *Azotobacter chroococcum* - B-6111 շտամը [1,3]:

ԱՄՀ-ների և դիագնոստիկների նիտրոգենազային ակտիվությունը Վինոգրադսկու հեղուկ սննդամիջավայրում (3-5 և ավելի կրկնողությամբ) որոշել ենք ացետիլենային եղանակով [1,2,7,8]: Այդ նպատակով 15 մլ տարողության 3 մլ սննդանյութ պարունակող պենիցիլինի սրվակները վարակել ենք տարբեր համակցություններով կամ դիագնոստիկ-ներով, այնուհետև կուլտուրաների աճեցումը 270-ում, հիմնականում 11 օր տևողությամբ իրականացվել է աերոբ և միկրոաերոբիկ պայմաններում: Աերոբ պայմանների դեպքում պենիցիլինի սրվակները փակվել են բամբակյա խցաններով և ամեն օր պարբերաբար բամբակյա խցանները փոխարինվել են ռետինե խցաններով, ներմուծվել ացետիլեն ու 1 ժ հետո որոշվել նիտրոգենազային ակտիվությունը: Այնուհետև ռետինե խցանները նորից փոխարինվել են բամբակյա խցաններով և շարունակել կուլտուրաների աճեցումը, հաջորդ օրերին կրկնելով ներկայացվածը:

Փորձարկող նույն կուլտուրաները միկրոաերոբիկ պայմանների դեպքում վարակման օրը պենիցիլինի սրվակների բամբակյա խցանները փոխարինվել են ռետինե խցաններով, ներմուծվել ացետիլեն և այն պահպանվել կուլտուրաների աճեցման ամբողջ ժամանակաշրջանում, իսկ նիտրոգենազային ակտիվությունը որոշվել է միայն զարգացման III, VI և XI օրերին:

Արդյունքներ և քննարկում: Մեր բազմամյա ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ հեղուկ սննդամիջավայրում տարբեր ԱՄՀ-ների և առանձին դիագնոստիկների նիտրոգենազային ակտիվության պոտենցիալը աերոբ և միկրոաերոբիկ պայմաններում զարգանալիս միմյանցից մեծ չափերով չեն տարբերվում: Այդ ուղղությամբ կատարված բազմաթիվ հետազոտությունների արդյունքների մի մասը զետեղված է աղ. 1-ում և 2-ում:

Աղյուսակ 1. Ազոտֆիքսող մանրէների և նրանց համակցությունների ազոտի ֆիքսման դինամիկան աերոբ պայմաններում (նիտրոգենազ՝ ային ակտիվությունը, մկ/մոլ C_2H_2/d)

ԱՄՀ-ներ, դիագնո- ստիկներ	Օրեր											Հնդամներ
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	
ԱՄՀ C65	0,1	0,3	1,3	1,5	1,0	0,7	0,3	0,2	0,1	0,1	0,0	5,6
ԱՄՀ 07-62	0,2	0,5	1,2	1,6	1,1	0,8	0,4	0,2	0,1	0,0	0,0	6,1
A65 ն-1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	0,4	0,2	0,1	3,3
A.chr.B-6111	0,2	0,4	0,6	0,3	0,3	0,5	0,8	0,4	0,4	0,1	0,1	4,1
A42 Bac.-1	0,1	0,0	0,1	0,3	0,4	0,3	0,2	0,1	0,1	0,3	0,3	1,5

Աղյուսակ 2. Ազոտֆիքսող մանրէների և նրանց համակցությունների ազոտֆիքսացիան զարգացման տարբեր օրերում միկրոաերոբիկ պայմաններում (մկ/մոլ C_2H_2 , գումարային քանակ՝ ըստ նշված օրերի)

ԱՄՀ-ներ, դիագնո- ստիկներ	Օրեր			Մաքսիմում ակտիվությունը
	III	VI	XI	
ԱՄՀ C65	1,5	5,2	5,1	5,2
ԱՄՀ 07-62	4,1	5,7	5,6	5,7
A65 ն-1	0,9	3,9	3,6	3,9
A.chr.B-6111	1,2	4,2	3,9	4,2
A42 Bac.-1	0,2	1,5	1,4	1,5

Ստացված տվյալներից կարելի է եզրակացնել, որ պենիցիլինի սրվակներում ներմուծված ացետիլենի քանակության (~ 6%) տևական առկայությունը գրեթե չի ձևում ազոտֆիքսող միկրոօրգանիզմների աճեցողությանը, որի հետևանքով աղ. 2-ում ներկայացված տվյալները զգալիորեն չեն տարբերվել նույն կուլտուրաների աներոբ պայմաններում զարգանալիս ստացված տվյալներից (աղ.1), երբ փորձարկված կուլտուրաներն ամեն օր միայն 1ժ են ենթարկվել ներմուծված ացետիլենի ներգործությանը:

Աղյուսակներում ներկայացված օրինաչափությունները պահպանվել են հետազոտված ազոտֆիքսատորների ճնշող մեծամասնության մոտ: Նկատվել են նաև բացառություններ, երբ որոշ ԱՄՀ-ներում նիտրոգենազային ակտիվությունն իր մաքսիմումին է հասել աճեցողության XV, նույնիսկ XX օրը: Ավելի հազվադեպ նկատվել է նաև համակեցությունում նիտրո- գենազային ակտիվության երկու մաքսիմում, որը հավանաբար նրանց երկարատև համատեղ զարգացման ընթացքում տեղի ունեցող նյութափոխանակության բարդ պրոցեսների արդյունք է հանդիսանում:

Աղ.2-ում բերված տվյալներից նկատվում է, որ հետազոտված կուլտուրաների նիտրոգենազային ակտիվությունն իր մաքսիմումին է հասնում VI օրը, իսկ հետո մասամբ նվազում: Մեր ուսումնասիրությունների ընթացքում որոշ ազոտֆիքսատորների մոտ այդ նվազումը շատ ավելի մեծ է: Պատճառը պարզ է: Նույն սրվակից նմուշներ վերցնելիս գազերի քանակությունը պակտում է, կամ կուլտուրաների առաջացրած գազերի հետևանքով ռետինե խցաններից արտառոտ է տեղի ունենում, բացի այդ, հատկապես ԱՄՀ-ների դեպքում հնարադր է նաև ացետիլենի և էթիլենի օգտագործում և այլն:

Այսպիսով, հաշվի առնելով այն հանգամանքը, որ աղյուսակներում ներկայացված օրինաչափությունները երկարատև փորձարկումների ընթացքում նկատվել են հետազոտված ազոտֆիքսատորների ճնշող մեծամասնության մոտ, կարելի է եզրակացնել, որ ազոտֆիքսող մանրէների և նրանց համակեցությունների ակտիվ կուլտուրաների ընտրության նպատակով ներկայացված այս եղանակը (աղ. 2) նպատակահարմար է օգտագործել մասսայական ուսումնասիրությունների ժամանակ, որի դեպքում տնտեսվում է զգալի նյութական ռեսուրսներ, նվազում է անհրաժեշտ աշխատաքների ծավալը և, ամենակարևորը, ծախսվում է ավելի քիչ ժամանակ: Այս եղանակով ընտրված ակտիվ ազոտֆիքսատորներն ու նրանց համակեցությունները հետագայում ավելի մանրակրկիտ կարելի է ուսումնասիրել նաև հանրահայտ այլ մեթոդներով:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Նիկորոյան Վ.* Հիագոտրոֆների և նրանց համակեցությունների պեկտինի յուրացման ու ազոտի ֆիքսման ակտիվության մասին. Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 60, 1-2, 188-191, 2008.
2. Метод, рекоменд. по получению новых штаммов клубеньковых бактерий и оценке их эффективности. Л., 18с. 1979.
3. *Никогосян В.Г.* Азотфиксирующая способность антибиотикоустойчивых мутантов азотобактера. Биолог. журн. Армении, 34, 269-273, 1981.
4. *Никогосян В.Г.* Сравнительная оценка азотфиксирующей активности азотобактера ацетиленовым методом и по общему азоту. Микробиология, 52, 4, 848-850, 1983.
5. *Понкратова Е.М.* Участие азотфиксирующих водорослей в накоплении азота в почве. Изв. АН СССР, Сер. биол. 2, 188, 1979.
6. *Умаров М.М.* Ассоциативная азотфиксация, М., Изд. Моск. ун-та, 132с. 1986.
7. *Федоровна Р.И., Милехина Е.И., Илюхина Н.И., Бражников В.В.* К вопросу по применению ацетиленового метода для определения азотфиксирующей способности почв. Изв. АН СССР, Сер. биол. 1, 106, 1973.
8. *Hardy R.W., Holsten R.D., Jackson E., Burns R.C.* The Acetylene-Ethylene Assay for N₂ Fixation. Plant Physiol., 43, 1185, 1968.
9. *Hardy R.W., Burns R.C., Holsten R.D.* Application of the Acetylene-Ethylene Assay for Measurement of Nitrogen Fixation. Soil Biol. and Biochem., 5, 47, 1973.

Ստացվել է 15.12.2008



Биол. журн. Армении, 2 (62), 2010

ПРОФЕССОРУ АПРИКЯНУ ГУРГЕНУ ВАРДЕВАНОВИЧУ – 80 ЛЕТ



Исполнилось 80 лет заведующему лабораторией возрастной биохимии Института биохимии имени Г.Х. Бунятына НАН РА, доктору биологических наук, профессору Гургену Вардевановичу Априкяну.

Гурген Вардеванович Априкян родился 4 февраля 1930 г. в селе Бердаван Ноемберянского района Армянской ССР. В 1948г. после окончания средней школы поступил на лечебный факультет Ереванского государственного медицинского института. За отличную учебу в институте ему была назначена Сталинская стипендия.

В 1950 г. будучи студентом начал заниматься научно-исследовательской работой на кафедре биохимии под руководством известного ученого Г. Бунятына.

В 1954 г., окончив институт с отличием, в течение четырех лет работал в селе Гюлибулах (ныне Айакерт) Амасийского района на заведующим участковой больницы. В условиях сельской больницы он организовал биохимическую лабораторию где проводил исследования на животных. В 1958 г. поступил в аспирантуру Института биохимии НАН Армении. В 1963 г. защитил кандидатскую диссертацию. С 1965 г. занимается изучением регуляции биохимических процессов при старении, которые были пионерскими в Армении. Результаты этих исследований были обобщены в его докторской диссертации, которая получила высокую оценку известных геронтологов, академиков В. Никитина и В. Фролкиса.

С 1973 г. по настоящее время Г. Априкян является руководителем организованной им в Институте биохимии лаборатории возрастной биохимии (экспериментальной геронтологии). Хорошо известны работы Г. Априкяна в области биохимии и геронтологии. Он впервые обнаружил, что специфическая для мозговой ткани ацетилсалициловая кислота играет важную роль в энергообеспечении головного мозга при его повышенной активности и регуляции нейротрансмиссии с участием глутаминовой кислоты – возбуждающего нейротрансмиттера. Им показана эффективность глутамат-дегидрогеназного пути в образовании аммиака в нормальных условиях, впервые выявлены особенности захвата, высвобождения и регуляции нейромедиаторных аминокислот в синапсосомах, обогащенных фракциях нейронов и глиальных клеток при старении. Оказалось, что глиальные клетки мозга сохраняя способность к размножению, берут на себя некоторую регуляторную функцию в ответ на снижение этой функции у нейронов при старении. Им получены данные, указывающие на то что, несмотря на снижение активности метаболических процессов при старении, сохраняется их способность для его направленного регулирования.

Г. Априкян в течение 10 лет являлся заместителем директора по науке Института биохимии, заместителем председателя ученого совета института по защите докторских диссертаций, председателем государственной выпускной комиссии и членом Ученого совета по защите диссертаций при биологическом факультете Ереванского государственного университета, членом редколлегий журналов “Нейрохимия” (Москва), “Проблемы старения и долголетия” (Киев), членом президиума центрального совета Всесоюзного Общества геронтологов и гериатров, Научного Совета по геронтологии при Академии медицинских наук СССР, секции нейрхимии при АН СССР, Международного общества геронтологов, Европейского общества биохимиков, Международной Ассоциации натуральной медицины и Академии естественных наук РФ.

С 1965 г. Г. Априкян принимал участие во многих научных конференциях и съездах СССР, а также в международных научных форумах в Англии, Швеции, Чехословакии, Италии, Греции, Японии, Китае, Южной Корее, США, Украине, РФ.

В 1976 г. в течение шести месяцев находился в научной командировке в Швеции.

Г. Априкян является основателем геронтологии в Армении, впервые организовал Закавказскую конференцию по геронтологии в Армении. Под его руководством было защищено 16 кандидатских и докторских диссертаций, посвященных проблемам возрастной биохимии и геронтологии. Он является автором 160 статей, опубликованных в местных и международных журналах, посвященных актуальным проблемам биохимии и геронтологии. Им впервые было экспериментально доказано, что препараты корня переступня белого, известного в Армении с древних времен, обладают значительным пролонгирующим продолжительность жизни свойством, выявил их молекулярно-биологические механизмы действия. Получен патент РФ по этому препарату. Для укрепления здоровья и увеличения продолжительности жизни предлагается использовать его в качестве пищевой добавки.

В 2005г. вышел в свет опубликованный впервые на армянском языке фундаментальный труд Г. Априкяна: “Геронтология, секреты укрепления здоровья и продления жизни” (Издание Зангак, 360 стр.), в котором отражены мировые достижения науки по этой проблеме и результаты долголетних исследований руководимой им лаборатории, а также результаты собственных исследований образа жизни долгожителей Армении, проживающих в различных регионах Армении, которые по свидетельству японского профессора К. Моришита выгодно отличаются своим здоровьем от долгожителей соседних республик. В этом труде Г. Априкян излагает оригинальные суждения относительно секретов здоровья и долголетия в Армении.

В настоящее время он с сотрудниками руководимой им лаборатории занимается изучением механизмов возникновения печеночных заболеваний и развития на их основе энцефалопатии, связанных с нарушением метаболизма и функции окиси азота и разработкой подходов к их лечению.

Коллектив Института биохимии и редакция Биологического журнала Армении поздравляют профессора Г. Априкяна с 80-летним юбилеем, желают ему доброго здоровья и дальнейших творческих успехов.

Институт биохимии НАН РА им.Г.Х.Бунатяна