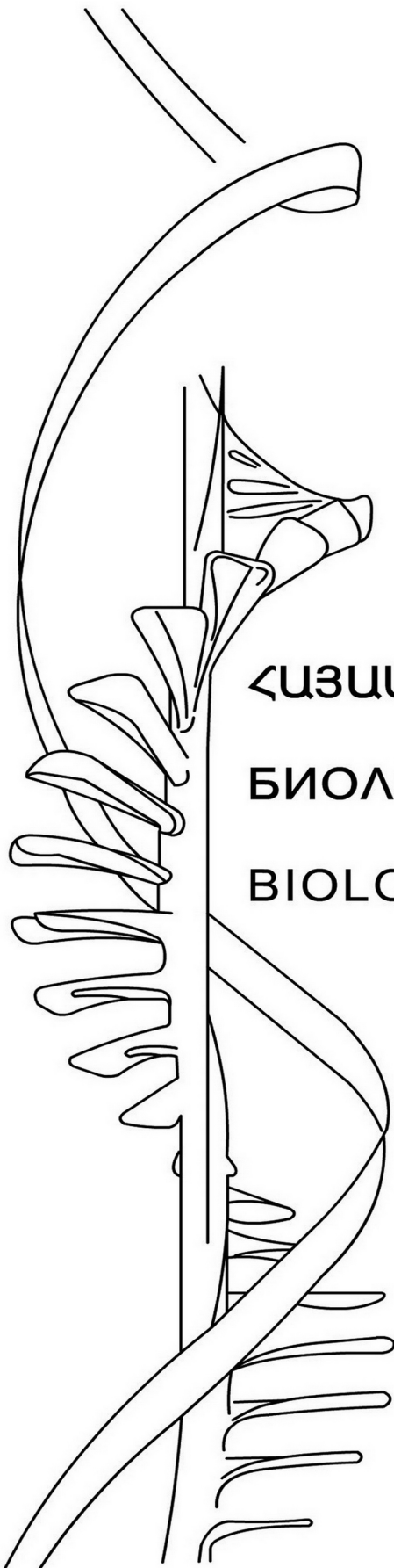


ISSN 0366-5119

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

2012

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,
Լ.Ռ. Մանվելյան, Ս.Խ. Մայրապետյան, Ժ.Հ. Վարդանյան.

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԽՈՐՀՈՒՐԴ

Յու.Թ. Ալեքսանյան, Է.Գ. Աֆրիկյան, Է.Յ. Գաբրիելյան,
Ա.Ա. Գալոյան, Մ.Ա. Դավթյան, Ժ.Բ. Հակոբյան, Վ.Պ. Հակոբյան, Կ.Գ. Ղարազոյզյան,
Ա.Հ. Մովսիսյան, Կ.Ս. Պոսոյան, Գ.Հ. Փանոսյան, Լ.Լ. Օսիպյան.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Յ.Ս. Գևորգյան (*главный редактор*), Ր.Մ. Արությունյան (*заместитель главного редактора*),
Ա.Ս. Бояджян (*заместитель главного редактора*),
Ա.Գ. Есаян (*ответственный секретарь*), Զ.Ա. Варданян, Գ.Ա. Геворкян,
Տ.Խ. Майрапетян, Լ.Ր. Манвелян, Ա.Ա. Трчунян

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Յ.Ս. Ակոբյան, Զ.Ի. Ակոբյան, Յ.Տ. Ալեքսանյան, Յ.Գ. Աֆրիկյան,
Յ.Ս. Գաբրիելյան, Ա.Ա. Գալոյան, Մ.Ա. Դավթյան, Կ.Գ. Կարազոյզյան, Տ.Օ. Մովսեսյան,
Լ.Լ. Օսիպյան, Գ.Ա. Փանոսյան, Կ.Ս. Սոսոյան.

THE EDITORIAL BOARD

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

THE EDITORIAL COUNCIL

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

ԲՈՎԱՆՂԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

• Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •

Խաչատրյան Կ. Ս., Հովհաննիսյան Վ. Ս., Խաչատրյան Դ. Գ., Միրումյան Լ. Ս. Անողնաշարները որպես միջավայրի էկոտոքսիկոլոգիական իրավիճակի գնահատման կենսահնդիկատորներ.....	6
Վարդանյան Տ. Վ., Բարսեղյան Ն. Է. Սևանա լճի ավազանում հայկական տառեխիկների (<i>Alburnoides bipunctatus armeniensis</i> (Osteichthyes, Cyprinidae) տարածվածությունը և կենսաբանական բնութագիրը.....	11
Վարդանյան Ժ. Դ., Խաչիկյան Ա. Ա. Ռեփիկտային ծառերն ու թփերը և դրանց դերը Հայաստանի ղենդրոֆլորայի ձևավորման ու զարգացման գործընթացում.....	16
Մինասյան Ս. Ս., Գևորգյան Է. Ս., Աբրահամյան Դ. Տ., Աղամյան Ծ. Ի. Ուսանողների սրտի ռիթմի կարգավորման առանձնահատկությունները ստատիկական ֆիզիկական ծանրաբեռնվածության պայմաններում.....	22
Փեփոյան Ա. Զ., Շահբազի Շ., Գասպարյան Գ. Ա., Գրիգորյան Ա. Գ. Ճարպաթթվային փոխակերպումները <i>Lactobacillus rhamnosus</i> -ի թաղանթներում.....	29
Զհանգիրյան Մ. Լ. Կրտսեր դպրոցական տարիքի աղջիկների (5-11 տարեկան) կարդիոհեմո- դինամիկական ցուցանիշները ընդհանուր և միջնակարգ կրթության խորհրդային և եվրոպական համակարգերի պայմաններում.....	33
Շամիրյան Ա. Ս., Գրիգորյան Ռ. Գ., Բարսեղյան Է. Խ., Ղափթյան Մ. Ա. Մի շարք երկվալետ կատիոնների ազդեցությունը <i>Rana ridibunda</i> գորտերի լյարդի արգինազի զգայնության վրա պրոտեոլիզի նկատմամբ.....	38
Ռահմանի Մ. Դ. Վիտամին Ե-ի կերային հավելման ազդեցությունը կաթնատու կովերի վաղ լակտացիոն շրջանում կաթնատվության, կերի չոր նյութի, կենդանի զանգվածի փոփոխության և արյան պլազմայի չեստերիֆիկացված ճարպաթթուների (ՉԵՃԹ) պարունակության վրա.....	44
Պետրովա Ն. Ա., Ժիրով Ս. Վ., Հարությունովա Կ. Վ., Հարությունովա Մ. Վ. Բերանի ապարատի մորֆոլոգիական դեֆորմացիաները <i>Orthocladinae</i> և <i>Diamesinae</i> (Diptera, Chironomidae) ենթաընտանիքների որոշ տեսակների մոտ.....	48
Գրիգորյան Ս. Լ., Իսկանդարյան Ֆ. Ռ., Սարգսյան Մ. Ա., Մկրտչյան Ա. Ռ. Բրուցեյցզի ախտորոշումը և հիվանդության համաճարակաբանական դրսևորումները.....	53
Շարիֆի Ալդարփուր Ս. Ֆ. Լուր (Իրան) անապատի Գանդոմ-Բեյյան երկրաչերմային տեղամասի հողից աերոթերմոֆիլ բացիլների մեկուսացումը և նույնականացումը ֆենոտիպական և ֆիլոգենետիկական բնութագրերի հիման վրա.....	58
Հովհաննիսյան Գ. Գ., Միսոնյան Ա. Է., Գաբրիելյան Բ. Կ., Մինասյան Ս. Գ., Հարությունյան Ռ. Մ. ՂՆԹ-ի վնասվածքների գնահատումը Հայաստանի տարբեր ջրապահանների ձկների էրիթրոցիտներում ՂՆԹ-կոմետ մեթոդով.....	64
Ղափթյան Վ. Ա., Ղազարյան Վ. Վ., Գրիգորյան Ա. Ա. Խոշորառեչ կաղնու ջրային ռեժիմի առանձնահատկությունները կախված աճեկավայրի բարձրությունից և մացառային ծանրաբեռնվածությունից.....	71
Աղաջանյան Ա. Խ., Աղաջանյան Ա. Ա. Որոշ ղեղաբույսերի հակաօքսիդանտային հատկությունները.....	76
Գյուլխանդանյան Ա. Գ., Ղազարյան Ռ. Կ., Կնյուկչոռ Վ. Ն., Ստաշեյսկի Ա. Ս., Զազարով Բ. Մ., Գյուլխանդանյան Գ. Վ. Ճարպաթթուների ազդեցությունը պորֆիրինների կապման ունա- կության վրա արյան սպիտակուցների հետ՝ I. Սպեկտրալ ուսումնասիրություններ...80	80
Հովհաննիսյան Ն. Ա., Դիթյան Մ. Բ., Հովհաննիսյան Ա. Ս., Մաքսյան Մ. Ա., Օգանեզովա Գ. Գ., Ավետիսյան Ն. Ս. Ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների ազդեցությունը սերինային պրոտեազներ տրիպսինի և K պրոտեազի ակտիվության վրա.....	85

• Համառոտ հաղորդումներ •

Չավուշյան Ա. Ս. Անեքսին-Ա5-ը որպես ապոպտոզի հիպերֆունկցիայի մարկեր շիզոֆրենիայի ժամանակ.....	91
Սաջադիֆար Մ. Ա. Ցինկի բարձր չափաբաժինների ազդեցությունը կոկցիդիոզի նկատմամբ պատվաստված բրդյեղ ճտերի հակամարմինների տիտրերի և լեյկոցիտների ընդհանուր քանակի վրա.....	94
Հակոբջանյան Ա. Ա. Օքսիդային գործընթացների ուսումնասիրությունը առնետների գլխուղեղում ծերացման ժամանակ.....	97

СОДЕРЖАНИЕ

• Экспериментальные и теоретические статьи •

Хачатрян К.С., Оганесян В.С., Хачатрян А.Г., Мирумян Л.С. Беспозвоночные как биоиндикаторы оценки экотоксикологического состояния окружающей среды.....	6
Варданян Т.В., Барсегян Н.Э. Биологическая характеристика и распространение армянской быстрянки (<i>Alburnoides bipunctatus armeniensis</i> (Osteichthyes, Cyprinidae)) в бассейне оз. Севан.....	11
Варданян Ж.А., Хачикян А.А. Реликтовые деревья и кустарники и их роль в деле формирования и развития дендрофлоры Армении.....	16
Минасян С.М., Геворгян Э.С., Абраамян Э.Т., Адамян Ц.Н. Особенности регуляции ритма сердца студентов при статической физической нагрузке.....	22
Пепоян А.З., Шахбазы Ш., Гаспарян Г. А., Григорян А.Г. Жирнокислотные превращения в мембранах <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	29
Джангизрян М.Л. Кардиодинамические показатели девочек младшего школьного возраста (5-11) при советской и европейской системах общего среднего образования.....	33
Шамирян А.С., Григорян Р.Г., Барсегян Э.Х., Давтян М.А. Влияние ряда двухвалентных катионов на чувствительность аргиназы лягушек <i>Rana ridibunda</i> при протеолизе....	38
Рахмани М.Г. Влияние добавок витамина Е на продукцию молока, потребление сухого вещества корма, изменения массы тела и содержание НЭЖК в ранний период лактации молочных коров.....	44
Петрова Н.А., Жиров С.В., Арутюнова К.В., Арутюнова М.В. Морфологические деформации ротового аппарата у некоторых видов подсемейств <i>Orthocladiinae</i> и <i>Diamesinae</i> (Diptera, chironomidae)	48
Григорян С.Л., Искандарян Ф.Р., Саркисян М.А., Мкртчян А.Р. Диагностика бруцеллеза и эпидемиологические проявления заболевания.....	53
Шарифи Алгабтур С.Ф. Изолирование аэробных термофильных бацилл из геотермальных почв участка Гандом-Берян пустыни Лут, Иран и их идентификация на основе фенотипических и филогенетических подходов....	58
Оганесян Г.Г., Симонян А.Э., Габриелян Б.К., Минасян С.Г. Арутюнян Р.М. Оценка повреждений ДНК в эритроцитах рыб из разных водоемов Армении методом ДНК-комет.....	64
Давтян В.А., Казарян В.В., Григорян А.А. Особенности водного режима дуба крупнопыльничкового в зависимости от высоты произрастания и порослевой нагрузки.....	71
Агаджанян А.Х., Агаджанян А.А. Антиоксидантные свойства некоторых лекарственных растений.....	76
Гюльханданян А.Г., Казарян Р.К., Кнюкшто В.Н., Сташевский А.С., Джагаров Б.М., Гюльханданян Г.В. Действие жирных кислот на способность связывания порфиринов с белками крови: I. Спектральные исследования.....	80
Оганесян Н.А., Читчян М.Б., Оганесян А.М., Мелкумян М.А., Оганезова Г.Г., Аветисян Н.С. Влияние небелковых аминокислот на активность сериновых протеаз трипсина и протеиназы К.....	85

• Краткие сообщения •

Чавушян А.С. Аннексин-A5 как маркер гиперфункции апоптоза при шизофрении.....	91
Саджадифар С.А. Влияние высоких доз цинка на титры антител и общее количество лейкоцитов в крови бройлеров, вакцинированных против кокцидиоза.....	94
Акопджанян А.А. Изучение окислительных процессов в головном мозге крыс при старении.....	97

CONTENTS

•Experimental and theoretical articles•

<i>Khachatryan K.S., Hovhannisyan V.S., Khachatryan A.G., Mirumyan L.S.</i> The invertebrates as bioindicators of the estimation of environment's ecotoxicological state.....	6
<i>Vardanyan T.V., Barseghyan N.E.</i> Biological characteristics and distribution of armenian sprilin (<i>Alburnoides bipunctatus armeniensis</i> (Osteichthyes, Cyprinidae) in the basin of lake Sevan	11
<i>Vardanyan Zh.H., Khachikyan A.A.</i> Relict trees and shrubs and their role in the formation and development of the dendroflora of Armenia.....	16
<i>Minasyan S.M., Gevorgyan E.S., Abrahamyan E.T., Adamyan Ts.I.</i> Peculiarities of students' heart rythm regulation after static physical tension.....	22
<i>Pepoyan A.Z., Shakhbazi Sh. , Gasparyan G.A., Grigoryan A.G.</i> Fatty acid transformations in the membranes of <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	29
<i>Djangirian M.L.</i> Cardiohemodynamic parameters of primary schoolgirls (5-11 ages) under the Soviet and European systems of general and secondary education.....	33
<i>Shamirian A.S., Grigoryan R.G., Barseghyan E.Kh., Davtyan M.A.</i> The effect of several bivalent cations on the sensitivity of <i>Rana ridibunda</i> frog liver arginas towards proteolysis.....	38
<i>Rahmani M.G.</i> The influence of supplemental vitamin E on milk yield, DMI, BWC, NEFA in early lactating dairy cow.....	44
<i>Petrova A.N., Zhirov V.S., Harutyunova V.K., Harutyunova V.M.</i> Morphological deformations of mouthparts in some species of subfamilies <i>Orthocladinae</i> and <i>Diamesinae</i> (Diptera, Chironomidae)	48
<i>Grigoryan S.L., Iskandaryan F.R., Sargisyan M.A., Mkrtchyan A.R.</i> Diagnosis of brucellosis and epidemiological manifestation of disease.....	53
<i>Sharifi Alghabpoor S.F.</i> Thermophilic bacilli isolated from geothermal soils of Gandom Beryan in Lut desert, Iran and their identification based on phenotypic and phylogenetic approaches.....	58
<i>Hovhannisyan G.G., Simonyan A.E., Gabrielyan B.K., Minasyan S.G., Aroutiounian R.M.</i> Assessment of DNA damage in fish erythrocytes from different armenian reservoirs by the comet assay.....	64
Davtyan V.A. <i>Kazaryan V.V., Grigoryan A.A.</i> Peculiarities of <i>Quercus macranthera</i> water regime depending on shoots load and growth of height vegetation.....	71
<i>Aghajanyan A.Kh., Aghajanyan A.A.</i> The antioxidant properties of some herbs.....	76
<i>Gyulkhandanyan A.G., Ghazaryan R.K., Knyuksho V.N., Stasheuski A.S., Dzhagarov B.M., Gyulkhandanyan G.V.</i> Action of fatty acids on the binding capacity of porphyrins to blood proteins: i. spectral investigations.....	80
<i>Hovhannisyan N.A., Chitchyan M.B., Hovhannisyan A.M., Melkumyan M.A., Oganezova G.G., Avetisyan N.S.</i> The influence of nonprotein amino acids on the activity of serine proteases trypsin and proteinase K.....	85

• Short communications •

<i>Chavushyan A.S.</i> Annexin-A5 as a marker of hyper-apoptosis in schizophrenia.....	91
<i>Sajadifar S.A.</i> Effect of high levels of zinc on antibody response and total white blood cell in broiler chicks vaccinated against coccidiosis.....	94
<i>Hakobjanyan A.A.</i> Study of oxidative processes in the rat brain during aging.....	97



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4(64), 2012

ԱՆՈՂՆԱՇԱՐԽՆԵՐԸ ՈՐՊԵՍ ՄԻՋԱՎԱՅՐԻ ԷԿՈՏՈՔՍԻԿՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԻՐԱՎԻՃԱԿԻ ԳՆԱՀԱՏՄԱՆ ԿԵՆՍԱԽՆԴԻԿԱՏՈՐՆԵՐ

Վ.Ս. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ¹, Վ.Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ², Հ.Գ. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ,
Լ.Ս. ՄԻՐՈՒՄՅԱՆ²

¹Վանաձորի պետական մանկավարժական համալսարան

²ՀՀ ԳԱԱ Հիդրոէկոլոգիայի և կենդանաբանության գիտական կենտրոն
varugh_zool52@mail.ru

Փորձնական ճանապարհով կենսաթեստավորման օգնությամբ ապացուցվել է, որ անձրևորդերի (*Eisenia rosea*) միջատների որոշ խմբերի – անտառային շեկ մրջյունների (*Cataglyphis nodus*), քոռուկների (*Chrisops sejunctus*, *Haematopota pallens*) և գալամյակների (*Dasyneura bayeri*) թրթուրների տոլերանտությունը միջավայրի աղտոտվածության նկատմամբ ցածր է, և դրանք կարելի է կիրառել որպես հողային միջավայրի աղտոտվածության կենսացուցիչներ:

Կենսացուցիչներ – կենսաթեստ – երկրաբիոններ – անողնաշարներ

С помощью биотестирования экспериментальным путем установлено, что толерантность дождевых червей (*Eisenia rosea*) и личинок некоторых групп насекомых – рыжих лесных муравьев (*Cataglyphis nodus*), слепней (*Chrisops sejunctus*, *Haematopota pallens*) и галлиц (*Dasyneura bayeri*) к загрязнению среды низкая и их можно применять в качестве биоиндикаторов загрязнения почвенной среды

Биоиндикаторы – биотест – геобионты – беспозвоночные

By biotesting it was established, that the tolerance of earthworms (*Eisenia rosea*) and the larvae of some insect groups – red forest ants (*Cataglyphis nodus*), horseflies (*Chrisops sejunctus*, *Haematopota pallens*) and the gall midges (*Dasyneura bayeri*) to contamination of the environment is low. It was concluded and they can be used as bioindicators of soil environment pollution.

Bioindicators – biotest – geobionts – invertebrates

Գյուղատնտեսական (պեստիցիդներ, հերբիցիդներ և պարարտանյութեր), արդյունաբերական և տրանսպորտային արտանետումները խիստ աղտոտում են շրջակա միջավայրը: Բնության համար օտար այդ արտանետումներից շատերը կենդանի օրգանիզմների, այդ թվում և մարդու վրա թողնում են մուտագեն և կանցերոգեն ազդեցություն, սակայն այդ աղտոտիչների ազդեցության մասին կարելի է խոսել միայն տարիներ հետո: Վերը ասվածը հիմնավորում է այն պնդումը, որ անհրաժեշտ է հսկողության տակ պահել շրջակա միջավայրի, հատկապես ուրբացենոզների էկոլոգիական իրավիճակը:

Կենսաբիոնների օգնությամբ կարելի է գաղափար կազմել միջավայրի էկոլոգիական իրավիճակի մասին [1, 3, 4, 6, 13, 16, 17]:

Այդ նպատակով առավել նպատակահարմար է կիրառել ինդիկացիայի ինտեգրված թեստ-մեթոդներ (on site) և կենդանի կենսաթեստեր՝ կենսաինդիկատոր [2, 8], որի հիմքում ընկած է միջավայրի առավել մաքուր պայմաններում աղապատացված, սակայն փորձի ընթացքում ժամանակավորապես աղտոտված միջավայրում հայտնված օրգանիզմների աղապատացիոն սթրեսի և ֆիզիոլոգիական վիճակի գնահատումը: Մեր կողմից որպես բիոթեստ են ընտրվել տոքսիկանտների նկատմամբ չափազանց զգայուն անձրևաորդերը (*Lumbricidae*), բազմոտանիները (*Myriapoda*), մրջյունները (*Formicidae*)

և երկթևեր՝ քոռուկները (Tabanidae) ու գալամիակները (Cecidomyiidae), որոնց զարգացման նախահասուն փուլերը ընդանում են հողում:

Աշխատանքի նպատակն է փորձնական ճանապարհով բացահայտել Վանաձոր քաղաքի տարբեր ֆունկցիոնալ գոտիներում հանդիպող անողնաշարների (անձրևորդեր, քոռուկներ, գալամիակներ, մրջյուններ, բազմոտանիներ) կենսաինդիկատոր տեսակները, որոնց օգնությամբ, իբրև կենսաթեստեր, հնարավոր կլինի որոշել միջավայրի աղտոտվածության աստիճանը:

Նյութ և մեթոդ: Կենսաբիոնթ ինդիկատոր տեսակների բացահայտման նպատակով Վանաձորի տարբեր ֆունկցիոնալ գոտիներից վերցված հողում կատարվել են փորձեր:

Կենսաթեստավորման համար նախատեսված անողնաշարները հավաքվել են Վանաձորից 20 կմ հեռավորության վրա գտնվող Շահան տեղանվան անտառից (Վանաձոր-Ալավերդի ավտոմայրուղուց 1,5-2 կմ հեռու): Հավաքվել են անողնաշարների հետևյալ խմբերը.

- Անձրևաորդեր՝ (Annelida, Lumbricina) – *Eisenia rosea* (Savigny, 1826) – հավաքվել են փովածքի և քարերի տակից,
- քոռուկներ՝ (Diptera, Tabanidae) – *Tabanus spectabilis*, *T. miki*, *Chrisops sejunctus* Szil., *Haematopota pallens*.

Քոռուկների թրթուրները հավաքվել են առափնյա հողից,

- գալամիակներ (Diptera, Cecidomyiidae) – *Dasineura bayeri* Ršbs. և *Asphondylia verbasci* Vall.: *D. bayeri* գալամիակի սպիտակավուն թրթուրները դուրս են բերվել *Sisymbrium loeselii* բույսի վրայից հավաքված գալերից, իսկ *A. verbasci* գալամիակի նարնջագույն թրթուրները *Verbascum* sp. բույսի գալերից,

- մրջյուններ (Himenoptera, Formicidae) *Cataglyphis nodus* Brulle (bicolor Sants.): Մրջյունի թրթուրները վերցվել են մրջնանոցից,

- բազմոտանիներ՝ (Myriapoda): Հավաքվել են քարերի տակից:

Հավաքված կենդանի նյութը՝ 5 օր պահվել է նույն վայրից վերցված հողում, հատուկ արկղերի մեջ,

սենյակային ջերմաստիճանի և նորմալ խոնավության պայմաններում:

Անձրևորդերի, քոռուկների և բազմոտանիների հետ կատարված փորձերը անց են կացվել հատկապես արված դրենաձային անցքերով, (30սմ x 30սմ x 20սմ) փայտյա արկղերում, իսկ գալամիակների և մրջյունների թրթուրները (5սմ x 5սմ x 5սմ) արկղերում, որոնց մեջ լցված էր Վանաձոր քաղաքի տարբեր ֆունկցիոնալ գոտիներից (Քիմ.կոմբինատ և նրանից 0,5 կմ, 1,5 կմ, 3 կմ, 5 կմ, 7 կմ և 20 կմ հեռու) նկ.1) վերցված հող: Կատարվել է 2-5 օր տևողությամբ կարճաժամկետ կենսաթեստավորում (screening test):

Որպես տոքսիկության չափանիշ է ընդունվել կենդանիների (թեստ օբյեկտների) 50% մահացությունը (LD_{50}) և դրանց հողի մեջ չխրվելու ու արկղից դուրս սողալու ցուցանիշը (avoidance test), ըստ ИСО ստանդարտների [7, 9-13]:

Արդյունքներ և քննարկում: Քիմ.կոմբինատի հարակից տարածքում անձրևորդերը հանդիպում են միայն միջին չափսի քարերի տակ: Կոմբինատից հեռանալուն զուգընթաց հողում վնասակար արտանետումների ազդեցության նվազման ցուցանիշ է հանդիսանում անողնաշարների կենսազանգվածի և սակավախոզան օղակավոր որդերի (Oligochaeta) թվաքանակի աճը: Բացառություն են կազմում քարքարոտ, ավազային, կավային հողերը, որտեղ անձրևաորդերը սովորաբար չեն հանդիպում, և ինդիկատոր տեսակները կարող են փոփոխվել:

Փորձ 1. Քիմ.կոմբինատի տարածքից վերցված հողում անձրևորդերը հողի մեջ տեղադրելուց 1 ժ հետո անընդհատ փորձում էին հեռանալ արկղից (avoidance test): 4-5 ժ հետո նրանց մաշկի վրա երևան եկան սպիտակ և մուգ կարմիր բծեր, հետո նրանց մարմնի առջևի մասը դարձավ սակավաշարժ և դրանք շուտով մահացան (acute toxicity):

Նույն տարածքից վերցված հողի մեջ զարգացող մրջյունների, քոռուկների, և գալամիակների թրթուրները չվերածվելով հարսնյակի և 2-3 օր հետո մահացան:

Բազմոտանիները 3-5 րոպեից հետո դուրս եկան աղտոտված հողից (avoidance test):

Քիմ.կոմբինատի տարածքում անձրևաորդերը և մյուս գեոբիոնթ ու մեզոբիոնթ անողնաշարները հանդիպում են միայն միջին չափսերի քարերի տակ (0,2 առանձնյակ/մ²):

Փորձ 2. Քիմ կոմբինատից 500 մ հեռավորությունից վերցված հողում տեղադրված 10 անձրևաորդերից 4-ը դարձան սակավաշարժ և 6-7 ժ հետո մահացան, իսկ մյուսները դուրս եկան արկղից: Մահացած օղակավոր որդերի վրա նկատվում էին սպիտակ կետեր և կարմիր բծեր: Այս հողում տեղադրված անողնաշարներից իրենց զարգացումը ավարտեցին միայն ճանճի, իսկ թաղանթաթների *Tabanus*, *Chrisops* և *Haematopota* քոռուկների և գալամիակների թրթուրները, չավարտելով իրենց զարգացումը, 20-25 ժ ընթացքում մահացան: *D. bayeri* գալամիակի մահացած թրթուրների վրա նկատվում են

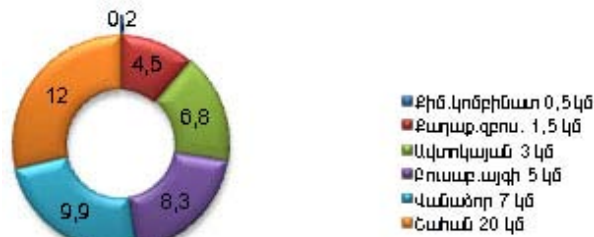
մուգ բծեր, իսկ *A. verbasci* վրա – սպիտակ և գորշ բծեր: Բազմոտանիները շատ արագ հեռացան հողից (avoidance test):

Պետք է նշել, որ քիմ.կոմբինատից 500 մ հեռու հողում հանդիպում են միայն օրիբատիտ տզեր և ճանճերի հատ ու կենտ թրթուրներ: Մնացած բոլոր գեոբիոնթ ու մեզոբիոնթ անողնաշարները (անձրևաորդեր, կողինջներ, պապուկներ, բզեզներ) հանդիպում են միայն խոշոր և միջին չափի քարերի տակ (0,2 առանձնյակ/մ²):

Փորձ 3. Քիմ.կոմբինատի տարածքից 1,5 կմ հեռավորությունից (կուլտուրայի պալատ, քաղաքային զբոսայգի) վերցված հողում 10 անձրևաորդերից 2-ը փորձը սկսելուց 15 ժ հետո մահացան, 2-ը ապրեցին ևս 13 ժ, իսկ վերջին 2-ը մահացան մոտ 26 ժ հետո: Բոլոր ճանճերի թրթուրները (30 առանձնյակ) հաջողությամբ հարսնյակավորվեցին և 3-5 օր հետո դրանցից դուրս եկան հասուն ճանճեր:

Մրջյունների թրթուրները չավարտելով իրենց զարգացումը, 2-3 օր հետ մահացան: *Tabanus* ցեղի քոռուկների 10 թրթուրներից 6-ը հաջողությամբ հարսնյակավորվեցին, երեքը մահացան բակտերիալ (*Bacillus thuringiensis*), իսկ մեկը՝ սնկային վարակից: *Chrisops* և *Haematopota* քոռուկների 10 թրթուրներից վեցը 10-15 ժ հետո մահացան, իսկ հարսնյակավորված 4 թրթուրներից 2-ը վերածվեցին հասունի, մյուս երկուսը մահացան: Բոլոր 10 գալամյակներից հարսնյակավորվեցին և հետագայում հասունի վերածվեցին *A. verbasci* նարնջագույն 2 թրթուր: Բազմոտանիները 1-2 ժ հետո համառորեն փորձում էին հեռանալ (avoidance test) հողից:

Այս տեղամասում ևս անողնաշարները հանդիպում են միայն քարերի (1-2 առանձնյակ/մ²) և փովածքի տակ (4,5 առանձնյակ/մ²):



Նկ. 1. Անձրևաորդերի թվաքանակը (առանձնյակ/մ²) Վանաձոր քաղաքի քիմ.կոմբինատի և նրա հարակից տարածքներում

Փորձ 4. Քիմ.կոմբինատի տարածքից 3 կմ հեռավորությունից (ավտոկայան և շուկա) վերցված հողում 10 անձրևաորդերից 4-ը 25-30 ժ հետո մահացան, իսկ 6-ը կենդանի մնացին մինչև փորձի ավարտը (5 օր):

Բոլոր ճանճերը (30 առանձնյակ) հաջողությամբ զարգացան մինչև հասուն:

C. nodus մրջյունների զարգացումը ընդհատվեց 3-5 օր հետո: *Tabanus* ցեղի քոռուկների 10 թրթուրներից 8-ը հարսնյակավորվեցին, իսկ 2-ը մահացան բակտերիալ (*Bacillus thuringiensis*) վարակից: Ութ հարսնյակներից հասունի վերածվեցին 5-ը, իսկ երեքը մահացան բակտերիալ վարակից: *Haematopota* ցեղի 10 թրթուրներից 4-ը հարսնյակավորվեցին, բայց չվերածվելով հասունի՝ մահացան, իսկ *Chrisops* ցեղի 10 թրթուրները և *Haematopota* ցեղից 6-ը մահացան թրթուրային փուլում: Գալամյակների բոլոր թրթուրները մահացան: Բազմոտանիները հողի մեջ մնացին 3-4 ժ:

Նշված տարածքում անձրևաորդերը հանդիպում են միայն կայարանամերձ հրապարակին հարող պուրակում, քարերի տակ (6,8 առանձնյակ/մ²):

Փորձ 5. Քիմ.կոմբինատի տարածքից 5 կմ հեռավորությունից (բուսաբանական այգի) վերցված հողում տեղադրված 10 անձրևաորդերից 1-ը 25-30 ժ հետո մահացավ, իսկ 9-ը փորձի 5-րդ օրը դեռևս կենդանի էին: Ճանճերի բոլոր 30 թրթուրները, զարգացան մինչև հասուն: *Tabanus* ցեղի 10 քոռուկներից մինչև հասուն զարգացան (*T. spectabilis*, *T. miki*) 8-ը, իսկ 2-ը հարսնյակային փուլում մահացան բակտերիալ վարակից: *Ch. sejunctus* 10 թրթուրներից 5-ը 10-12 ժ հետո մահացան: *H. pallens* քոռուկներից 6-ը զարգացան մինչև հասուն, իսկ 4-ը մահացան թրթուրային փուլում: *D. bayeri* գալամյակների թրթուրներից հասունի վերածվեցին միայն 2-ը, իսկ *A. verbasci* թրթուրներից – 4-ը: *C. nodus* մրջյունների 10 թրթուրներից իրենց զարգացումը ավարտեցին 7-ը: Բազմոտանիները հողում մնացին մինչև փորձի ավարտը:

Բուսաբանական այգում անձրևորդերը հանդիպում են բոլոր լայնատերև ծառերի տակ, հողում և փովածքում (8,3 առանձնյակ/մ²):

Փորձ 6. Քիմ.կոմբինատի տարածքից 7 կմ հեռավորությունից (Վանաձոր) վերցված հողում տեղադրված 10 անձրևադրդերը հաջողությամբ հարմարվեցին տվյալ հողի քիմիական պայմաններին, խրվեցին հողի մեջ և կենդանի մնացին մինչև փորձի ավարտը:

C. nodus 10 անտառային շեկ մրջյուններից մինչև փորձի ավարտը կենդանի մնացին 6-ը, իսկ 4-ը 3-5 օրվա ընթացքում մահացան: Ճանձերի բոլոր թրթուրները զարգացան մինչև հասուն: *Tabanus* ցեղի 10 թրթուրներից 9-ը զարգացան մինչև հասուն, իսկ 1-ը մահացավ բակտերիալ վարակից: *Ch. sejunctus* քոռուկների 10 թրթուրներից մինչև հասուն զարգացան 7-ը, իսկ *A. verbasci* բոլոր 5 զալամակները ավարտեցին իրենց զարգացումը և վերածվեցին հասունի: Բազմոտանիները մինչև փորձի վերջը թաքնվեցին հողում:

Վանաձորի կիրճում անձրևադրդերը հանդիպում են բոլոր լայնատերև ծառերի տակ, հողում և փովածքում (9,9 առանձնյակ/մ²):

Փորձ 7. Շահան (Վանաձոր-Ալավերդի ճանապարհատվածի 20 կմ) տարածքից վերցված հողում տեղադրված բոլոր անձրևադրդերն ապրեցին մինչև փորձի վերջը:

Ճանձերի, (*Tabanus* և *Haematopota*) քոռուկների բոլոր թրթուրները վերածվեցին հասունի: *Ch. sejunctus* քոռուկներից հասունի վերածվեցին միայն 8 թրթուր, իսկ 2-ը մահացան սնկային վարակից: Գալամակները հաջողությամբ ավարտեցին իրենց զարգացումը, իսկ բազմոտանիները կենդանի մնացին:

Ստուգիչ տարածքի հողում անձրևադրդերը հանդիպում են լայնատերև ծառերի տակ, հողում և փովածքում (12 առանձնյակ/մ²):

Լեռնապատ, Փամբակ և Սարալ գյուղերի տարածքից վերցված հողում բոլոր անողնաշարների զարգացման ընթացքը նման է փորձ 7-ի տվյալներին:

Այսպիսով, ամփոփելով կարճաժամկետ կենսաթեստավորման (screening test) արդյունքները՝ կարելի է եզրակացնել, որ հողային միջավայրի մաքրության առավել հստակ ինդիկատորային տեսակ են հանդիսանում անձրևադրդերը (tests for the habitat function of soil), որոնք չեն հանդիպում քիմ.կոմբինատի արտանետումներով աղտոտված հողում [7,14,15]: Քիմ.կոմբինատի տարածքից միայն 5 կմ հեռավորության վրա հողային նմուշներում հանդիպում են սակավախոզաններ: Հետազոտության արդյունքները համընկնում են փորձի տվյալների հետ, որտեղ քիմ.կոմբինատից միայն 5 կմ հեռավորությունից վերցված հողում անձրևադրդերը (10-ից 9-ը) սկսեցին ադապտացվել հողի քիմիական պայմաններին: Ի տարբերություն անձրևադրդերի ճանձերի (Diptera) թրթուրները ցուցաբերում են բարձր տոլերանտություն և նրանք դիմանում են նույնիսկ քիմ.կոմբինատի տարածքից վերցված հողում և նրանց կարելի է համարել միջավայրի աղտոտվածության կենսացուցիչ: Այս երկթևերը, հաճախ հարմարվելով այլ օրգանիզմների համար էկոլոգիապես անբարենպաստ պայմաններում և չունենալով ոչ մի մրցակից, տալիս են անսխալեղ աճ (թվաքանակի և կենսազանգվածի), որն էլ հենց միջավայրի աղտոտվածության լավագույն ցուցանիշ է համարվում:

Փորձերի արդյունքներից կարելի է եզրակացնել, որ *Ch. sejunctus* և *H. pallens* քոռուկների թրթուրները հողային միջավայրի աղտոտվածության նկատմամբ ավելի զգայուն են, քան *Tabanus* ցեղի քոռուկները, որոնք այդ նույն պայմաններում ցուցաբերում են առավել բարձր տոլերանտություն:

Փորձի ենթարկված *A. verbasci* զալամակների թրթուրների զարգացման վաղ հասակները ընթանում են՝ *Verbasum* sp, իսկ *D. bayeri* զալամակինը՝ *S. loeselii* մեջ, որտեղ միջավայրի գործոնները չեն կարող որևէ զգալի ազդեցություն ունենալ նրանց զարգացման վրա: Գալերից դուրս եկած թրթուրների զարգացումը ընթանում է հողային միջավայրում և գտնվում է նրա աբիոտիկ գործոնների մամլիչի, հատկապես քիմիական տարրերի ազդեցության տակ:

Համաձայն փորձերի արդյունքների, միջավայրի աղտոտվածության նկատմամբ առավել զգայուն են *D. bayeri* սպիտակավուն թրթուրները, որոնց մահացության տոկոսը աղտոտված հողում ավելի բարձր է քան *A. verbasci* նարնջագույն թրթուրներինը [17]:

Փորձերի տվյալներից կարելի է ենթադրել, որ անձրևադրդերի, *Cataglyphis nodus* անտառային շեկ մրջյունների, *Ch. sejunctus* և *H. pallens* քոռուկների և *D. bayeri* զալամակների տոլերանտությունը միջավայրի աղտոտվածության նկատմամբ բարձր չէ, և նրանց կարելի է կիրառել որպես հողի քիմիական աղտոտվածության կենսաինդիկատորներ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Խաչատրյան Վ.Ս., Հովհաննիսյան Վ.Ս.* Վանաձորի քիմիական գործարանի և նրա հարակից տարածքների արդի էկոլոգիական իրավիճակի գնահատումը հողային անողնաշարավորների օրինակով: ՀՊՄՀ 2010 թ., 54-րդ նստաշրջան, 3-րդ պրակտ. 57-58:
2. *Алимов А.Ф., Финогенова Н.П.* Оценка степени загрязнения вод по составу донных животных. В кн.: Методы биологического анализа пресных вод. Л., Изд. ЗИН АН СССР, 1976.
3. *Геворгян Г.А., Хачатрян К.С., Арутюнова Л.Д., Оганесян В.С., Мелконян Л.Г.* Радиоэкологический мониторинг почвенной среды г.Ванадзор с помощью дождевых червей и слизней (Lumbricina; Limacidae). Мед.наука .Армении, *LI*, 4, с. 58-63, 2011.
4. *Жмур Н.С.*, Государственный и производственный контроль токсичности методами биотестирования в России. М.: Международный дом сотрудничества, 114 с., 1997.
5. *Захаров В.М.* Биотест. М., Наука, 176 с., 1993.
6. *Муравьев А.Г., Каррыев Б.Б., Ляндзберг А.Р.* Оценка экологического состояния почвы. Санкт-Петербург, Крисмас. 216 с., 2008.
7. *Оганесян В.С., Хачатрян К.С., Арутюнова Л.Д.* Динамика накопления тяжелых метал-лов в организме моллюсков (Molluska, Limacidae) города Ванадзор. Биолог. журн. Армении, 63, 3, с. 42-46, 2011.
8. *Пижл В.* Значение дождевых червей как биоиндикаторов загрязнения почвы пестицидами. Экология, 5, с. 86-88, 1989.
9. *Смулов А.В.* Биологические методы диагностики среды обитания. Экологическая диагностика (серия "Безопасность России") Под. ред. В.Г., Ключева. МГФ, Знание. М., Машиностроение, с. 391-404, 2000.
10. *Фомин Г.С., Фомин А.Г.* Почва. Контроль качества и экологической безопасности по международным стандартам. Справочник. М., 2001.
11. *Фомин Г.С., Фомин А.Г.* Международный стандарт ИСО 11268-1. Определение загрязнения по острой летальной токсичности у земляных червей, 2001.
12. *Фомин Г.С., Фомин А.Г.* Международный стандарт ИСО 11268-2. Определение загрязнения по подавлению репродуктивности у земляных червей. 2001.
13. *Фомин Г.С., Фомин А.Г.* Международный стандарт ИСО 11268-3. Определение загрязнения по острой летальной токсичности у земляных червей в полевых условиях. 2001.
14. *Хачатрян К.С.* Динамика накопления тяжелых металлов в организме кольчатых червей (Annelidae, Lumbricina) в городе Ванадзор и его окрестностей. Ереван, 2011.
15. Мат. межд. научн. конф. Биол. разнообр. и пробл.охр.фауны Кавказа". 26-29 сентября. с. 323- 326, 2011.
16. *Циприян В.И., Коршун М.М., Дацюк Д.Е.* Экотоксикологическая оценка качества почвы Гигиена и сан. 1, с. 25-28, 1993.
17. *Mirumian L.S.* Phitophagous gall midges (Diptera: Cecidomyiidae) of Armenia. Acta. Soc. Zool. Bohem., 75, p. 87-106, 2011.

Ստացվել է 06.06.2012



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4(64), 2012

**ՄԵՎԱՆԱ ԼՃԻ ԱՎԱԶԱՆՈՒՄ ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՏԱՌԵՒԻԿՆԵՐԻ (ALBURNOIDES
BIPUNCTATUS ARMENIENSIS (OSTEICHTHYES, CYPRINIDAE)
ՏԱՐԱԾՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ**

Տ.Վ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Ն.Է. ԲԱՐՍԵՂՅԱՆ

*ՀՀ ԳԱԱ Կենդանաբանության և Հիդրոէկոլոգիայի գիտական կենտրոնի
Հիդրոէկոլոգիայի և ձկնաբանության ինստիտուտ,
vardtigran@mail.ru, nelka.84@bk.ru*

Սևանա լճի ավազանի ձկնային հանրային ուսումնասիրման նպատակով 2011թ. Կատարվել են ձկնաբանական հետազոտություններ: Բացահայտվել է, որ Արգիճի, Վարդենիս և Գավառագետ գետերի ստորին հոսանքներում և Հրազդան գետի ակունքում առաջին անգամ հայտնաբերվել են հայկական տառեխիկի առանձնյակներ: Ձկների կերի հիմնական բաղադրիչ կազմել են հատակային կենդանիները, բացառությամբ Արգիճի գետի ստորին հոսանքի, որտեղ կերի հիմնական բաղադրիչ են կազմել ֆիտոպլանկտոնային օրգանիզմները: Սևանա ինտենսիվության և բովանդակության ցուցանիշների տարբերությունները Սևանա լճի ավազանի տարբեր հատվածներում պայմանավորված են կերի բնույթով՝ կերի բաղադրիչների քանակով և կալորիականությամբ: Սևանա լճի ավազանում վարակվածության էքստենսիվության ամենաբարձր ցուցանիշը գրանցվել է լճում, վարակվածության ինտենսիվության ամենաբարձր ցուցանիշը՝ ձկնագետ գետի ստորին հոսանքում:

Հայկական տառեխիկ – սննդառություն – Սևանա լճի ավազան

Для изучения ихтиофауны бассейна оз. Севан в 2011г были проведены ихтиологические исследования. Выявлено, что в нижних течениях рек Аргичи, Варденис и Гаварагет и в канале реки Раздан были обнаружены особи армянской быстрянки. Основным компонентом пищи рыб являлись донные животные, за исключением нижнего течения реки Аргичи, где основным компонентом корма являлись фитопланктонные организмы. Различия показателей интенсивности питания и упитанности в различных участках бассейна оз. Севан связаны с характером корма – количеством компонентов пищи и калорийностью. Высокий показатель экстенсивности инвазии был зарегистрирован в самом озере, высокий показатель интенсивности инвазии – в нижнем течении реки Дзкнагет.

Армянская быстрянка – питание – бассейн оз.Севан

The ichthyological investigations for revealing the fish community in Lake Sevan in 2011 have been done. Armenian sprilin has been founded in the lower flows of the rivers Argichi, Vardenis and Gavaraget and in the upstream of the river Hrazdan for the first time. Bottom invertebrates are the main part of fish food in the whole studied area except the lower flow of the river Argichi, where the main part of fish food is phytoplankton. The differences in parameters of feeding intensity and condition factor in Lake Sevan are the nature of food- the quantity of food components and calories. The highest rate of extensiveness of invasion - EI has been recorded in the lake and the highest rate of intensity of invasion has been recorded in the lower flow of the river Dzknaget.

Armenian Sprilin – feeding – Lake Sevan basin

Հայկական տառեխիկը որպես առանձին ենթատեսակ՝ *A. bipunctatus armeniensis* նկարագրվել է 1972թ.-ին՝ Դադիկյանի կողմից [3]: Ձևաչափական հատկանիշների վերլուծության, ինչպես նաև Անդրկովկասում հայկական և արևելյան տառեխիկների արեալների ոչ հստակ տարաբաժանվածության հիման վրա առաջարկվել է հայկական տառեխիկի *Alburnoides bipunctatus armeniensis* Dadikyan, 1972 անվանումը դիտարկել որպես արևելյան տառեխիկի *Alburnoides bipunctatus eichwaldi* (Filippi, 1863) կրտսեր հոմանիշ [9]: Բոգուտսկայայի և Կոսադի կողմից իրականացված վերստուգման հետևանքով պարզվել է, որ հայկական և արևելյան տառեխիկները հոմանիշներ են [15]:

Հայկական տառեխիկը տարածված է Հայաստանի գրեթե բոլոր ջրամբարներում (ծովի մակարդակից 2200 մ բարձրության վրա), բացառությամբ Սևանա լճի ավազանի [3]: Ժամանակակից ուսումնասիրությունների արդյունքում առաջին անգամ հայկական տառեխիկ հայտնաբերվել է 2007թ.-ին Սևանի ավազանի Ձկնագետ գետում [4]: Ըստ 2008թ.-ի ուսումնասիրությունների՝ տառեխիկը հանդիպել է Ձկնագետ գետի գետաբերանում [14]: Ըստ 2010թ.-ի ուսումնասիրությունների՝ հայկական տառեխիկը հայտնաբերվել է նաև Սևանա լճում [1]:

Սևանա լճում հայկական տառեխիկը հանդիսանում է միջանկյալ տեր *L. intestinalis* մակաբույծի համար [1]:

Աշխատանքի նպատակն է բացահայտել Սևանա լճի ավազանում հայկական տառեխիկի տարածվածությունը և տալ նրա կենսաբանական բնութագիրը:

Նյութ և մեթոդ: 2011թ. ձկնաբանական ուսումնասիրություններ են իրականացվել Սևանա լճում, Արգիճի գետում, Ձկնագետը և Գավառագետ գետերի ստորին հոսանքներում և Հրազդան գետի ակունքում: Ձկների որսն կատարվել է ձկնաթորի միջոցով, ապա ֆիքսվել ֆորմալինի 4%-անոց լուծույթով: Որոշվել է ձկների ձևաչափական ցուցանիշները՝ երկարությունը (L-ընդհանուր և l-մինչև թեփուկային ծածկի վերջը), զանգվածը (G-ընդհանուր և g-փորոտիքը հեռացված), բովանդակության գործակիցը (ըստ Ֆուլտոնի, ըստ Կլարկի) [6, 7, 10, 13]:

Ձկների աղետամոքսային տրակտի պարունակության մշակումը կատարվել է ջրակենսաբանության մեջ ընդունված մեթոդներով [5, 12]: Կատարվել է տրակտի պարունակության քանակական և որակական վերլուծություն:

Ձկների սնման ինտենսիվության ցուցանիշ է հանդիսացել աղետամոքսային տրակտի լցվածության ընդհանուր ինդեքսը (%/օօօ):

Մակաբույծների հետազոտությունների համար օգտագործվել են ֆորմալինով ֆիքսված ձկներ: Վերջիններս 2 օր պահվել են թորած ջրում՝ 2-3 ժամը մեկ այն փոխելով (բացառությամբ գիշերվա ժամերի) [11]: Դրանից հետո կատարվել է ձկների հերձում ըստ ընդունված մեթոդների [2]: Մակաբույծների որոշումը կատարվել է որոշիչների օգնությամբ [8]: Ուսումնասիրվել է միայն *Ligula Intestinalis* մակաբույծներով վարակվածության ցուցանիշները:

Ձկների վարակվածությունը գնահատվել է վարակվածության էքստենսիվություն (ՎԷ), վարակվածության ինտենսիվություն (ՎԻ) և առատության ինդեքս (ԱԻ) ցուցանիշների միջոցով [2]:

Արդյունքներ և քննարկում: Արգիճի, Վարդենիս և Գավառագետ գետերի վերին և միջին հոսանքներում հայկական տառեխիկներ չեն հանդիպել: Առաջին անգամ հայկական տառեխիկներ են հայտնաբերվել Արգիճի, Վարդենիս և Գավառագետ գետերի ստորին հոսանքներում և Հրազդան գետի ակունքում: Հրազդան գետի ակունքում հայտնաբերվել է հայկական տառեխիկի երկու էգ առանձնյակ, իսկ Գավառագետում՝ միայն մեկ առանձնյակ: Սևանա լճի ավազանում ուսումնասիրման է ենթարկվել հայկական տառեխիկի 133 առանձնյակ: Ուսումնասիրվող ձկների երկարության և զանգվածի մասին տվյալները բերված են աղ. 1-ում:

Աղյուսակ 1. Սևանա լճի ավազանում հայկական տառեխիկների երկարության և զանգվածի ցուցանիշները

Փորձանմուշ վերցնելու վայրը	Առանձնյակների քանակը	Երկարությունը, սմ	Զանգվածը, գ
Սևանա լիճ	37	5,7-11,7	2,0-18,0
Ձկնագետ գետի ստորին հոսանք	56	4,0-11,5	0,6-20,0
Արգիճի գետի ստորին հոսանք	16	6,0-10,8	2,0-10,5
Հրազդան գետի ակունք	2	8,0-8,7	7,0-8,0
Վարդենիս գետի ստորին հոսանք	21	7,7-10,7	6,0-16,0
Գավառագետ գետի ստորին հոսանք	1	9,3	11,0

Էգ առանձնյակների համեմատաբար բարձր մասնաբաժին նկատվել է Ձկնագետ գետի ստորին հոսանքում (աղ. 2):

Աղյուսակ 2. Սևանա լճի ավազանում հայկական տառեխիկների էգ առանձնյակների մասնաբաժինը, %

Փորձանմուշ վերցնելու վայրը	Ամիս	Էգ առանձնյակների մասնաբաժինը, %
Սևանա լիճ	հուլիս	35
Ձկնագետ գետի ստորին հոսանք	մայիս-սեպտեմբեր	44
Արգիճի գետի ստորին հոսանք	սեպտեմբեր	38
Վարդենիս գետի ստորին հոսանք	սեպտեմբեր	38

Սևանա լճի ավազանում հայկական տառեխիկները սնվում են հիմնականում հատակային կենդանիներով, հասուն միջատներով և ֆիտոպլանկտոնային օրգանիզմներով: Սնման ինտենսիվության ամենաբարձր և բովանդակության ամենացածր ցուցանիշները գրանցվել են Արգիճի գետի ստորին հոսանքի տառեխիկների մոտ: Ի տարբերություն մյուս դիտակետերի, այստեղ ձկների կերի հիմնական բաղադրիչ կազմել են ֆիտոպլանկտոնային օրգանիզմները: Բովանդակության ամենաբարձր ցուցանիշը գրանցվել է Սևանա լճում (աղ. 3):

Աղյուսակ 3. Սևանա լճի ավազանում հայկական տառեխիկների կերի բաղադրիչները, Սնման, ինտենսիվության և բովանդակության ցուցանիշները

Փորձանմուշ վերցնելու վայրը	Սնման ինտենսիվությունը, ‰	Բովանդակությունը		Կերի բաղադրիչները
		Ըստ Կլարկի	Ըստ Ֆուլտոնի	
Սևանա լիճ	0-300	1,63	2,18	Թավաթների թրթուրներ (Trichoptera), բզգան մոծակի թրթուրներ (Chironomidae), հասուն միջատ, մրջյուն
Ձկնագետ գետի ստորին հոսանք	0-265	1,52	2,16	Թավաթների թրթուրներ (Trichoptera), բզգան մոծակի թրթուրներ (Chironomidae), միօրյակի թրթուրներ (Ephemeroptera), երկարոտ մոծակ (Tipulidae), սակավախոզան որդեր (Oligochaeta), գարունիկի թրթուրներ (Plecoptera), մկակի թրթուրներ (Simuliidae), հասուն միջատ
Արգիճի գետի ստորին հոսանք	0-1020	1,44	1,81	Թավաթների թրթուրներ (Trichoptera), բզգան մոծակի թրթուրներ (Chironomidae), բզեզի թրթուրներ (Coleoptera), մկակի թրթուրներ (Simuliidae), միօրյակի թրթուրներ (Ephemeroptera), ֆիտոպլանկտոնային օրգանիզմներ
Հրազդան գետի ակունք	0-300	1,77	2,24	Կենդանական դետրիտ, ճյուղաբեղավոր խեցգետնակերպեր (Cladocera)
Գավառագետ գետի ստորին հոսանք	123	2,15	1,76	Կողալողեր (Gammaridae), միօրյակի թրթուրներ (Ephemeroptera), հասուն միջատ
Վարդենիս գետի ստորին հոսանք	45-374	1,69	2,11	Թավաթների թրթուրներ (Trichoptera), բզգան մոծակի թրթուրներ (Chironomidae), բզեզի թրթուրներ (Coleoptera), խխունջ (Gastropoda), գարնանաթևիկի թրթուրներ (Plecoptera), ջրային սարդ (Hydracarina), հասուն միջատ, ֆիտոպլանկտոնային օրգանիզմներ

Մնման ինտենսիվության բարձր և բովանդակային ցածր ցուցանիշները պայմանավորված են Սևանա լճի ավազանի տարբեր հատվածներում կենսապայմանների տարբերությամբ, մասնավորապես կերի բնույթով՝ կերի բաղադրիչների քանակով և կալորիականությամբ:

Ձկնագետ գետի ստորին հոսանքում ձկների սնման ամենաբարձր ցուցանիշը գրանցվել է մայիս ամսին, իսկ ամենացածրը՝ սեպտեմբերին: Սևանա լճում սեպտեմբերին սնման ինտենսիվության ցուցանիշը ավելի բարձր է, քան հուլիսին (աղ. 4):

Աղյուսակ 4. Սևանա լճի ավազանում տարբեր ամիսներին տառեխիկների սնման ինտենսիվությունը (‰)

Փորձանմուշ վերցնելու վայրը	Մայիս	Հունիս	Հուլիս	Սեպտեմբեր
Սևանա լիճ	-	-	97	136
Ձկնագետ գետի ստորին հոսանք	100	65	75	8
Արգիճի գետի ստորին հոսանք	-	-	-	244
Վարդենիս գետի ստորին հոսանք	-	-	-	160

Սևանա լճի ավազանում գրանցվել է տառեխիկների *Ligula intestinalis* – մակաբույծներով վարակվածություն: ՎԷ (վարակվածության էքստենսիվություն) ամենաբարձր ցուցանիշը գրանցվել է Սևանա լճում, սակայն ՎԻ (վարակվածության ինտենսիվություն) ամենաբարձր ցուցանիշը գրանցվել է Ձկնագետ գետի ստորին հոսանքում (աղ. 5):

Աղյուսակ 5. Սևանա լճի ավազանում հայկական տառեխիկների վարակվածության ցուցանիշները

Փորձանմուշ վերցնելու վայրը	Առանձնյակների քանակը	ՎԷ, %	ՎԻ	ԱԻ
Սևանա լիճ	37	59,5	0,8	0,3
Ձկնագետ գետի ստորին հոսանք	56	3,6	4,5	0,2
Արգիճի գետի ստորին հոսանք	16	0,0	0,0	0,0
Հրազդան գետի ակունք	2	50,0	1,0	0,5
Գավառագետ գետի ստորին հոսանք	1	0,0	0,0	0,0
Վարդենիս գետի ստորին հոսանք	21	0,0	0,0	0,0

Այսպիսով, Արգիճի, Վարդենիս և Գավառագետ գետերի ստորին հոսանքներում և Հրազդան գետի ակունքում առաջին անգամ հայտնաբերվել են հայկական տառեխիկի առանձնյակներ: Ձկների կերի հիմնական բաղադրիչ կազմել են հատակային կենդանիները, բացառությամբ Արգիճի գետի ստորին հոսանքի, որտեղ կերի հիմնական բաղադրիչ են կազմել ֆիտոպլանկտոնային օրգանիզմները: Մնման ինտենսիվության և բովանդակային ցուցանիշների տարբերությունները Սևանա լճի ավազանի տարբեր հատվածներում պայմանավորված է կերի բնույթով՝ կերի բաղադրիչների քանակով և կալորիականությամբ: Սևանա լճի ավազանում ՎԷ ամենաբարձր ցուցանիշը գրանցվել է Սևանա լճում, իսկ ՎԻ ամենաբարձր ցուցանիշը՝ Ձկնագետ գետի ստորին հոսանքում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Բարսեղյան Ն.Է., Վարդանյան Տ.Վ. Սևանա լճի համար նոր տեսակ հանդիսացող հայկական տառեխիկների կենսաբանական բնութագիրը. Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 63, 2, էջ 87-89, 2011:
2. Быховская-Павловская И.Е. Паразиты рыб. Руководство по изучению. Л., Наука, 121 с.. 1985.
3. Дадикян М.Г. Рыбы Армении. Ереван, Изд-во АН АрмССР. 245с., 1986.

4. Левин Б.А., Рубенян А.Р. Первые сведения о появлении армянской быстрянки *Alburnoides bipunctatus armeniensis* (Osteichthyes, Cyprinidae) в бассейне озера Севан. Биология внутр. вод. 3. с. 81-83, 2007.
5. Методическое пособие по изучению питания и пищевых отношений рыб в естественных условиях, М., Изд-во Наука, 254с., 1974.
6. Моисеев П.А., Азизова Н.А., Куранова И.И. Ихтиология, М., Изд-во "Легкая и пищевая промышленность", 384с., 1981.
7. Никольский Г.В. Экология рыб, М., Высшая школа, 366с., 1974.
8. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. Паразитические многоклеточные. (Вторая часть). Л., Наука, 3, 583 с.1987.
9. Липоян С.Х. О таксономическом положении армянской быстрянки *Alburnoides bipunctatus armeniensis* Dadikyan, 1972 (Cyprinidae, Pisces) DADIKYAN, 1972. Биолог.журн.Армении 60, 1-2, с. 66-71, 2008.
10. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб, М., Изд-во Пищевая промышленность, 376с., 1966.
11. Пугачев О.Н. Паразиты пресноводных рыб Северной Азии (фауна, экология паразитарных сообществ, зоогеография). Автореф...докт. дисс. С.-Петербург. 50 с., 1999.
12. Руководство по изучению рыб в естественных условиях, М., Изд-во АН СССР, 263с., 1961.
13. Чутунова Н.И. Руководство по изучению возраста и роста рыб, М., Изд-во АН СССР, 1959.
14. Экология озера Севан в период повышения его уровня. Изд-во Наука ДНЦ, 347с., 2010.
15. Bogutskaya N.G., Coad B.W. A review of vertebral and fin-ray counts in the genus *Alburnoides* (Teleostei: Cyprinidae) with a description of six new species. Zoosystematica Rossica. 18, 1, p. 126-173, 2009.

Մուղղվել է 15.06.2012



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4(64), 2012

ՈՒՆԷԿՏՈՒՄԻ ՆԱԽԵՐՆ ՈՒ ԹՓԵՐՆ ԵՎ ԴԻԱՆՑ ԴԵՐՆ ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԴԵՆԴՐՈՖԼՈՐԱՅԻ ՁԵՎԱՎՈՐՄԱՆ ՈՒ ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ ԳՈՐԾԸՆԹԱՑՈՒՄ

Ժ.Հ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Ա.Ա. ԽԱԶԻՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Բուսաբանության ինստիտուտ
botanyinst@sci.am, 888aram@bk.ru

Հայաստանի դենդրոֆլորայի վերաբերյալ գրականության տվյալների վերլուծության հիման վրա փորձ է արվել հստակություն մտցնել ռելիկտային տեսակների կարգավիճակի հարցում: Բացահայտվել են Հայաստանի դենդրոֆլորայի ձևավորման և զարգացման գործընթացում դրանց ունեցած դերի վերաբերյալ մի շարք մանրամասներ: Ներկայումս Հայաստանի դենդրոֆլորայի կազմում հանդիպում են 19 ընտանիքի և 20 ցեղի պատկանող 20 ռելիկտային տեսակներ:

Դենդրոֆլորա – բուսականություն – ռելիկտային ծառաբույսեր – կոլխիդյան և հիրկանյան ռեֆուգիում – երրորդական ժամանակաշրջան

На основании анализа литературных данных по дендрофлоре Армении сделана попытка внесения четкости в статус и терминологию реликтовых видов. Выяснены некоторые подробности по формированию и развитию дендрофлоры Армении. В настоящее время в составе дендрофлоры Армении реликты представлены 20 видами из 20 родов и 19 семейств.

*Дендрофлора – растительность – реликтовые древесные растения – колхидский и
гирканский рефугиум – третичный период*

An attempt of clarification of relict species Oand their terminology was carried out. Some details on the role of the relict species in formation and development of dendroflora of Armenia were identified. At present, the relicts in the dendroflora of Armenia are presented by 20 species from 20 genera and 19 families.

Dendroflora –vegetation – relict arboreal plants – colchic and hyrcanic refugium – tertiary period

Ռելիկտները հիմնականում երրորդական ժամանակաշրջանի պոլտավական, տուրգայական և հնագույն-միջերկրածովյան ֆլորաների ներկայացուցիչներ են, որոնք վերապրել են ուշ պլիոցենում և պլեյստոցենում ընթացող սառցապատման և միջսառցապատման ժամանակաշրջանների անբարենպաստ կլիմայական պայմանները, պահպանվելով Կովկասի տարածաշրջանում, գլխավորապես Կոլխիդյան և Հիրկանյան ռեֆուգիումներում (ապաստարաններում): Հայաստանը գտնվելով Թալիշի և Կոլխիդյան միջև, մի կողմից ենթարկվել է Կոլխիդյան, մյուս կողմից՝ Թալիշի ազդեցությանը: Կոլխիդյան տարրերը ներթափանցել են առաջին հերթին իրեն սահմանակից Հայաստանի հյուսիսային շրջանները, իսկ Թալիշինը՝ Չանգեզուր: Այդ պատճառով է, որ ներկայումս հանրապետության հյուսիսարևելյան շրջանների դենդրոֆլորայում հանդիպում են Կոլխիդյան, իսկ Չանգեզուրի և Մեղրու դենդրոֆլորայում՝ Թալիշյան (Հիրկանյան) տարրերը:

Հայաստանի ներկայիս բուսական աշխարհի բազմազանության շուրջ 10 %-ը կազմող դենդրոֆլորան ընդգրկում է մոտ 350 տեսակի տնտեսապես արժեքավոր, ռելիկտային և էնդեմիկ, ինչպես նաև հազվագյուտ հանդիպող (ՀՀ Կարմիր գրքում գրանցված) ծառաբույսեր, որոնց ուսումնասիրությունն ունի գիտական և գործնական կարևոր նշանակություն: Արդիական ծառաբույսերի կազմում գիտական մեծ հետաքրքրություն են ներկայացնում ռելիկտային տեսակները:

Հայաստանի դենդրոֆլորայի ռելիկտների հիմքը կազմում են *Acer laetum*, *Corylus colurna*, *Euonymus velutina*, *Hedera helix*, *Pistacia mutica*, *Periploca graeca*, *Platanus orientalis*, *Populus euphratica*, *Smilax excelsa*, *Staphylea pinnata*, *Taxus baccata*, *Zelkova carpinifolia* տեսակները, որոնց ճնշող մեծամասնությունը որպես անհետացող և հազվագյուտ ներկայումս գրանցված է ՀՀ բույսերի Կարմիր գրքում [1,2]: Ռելիկտային ծառերն ու թփերը ներկայացված են 2 էկոլոգիական խմբով՝

քսերոթերմիկ (*Punica granatum*, *Juglans regia*, *Pistacia mutica* և ուր.),

թերմոմեզոֆիլ (*Rhododendron caucasicum*, *Smilax excelsa*, *Hedera helix*, *Periploca graeca* և ուր.):

Հայաստանի դենդրոֆլորայի ձևավորման գործընթացում ակտիվ դեր են խաղում հատկապես 1-ին խմբի որոշ ներկայացուցիչներ [3,4]:

Ռելիկտային տեսակների ուսումնասիրությունը չափազանց կարևոր տեղեկություն կարող է տալ երկրաբանական վաղ ժամանակների կլիմայական պայմանների, ֆլորաների ու բուսականության տիպերի և դրանց զարգացման ընթացքի վերաբերյալ: Դրա շնորհիվ հնարավոր է բացահայտել հարավ-կովկասյան տարածաշրջաններում տարբեր երկրաբանական ժամանակաշրջանում գոյություն ունեցող ֆլորաների և բուսականության ձևավորման ու զարգացման դինամիկան՝ սկսած դեռևս կավճի դարաշրջանի վերջից (100-90 մլն տարի առաջ):

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրության օբյեկտ են հանդիսացել Հայաստանի դենդրոֆլորայի ռելիկտային տեսակները, գրականության աղբյուրներում դրանց վերաբերյալ բուսաբանների կողմից տրված մեկնաբանությունները, տարբեր երկրաբանական ժամանակաշրջաններ ներկայացնող ապարներում հայտնաբերված բրածո նյութերը, Կովկասի բրածո բույսերի կատալոգը և այլն [1-8, 11, 13]:

Կոլիխիդյան և Հիրկանյան ռեֆուգիումների միջև ընդհանուր հանդիսացող բուսատեսակները, ինչպես նաև Հայաստանի ներկայիս դենդրոֆլորայում դրանց առկայությունը բացահայտելու նպատակով ուսումնասիրվել են Կոլիխիդայի և Թալիշի ֆլորաների կազմի և բուսականության վերաբերյալ առկա աշխատությունները [11, 13, 14]: Վերլուծվել են նաև ռելիկտային տեսակների մորֆոլոգիական, կենսաբանական և էկոլոգիական մի շարք առանձնահատկություններ՝ կապված դրանց տերևակալման պարբերականության, տերևաթափման, տերևների ձևի, ծաղկման, աճման տեմպի և այլ հատկանիշների հետ [10, 15-17, 19]:

Արդյունքներ և քննարկում: Մեր ուսումնասիրության նպատակն է եղել տարբեր հետազոտողների կողմից տրված ռելիկտային տեսակների սահմանումների համեմատման և քննադատական վերլուծության միջոցով տալ ռելիկտային տեսակների ընդհանրական ու ընդգրկուն մեկնաբանությունը՝ դրանց բնութագրող հիմնական առանձնահատկություններով: Բացահայտել Հայաստանի դենդրոֆլորայի ձևավորման և զարգացման գործում ռելիկտային տեսակների ունեցած դերի վերաբերյալ որոշ մանրամասներ: Այդ նպատակով առաջին հերթին քննարկվել են «ռելիկտ» տերմինի վերաբերյալ առկա մեկնաբանությունները:

Մի շարք բուսաբաններ որպես ռելիկտ ընդունում են նախկինում գոյություն ունեցող հնագույն ֆլորաների հանգույց, քայքայվող (ռեգրեսիվ) մնացորդները [18]: Առանձին դեպքերում էլ այդ հասկացությունն ավելի է նեղացվում պարտադիր համարելով ռելիկտների կապը ինդիգեն ֆլորայի հետ: Ռելիկտների նման նեղ մեկնաբանության դեպքում ավելի ենք հեռանում դրանց սկզբնական և ուղղակի իմաստից, քանի որ հայտնի է, որ «ռելիկտ» տերմինը բառացի թարգմանած նշանակում է «մնացորդ», «վերապրած»: Հաճախ կարելի է ասել, որ հնագույն ֆլորաների այդ տեսակները ներկայիս նոր պայմաններում իրենց լավ չեն դրսևորում՝ կրճատվում է արեալը, նվազում կենսունակությունը, սակայն դա բնորոշ չէ բոլոր ռելիկտներին, քանի որ գոյություն ունեն նաև պրոգրեսիվ զարգացող ռելիկտներ:

Ռելիկտների պրոգրեսիվ զարգացման հնարավորության մասին գրել է դեռևս Ստոյանովը իր Բալկանյան թերակղզու ռելիկտներին նվիրված աշխատությունում: Սակայն հեղինակը մինչև վերջ չի մտնում հետևողական և որպես ռելիկտ է դիտարկում միայն ռեգրեսիվ հնագույն տարրերը [18]:

Ինչպես նշում է Կովկասի ֆլորայի խոշորագույն գիտակ Գրոսհեյմը, «... գոյություն ունեն մի շարք տեսակներ, նույնպես ռելիկտային ծագմամբ (տվյալ տարածքի համար նախկին և հնագույն ֆլորաներին պատկանող), որոնք այնուամենայնիվ ներկա- յումս ոչ միայն չեն կրճատում իրենց արեալը, այլև դրսևորում են բավարար ճկունություն և հարմարողականություն ներկայիս էկոլոգիական և անտառաճման պայմաններում՝ ցուցաբերելով պրոգրեսիվ զարգացման բոլոր գծերը» [7]:

Կովկասի, այդ թվում և Հայաստանի դենդրոֆլորայի ռելիկտներին բազմաթիվ աշխատություններ են նվիրված [7,8,12,13]:

Այսպես, Գրոսսեյմն իր «Արևելյան Անդրկովկասի ռելիկտները» աշխատությունում նշում է, որ ռելիկտները բնորոշող հատկանիշներից է խիստ կտրտված արեալ ունենալը: Նա միաժամանակ նշում է, որ սարմաթի վերջում Կովկասի տարածաշրջանում արդեն ձևավորված են եղել Կոլխիդայի և Թալիշի ռեֆուգիումները, գլխավորապես բաղկացած լինելով տուրգայական տարրերից, որոնք ենթարկվելով որոշակի վերափոխման, հասել են մինչև մեր օրերը [8]:

Կուզնեցովը, ով առաջինն է լիարժեք հիմնավորմամբ տվել Կովկասի ֆլորայի զարգացման պատմության ընթացքը, նշում է, որ երրորդական ժամանակաշրջանի վերջում և սառցապատման ժամանակաշրջանի սկզբում Հայաստանի տարածքում երրորդական անտառային ծածկոցը համատարած վերացել է՝ պահպանվելով միայն Կոլխիդայում և Թալիշում խիստ տեսակափոխված ռելիկտային մնացորդների տեսքով [12]:

Սաֆարովը, վերլուծելով Կոլխիդայի ռեֆուգիումի ֆլորայի պատմությունը, հանգում է այն եզրակացության, որ Կոլխիդիան որպես երրորդական մերձարևադարձային ֆլորայի պահպանման կենտրոն ձևավորվել է դեռևս երրորդական ժամանակաշրջանում (վերին պլիոցեն) [13]:

Բարսեղյանը, ուսումնասիրելով Հայաստանի ներկայիս բուսական ծածկույթը նշում է, որ մեր հանրապետության տարածքում հանդիպում են բազմաթիվ հազվագյուտ, յուրահատուկ և ռելիկտային համակեցություններ, այդ թվում Սյունիքի մարզում Ագարակի մոտ, Արաքս գետի ափին հանդիպող մի շարք տեսակներ, որոնք բացառիկ հազվագյուտ և ռելիկտային են՝ *Periploca graeca*, *Populus euphratica*, և այլն [1]:

Գուլիսաշվիլին, ուսումնասիրելով Անդրկովկասի ռելիկտային տեսակները (*Fagus orientalis*, *Zelcova carpinifolia*, *Ficus carica*, *Rhododendron caucasicum*, *Diospyros lotus*, *Castanea sativa*), նկատել է, որ դրանք հարմարվելով նոր, փոփոխված էկոլոգիական պայմաններին՝ միաժամանակ թաքնված կերպով պահպանում են արևադարձային և մերձարևադարձային տեսակներին բնորոշ մի շարք ժառանգական առանձնահատկություններ: Նա այդ հատկություններից է համարել վեգետացիայից հետո չոր տերևների պահպանումը, տերևակալման պարբերականությունը, ծաղկման բազմակիությունը, զարգացման ռիթմի առանձնահատկությունը, ինչպես նաև չպաշտպանված մերկ բողբոջների առկայությունը, պոնաձև բունը: Ռելիկտային տեսակների վերը նշված առանձնահատկությունները բացա-կայում են բարեխառն գոտու ներկայիս անտառային ծառատեսակների մոտ, որոնք ժառանգվել են դեռևս արևադարձային և մերձարևադարձային կլիմայական պայմաններից [10,15-17,19]:

Մի շարք հեղինակներ ռելիկտների արևադարձային ծագման հատկանիշներից են համարել նաև ամբողջաեզր տերևը, որը բնորոշ է Արևելյան Անդրկովկասի ռելիկտներից շատերին [10,15,16]:

Այսպիսով, ելնելով վերը շարադրվածից, կարելի է եզրակացնել, որ ռելիկտային ծառաբույսերին բնորոշ հիմնական հատկանիշներն են՝

հնագույն ծագումը (նեոգենի, վաղ պլեյստոցենի կամ մինչ սառցապատման ժամանակաշրջաններ),
խիստ կտրտված արեալի առկայությունը,
գլխավորապես որոշակի ապաստարաններում (ռեֆուգիումներում) պահպանվածությունը,
ներկայում մեծ տարածվածություն ունեցող ֆոնային բուսականության հիմնական տիպերին ոչ այնքան բնորոշ լինելը և որպես կանոն համեմատաբար խոնավ աճելավայրերում հանդիպելը,
գենետիկորեն արևադարձային և մերձարևադարձային տեսակներին բնորոշ մի շարք առանձնահատկությունների պահպանումը և համապատասխան պայմանների առկայության դեպքում դրսևորումը [1,7-10,12-16]:

Ընդհանրացնելով տարբեր հեղինակների կողմից կատարված ուսումնասիրությունների արդյունքները և մոտեցումները ռելիկտային ծառաբույսերի վերաբերյալ, կարելի է եզրակացնել, որ Հայաստանի դենդրոֆլորայի ռելիկտները ներկայումս ներկա յացված են 19 ընտանիքի և 20 ցեղի պատկանող 20 տեսակներով (աղ.1), որոնք դենդրոֆլորայի ձևավորման և զարգացման երկրաբանական և կլիմայական տարբեր ժամանակաշրջաններում ունեցել են որոշակի մասնակցություն:

Ներկայիս դենդրոֆլորայի ձևավորման հիմքը դրվել է դեռևս Կավճի դարաշրջանի վերջում, երբ մերկասերմերի միօրինակ ֆլորային փոխարինելու է եկել հյուսիսային կիսագնդում (Գրենլանդիա, Բավարիա) նոր ծագած ծածկասերմերի բազմազան ֆլորան: Այդ դարաշրջանում Կովկասի ներկայումս տարածքն իրենից ներկայացրել է մի քանի փոքր կղզյակներ, որոնք ծովի մակարդակի պարբերաբար փոփոխման հետևանքով ժամանակ առ ժամանակ ցամաքային կապ են հաստատել Ղրիմի, Բալկանյան թերակղզու և Միջին Ասիայի հետ: Դրա շնորհիվ նշված տարածքների միջև իրականացվում էր բուսաստեանների փոխանակություն [9,13]:

Երրորդական ժամանակաշրջանի 1-ին կեսին՝ պալեոգենում Հայաստանի ֆլորան բաղկացած էր արևադարձային մշտադալար տեսակներից, որում մեծ դեր են կատարել պոլտավական ֆլորայի ռելիկտային ներկայացուցիչները (*Ficus carica*), սահմանափակ մասնակցություն ունեին տուրգայական տերևաթափ ֆլորայի ռելիկտները (*Populus*, *Platanus*): Հետագայում՝ երրորդական ժամանակաշրջանի 2-րդ կեսին՝ նեոգենում կլիմայական խորը փոփոխությունների՝ քսերոֆիտացման և սառեցման հետևանքով, որոնք պայմանավորված են եղել լեռնագոյացման և երկրի ընդերքի շարժման գործընթացների, ցամաքային տարածքների առաջացման ու ծովի մակարդակից բարձրացման հետ, զարգացման և տարածման մեծ ազդակ են ստանում տուրգայական (բո-րեալ) տերևաթափ ֆլորայի ռելիկտները (*Fagus*, *Acer*, *Diospyros*): Արդյունքում նեոգենի վերջում (միոցեն) ձևավորվում է մերձարևադարձային բուսականություն, որի տեսակային կազմի 50-60%-ը կազմում են պոլտավական ֆլորայի ներկայացուցիչները: Այդ բուսականության զարգացման գործում մեծ դեր են կատարել տուրգայական ֆլորայի տարբեր տեսակներ, որոնք մասնակցել են տերևաթափ անտառների (նման ներկայիս կոլխիդա-հիրկանյան տիպի անտառներին) ձևավորմանը, ինչպես նաև հնագույն-միջերկրածովյան ֆլորայի և քսերոֆիտային բուսականության տարրեր: Միոցենի վերջում ներկայիս Կովկասի տարածաշրջանը իրենից ներկայացնում էր հարավ-արևելքից դեպի հյուսիս-արևմուտք ձգված խոշոր կղզի (Յաֆետիդա), որը կապված է եղել իրենից հյուսիս և հարավ (Իրան) ընկած տարածքների հետ: Յաֆետիդայի ցամաքային կապը Իրանի տարածաշրջանի, որպես քսերոֆիտային տեսակների առաջացման խոշոր կենտրոններից մեկի հետ, ինչպես նաև կլիմայի անընդհատ ցամաքեցման և սառեցման միտումը, լուրջ ազդակ են հանդիսացել Հայաստանում արիդային բուսականության տարածման և քսերոֆիտային տեսակառաջացման տեղական օջախների ձևավորման համար:

Պլիոցենում գրեթե ամբողջությամբ անհետանում է պոլտավական ֆլորան, իր տեղը զիջելով տուրգայական (հյուսիսային) և քսերոֆիտային բուսականությանը: Պլիոցենի վերջում և պլեյստոցենում իրար հաջորդող սառցապատման փուլերի հետևանքով ռելիկտային տեսակներն ամբողջությամբ վերանում են՝ Կովկասում պահպանվելով միայն կոլխիդյան և հիրկանյան ռեֆուգիումներում և դրանց միջև ընկած որոշ միջանկյալ ռելիկտային օջախներում: Հատկանշական է նաև այն փաստը, որ ռելիկտային տեսակների վրա բացասաբար ազդեցություն են ունեցել ոչ այնքան սառցապատման, որքան միջսառցապատման քսերոֆիտային փուլերը [5-7,9- 11]:

Ներկայումս ռելիկտների մեծ մասը սահմանափակ տարածվածություն ունի: Դրանք հանդիպում են հիմնականում հյուսիս-արևելյան համեմատաբար խոնավ անտառաձման շրջաններում՝ Տավուշի և Լոռու, իսկ հարավ-արևելքում՝ Կասպանի (Մավ) միջանկյալ ռելիկտային մեզոֆիլ օջախներում (աղ. 1): Հայաստանի ժամանակակից բուսական ծածկությունը համեմատաբար զգալի դեր են կատարում քսերոֆիտային բուսա-կանության տիպերը, որոնք ի հաշիվ անտառային համակեցությունների, ընդարձակում են իրենց զբաղեցրած տարածքները: Դա պայմանավորված է քսերոֆիտային բուսականության համար կլիմայական և անթրոպոգեն գործոնների նպաստավոր պայմաններով [1-3,5,6]:

Մեր կողմից ռելիկտային տեսակների վերաբերյալ առկա տարբեր մեկնաբանությունների վերլուծության արդյունքում հստակեցվել են դրանց բնութագրող հիմնական առանձնահատկությունները: Համաձայն որի, ներկայումս Հայաստանի բուսական աշխարհի, մասնավորապես դենդրոֆլորայի կազմում, հանդիպում են 19 ընտանիքի և 20 ցեղի պատկանող 20 ռելիկտային տեսակներ: Փորձ է արվել բացահայտել դրանց ունեցած դերը Հայաստանի դենդրոֆլորայի ձևավորման և զարգացման գործում, ինչպես նաև ներկայումս դրանց տարածվածությանը և դինամիկային առնչվող խնդիրները: Այդ ուսումնասիրությունների արդյունքում կարելի է եզրակացնել, որ Հայաստանի բուսականության հետագա զարգացումը կընթանա քսերոֆիտացման ուղիով, որը բացասաբար կանդադարանա մեզոֆիլ ռելիկտային տեսակների բնականոն աճի ու զարգացման վրա:

Աղյուսակ 1. Հայաստանի դենդրոֆլորայի ռելիկտային տեսակները, դրանց տարածվածությունը Հայաստանում ըստ ֆլորիստիկ շրջանների

Հ/Հ	Տեսակի անվանումը	Կենսա-ձևը	Տարածվածությունը (ըստ ֆլորիստիկ շրջանների)	Կենսաէկոլոգիական և ֆիտոցենոտիկ առանձնահատկությունները, Օ. մ. բ. (մ),
1.	<i>Castanea sativa</i> Mill.	Ծու:	Իջևանի (Իջևանի շրջակայք) և Զանգեզուրի (Շիրակի մարզի տարածք)	900-1300 մ, անտառներում, հյուսիս-արևելյան լեռնալանջերին, չեզոք ռեակցիա ունեցող հողերում
2.	<i>Cercis griffithii</i> Boiss.	Ծու 4	Մեղրու (Շվանիձոր և Նյուվաղի)	500-700 մ, Կիսաանապատներում, չոր քարքարոտ լեռնալանջերին
3.	<i>Corylus colurna</i> L.	Ծու 2	Իջևանի (Սևրաբ գետի վերնագավառ, Գետահովիտ, Ենոքավան, Ոսկեպար)	1200-1500 մ, չոր հաճարկուտային անտառներում տիպի
4.	<i>Diospyros lotus</i> L.	Ծու 2	Լոռու, Մեղրու	500-900 մ, առափնյա անտառներում և թփուտներում, հատուկ են ծառերի տեսքով՝ լքված այգիներում
5.	<i>Euonymus velutina</i> Fisch. et Mey.	Թու 1	Զանգեզուրի (Ն. Հանդ)	700-800 մ, կաղնու անտառի եզրերին, «Օավ»-ի սոսու պուրակում, համեմատաբար չոր լանջերին
6.	<i>Fagus orientalis</i> Lipsky	Ծու 1	Լոռու, Իջևանի, նաև Զանգեզուրի (Սրաշեն),	800-2000 մ, անտառներում, Հս. լանջերին, հիմնականում ձևավորում է մաքուր ծառուտներ
7.	<i>Ficus carica</i> L.	Ծու 3	Իջևանի, Դարալագյազի, Զանգեզուրի, Մեղրու	400-1500 մ, արհիդային նոսրանտառներում, չոր քարքարոտ լեռնալանջերին
8.	<i>Hedera helix</i> L.	Լմ	Իջևանի	700-1000 մ, կաղնա-բոխու և առափնյա անտառներում, թփուտներում
9.	<i>Juglans regia</i> L.	Ծու 1	Իջևանի, Դարալագյազի, Զանգեզուրի, Մեղրու	400-2100 մ, կաղնա-բոխու անտառների եզրերին, առափնյա անտառներում և թփուտներում
10.	<i>Periploca graeca</i> L.	Լմ	Իջևանի, Մեղրու	400-1200 մ, առափնյա անտառներում և թփուտներում, Դերեղ և Արաքս գետերի հովիտներում,
11.	<i>Pistacia mutica</i> Fisch. et Mey.	Ծու 4	Իջևանի, Երևանի, Դարալագյազի, Զանգեզուրի, Մեղրու	400-1600 մ, կիսաանապատներում և աղուտներում, չոր քարքարոտ լեռնալանջերին, լայնատերև արհիդային նոսրանտառներում
12.	<i>Platanus orientalis</i> L.	Ծու 1	Զանգեզուրի Օավ գետի ողողատում և առանձին ծառեր մոտակա անտառում)	500-900 մ, առափնյա անտառներում, հանդիպում է նաև կաղնուտներում
13.	<i>Populus euphratica</i> Oliv.	Ծու 3	Երևանի, Զանգեզուրի, Մեղրու	500-1200 մ, առափնյա անտառներում, Արաքս գետի ափերին
14.	<i>Punica granatum</i> L.	Ծու 4	Իջևանի, Զանգեզուրի, Մեղրու	400-1300 մ, արհիդային նոսրանտառներում, չոր լեռնալանջերին
15.	<i>Rhododendron caucasicum</i> Pall.	Թմ 3	Լոռու (Բագումի լեռնաշղթա) և Իջևանի (Փամբակի լեռնաշղթա)	2000-2400 մ, մերձալպյան և ալպյան մարգագետիններում
16.	<i>Salix aegyptiaca</i> L.	Ծու 3	Իջևանի, Ապարանի, Գեղամա լեռների, Երևանի, Դարալագյազի, Զանգեզուրի, Մեղրու	1500-2000 մ, թփուտային մացառուտներում, հատուկ են կամ փոքր խմբերով
17.	<i>Smilax excelsa</i> L.	Լմ	Իջևանի (Այրում, Նոյեմբերյան, Բերդ, Իջևան, Այգեհովիտ, Ախթալա)	500-1000 մ, անտառներում, խոնավ աճելավայրերում, գետերի ափերին

18.	<i>Staphylea pinnata</i> L.	Թս ₁	Իջևանի (Իջևան, Բարեկամավան, Սևքար, Բազրատաշեն, Շամշադին)	600-950 մ, կաղնա-բոխու անտառներում, գետերի ափերին, երբեմն (Բարեկամավան գյուղի շրջակայք) հանդիսանում է ենթանտառի գերիշխող տեսակ
19.	<i>Taxus baccata</i> L.	Ծամ ₂	Իջևանի (Ախնաբաղի և Ոսկեպարի կենու պուրակներում և հարակից անտառներում) և Զանգեզուր (Շիկահող՝ պետական արգելոց)	700-1500 մ, Հյուսիսային Հայաստանում հանդիպում է հաճարենու հետ միասին, իսկ հարավայինում՝ կաղնու և բոխու անտառներում
20.	<i>Vitis sylvestris</i> C. C. Gmel.	Լտ	Լոռի, Իջևանի, Զանգեզուրի, Մեղրու	700-900 մ, առափնյա անտառներում և թփուտներում, համեմատաբար հարուստ և խոնավ հողերում

Օսկություն

Ծ_տ – ծառ տերևաթափ, Ծ_{ամ} – ծառ ասեղնատերևավոր մշտադալար, Թ_ս – թուփ տերևաթափ, Թ_ս – թուփ մշտադալար, Լ_տ – լիան տերևաթափ, Լ_ս – լիան մշտադալար:

Ծ₁ – Ծ₄ – ծառ 1-ից 4-րդ մեծության, Թ₁ – Թ₃ – թուփ 1-ից 3-րդ մեծության:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Բարսեղյան Ա.Մ.* Հայաստանի հազվագյուտ և անհետացող բուսական համակեցությունները և դրանց պահպանությունը, □Հայաստանի ֆլորայի և բուսական ծածկույթի վիճակն ու պահպանությունը□ նյութերի ժողովածու, Երևան, էջ 24-38, 1984:
2. ՀՀ Բույսերի Կարմիր գիրք (բույսեր և սնկեր), Երևան, 598 էջ, 2010:
3. *Варданян Ж.А.* Деревья и кустарники Армении в природе и культуре. Ереван, 368 с., 2003.
4. *Варданян Ж.А.* Редкие и исчезающие виды дендрофлоры Армении в Ереванском ботаническом саду. Бюлл. ГБС, 146, с. 72-77, 1987.
5. *Варданян Ж.А., Габриелян И.Г.* Сравнительная характеристика ископаемой и современной дендрофлоры и древесной растительности Армении. Тезисы докладов межд. конф. “А.Л. Тахтаджян и развитие ботанической науки в Армении”, посвященной 100-летию со дня рождения А.Л. Тахтаджяна, 6-8 октября, 2010, Ереван, с. 17-19, 2010.
6. *Варданян Ж.А., Габриелян И.Г.* Характерные черты формирования и развития дендрофлоры и древесной растительности Армении и сопредельных территорий. Тахтаджяния,1, Ереван, с. 135-141, 2011.
7. *Гроссгейм А.А.* Типы реликтов. Изв. Аз. Фил. АН СССР, с. 74-80, 1939.
8. *Гроссгейм А.А.* Реликты восточного Закавказья. Баку, 44 с., 1940.
9. *Гроссгейм А.А.* Растительный покров Кавказа. М., 264 с., 1948.
10. *Гулисашвили В.З.* Противоречивые особенности в наследственности реликтовых древесных пород и их значение для развития растительных организмов. Изв. АН СССР серия биол., М., с. 271-281, 1958.
11. Каталог ископаемых растений Кавказа. Тбилиси, ч. 1, 1972, 316 с.; ч. 2, 324 с. 1973.
12. *Кузнецов Н.И.* Принципы деления Кавказа на ботанико-географические провинции. Зап. АН, физ.-мат. отд. СПб, 8, 24, 1, 171 с., 1909.
13. *Сафаров И.С.* Важнейшие древесные третичные реликты Азербайджана. Баку, 312 с. 1962.
14. *Сафаров И.С.* Субтропические леса Талыша. Баку, 158 с., 1979.
15. *Berry E.W.* An eogene tropical forest in the Peruvian desert. Proc. Natl. Acad. Sci. of the U.S.A., 15, p. 345-346, 1929.
16. *Chaney R.W., Sanborn E.J.* The Goshen flora of west central Oregon. Carregie Inst. of Washington, Publ. 439, 103 p., 1933.
17. *Richards P. W.* The tropical forest. Cambridge Univ. Press, 450 p., 1952.
18. *Stojanoff N.* Versuch einer Analyse des relikten Elements in der Flora der Balkan Halbinsel. Engler’s Bot. Jahrb., LXIII, p. 368-418, 1930.
19. *Walter H.* Einfuhrung in die Phytologie. 1H, Teil. Arealkunde. 246 p., 1954.

Ստացվել է 17.07.2012



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4(64), 2012

ՈՒՍԱՆՈՂՆԵՐԻ ՍՐՏԻ ՌԻԹՄԻ ԿԱՐԳԱՎՈՐՄԱՆ
ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՍՏԱՏԻԿԱԿԱՆ ՖԻԶԻԿԱԿԱՆ
ԾԱՆՐԱԲԵՆՈՒՎԱԾՈՒԹՅԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ս.Ս. ՄԻՆԱՍՅԱՆ, Է.Ս. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Հ.Տ. ԱՔՐԱՀԱՍՅԱՆ, Ծ.Ի. ԱՂԱՍՅԱՆ

Երևանի պետական լսարան, Տ. Մուշեղյանի անվան մարդու և
կենդանիների ֆիզիոլոգիայի ամբիոն
ah200588@gmail.com

Ուսումնասիրվել են ուսանողների սրտի ռիթմի կարգավորման մեխանիզմները ստատիկական ֆիզիկական ծանրաբեռնվածության ազդեցության (Ռուֆյեի մոդիֆիկացված թեստ՝ 30 կքանիստ 40 վայրկյանում) պայմաններում: Ըստ Ռուֆյեի թեստի նկատմամբ պատասխան ռեակցիայի բնույթի բոլոր հետազոտվողները բաժանվել են 3 խմբի: Ֆիզիկական ծանրաբեռնվածությունից հետո երեք խմբերում էլ գրանցվել է լարվածության ցուցիչի մեծացում, ինչպես նաև սրտի ռիթմի կարգավորման սիմպաթիկ կոնտուրի ակտիվության մարկերների մեծացում, իսկ պարասիմպաթիկ նյարդային համակարգի ցուցանիշների (Mo, ΔX) մակարդակները փոքրացել են: Ֆիզիկական ծանրաբեռնվածության նկատմամբ հարմարվողական առավել օպտիմումային հնարավորություններով օժտված են առաջին խմբի ուսանողները: Երկրորդ և հատկապես երրորդ խմբերի ուսանողների մոտ զարգանում է օրգանիզմի գործառական համակարգերի ապակարգավորում և ձևավորվում է հոգնածություն:

*Սրտի ռիթմ – ստատիկական ֆիզիկական ծանրաբեռնվածություն – սպեկտրային խտություն
– լարվածության ցուցիչ – վարիացիոն պուլսաչափում*

Исследовались механизмы сердечного ритма студентов при статической физической нагрузке (модифицированный тест Руфье: 30 приседаний за 40 с). По реакции на тест Руфье все испытуемые делились на три группы. После физической нагрузки во всех группах наблюдалось повышение индекса напряжения и маркеров активности симпатического контура регуляции ритма сердца, а уровень показателей парасимпатической нервной системы (Mo, ΔX) уменьшался. Наиболее оптимальными адаптационными возможностями функциональных систем организма к физической нагрузке обладали студенты первой группы. У студентов второй и, в большей степени, третьей групп после теста Руфье наблюдалась дисрегуляция функциональных систем организма и развивалась усталость.

*Ритм сердца – статическая физическая нагрузка – спектральная плотность –
индекс напряжения – вариационная пульсометрия*

The mechanisms of students' heart rhythm regulation were investigated after static physical tension (Rufye's modified test: 30 squats during 40 seconds). According to reaction on the test of Rufye all examinees were determined to three groups. After physical tension in all groups the increase of the tension index and the markers of sympathetic mechanisms activity of cardiac rhythm was observed. But the level of parasympathetic nervous system indicators (Mo, ΔX) was decreased. The students of the first group had more optimal adaptive capabilities of organism functional systems to the physical tension. After Rufye's test the disregulation of organism functional systems was observed in examinees of the second and particularly third groups. In these groups fatigue was developed after physical tension.

*Heart rhythm – static physical tension – the spectral density –
index of tension – variation pulsometry*

Բարձրագույն մասնագիտական կրթական համակարգի ամենակարևոր խնդիրներից է ուսումնական գործընթացին ուսանողների օրգանիզմի արդյունավետ հարմարման ապահովումը: ԲՈՒՀ-ում ուսուցումը փոխում է ուսանողների օրգանիզմի հարմարողական փոխհատուցողական մեխանիզմների բնույթը [12]: Ուսումնական գործընթացի ուժգնացման հետ կապված դրսևորվում են հարմարվողական բնույթի գործառական փոփոխություններ, որոնք ուղեկցվում են հարմարվողական-փոխհատուցողական համակարգերի զգալի լարվածությամբ, ինչն ուղղակիորեն ազդում է ուսանողների ոչ միայն հոգեկան վիճակի, այլև մարմնական համակարգերի վրա: Ժամանակի տրոհության պայմաններում մեծ ծավալի տեղեկատվության յուրացման արդյունքում գործառության խանգարումների զարգացումը, ինչպես նաև պարբերաբար կրկնվող հուզական-սթրեսային իրավիճակները, որոնք զգալիորեն ավելանում են քննությունների շրջանում, բարդացնում են հարմարման գործընթացը [3, 7]:

Ռացիոնալ ֆիզիկական ակտիվությունը և վարժությունները ոչ միայն ակտիվ հանգստի միջոց են հանդիսանում, այլև ամրապնդում են առողջությունը, մեծացնում օրգանիզմի գործառական և հարմարվողական հնարավորությունները [6]: Ուստի սույն հետազոտության նպատակն է եղել ուսումնասիրել ուսանողների սրտի ռիթմի կարգավորման մեխանիզմները ստատիկական ֆիզիկական ծանրաբեռնվածության ազդեցության (Ռուֆյեի մոդիֆիկացված թեստ՝ 30 կքանիստ, 40 վայրկյանում) պայմաններում:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտություններին մասնակցել են ԵՊՀ կենսաբանության ֆակուլտետում սովորող 20-21 տարեկան 30 աղջիկ: Ուսանողների ֆիզիկական զարգացման և օրգանիզմի գործառական վիճակի գնահատումն կատարվել է ըստ մարմնաչափական (մարմնի երկարություն, քաշ) ցուցանիշների: Բոլոր ուսումնասիրություններն կատարվել են քննաշրջանների միջև ընկած ժամանակահատվածում, քննությունների և ստուգաթղթերի հանձնմամբ պայմանավորված սթրեսային գործոնների ազդեցության բացառման նպատակով:

Սրտի ռիթմի կարգավորման մեխանիզմներն ուսումնասիրվել են սրտի ռիթմի վարիացիոն պոլսաչափման եղանակով [1]: Էլեկտրասրտագիրը (ԷՍԳ) գրանցվել է առաջին ստանդարտ արտածմամբ, նստած վիճակում: Տվյալների վիճակագրական վերլուծության համար օգտագործվել են գրանցված ԷՍԳ-ի 5 բուլետենոց հատվածներ: Սրտի ռիթմը կարգավորող մեխանիզմների գործունեության գնահատման համար հաջորդական կարդիոինտերվալների վերլուծության ճանապարհով հաշվարկվել են սրտի ռիթմի տատանողականության սպեկտրային, վիճակագրական և հիստոգրաֆիկական ցուցանիշները: Վերլուծվել են սրտի ռիթմի հիստոգրաֆիկական հետևյալ ցուցանիշները՝ Mo-մոդա՝ առավել հաճախ հանդիպող կարդիոինտերվալների մեծությունը վայրկյաններով; AMo-մոդայի տատանասահման՝ մոդայի հանդիպման հաճախությունը (%-ով); ΔX-վարիացիոն թափ՝ կարդիոինտերվալների տատանման աստիճանը վայրկյաններով; Vx-կարդիոինտերվալների տատանողականության գործակիցը: Վարիացիոն պոլսաչափման տվյալների օգնությամբ հաշվարկվել են նաև սրտի ռիթմի հետևյալ ինտեգրալային ցուցանիշները. Կարգավորող համակարգերի լարվածության ցուցիչը (L3); վեգետատիվ հավասարակշռության ցուցիչը (VZ3); ռիթմի վեգետատիվ ցուցիչը (ՌV3); կարգավորման գործընթացների աղեկվածության ցուցիչը (ԿԳԱՅ):

Սպեկտրային-ժամանակային վերլուծությունը կատարվել է 0.003-0.04 Հց-ի սահմաններում: Ընտրվել են սպեկտրի 3 բաժիններ՝ VLF (մվ²%), HF (մվ²%), LF (մվ²%)։ Հաշվարկվել են նաև սպեկտրի ընդհանուր հզորությունը կամ հաճախության ամբողջ սպեկտրը՝ TP (մվ²) և վեգետատիվ փոխհարաբերության ցուցիչը (LF/HF):

Ռուֆյեի թեստի կատարման ժամանակ բոլոր ցուցանիշների գրանցումը կատարվել է երկու փուլով՝ մինչև ծանրաբեռնվածությունը (ֆիզիոլոգիական նորմա) և ծանրաբեռնվածությունից հետո: Ըստ սրտի կծկումների հաճախության (ՍԿՀ) դինամիկայի 3 փորձնական իրավիճակներում հաշվարկվել է Ռուֆյե-Դիքսոնի աշխատունակության ցուցիչը (ՌԴՑ):

Ստացված տվյալները ենթարկվել են վիճակագրական վերլուծության „Statistika 6.0 for Windows C” ծրագրի օգնությամբ:

Արդյունքներ և քննարկում: Ըստ Ռուֆյեի թեստի նկատմամբ պատասխան ռեակցիայի բնույթի բոլոր հետազոտվողները բաժանվել են երեք խմբի: Առաջին խմբում ընդգրկվել են այն ուսանողները, որոնց ՌԴՑ-ը եղել է <4 պ.մ.-ից (աշխատունակության լավ ցուցանիշ): Երկրորդ խումբը կազմվել է աշխատունակության միջին մակարդակ ունեցող աղջիկներից (5<ՌԴՑ<9 պ.մ.): Երրորդ խմբի մեջ մտել են աշխատունակության բավարար մակարդակ ունեցող ուսանողները (10<ՌԴՑ<14 պ.մ.): ՌԴՑ-ի լավ մակարդակը բնորոշ է եղել հետազոտվողների 8.7%-ին, միջին՝ 52.2%-ին, իսկ բավարար մակարդակը՝ 39.1%-ին:

Ուսանողների սիրտ-անոթային համակարգի վեգետատիվ կարգավորման ելակետային տիպի վերլուծությունը ցույց է տվել, որ ՌԴՑ-ի լավ մակարդակ ունեցող աղջիկներին (I խումբ) բնորոշ է

վեգետատիվ նյարդային համակարգի (ՎՆՀ) պարասիմպաթիկ բաժնի բարձր ակտիվություն, թափառող նյարդի ազդեցության մեծացում: Որպես գործառական վիճակը բնութագրող մեծություն ընդունվել է ԼՑ-ը: I խմբի հետազոտվողների ԼՑ-ը տատանվել է նորմայի սահմաններում ($13 < 60$ պ.մ., վագոտոնիա): Հանգստի պայմաններում նրանց մոտ դիտվել են արտահայտված բրադիկարդիա և սրտի ռիթմի բարձր դիսպերսիա (55-66 զարկ/րոպե): II խմբի հետազոտվողների մեծամասնության և III խմբի ուսանողների մոտ ԼՑ-ը գտնվել է հարմարողական փոփոխությունների տիրույթում ($60 < 13 < 150$ պ.մ., նորմոտոնիա) (նկ.1): Նրանց սրտի ռիթմը տատանվել է բնականոն սինուսային ռիթմի տիրույթում՝ որոշակիորեն շեղված դեպի տախիկարդիա (75-90 զարկ/րոպե): Ինչպես վկայում են սրտի ռիթմը կարգավորող մեխանիզմների ակտիվության ինտեգրալային ցուցանիշների մեր կողմից դիտվող դինամիկան, Ռուֆյեի թեստն առաջ է բերում օրգանիզմի գործառական վիճակի փոփոխություններ կապված նրա հանրընդհանուր ակտիվացման հետ: Վերջինիս դրսևորումն է սրտի գործունեության կարգավորման վերականգնումը դեպի սիմպաթիկ ազդեցությունների տիրույթ շեղման հաշվին:



Նկ.1. Հետազոտվողների բաշխումն ըստ ԼՑ-ի մեծության ֆիզիկական ծանրաբեռնվածությունից առաջ (Ա) և հետո (Բ)

■ վագոտոնիկ, ■ նորմոտոնիկ, ■ սիմպաթոտոնիկ

Ինչպես երևում է աղ.1-ից, աղջիկների բոլոր երեք խմբերում ֆիզիկական ծանրաբեռնվածության ազդեցությամբ դիտվել է ԼՑ-ի հավաստի մեծացում 30.4%-ով ($p < 0.02$), 78.3%-ով ($p < 0.02$) և 58.2%-ով ($p < 0.05$) համապատասխանաբար: Վերջինս վկայում է սրտի ռիթմը կարգավորող մեխանիզմների լարվածության և սրտի ռիթմի կարգավորման կենտրոնացման մասին: Դրա մասին է վկայում նաև սրտի ռիթմի կարգավորման սիմպաթիկ կոնտուրի ակտիվության մարկերների մեծացումը: AMO-ն բոլոր խմբերում աճել է համապատասխանաբար 5.6%-ով, 20.9%-ով ($p < 0.001$) և 8.6%-ով: Սիմպաթիկ մեխանիզմների ակտիվացման մասին է վկայում նաև V_k -ի հավաստի փոքրացումը: Նմանատիպ փոփոխություններ դիտվել են նաև ՌՎՑ-ի, ՎՀՑ-ի և ԿԳԱՑ-ի մեծություններում: Կարգավորման սիմպաթիկ մեխանիզմների ակտիվության մեծացման վկայությունն է հանդիսանում նաև հետազոտվողների բոլոր խմբերում դիտվող պարասիմպաթիկ նյարդային համակարգի ցուցանիշների (Mo, ΔX) մեծությունների փոքրացումը (աղ.1):

Ըստ մեր կողմից ստացված տվյալների ֆիզիկական ծանրաբեռնվածությունից հետո վերականգնողական շրջանում սիրտ-անոթային համակարգը գործել է անցումային ռեժիմով: Դիտվել են երկու տեսակի ռեակցիաներ՝ ելակետային ցուցանիշներին արագ և դանդաղ վերադարձ: Առաջինը հիմնականում դիտվել է բնականոն հարմարողականության պոստենցիալ ունեցող առաջին խմբի հետազոտվողների մոտ: Լարվածության տիրույթում գտնվող հարմարողականության պոստենցիալ ունեցող հետազոտվողների (հիմնականում III խմբի հետազոտվողներ) սիրտ-անոթային համակարգի ցուցանիշների վերադարձը ելակետային մակարդակի կրել է ավելի տևական բնույթ:

Սրտի ռիթմի տատանողականության սպեկտրային ցուցանիշների փոփոխությունների վերլուծությունը Ռուֆյեի ծանրաբեռնվածության թեստից հետո ցույց է տվել, որ ի սկզբանե տարբեր վեգետատիվ լարվածություն ունեցող հետազոտվողները հարմարման գործընթացի մեջ ներգրավվում են տարբեր ձևով: Հարկ է նշել, որ տվյալ կարգավորող համակարգում բոլորի համար ընդհանուր է սիմպաթիկ ազդեցությունների ուժեղացումը, սակայն վագոտոնիկների մոտ նշված ռեակցիան թույլ է արտահայտվում, իսկ սիմպաթոտոնիկների մոտ՝ ուժեղ (աղ.1):

Աղյուսակ.1. Ուսանողների սրտի ռիթմի ինտեգրալային ցուցանիշների դինամիկան ֆիզիկական ծանրաբեռնվածության պայմաններում

Ցուցանիշներ		Խմբեր		
		I	II	III
M ₀	1	0,924(0,019	0,779(0,026	0,611(0,018
	(վ)	2	0,689(0,029***	0,544(0,021**
AM ₀	1	30,98(3,82	31,92(2,11	38,64(3,82
	(%)	2	32,84(0,96	38,30(2,68*
ΔX	1	0,329(0,011	0,372(0,028	0,432(0,070
	(վ)	2	0,318(0,034	0,332(0,026
V _κ	1	14,32(0,99	11,04(1,60	10,21(1,41
	(պ.մ.)	2	7,74(0,80***	9,65(0,59
L ₃	1	48,68(4,62	63,01(7,09	104,32(13,68
	(պ.մ.)	2	64,75(2,02**	115,62(12,62**
ՌՎ ₃	1	2,92(0,21	3,82(0,31	5,12(0,91
	(պ.մ.)	2	2,12(0,03***	5,64(1,82**
ԿԳԱ ₃	1	36,10(2,79	41,24(3,25	64,86(5,88
	(պ.մ.)	2	37,50(2,01	64,52(8,65**
ՎՀ ₃	1	96,02(13,61	92,62(9,48	124,31(17,21
	(պ.մ.)	2	109,82(9,08	138,96(12,40**
TP	1	7591.7(189.42	6231.0(250.23	5854.5(298.6
	(մվ ²)	2	5691.2(192.14**	7064.20(265.14*
HF	1	3048.0(164.5	1812.0(108.85	2260.0(128.2
	(մվ ²)	2	1120.8(112.3***	1415.0(112.8**
LF	1	2740.2(128.3	2250.0(120.34	2328.3(136.8
	(մվ ²)	2	3440.7(160.8**	2425.0(178.32
VLF	1	1097.5(108.34	2175.5(112.88	1390.2(98.61
	(մվ ²)	2	1131.0(90.3	3223.0(131.22**
HF	1	40.2(2.82	29.1(3.15	38.60(1.02
	(%)	2	19.7(4.14	20.0(3.96
LF	1	36.11(1.25	36.13(2.09	39.80(1.38
	(%)	2	60.50(3.81	34.32(2.04
VLF	1	14.50(2.82	50.94(3.20	23.72(1.81
	(%)	2	19.92(2.14	59.80(3.41
LF/HF	1	0.89(0.04	1.24(0.03	0.97(1.03
	2	3.07(0.32***	1.72(0.03*	0.78(0.73**

Ծանոթություն՝ 1-կորմա, 2-Ռուֆյեի թեստից անմիջապես հետո

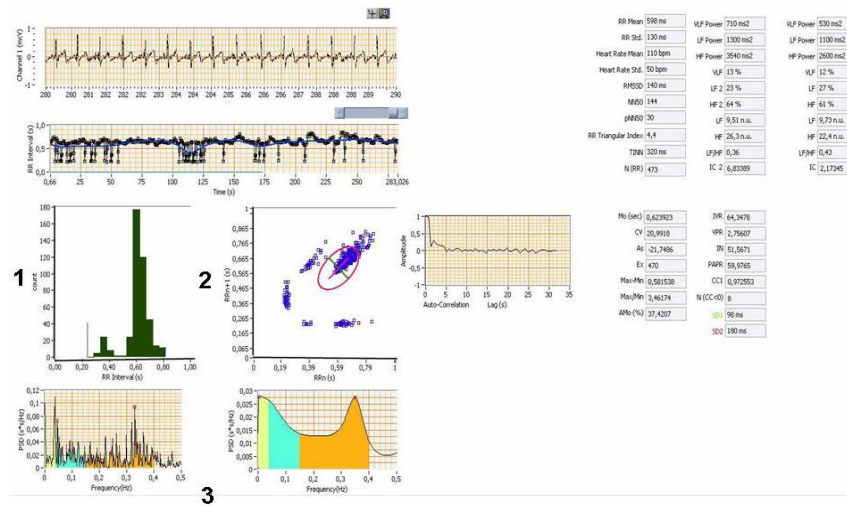
*- p<0.05, **- p<0.01, ***-p<0.001

ՌՌՑ-ի և ԳՎՑ-ի լավ մակարդակ ունեցող առաջին խմբի աղջիկների մոտ Ռուֆյեի թեստի կիրառման պայմաններում դիտվել է սրտի ռիթմի ընդհանուր սպեկտրի (TP) փոքրացում ՎՀ-ի պարասիմպաթիկ կոնտուրի ակտիվությունը բնութագրող բարձրահաճախ ալիքների (HF) հզորության հաշվին, սակայն L₃-ի դիտվող բարձր մակարդակը պայմանավորված է ցածր (LF) և շատ ցածր (VLF) հաճախության բաղադրիչների սպեկտրի մեծացմամբ (աղ.)։ Մի շարք հետազոտողների տվյալների համաձայն նման պատասխանը վկայում է ֆիզիկական ծանրաբեռնվածության նկատմամբ օրգանիզմի աղեկվատ ռեակցիայի մասին [4, 9]։

Սրտի ռիթմի կարգավորման մեխանիզմում կենտրոնական և ինքնավար կոնտուրների ակտիվության օպտիմումային բարձրացումը վկայում է հետազոտվողների տվյալ խմբի հարմարողական հնարավորությունների առավելագույն մակարդակի մասին։

Ռուֆյեի թեստից հետո երկրորդ խմբի հետազոտվողների մոտ գումարային սպեկտրում դիտվել է ցածր (LF) և շատ ցածր (VLF) բաղադրիչների սպեկտրի արտահայտված բարձրացում, այն դեպքում, երբ պարասիմպաթիկ կարգավորման կոնտուրի ալիքների հզորությունը (HF) կտրուկ իջել է (23.9³3.15-ից դարձել է 15.5³3.96)։ Ռուֆյեի թեստի կատարումը տվյալ դեպքում հիմնականում տեղի է ունենում հումորալ-նյութափոխանակային ազդեցությունների (VLF) հաշվին, ինչը վկայում է ծանրաբեռնվածության գործընթացում հարմարողական մեխանիզմների լարվածության մասին (նկ.2Ա, նկ.2Բ, աղ.1)։ Ցածր հզորություն ունեցող HF սպեկտրը ցույց է տալիս պարասիմպաթիկ նյարդային համակարգի ցածր ակտիվությունը և նրա աշխատանքի կանոնավոր կարգավորման բացակայությունը։ Ժամանակակից

պատկերացումների համաձայն սիրտ-անոթային սպեկտրի նման տեսակը կապված է սրտի ռիթմի վրա ենթակեղևային կենտրոնի գերակշռող ազդեցությամբ, որը համաձայնեցվում է վազոմոտոր ալիքների հետ: Այս դեպքում կարգավորումն իրականանում է հիմնականում վեգետատիվ նյարդային համակարգի սիմպաթիկ օղակի միջոցով [2]: Պարասիմպաթիկ ակտիվության արտահայտված փոքրացումը սրտի ռիթմի ալիքային սպեկտրում հանգեցնում է կարգավորման ճնշա-ռեֆլեքսային մեխանիզմների խախտման և հանդիսանում է սրտի ախտաբանության զարգացման նախադրյալ [8]: LF-ի սպեկտրային հզորության բարձրացումը HF տիրույթի ալիքների հզորության նվազման ֆոնի վրա ֆիզիկական ծանրաբեռնվածության պայմաններում դիտվել է նաև իտալացի հետազոտողների կողմից [10]:

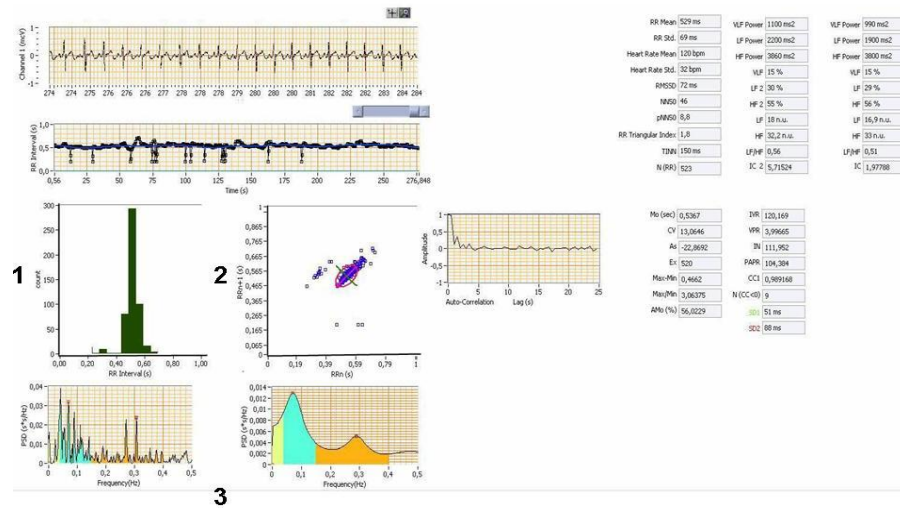


Նկ.2Ա. II խմբի ուսանող Ա.Մ.-ի սրտի ռիթմի սպեկտրային ցուցանիշները բնականոն պայմաններում
1-հիստոգրի, 2-սկալտերգի, 3-սպեկտրագրեր

Հետազոտվողների երրորդ խմբում Ռուֆյեի թեստից հետո ընդհանուր սպեկտրում դիտվում է սրտի ռիթմի կարգավորման սիմպաթիկ կոնտուրի ակտիվության արտահայտված փոքրացում (LF-ը $33.5^{\circ} \pm 1.38\%$ -ից դառնում է $23.7^{\circ} \pm 1.1\%$): Ընդ որում սրտի ռիթմի վրա պարասիմպաթիկ ազդեցությունների մակարդակը փոփոխության չի ենթարկվում: Դիտվում է նաև հումորալ-նյութափոխանակային և կենտրոնական-երգոտրոպ ազդեցությունների ուժեղացում (VLF-ը $2390.2^{\circ} \pm 98.6$ մվ²-ից (34.8%) մեծանում է մինչև $3468.6^{\circ} \pm 102.2$ մվ² (44.6%)): Ըստ Բանսկու և մի շարք այլ հեղինակների պատասխան ռեակցիայի այդպիսի տեսակը վկայում է կարգավորող մեխանիզմների արտահայտված լարվածության և հետազոտվողների տվյալ խմբում հարմարման բավական բարձր, ֆիզիոլոգիական գնի մասին [1]:

Վեգետատիվ փոխհարաբերության ցուցիչը (LF/HF) I խմբի հետազոտվողների մոտ ֆիզիկական ծանրաբեռնվածությունից հետո զգալիորեն մեծանում է, ինչը վկայում է սրտի ռիթմի կարգավորման մեխանիզմներում սիմպաթիկ կոնտուրի ակտիվության բարձրացման մասին, այն դեպքում, երբ II և III խմբերում դիտվում է LF/HF-ի նվազում: Վերջինս ևս ապացուցում է այն ենթադրությունը, որ Ռուֆյեի թեստի կատարումը II և III խմբերի հետազոտվողներին տրվում է հումորալ-նյութափոխանակային և կենտրոնական-երգոտրոպ մեխանիզմների ներգրավման հաշվին (նկ.2 Բ):

Բացահայտվել է, որ շնչառական ալիքների հզորությունը ֆիզիկական ծանրաբեռնվածությունից հետո սիմպաթոտոնիկների մոտ ավելի արտահայտված է, քան վազո- և նորմոտոնիկներինը: Ըստ երևույթին սիմպաթիկ ակտիվության արտահայտված աճին զուգահեռ բարձրանում է թափառող նյարդի ազդեցությունը (HF-ը I, II և III խմբերում համապատասխանաբար կազմել է $1120.8^{\circ} \pm 112.3$ մվ², $1415.0^{\circ} \pm 112.8$ մվ², $2538.5^{\circ} \pm 121.8$ մվ²):



Նկ.2Բ. II խմբի ուսանող Ա.Մ.-ի սրտի ռիթմի սպեկտրային ցուցանիշների փոփոխությունները Ռուֆյեի թեստից հետո 1-հիստոգրի, 2-սկատերգրի, 3-սպեկտրագրեր

Ընդհանուր սպեկտրի (TP), ինչպես նաև HF-ի, LF-ի և VLF-ի ցուցանիշների արտահայտված փոքրացումը գրականության տվյալների համաձայն վկայում է օրգանիզմի գործառական ցածր հնարավորությունների մասին: Մինչդեռ նշված ցուցանիշների արտահայտված մեծացումը նախանշան է հոգնածության զարգացման և օրգանիզմի գործառական համակարգերի ապակարգավորման մասին [3, 5]:

Գրականության տվյալների համաձայն ինքնավար, սիմպաթոադրենալային, ենթատեսաթումբ-մակուլոէդային, նյարդային և սիրտ-անոթային համակարգերի ռեակտիվությունը պայմանավորված է վերջիններիս գործառական վիճակի փոփոխությունների աստիճանով ֆիզիկական ծանրաբեռնվածության պայմաններում [4, 11]: Մեր կողմից ստացված արդյունքները համապատասխանում են գրականության տվյալներին, որոնք վկայում են, որ ուսանողների մոտ ինչքան բարձր է կարգավորման կենտրոնացման մակարդակը, այնքան ցածր է գործառական պաշարները մոբիլիզացնելու օրգանիզմի հնարավորությունը և ավելի արտահայտված են ապակարգավորման տարբեր դրսևորումները: Կարգավորման ինքնավար տիպ ունեցող ուսանողների մոտ ավելի բարձր է օրգանիզմի պաշարներն օգտագործելու հնարավորությունը [9]:

Ֆիզիկական ծանրաբեռնվածությանն ուղեկցող օղակյաց և անօղակյաց գործընթացները դրական ազդեցություն են թողնում սովորողների օրգանիզմի գործառական վիճակի վրա լարված տեղեկատվական ծանրաբեռնվածության պայմաններում [4]: Ստացված տվյալները հիմք են տալիս պնդել, որ հարմարողական առավել օպտիմումային հնարավորություններով օժտված են I խմբի ուսանողները: II և հատկապես III խմբերի ուսանողների մոտ զարգանում է օրգանիզմի գործառական համակարգերի ապակարգավորում և ձևավորվում է հոգնածություն:

Այսպիսով, ըստ ստացված Ռուֆյե-Դիքսոնի գործակցի կարելի է եզրակացնել, որ լավ աշխատունակության մակարդակ ունեցող ուսանողները բնութագրվում են հարմարողական բարձր հնարավորություններով միջին և բավարար աշխատունակության մակարդակ ունեցող իրենց հասակակիցների համեմատությամբ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Баевский Р.М., Кириллов О.И., Клицкин С.З. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе. М. Наука. 221с., 1984.
2. Дмитриев Д.А., Дмитриев А.Д., Карпелко Ю.Д., Саперова Е.В. Влияние экзаменационного стресса и психоэмоциональных особенностей на уровень артериального давления и регуляцию сердечного ритма у студентов. Физиология человека. 34, 5, 89-96, 2008.

3. *Зарипов В.Н., Барина М.О.* Изменения показателей кардиоинтервалографии и variability ритма сердца у студентов с разным уровнем психоэмоционального напряжения и типом темперамента во время зачетной недели. *Физиология человека.* 34, 4, 73-79, 2008.
4. *Криволапчук И.А.* Функциональное состояние детей 9-10 лет при напряженной информационной нагрузке и физическая работоспособность. *Физиология человека.* 35, 6, 111-121, 2009.
5. *Кузнецова О.В., Сонькин В.Д.* Вегетативный тонус в звеньях респираторно-гемодинамической системы у детей младшего школьного возраста. *Физиология человека.* 35, 6, 94-102, 2009.
6. *Маляренко Ю.Е., Быков А.Т., Маляренко Т.Н.* Современные представления о двигательной активности как функции обеспечения здоровья. Мат. III Всеросс. н-п конф. Функциональное состояние и здоровье человека. Ростов-на-Дону. 77-79, 2010.
7. *Севрюкова Г.А.* Адаптивные изменения функционального состояния и работоспособность студентов в процессе обучения. *Гигиена детей и подростков.* 1, 72-74, 2006.
8. *Чермных Н.А., Игошина Н.А., Рощевский М.П.* Функциональные возможности сердечно-сосудистой системы старых людей: по данным variability сердечного ритма. *Физиология человека,* 34, 1, 61-65, 2008.
9. *Шлык Н.И., Сапожникова Е.Н., Кириллова Т.Г., Семенов В.Г.* Типологические особенности функционального состояния регуляторных систем школьников и юных спортсменов (по данным анализа variability сердечного ритма). *Физиология человека.* 35, 6, 85-93, 2009.
10. *Lucini, D., Norbiato G., Clerici M., Pagani M.* Hemodynamic and Autonomic adjustment to real life stress conditions in Humans. American heart association, Inc. Hypertension. 39, 184-187, 2002.
11. *Reims H.M., Sevre K., Fossum E. et al.* Adrenaline during mental stress in relation to fitness, metabolic risk factors and cardiovascular responses in young men. *Blood Press.* 14, 4, 217. 2005.
12. *Riganello F., Candelieri A., Quintieri M. et al.* Heart rate variability: an index of brain processing in vegetative state? An artificial intelligence, data mining study. *Clin. Neurophysiol.* 19, 2, 210-215, 2010.

Մտագրվել է 24.03.2012



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4(64), 2012

ՃԱՐՂԱԹԹՎԱՅԻՆ ՓՈԽԱԿԵՐՂՈՒՄՆԵՐԸ *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS*-Ի ԹԱՂԱՆԹՆԵՐՈՒՄ

Ա.Զ. ՓԵՓՈՅԱՆ, Շ. ՇԱՀԲԱԶԻ, Գ.Ա. ԳԱՍՊԱՐՅԱՆ, Ա.Գ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ

ՀՀ պետական ագրարային համալսարան
achonagrigoryan@mail.ru

Ուսումնասիրվել է հագեցած և չհագեցած ճարպաթթուների ազդեցությունը *Lactobacillus rhamnosus*-ի թաղանթային շերտի հատկությունների վրա:

Ուսումնասիրությունների արդյունքում հայտնաբերվել է, որ ճարպաթթվային փոխակերպումները *L. rhamnosus*-ի թաղանթային շերտում կապված են ինչպես միջավայրի ճարպաթթուների ադսորբցիոն հատկությունների հետ, այնպես էլ պրոբիոտիկի թաղանթներում ճարպաթթուների ակտիվ փոխանակության հետ, ինչը կառող է ազդել մանրէների և աղիքային լորձաթաղանթի փոխգործնության վրա:

MRS-միջավայր – հագեցած և չհագեցած ճարպաթթուներ – պրոբիոտիկ – Lactobacillus rhamnosus

Изучалось влияние насыщенных и ненасыщенных жирных кислот на мембранные свойства *Lactobacillus rhamnosus*.

Выявлено, что в зависимости от состава среды жирнокислотные превращения в мембранных слоях *L. rhamnosus* связаны как с адсорбционными свойствами жирных кислот среды, так и с активным обменом жирных кислот в мембранах пробиотика, что в конечном итоге может влиять на взаимодействие бактерии и слизистой оболочки кишечника.

MRS – среда – насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты –
Lactobacillus rhamnosus

пробиотик –

The effect of saturated and unsaturated fatty acids on the membrane properties of *Lactobacillus rhamnosus* was studied.

It was found that, depending on the fatty acid composition of the medium the transformations of membrane layers and *L. rhamnosus* were related both to the adsorption properties of fatty acids of the medium and to the active exchange of fatty acids in the membrane of a probiotic, which can ultimately affect the interaction between the bacteria and the intestinal mucosa.

MRS-environment – saturated and unsaturated fatty acids – probiotic – Lactobacillus rhamnosus

Վերջին ժամանակներում աղիքային միկրոֆլորային աղընչվող շատ հետազոտություններ հատկապես վերաբերում են պրոբիոտիկների ուսումնասիրությանը: Պրոբիոտիկներից LAB-երը զանգվածորեն օգտագործվող պրոբիոտիկներն են: Դրանք կարող են ապահովել կրկնակի ֆունկցիա՝ ծառայում են որպես կաթնամթերքի պատրաստման համար բաղադրիչներ և հանդիսանում են առողջության բարելավման հատկությամբ օժտված միկրոօրգանիզմներ [5]: Սովորաբար լակտոբացիլները, որոնք կազմում են մարդու կղկղանքի մոտ 1 %-ը և աղիների պրոքսիմալ հատվածի մեծաքանակ բակտերիաներ են, դիտվում են որպես կլինիկապես անվտանգ մանրէներ [6]: Սակայն, որպես օպորտունիստիկ ախտածիններ, լակտոբացիլներն ընդունակ են նաև առաջացնել ինֆեկցիաներ, ինչպես իմունոդեպրեսիվ մարդկանց մոտ, այնպես էլ, հազվադեպ, նորմալ իմուն համակարգով հիվանդների մոտ [1]:

Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ լակտոբացիլների թաղանթային հատկությունները զգալիորեն ազդում են բակտերիաների և աղիների լորձաթաղանթային շերտի փոխազդեցության վրա, ընդ որում հիդրոֆոբ լակտոբացիլներն ավելի ամուր են ադեզվում աղիների էպիթելի վրա, քան հիդրոֆիլները: Հեղինակների կողմից ցույց է տրվել միջավայրի չհագեցած ճարպաթթուների ազդեցությունը լակտոբացիլների թաղանթային հատկությունների վրա [3]:

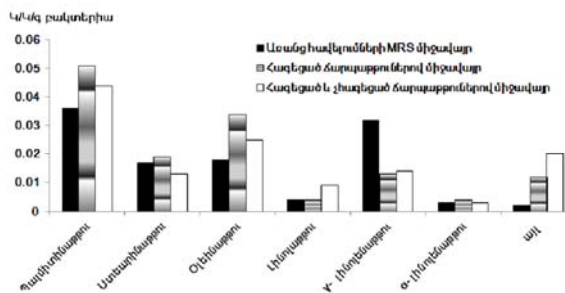
Հաշվի առնելով վերոհիշյալը՝ ներկա ուսումնասիրությունների նպատակն է եղել հետազոտել միջավայրի հագեցած և չհագեցած ճարպաթթվային հավելումների ազդեցությունը MRS միջավայրում աճեցված կաթնամթերքում օգտագործվող պրոբիոտիկ *L. rhamnosus*-ի թաղանթային հատկությունների վրա:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտության համար հիմնական օբյեկտ է հանդիսացել *L. rhamnosus* GG շտամը (*Lactobacillus* GG; ATCC 53103): Բակտերիաներն աճեցվել են առանց ճարպաթթվային հավելումների MRS միջավայրում, MRS միջավայրում՝ ավելացված 5 մկգ մլ⁻¹ պալմիտինաթթու և ստեարինաթթու, MRS միջավայրում՝ ավելացված 5 մկգ մլ⁻¹ պալմիտինաթթու, ստեարինաթթու, օլեինաթթու, լինոլաթթու, γ-լինոլենաթթու, α-լինոլենաթթու և արախիդոնաթթու:

Բակտերիաների թաղանթային ճարպաթթուների ուսումնասիրությունն իրականացվել է գազային քրոմատոգրաֆիայի միջոցով [3]:

Վիճակագրական վերլուծությունն իրականացվել է կոմպյուտերային “two-tailed paired t” թեստի, StatView 4.57 ճակագրական փաթեթի, (2x4) ֆակտորիալ վերլուծության օգնությամբ: P<0.05-ը համարվել է վիճակագրորեն հավաստի:

Արդյունքներ և քննարկում: Միջավայրի ճարպաթթուների արգելակիչ կամ խթանիչ ազդեցությունը լակտոբացիլների աճի և զարգացման վրա որոշվում է ինչպես բակտերիալ թաղանթների ֆիզիկաքիմիական հատկություններով, այնպես էլ՝ ճարպաթթուների կրկնակի կապերի ստերեոքիմիայով [2] և հազեցվածության աստիճանով ու ածխաջրածնային շղթայի երկարությամբ [4]:



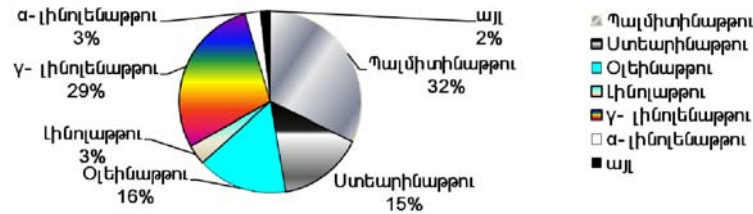
Նկ. 1. Ճարպաթթուների որակական և քանակական կազմը *L. rhamnosus*-ի թաղանթներում MRS սննդամիջավայրում աճեցնելիս:

Ինչպես ցույց տվեցին հետազոտությունների արդյունքները (նկ.1), 5 մկգ մլ⁻¹ պալմիտինաթթվի և 5 մկգ մլ⁻¹ ստեարինաթթվի ավելացումը բակտերիաների աճեցման միջավայր թաղանթներում բերում է ճարպաթթվային կազմի լուրջ փոփոխությունների, զուգորդելով պալմիտինաթթվի և օլեինաթթվի ավելացված քանակությունները թաղանթներում γ-լինոլենաթթվի քանակությունների նվազման հետ: Միաժամանակ նկատվում է, որ խառը /ավելացված 5 մկգ մլ⁻¹ պալմիտինաթթու, ստեարինաթթու, օլեինաթթու, լինոլաթթու, γ-լինոլենաթթու, α-լինոլենաթթու, և արախիդոնաթթու / MRS միջավայրում *L. rhamnosus*-ի թաղանթներում համարյա անփոփոխ է մնում ստեարինաթթվի քանակությունը ավելանում են պալմիտինաթթվի, օլեինաթթվի և լինոլաթթվի քանակությունները, և նվազում է γ-լինոլենաթթուն:

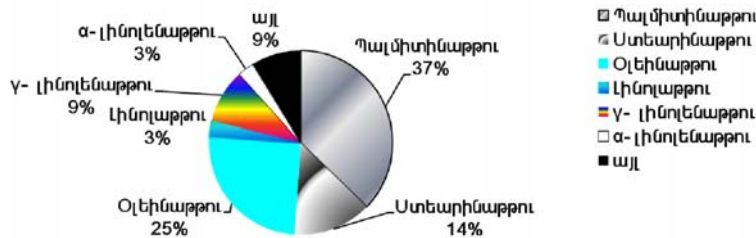
Նկ. 2-ում նկարագրվում է ճարպաթթուների սոկոսային բաղադրությունը *L. rhamnosus*-ի թաղանթներում: Արդյունքները վկայում են, որ *L. rhamnosus*-ի թաղանթներում պալմիտինաթթուն գերակշռող ճարպաթթուն է: Քանակությամբ նրան աննշան զիջող γ-լինոլենաթթվի առկայությունը բակտերիայի թաղանթներում խիստ զգալուն է աճման միջավայրի նկատմամբ: Եթե օլեինաթթուն և

ստեարինաթթուն առանց ճարպաթթվային հավելումների MRS միջավայրում աճեցնելիս պրոբիոտիկի թաղանթներում գտնվում են համարյա հավասար քանակություններով և իրենց տոկոսային պարունակությամբ շատ չեն զիջում γ -լինոլենաթթվին, ապա հազեցած ճարպաթթուների ավելացումը միջավայր նպաստում է բակտերիայի թաղանթներում օլեինաթթվի տոկոսային բաղադրության ավելացմանը (16%-ի փոխարեն՝ 25%), այն դեպքում, երբ կտրուկ ընկնում է γ -լինոլենաթթվի տոկոսային քանակը՝ 29%-ի փոխարեն՝ 9%, և համարա չնչին տոկոսով ավելանում է պալմիտինաթթուն՝ 32%-ի փոխարեն՝ 37%:

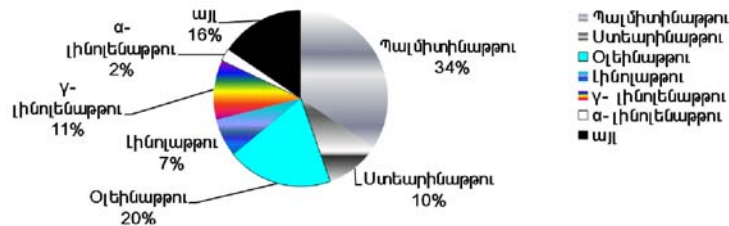
ա/



բ/



գ/



Նկ. 2. Ճարպաթթուների տոկոսային բաղադրությունը *L. rhamnosus*-ի թաղանթներում MRS սննդամիջավայրում աճեցնելիս՝ ա. առանց հավելումների միջավայր, բ. 5 մկգ մլ⁻¹ պալմիտինաթթվային և ստեարինաթթվային հավելումով, գ. 5 մկգ մլ⁻¹ պալմիտինաթթվային, ստեարինաթթվային, օլեինաթթվային, լինոլաթթվային, γ -լինոլենաթթվային, α -լինոլենաթթվային և արախիդոնաթթվային հավելումով

Հետաքրքրական են նաև բակտերիալ թաղանթներում ճարպաթթվային փոխակերպումները, երբ աճման միջավայր են ավելացվում միաժամանակ հազեցած և չհազեցած ճարպաթթուներ (նկ. 2 գ): Համաձայն գրական տվյալների, հազեցած ճարպաթթուները՝ կարագաթթու, կապրոնաթթու, ստեարինաթթու, պալմիտինաթթու և այլն, ավելի շատ հանդիպում են կենդանական ճարպերում՝ կազմելով ոչխարի և տավարի ճարպաթթուների մինչև 50%-ը: Հայտնի է, որ որքան բարձր է ճարպաթթուների մոլեկուլը, այնքան բարձր է դրանց հալման ջերմաստիճանը, և այս ճարպաթթուներն ավելի դժվար են յուրացվում: Մյուս կողմից, ստեարինաթթվի՝ արյան մեջ խոլեստերինի մակարդակը չբարձրացնելու հատկությունը թույլ է տալիս հետազոտողներին ենթադրելու, որ ստեարինաթթուն կարելի է օգտագործել սննդաարդյունաբերության մեջ որպես չհազեցած ճարպաթթուների փոխարինող: Նկ. 2-ի տվյալները ցույց են տալիս, որ *L. rhamnosus*-ի թաղանթային պալմիտինաթթվի և ստեարինաթթվի, ինչպես նաև

α -լինոլենաթթվի տոկոսային քանակությունները համեմատաբար անտարբեր են արտաքին միջավայրում ճարպաթթվային կազմի նկատմամբ, ի տարբերություն γ -լինոլենաթթվի, օլեինաթթվի և լինոլաթթվի: Ըստ գրականության տվյալների, պրոբիոտիկային լակտոբացիլների՝ աղիքային լորձաթաղանթ աղգեզիան հիմնականում բացատրվում է լակտոբացիլներում հայտնաբերված հիմնական ազատ պոլի- կամ գերչհագեցած ճարպաթթուների օլեինաթթու, լինոլաթթու, և լինոլենաթթու ազդեցությամբ: Մյուս կողմից, գերչհագեցած ճարպաթթուները մտնում են նաև շարակցական հյուսվածքի և նյարդային թելերի միելինային թաղանթներում, մասնակցում են մակրոօրգանիզմում խոլեստերինի փոխանակությանը, խթանում նրա օքսիդացումը և օրգանիզմից հեռացումը, բարերար ազդեցություն ունեն արյունատար անոթների պատերի վրա՝ բարձրացնելով էլաստիկությունը և ամրությունը, խթանում են օրգանիզմի պաշտպանական մեխանիզմները, ունեն լիպոտրոպ ազդեցություն՝ կանխում են լյարդի ճարպային ինֆիլտրացիան, մեծ նշանակություն ունեն ՄԱՀ հիվանդությունների բուժման և կանխարգելման գործում:

Այսպիսով, արտաքին միջավայրի կազմից կախված ճարպաթթվային փոխակերպումները *L.rhamnosus*-ի թաղանթներում, պայմանավորված լինելով թե միջավայրի ճարպաթթուների աղտոցված հատկություններով և թե թաղանթում ճարպաթթուների ակտիվ փոխանակությամբ, որոշակիորեն կարող է ազդեն բակտերիայի՝ աղիների լորձաթաղանթի հետ փոխազդեցության վրա: Հետազոտությունները վկայում են տարբեր սիմբիոտիկային պատրաստուկների ստացման ժամանակ սիմբիոտիկային պրոբիոտիկների թաղանթային ֆիզիկաքիմիական հատկությունների ուսումնասիրման անհրաժեշտությունը:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Aguirre M., Collins M.D. Lactic acid bacteria and human clinical infection. J. Appl. Bacteriol., 75, 95-107, 1993.
2. Butcher, G.W., King, G., and Dyke, K.G.H. Sensitivity of *Staphylococcus aureus* to unsaturated fatty acids. J. Gen. Microbiol. 94, 290-296, 1976.
3. Kankaanpää P., Yang B., Kallio H., Isolauri E., and Salminen S. Effects of polyunsaturated fatty acids in growth medium on lipid composition and on physicochemical surface properties of *Lactobacilli* Appl. Environ. Microbiol. January, 70, 129-136, 2004.
4. Nieman, C. Influence of trace amounts of fatty acids on the growth of microorganisms. Bacteriol. Rev. 18, 147-163, 1954.
5. Reid G., Jass, M.J., Sebulsky T., McCormick J. K. Potential uses of probiotics in clinical practice. Clinical Microbiology Reviews, October, 16, 4, p.658-672, 2003.
6. Tannock G.W. Probiotics and Prebiotics: Scientific Aspects. Caister Academic Press. 230 p. 2005.

Ստացվել է 24.08.2012



Биолог. журн. Армении, 4 (64), 2012

КАРДИОГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ДЕВОЧЕК МЛАДШЕГО ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА (5-11) ПРИ СОВЕТСКОЙ И ЕВРОПЕЙСКОЙ СИСТЕМАХ ОБЩЕГО СРЕДНЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

М.Л. ДЖАНГИРЯН

Арцахский госуниверситет
vsargsyan@neuroscience.am

У школьников НКР 5-11 лет (1100 девочек) изучены сдвиги кардиогемодинамических показателей: частоты сердечных сокращений (ЧСС), систолического и диастолического артериальных давлений (САД, ДАД), среднестатистического артериального давления (СДАД), ударного и минутного объемов крови (УОК, МОК) при учебной нагрузке. Показано, что кардиогемодинамические показатели у школьников, обучавшихся по европейской системе обязательного образования, были слегка повышенными по сравнению с аналогичными показателями учащихся при советской системе обучения. Исходя из сдвигов кардиогемодинамических показателей учащихся, сделано предположение, что адаптация последних к обеим системам образования осуществляется на уровне нормы.

*Кардиогемодинамические показатели – частота сердечных сокращений –
артериальное давление – ударный объем крови – минутный объем крови*

Ուսումնասիրվել է ԼՂՀ-ի 5-11 տարեկան աշակերտների (1100 աղջիկներ) կարդիոհեմոդինամիկայի ցուցանիշների՝ սրտի կծկումների հաճախություն (ՄԿՀ), սիստոլային և դիաստոլային զարկերակային ճնշումների (ՍԶՃ, ԴՁՃ), միջին դինամիկական զարկերակային ճնշման (ՄԴՁՃ), արյան հարվածային և րոպեական ծավալների (ԱՀՕ, ԱԴՕ) փոփոխությունները ուսումնական ծանրաբեռնվածության պայմաններում: Ցույց է տրվել, որ եվրոպական տիպի կրթական ծրագրով սովորողների կարդիոհեմոդինամիկայի ցուցանիշների մակարդակը խորհրդային ծրագրով սովորողների նույն ցուցանիշների համեմատ եղել է մի փոքր բարձր: Ելնելով սովորողների կարդիոհեմոդինամիկայի ցուցանիշների փոփոխություններից ենթադրվել է, որ երկու կրթական համակարգերի նկատմամբ հարմարումը իրականանում է նորմայի սահմաններում:

*Կարդիոհեմոդինամիկայի ցուցանիշներ – սրտի կծկումների հաճախություն – զարկերակային
ճնշում – արյան հարվածային ծավալ – արյան րոպեական ծավալ*

In NKR the cardiohemodynamic parameters (heart contraction frequency (HC), systolic blood pressure (SBP), average dynamic arterial pressure (ADAP), stroke volume of blood (SVB), minute volume of blood (MVB)) of 1100 girls at the age of 5-10 were investigated in condition of academic load. It was shown, that the girls' cardiohemodynamic parameters studying on the European system of compulsory education compared with the similar indicators of the pupils under the Soviet system of education were slightly elevated. In general cardiodynamic and blood indexes of the pupils learning by European system of compulsory education slightly increased compared to the Soviet system. According to shifts of cardiohemodynamic indexes of examinees was concluded, that their adaptation to the both educational systems performed at the level of norms.

*Cardiohemodynamic parameters – heart rate - blood pressure –
stroke volume of blood – minute volume of blood*

Проблема адаптации школьников разных возрастных категорий к условиям обучения представляет одну из важных проблем физиологии и связанных с ней других дисциплин. Исследованиями последних десятилетий установлены существенные сдвиги адаптационных возможностей школьников, возникающие под влиянием учебной нагрузки. При этом в качестве индикатора адаптационных возможностей детей использовалось функциональное состояние кардиореспираторной системы, находящейся под управлением центральной нервной системы. Последняя связывает организм с окружающей средой и через нервногуморальную регуляцию управляет всеми его соматическими, вегетативными и психическими процессами [1, 4, 6, 7, 10].

Изучение адаптивных и резервных возможностей кардиогемодинамических показателей младших школьников вызывает неослабевающий интерес в связи с тем, что этот возраст отличается неустойчивостью адаптивных механизмов и высокой подвижностью функций. Именно в этом возрасте учебная нагрузка, не соответствующая возрастным особенностям, является одним из факторов, приводящих к ухудшению здоровья. Сдвиги в кардиогемодинамических показателях могут быть обусловлены и рядом других сопутствующих факторов: недостаточная двигательная активность, усложнение учебных программ, нерациональный режим дня, неправильное питание, болезни, умственное напряжение и ряд факторов окружающей среды [2, 3, 5, 9, 12].

Результаты исследований последних лет показали выраженные сдвиги кардиогемодинамических показателей учащихся школ и студентов накануне и в период зачетно-экзаменационных сессий, в динамике учебного года [8, 11].

Исходя из вышеизложенного, в данной работе изучены сдвиги кардиогемодинамических показателей 5-11-летних девочек, обучающихся в общеобразовательных средних школах советской общеобразовательной системы и европейской модели общего образования. Новая европейская модель общего образования имеет ряд нововведений (оценка знаний учащихся по десятибалльной системе, тестовые, тематические и практические работы, полугодовые проверки знаний учащихся), которые могут стать причиной возникновения некоторых сдвигов в кардиогемодинамических показателях детей.

Материал и методика. Исследования проведены в школах N2 и N11 г. Степанакерта в утренние часы (9:00 - 12:00). Измерялись как кардиогемодинамические, так и показатели физического развития. Все испытуемые были абсолютно здоровы.

Определялись следующие кардиогемодинамические показатели: частота сердечных сокращений (ЧСС); систолическое и диастолическое артериальное давление (САД, ДАД); пульсовое артериальное давление (ПАД); среднединамическое артериальное давление (СДАД); ударный объем крови (УОК); минутный объем крови (МОК).

ЧСС определялась пальпаторно. Составляющие артериального давления (САД и ДАД) определялись манжетным методом Короткова. ПАД, СДАД, УО, МОК вычислялись по специальным формулам:

1. $ПАД = (САД - ДАД)$;
2. $СДАД = ДАД + 0.43 Ч (САД - ДАД)$;
3. $УОК = 90.97 + (0.54 Ч ПАД) - (0.54 Ч ДАД) - 0.61 Ч В$, где В – возраст подростков;
4. $МОК = УОК Ч ЧСС$

Давление, пульс, а также кардиогемодинамические показатели определялись 3 раза: осенью, зимой и весной. В данной работе представлены средние значения 3-х измерений.

Всего было исследовано более 1100 девочек. Материалы исследования обработаны биометрически по 11-вариантным группам по 50 вариантов в каждой. В каждом варианте определено среднее значение или условные (математические):

Средние показатели ($M1 = \frac{\sum x}{n}$, где $\sum$ – сумма показателей, n – число вариантов), уравновешенное среднее ($M = M1 \frac{dp}{n}$, где d – отклонения от средней, p – число случаев),

среднеквадратические отклонения ($V = \pm \sqrt{\frac{\sum d^2}{n} - (\frac{\sum d}{n})^2}$,

ошибка среднеуравновешенной квадратической ($M = \tau / \sqrt{n}$), $\geq$

коэффициент вариации ($C_v = \frac{\tau \times 100}{m}$) и

достоверность разниц $t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 - m_2^2}}$.

В медицинских, биологических и других науках значение t достоверно, если $t \geq 3$, при этом $p < 0.01$.

Результаты и обсуждение. Как видно из табл. 1, с возрастом у девочек наблюдалось уменьшение ЧСС. В возрасте 5 лет у девочек общеобразовательной школы советского типа она составляла (уд./мин) в среднем 102; 6-и летних – 101.9; 7-летних – 100.7; 8-летних – 97.9; 9-летних – 95.8; 10-летних – 90; 11-летних – 82.8. У девочек европейской программы обучения эти показатели были несколько выше: у девочек 5-ти лет ЧСС составляла 106 уд./мин; 6-ти – 105.2; 7-ми – 102.6; 8-ми – 100.4; 9-ти – 96.8; 10-ти – 94; 11-ти – 88. Одновременно у девочек 5-11 лет, обучавшихся в школах как по советской, так и по европейской системе общего образования с возрастом наблюдалось повышение САД, ДАД, СДАД, несколько более выраженное при европейской модели обучения. У 5-летних девочек, обучавшихся по советской системе образования, САД составил (мм рт.ст.) 86.2; у 6-летних – 90.3; у 7-летних – 94.6; у 8-летних – 97.2; у 9-летних – 97.6; у 10-летних – 104.9; у 11-летних – 106; в то время как у девочек, обучавшихся по системе европейского образования, показатели САД составляли соответственно (мм рт.ст.) 5 лет – 89; 6 лет – 94.2; 7 лет – 98; 8 лет – 102; 9 лет – 104; 10 лет – 105; 11 лет – 107. В обеих группах испытуемых сдвиги показателей ДАД и ПАД имели аналогичный характер (табл.1). У 5-11-летних девочек, занимающихся по советской системе образования, показатели СДАД составляли соответственно (мм рт.ст.): 66.5, 70.2, 72.8, 75.1, 76.1, 81.2 и 83.2, тогда как у девочек занимающихся по системе европейского образования, они находились на уровне 68.5, 72.5, 75.4, 78, 80, 81, 84.5 соответственно.

В отличие от вышеизложенных показателей, с возрастом у испытуемых наблюдалось некоторое понижение уровней УОК и МОК, несколько более выраженное у школьников, занимающихся по европейской программе обучения. У девочек 5 -11 лет, занимающихся по советской системе обучения, УОК составлял соответственно (мл): 78.4, 76.3, 77.3, 76, 73.9, 73.7 и 71.1, а у школьников, обучавшихся по европейской системе – 78.7, 77.9, 78, 75.7, 75.8, 74.7 и 68.3. Показатели же МОК у девочек советской школы составляли соответственно (л): 7.8, 7.8, 7.8, 7.4, 7.1, 6.6, 5.9, тогда как у школьниц, обучавшихся по европейской системе общего образования, эти показатели составляли 8.3, 8.1, 8, 7.6, 7.3, 7.2, 6 соответственно.

Таблица 1. Кардиогемодинамические показатели и показатели крови младших школьников при советской и европейской системы школьного образования

Возраст, лет	Показатели	Советская система школьного образования			Европейская система школьного образования		
		М	v	m	М	v	m
1	2	3	4	5	6	7	8
5	ЧСС	102	7.6	1.07	106	7.8	1.1
	САД	86.2	6.3	0.91	89	6.4	0.9
	ДАД	52.0	4.3	0.61	53	4.4	0.62
	ПАД	34.2	4.3	0.61	36	4.5	0.64
	СДАД	66.5	6.2	0.88	68.5	6.4	0.9
	УОК	78.4	7.4	1.0	78.7	7.6	1.1
	МОК	7.8	8.0	1.13	8.3	6.8	0.9
6	ЧСС	101.9	8.4	1.18	105.2	8.8	1.2
	САД	90.3	6.5	0.92	94.2	6.8	0.96
	ДАД	55.0	4.5	0.63	56	5.2	0.74
	ПАД	35.3	4.5	0.63	38.2	4.8	0.68
	СДАД	70.2	7.0	0.99	72.5	7.2	1.0
	УОК	76.3	7.1	1.0	77.9	7.5	1.06
	МОК	7.8	1.2	1.16	8.1	1.3	0.18
7	ЧСС	100.7	8.8	1.24	102.6	8.8	1.24
	САД	94.6	6.9	0.98	98	7.2	1.0
	ДАД	56	4.9	0.69	58	5.2	0.74
	ПАД	38.6	4.5	0.62	40	5.0	0.70
	СДАД	72.8	7.5	1.06	75.4	7.6	1.1
	УОК	77.3	7.5	1.06	78	7.8	1.1
	МОК	7.8	1.35	0.19	8	1.4	1.1
8	ЧСС	97.9	8.5	1.20	100.4	8.6	1.2
	САД	97.2	7.7	1.10	102	7.7	1.1
	ДАД	58	5.1	0.72	59	5.3	0.74
	ПАД	39.2	5.5	0.8	43	5.8	1.24
	СДАД	75.1	7.9	1.11	78.0	8.2	1.15
	УОК	76.0	8.6	1.21	75.7	8.4	1.19
	МОК	7.4	1.12	0.15	7.6	1.4	0.2
9	ЧСС	95.8	8.4	1.2	96.8	8.6	1.2
	САД	97.6	8.6	1.2	104.0	8.8	1.2
	ДАД	59.5	5.5	0.8	61	5.6	0.79
	ПАД	38.1	4.3	0.6	43	4.5	0.64
	СДАД	76.1	7.7	1.1	80	7.6	1.1
	УОК	73.9	6.3	0.89	75.8	6.4	0.9
	МОК	7.1	1.12	0.15	7.3	1.4	0.2
10	ЧСС	90	8.4	1.2	94.0	8.6	1.2
	САД	104.9	8.0	1.13	105	8.1	1.1
	ДАД	62.6	6.1	0.85	62.0	6.4	0.9
	ПАД	42.3	5.5	0.8	43	5.2	0.74
	СДАД	81.2	8.2	1.15	81.0	8.5	1.2
	УОК	73.7	8.6	1.21	74.7	8.8	1.24
	МОК	6.6	1.07	0.1	7.2	1.3	0.2
11	ЧСС	82.8	8.8	1.24	88	7.8	1.1
	САД	106.0	8.1	1.1	107	8.8	1.2
	ДАД	65.5	7.1	1.0	67	7.6	1.1
	ПАД	40.5	6.5	0.92	40	6.8	0.96
	СДАД	83.2	6.6	0.93	84.5	6.7	0.90
	УОК	71.1	8.4	1.19	68.3	8.5	1.2
	МОК	5.9	1.06	0.11	6.0	1.2	0.16

Таким образом, на основании анализа полученных данных можно заключить, что с возрастом у школьниц, независимо от системы образования, наблюдаются сдвиги показателей кардиогемодинамики, как в сторону повышения (ЧСС и артериального давления), так и понижения (УОК и МОК), наиболее выраженное при европейской системе общего образования. Несколько высокие показатели кардиогемодинамики у школьниц, обучавшихся по европейской модели, мы рассматриваем как естественную приспособительную реакцию организма к повышенной учебной нагрузке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н.А. Рутенкова, Схаршинов Ю.П и др. Особенности адаптации сердечно-сосудистой системы юношеского организма. Физиология человека, 23, 1, с. 93, 1997.
2. Агасян С.А., Агасян А.Б. Основные показатели физического развития и гемодинамики у школьников Нагорно-Карабахской республики в военное и мирное время. Вестник МАНЭБ, 42, 6, выпуск 2, с. 163-167, 2001.
3. Веренич Г.И. Артериальное давление детей 11-15 лет Юго-восточных районов Белорусского полесья. Здравоохран. Белорусии, 3, с.12-15, 1991.
4. Грибанов В.А., Береснев С.И. Возрастные особенности центральной гемодинамики у школьников Европейского севера. Сб. тр., 1, с. 73-83, 1994.
5. Дадян А.В. Влияние умственно-эмоционального напряжения на работу сердца школьников в учебных заведениях нового типа. Вестник МАНЭБ, 7, 6 (54), с. 214-219.
6. Ермолаев Ю.А. Возрастная физиология. М., 1985.
7. Карапетян С.К., Шахерян С.А. Возрастная физиология (на арм. языке). Ереван, 1981.
8. Кардашенко В.Н., Кандакова Л.П., Варламова и др. Руководство к лабораторным занятиям по гигиене детей и подростков. М., 1983.
9. Кардашенко В.Н., Стромская Е.П., Кандакова Л.П., Варламова и др. Гигиена детей и подростков, М., 1988.
10. Маркосян А.А. Вопросы возрастной физиологии, М., 1974.
11. Минасян С.М., Геворкян Э.С., Ксадтикян Н.Н. Гемодинамические показатели школьников при экзаменационном стрессе. МАНЭБ. 9, 8, с. 206-209, 2004.
12. Хрипкова А.Г., Антропова М.В., Фабер Д.А. Возрастная физиология и школьная гигиена. М., 1990.

Поступила 03.07.2012



Biolog. Journal of Armenia, 4 (64), 2012

THE EFFECT OF SEVERAL BIVALENT CATIONS ON THE SENSITIVITY OF RANA RIDIBUNDA FROG LIVER ARGINASE TOWARDS PROTEOLYSIS

A.S. SHAMIRIAN, R.G. GRIGORYAN, E.KH. BARSEGHYAN, M.A. DAVTYAN

Yerevan State University, Department of Biochemistry
bio_chm@ysu.am

In the current study the products of *Rana ridibunda* adult frog liver arginase hydrolysis by trypsin were investigated in order to obtain information about the polypeptide chain scroll level, as well as conformation of the enzyme under consideration. The results revealed that under the influence of trypsin (18 hour, pH=9.5, 25°C) 4 relatively large fragments were appeared. The augmentation of divalent ions` Mn, Co, Ni, Mg in liver extracts increases both the enzyme activity and the sensitivity towards proteolytic inactivation. According to the results, Mg ions do not have an effect on the sensitivity of the enzyme towards proteolysis and are partly considered a protector against the effect of trypsin, which probably is the result of the changes in enzyme's conformation, which leads to trypsin's sensitive bonds blockade.

Arginase – bivalent cations – limited trypsinolysis

Ժել-ֆիլտրացիայի եղանակով (Sephadex G-200) հետազոտվել են *Rana ridibunda* հասուն գորտի լյարդի տրիպսինով հիդրոլիզի արգասիքները, նպատակ ունենալով ստանալ տվյալներ պոլիպեպտիդային շղթայի պարուրման աստիճանի և հետազոտվող ֆերմենտի կոնֆորմացիայի մասին: Ցույց է տրված, որ տրիպսինի ազդեցությամբ (18 ժ, pH=9.5, 25°C) կատարվում է պոլիպեպտիդային շղթայի 4 համեմատաբար խոշոր հատվածների առաջացում: Երկվալենտ իոնների՝ Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} ավելացումը լյարդի էքստրակտներին բերում է ֆերմենտի ակտիվացմանը և միաժամանակ պրոտեոլիտիկ ինակտիվացման նկատմամբ զգայնության բարձրացմանը: Երկվալենտ Mg^{2+} -իոնները չեն ազդում լյարդի արգինազի պրոտեոլիտիկ ինակտիվացման զգայնության վրա և որոշ չափով ունեն պաշտպանիչ դեր տրիպսինի ազդեցության նկատմամբ, ինչը հավանաբար կապված է ֆերմենտի մոլեկուլի կոնֆորմացիոն փոփոխությունների հետ, որը բերում է տրիպսինի նկատմամբ զգայուն պեպտիդային կապերի շրջափակմանը:

Արգինազ – երկվալենտ կատիոններ – սահմանափակ տրիպսինոլիզ

С целью получения информации о степени свернутости полипептидной цепи и о конформации макромолекулы аргиназы печени взрослых лягушек *Rana ridibunda* методом гель-фильтрации на колонках с сепадексом G-200 исследовали продукты триптического гидролиза изучаемого фермента. Показано, что под действием трипсина в течение 18 ч при pH 9.5 и 25°C происходило образование 4 фрагментов. В результате инкубирования экстрактов печени в присутствии Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} происходила активация аргиназы, при этом возрастала чувствительность ее к протеолитической инактивации. Ионы Mg^{2+} не влияли на чувствительность фермента к трипсину и в определенной мере выступали в роли протектора, что, очевидно, связано с конформационными изменениями в молекуле фермента, которые приводят к блокированию некоторых чувствительных к трипсину пептидных связей.

Аргиназа – двухвалентные катионы – частичный трипсинолиз

Studies on the subject of reversible inactivation of frog liver arginase conducted at the Chair of Biochemistry of YSU have revealed the structural characteristics of native and reactivated enzyme's subunits. It has been shown, that studied enzyme has structural and consequently functional characteristics, which distinguishes it from various arginases in different levels of evolution development [1, 2, 3]. The native protein limited proteolysis is considered one of the prevailing methods for investigation of proteins and isoproteins structural and functional characteristics. The mentioned method allows determining the position of the sensitive bonds towards proteases, which exists on the surface of the molecule. Research about the type and quantity of derived fragments may provide valuable information about the polypeptide chain scroll level, as well as conformation of macromolecules. Different proteins display diverse sensitivity towards the influence of proteases, for instance, serum albumin splits into relatively 4 large fragments by trypsin [4], meanwhile one of the molecular forms of glycogensynthase gets completely degraded into low molecular fragments after 30 min. of trypsinolysis [5]. This method was successfully used to investigate structural and functional features of certain enzymes such as, creatine kinase [6], adenosine triphosphatase [7], myosin [8] and bovine liver arginase [9].

Herein the effects of several bivalent cations (Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+}) on the sensitivity of *Rana ridibunda* frog liver arginase towards proteolysis is described.

Materials and methods. *Rana ridibunda* Pallas adult frogs are used as a research object. The study was implemented in accordance with the Helsinki convention on animal studies. The *Rana ridibunda* frog liver arginase preparation final concentration is 5 %, which were prepared by distilled water. Enzyme activity was measured by Ratner and Pappas method [10], subsequently the urea, which emerges by substrate dissection, was measured according to the method of Archibald, which was modified by Moore and Kauffman [10]. The absorbance of protein was measured in a spectrophotometer (Genesys 10S UV-VIS) at 280 nm. The molecular weights of fragments were determined by Gel-filtration method (Sephadex G-200, Uppsala, Sweden). The equilibration and elution was done with buffer solution containing 0.05 mol glycine-NaOH (pH=9.5) in 25°C, elution velocity is 20 ml per hour.

Marker proteins (urease, alcohol dehydrogenase, human serum albumin, pepsin, trypsin and ribonuclease) are used for determining the molecular masses (fig. 1). During the experiments we used purified, chymotrypsin free trypsin preparations, which was added by 1 mg/ml concentration to 5 % enzyme preparation. The reaction stopped by soybean antitrypsin, with 0.2% concentration in the solution. Bivalent cations were added 25 μ mol per 1 ml to the studied sample.

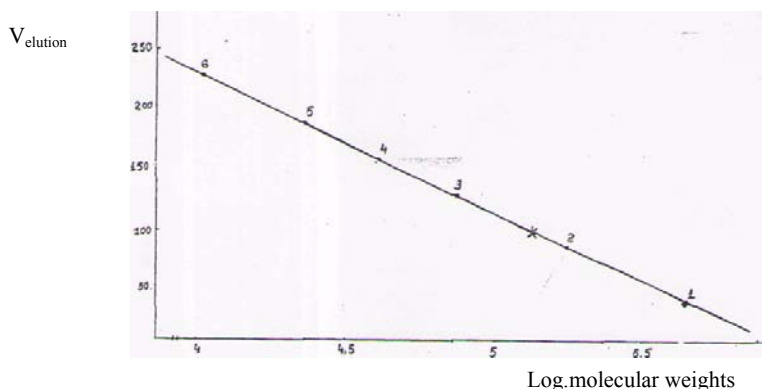


Fig.1. Molecular weights of *Rana ridibunda* frog liver arginase determined by gel-filtration method (Sephadex G-200).

1. Urease, 2. alcohol dehydrogenase, 3. human serum albumin, 4. pepsin, 5. trypsin, 6. ribonuclease, * Arginase

Results and Discussion. In the present report, we investigated the effect of several bivalent cations' Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} on the sensitivity of liver arginase inactivity. Mn^{2+} ions are necessary for the stability of enzyme, activity expression and maintenance of molecular charge and oligomer structure.

At the beginning, 2 hours pre-incubation of arginase in the presence of studied cations has been done. As shown in tab. 1 and fig.2 after 2 hours of pre-incubation with Mn^{2+} ions arginase activity increases by 97%.

Table 1. The effect of several bivalent ions Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} on the sensitivity of arginase inactivity n=5

Control (without ion)	Activation per 1 ml Activation and inhibition %			
	Mn^{2+}	Co^{2+}	Ni^{2+}	Mg^{2+}
3.4	6.7	4.7	3.94	2.54
Increase of activity (%)	+97	+38	+16	-25.3

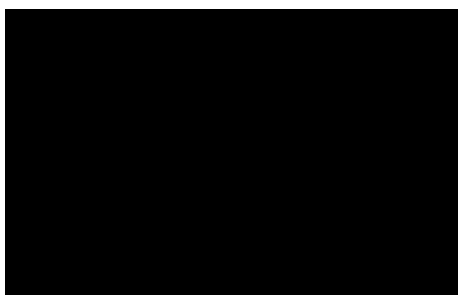


Fig.2. The effect of several bivalent ions Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} on the proteolytic inactivation of arginase.

As one can notice from the results, 2 hours pre-incubation of arginase with Co^{2+} and Ni^{2+} also activates the enzyme 38% and 16%, respectively, in the case when Mg ion inhibit the activation by 25.3%. The indispensable time for providing complete restoration of activity depends on the ion concentration, temperature and pH. According to the author, the enzyme connection segment is inaccessible and for ion connection it requires the reunion of the atoms [9].

Subsequently after enzyme pre-incubation with bivalent cations, hydrolysis is performed by trypsin, of which brief characteristics are presented in tab. 2.

Table 2. The effect of Mn^{2+} ions on the sensitivity of *Rana ridibunda* adult frog liver arginase towards proteolytic inactivation (Initial activity 29000 $\mu\text{mol/g}$)

	Limited proteolysis by trypsin without pre-incubation by Mn^{2+}		Limited proteolysis by trypsin after pre-incubation by Mn^{2+}	
Activation	0		8700	
Sample	Extent of trypsinolysis	Molecular weights of fragments	Extent of trypsinolysis	Molecular weights of fragments
Partly purified	2	85000, 35000	2	68000, 36000, 25000
	4	85000, 24000	4	68000, 36000, 13700
	8	82000, 40000, 13700	8	35000, 25000, 13700
	18	62000, 40000, 33000, 13700	18	36000, 30000, 13700, 10000, 8000

Unlike the non-incubated samples by Mn^{2+} , in pre-incubated samples the activation is preserved for 30%. In pre-incubated samples by Mn^{2+} , after 2 hours hydrolysis, appeared 3 fragments, which molecular weights are less than molecular weights of non incubated preparations (tab. 2, fig. 3-6, Blue dextran and trypsin corresponding peaks are not represented in the curves). After 4 hours of trypsinolysis the fragments with 68000, 36000 and 13700 Da molecular weights were appeared, which means the further dissect-

tion of the 3rd fragment. As well as, after 8 hours 3 fragments with lower molecular weights (35000, 25000 and 13700 Da) were appeared. Furthermore, after 18 hours trypsinolysis 5 fragments with 36000, 33000, 13700, 10000 and 8000 Da molecular weights were appeared.

It has been previously shown in tab. 1 that, Mn ions increases the sensitivity of studied enzyme towards trypsin activity, and inactivates the pre-incubated samples. The increase in the number of fragments and decrease of fragments weights proves that point. Probably, after pre-incubation by Mn^{2+} conformation changes occur in arginase, which reflects in the sensitivity of enzyme towards proteolysis. The results indicate that although the initial activation of enzyme (Co^{2+} 38%, Ni^{2+} 16%), these ions also increase the sensitivity of arginase towards the influence of trypsin more than Mn^{2+} (fig. 7, 8, 9).

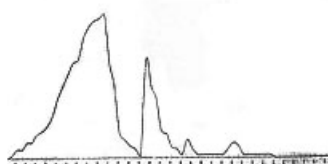


Fig.3. Trypsinolysis after 2 hours



Fig.4. Trypsinolysis after 4 hours

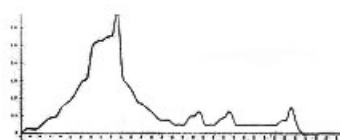


Fig.5. Trypsinolysis after 8 hours

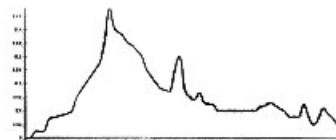


Fig.6. Trypsinolysis after 18 hours

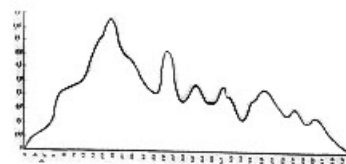


Fig.7. Effect of Co ions (After 18 h Trypsinolysis)

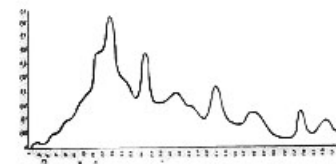


Fig.8. Effect of Ni ions (After 18 h trypsinolysis)

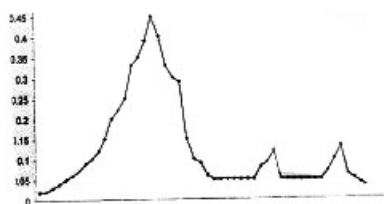


Fig.9. Effect of Mg ions (After 18 h Trypsinolysis)

Fig.3. The effect of Mn ions on the sensitivity of *Rana ridibunda* liver arginase towards proteolysis

Compared to the Mn^{2+} , trypsin shows a stronger degradation effect on Co^{2+} and Ni^{2+} . In addition, pre-incubation by Mg^{2+} prohibits the arginase activation by 25.3%; nevertheless, it is considered a protector during the limited trypsinolysis by protecting arginase from trypsin's proteolytic effect therefore, quantity of fragments decreases to 3, which supposedly is considered as the result of changes in enzyme's conformation (tab.3).

Table 3. The effect of of bivalent cations on the sensitivity of *Rana ridibunda* frog liver arginase towards proteolytic inactivation (Extent of trypsinolysis` 18 hours) n=4

Ions	Molecular weights of fragments						№ of fragments
Trypsinolysis without pre-incubation by ions	62680	40960	33740	12320			4
Mn^{2+}	36000	30000	13700	10000	8000		5
Co^{2+}	44700	37500	19800	13700	10300	8200	6
Ni^{2+}	40600	34500	26000	15800	11800	8000	6
Mg^{2+}	72860	28180	16790				3

It is notable, that our results do not coincide with the reports of Bond relating to bull liver arginase, where it is noted that Mg^{2+} does not activate enzyme and does not effect on inactivation sensitivity. However, it corresponds with the Bond results about rat liver arginase, according to pre-incubation with Mn^{2+} and Co^{2+} increases enzyme sensitivity against proteolytic inactivation [11]. There is evidence that Mn^{2+} is considered as a protector for rat liver arginase against protease effects [12]. In human liver arginase loss of Mn^{2+} makes the enzyme more sensitive towards proteolytic inactivation [13]. Thus, it can be stated that Mn^{2+} and Co^{2+} ions are stimulating the activity of *Rana ridibunda* liver arginase, but do not protect enzyme against the effect of trypsin during the limited inactivation, which coincides with the evidence reported by Carvajal relating to human liver arginase [13], and do not coincide with the Diez studies about rat liver arginase [12].

In conclusion, we consider that it is necessary to carefully transfer particular data of arginases by different origins from one class of animal to another. Further studies will allow discovering the molecular variation in similar enzyme, structural and dimensional disposal differences and simultaneously investigate the species specificity.

REFERENCES

1. М.А. Давтян, С.А. Карапетян, М.А. Хачатрян, Э.Х. Барсегян, Н.А. Арцруни, Р.Г. Григорян. Механизмы становления уреотелизма в эволюции и онтогенезе организмов. Информационные Технологии и Управление, 10, с. 147-161, 2007.
2. М.А. Давтян, Л.А. Навасардян, Э.Х. Барсегян, С.В. Марутян, Р.Г. Григорян. Белковые фракции организмов при экстремальных состояниях. Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии, III международный симпозиум под эгидой ЮНЕСКО, Труды, Дубна, с. 289-296, 2007.
3. Р.Г. Григорян. Влияние определенных белковых фракции гомогенатов на процесс обратимой инактивации аргиназы печени лягушек *R. ridibunda*. Вестник МАНЭБ, 14, 4, вып. 1, с. 107-109, 2009.
4. Peters T. Jr., Peldhoff R. C.- Fragments of bovine serum albumin produced by limited proteolysis. Isolation and characterization of tryptic fragments. Biochemistry, 14, 15, p.3384-3391, 1975.
5. Takeda Y., Brewer H.B., Lanier J. et.al. Structural studies on rabbit muscle glycogen synthase. I.Subunit composition. Biol.chem, 250, 23, p.8943-8950, 1975.
6. Price N.C., Murray S., Milner-white E.J. The effect of limited proteolysis on rabbit muscle creatin kinase/ Biochem J., 199, 1, p.239-244, 1981.

7. Thorley-Lowson D.A., Grenn N.M. Separation and characterization of tryptic fragments from the adenosine triphosphatase of sarcoplasmic reticulum. *Eurt. J. Biochem*, 59, 1, p.193-200, 1975.
8. Zobel C.R. Proteolytic fragments from the lobster myosin molecule. *Biochem.Biophys Acta*, 536, 1, p.142-155, 1978.
9. Геворкян М.А., Давтян М.А. Исследование продуктов триптического гидролиза аргиназы методом гель-фильтрации. *Ученые записки ЕГУ*, 1, с.79-81, 1999.
10. Арицруни Н.А., Барсегян Э.Х., Давтян М.А. Сравнительное изучение аргиназы печени лягушек *R. ridibunda* до и после метаморфоза. *Биолог. журн. Армении*, 54, 1-2, с.9-13, 2002.
11. Bond J.S., Failla M.L., Unger D.F. Elevated manganese concentration and arginase activity in liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *J.Biol.Chem.*, 258, 13, p.8004-8009, 1983.
12. Diez A.M., Campo M.L., Soler G. Trypsin digestion of arginase: evidence for a stable conformation manganese directed. *Int. J. Biochem*, 24, 12, p.1925-1932, 1994.
13. Carvajal N., Torres C., Uribe E., Salas M. Interaction of arginase with metal ions: studies of the enzyme from human liver and comparison with the other arginase. *Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol.*, 112, 1, p.153-159, 1995.

Received 03.04.2012



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

Biolog. Journal of Armenia, 4 (64), 2012

THE INFLUENCE OF SUPPLEMENTAL VITAMIN E ON MILK YIELD, DMI, BWC, NEFA IN EARLY LACTATING DAIRY COWS

M.G. RAHMANI

Armenian State Agrarian University (ASAU)
M.Rahmani@live.com

In the study on early lactating dairy cows, it was shown the influence of vitamin E on some indices including milk yield, DMI (dry matter intake), BWC (body weight change), and NEFA (non-esterified fatty acids) while feeding diet with or without supplemental vitamin E. In control and treated group DMI had positive correlations with milk production. BWC had negative correlations with milk and DMI. NEFA had positive correlations with milk. NEFA had negative correlations with DMI and BWC. The correlations were significant for some values. These findings indicate that oral administration of vitamin E can be useful for improvement of milk yield and DMI, and reduction of BWC and NEFA in the cows.

Milk yield – DMI – BWC – NEFA – lactating cow – vitamin E

Վաղ լակտացիոն շրջանում ուսումնասիրվել է վիտամին E-ի հավելման ազդեցությունը կաթնատու կովերի այնպիսի ցուցանիշների վրա ինչպիսիք են՝ կերի չոր նյութի կլանումը, մարմնի կենդանի զանգվածի փոփոխությունները, կաթնատվությունը և արյան պլազմայի չեթերիֆիկացված ճարպաթթուների (ՉԷՃԹ) պարունակությունը: Ինչպես ստուգիչում (առանց վիտամին E-ի) այնպես էլ փորձնական խմբում գրանցվել է դրական կորելյացիա կերի չոր նյութի կլանման և կաթնատվության միջև: Միևնույն ժամանակ նշվում է բացասական կորելյացիա նշված ցուցանիշների և կենդանի զանգվածի միջև: ՉԷՃԹ-ի արյան պլազմայի քանակը դրսևորում է դրական կորելյացիա կաթնատվության և բացասական՝ չոր նյութի կլանման և կենդանի զանգվածի փոփոխության հետ: Կորելյացիան հավաստի է որոշ մեծությունների համար: Ստացված տվյալները վկայում են վիտամին E-ի դրական ազդեցության մասին կերի չոր նյութի կլանման և կաթնատվության վրա, որը զուգորդվում է ՉԷՃԹ-ի քանակի և կենդանի զանգվածի փոփոխության նվազմամբ:

Կաթնատվություն – կերի չոր նյութի կլանում – կենդանի զանգված – ՉԷՃԹ – կաթնատու կովեր – վիտամին E

В ранний период лактации было изучено влияние скармливания витамином E на некоторые показатели молочных коров, включая поглощение сухого вещества корма, изменение массы тела, продукцию молока и содержание НЭЖК в плазме крови. Как в контроле (без витамина E), так и в опыте отмечалась положительная корреляция между поглощением сухого вещества корма и молочной продуктивностью. Регистрируется отрицательная корреляция между изменениями живой массы и вышеуказанными показателями. Концентрация НЭЖК в плазме крови находится в положительной корреляции с молочной продуктивностью и отрицательной с поглощением сухого вещества корма и изменением массы тела. Корреляция достоверна для ряда величин. Полученные данные указывают на положительное влияние скармливания витамином E на поглощение сухого вещества корма и молочную продуктивность, сопровождаемое уменьшением содержания НЭЖК в сыворотке крови и изменения массы тела.

Продукция молока – поглощение сухого вещества корма – изменение массы тела – НЭЖК – лактирующие коровы – витамин E

In early lactating dairy cows, increasing milk production greatly increases demands for energy at a time when DMI (dry matter intake) has not reached its maximum, because the increase in milk production occurs prior to a sufficient increase in dry matter intake. Therefore, dairy cows undergo tremendous adaptive changes during early lactation period. The majority of cows cannot meet their energy requirements for milk production and are forced to mobilize body fat to attempt to meet their energy needs [8]. Adipose tissue provides energy in the form of non-esterified fatty acids (NEFA) [6]. The high amount of mobilized fat enters the liver. It is converted to ketone bodies to supply energy. Thus, maintaining optimal liver function is central to the ability of cows to have a smooth early lactation period. Fat infiltration is a principal factor leading to development of fatty liver and ketosis [7]. Fatty liver and ketosis are metabolic disorders which affect lactating cows and cause economic losses due to reduction productivity. As the degree of fat infiltration increases, normal function of liver is affected adversely. The situation becomes a problem when dry matter intake does not increase sufficiently in early lactation to support energy needs and reduce fat mobilization.

Milk yield, dry matter intake (DMI), body weight change (BWC) and some metabolite concentrations in blood reflect the nutrient status and productivity of an early lactating cow.

Since vitamin E is a powerful antioxidant which can prevent lipid peroxidation and improve hepatocyte function [10, 12], we studied the influence of feeding supplemental vitamin E on correlations between milk yield (based on FCM), dry matter intake, body weight change and NEFA in early lactating dairy cows.

Materials and methods. *Cows, treatments, and data collection.* Sixteen primiparous and multiparous Holstein cows were used in our study for one month beginning five weeks postpartum. Cows were housed in individual tie stalls. Selection of cows for initializing this experiment was based on parity, milk yield of previous lactation (milk yield of dams for the cows in their first lactation) and body condition score (BCS). Therefore, the similarity of production and BCS was used as selection criterion of dairy cows for starting the study. Cows were fed for *ad libitum* intake the total mixed ration (TMR). The cows received diet with or without supplemental vitamin E (the amount of vitamin E was 4400 IU/d for treated group). The diet was formulated to production intensity, and consisted of ordinary alfalfa hay, silage, beet pulp, and concentrate (including barley, corn, canola meal, cottonseed, wheat bran, cottonseed meal, wheat grain, corn gluten meal, soybean meal, sodium bicarbonate, fat meal, limestone and vitamin-mineral supplement). The vitamin E was top-dressed onto the TMR.

Sampling and statistical analysis. Cows were milked thrice daily at 8 hour intervals, with no provision of water or concentrate while milking. Milk yield was measured everyday for all cows. The milk samples from individual cows were analyzed for milk contents. The following formula was used for the calculation of FCM (fat corrected milk) of each cow [4]: $FCM = [(0.4 \times \text{kg milk}) + (0.15 \times \text{kg milk} \times \text{fat g/kg})]$. Gaines's formula is an attempt to relate the energy required to produce milks of different fat contents by adjusting the yield to that of 4% butterfat milk. Samples of TMR and ort for both control and treated group were taken for analysis of dry matter. All samples were dried at 60 °C for 72 h, and then weighed to determine moisture loss. Blood samples were obtained before morning meal from the coccygeal vein on the last day of experiment and then were collected in heparinized Vacutainer tubes (heparin as anticoagulant) (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). Blood samples were placed on ice immediately following collection. Plasma was harvested after centrifugation of the blood at 3000 g for 15 min. Then they were both stored at -20 °C for 24 hours until subsequent analysis for NEFA. The NEFA was measured on "BT 1500 auto-analyzer" through spectrophotometer method, using kits produced by "Farasamed Co, Ltd. Tehran, Iran.

For statistical analysis, experimental data normality was verified, and then data were submitted to analysis of correlation, using SAS (2002) software package.

Results and Discussion. The raw data and the correlations between the values for the control and treated group (which received vitamin E) are shown in the following tables (1 & 2).

In our study, in control and treated group, DMI had positive correlations with milk (0.35 and 0.75 respectively). BWC had negative correlations with milk (-0.48 and -0.20 respectively) and DMI (-0.28 and -0.07 respectively). NEFA had positive correlations with

milk (0.50 and 0.11 respectively). NEFA had negative correlations with DMI (-0.43 and -0.09 respectively) and BWC (-0.41 and -0.11 respectively). The values between 0.4 and 0.8 as well as -0.4 and -0.8 are significant.

Table 1. The influences of vitamin E on some indices in early lactation dairy cows

Groups	Control	Vitamin E
Milk (kg/d)	34.70 ± 3.57	36.75 ± 3.00
DMI (kg)	22.43 ± 2.15	23.26 ± 3.58
BW (kg)	-13.40 ± 1.85	-6.14 ± 2.54
NEFA (mmol/l)	0.32 ± 0.05	0.25 ± 0.03

Table 2. The correlation between some values in the control and treated cows (with vitamin E)

Groups	Control			Vitamin E		
Correlation	Milk	DMI	BW	Milk	DMI	BWC
DMI	0.35	----	----	0.75 *	-----	-----
BWC	-0.48 *	-0.28	----	-0.20	-0.07	-----
NEFA	0.50 *	-0.43 *	-0.41 *	0.11	-0.09	-0.11

* Significant

Dairy cows during early lactation period are at high risk for different metabolic disorders, including fatty liver and ketosis [2]. Consequences of fatty liver and ketosis include losing weight, decreasing dry matter intake and milk yield [8].

To support milk production, the cows mobilizes adipose tissue, therefore NEFA concentration is elevated during early lactation which are associated with hepatic triglyceride accumulation and increased production of ketone bodies [14]. Liver uptake of NEFA is proportionate to portal blood supply [11]. The liver does not have sufficient capacity to completely dispose of NEFA through export into the blood or catabolism for energy [3]; therefore, when large amounts of NEFA are released into the blood, the liver begins to accumulate and store NEFA as triglycerides, resulting in fatty liver. Early lactating cows mostly rely on gluconeogenesis in the liver to meet their glucose requirements. But the level of blood glucose decreases during early lactation due to high demands for lactose synthesis as well as insufficient gluconeogenesis [1]. Reduction in gluconeogenesis by the liver, due to accumulation of fat in the liver, lower blood glucose levels and decrease insulin secretion, which would support greater lipid mobilization and increase rate of fatty acid uptake by the liver and increase ketogenesis [5]. An increase in plasma glucose during early lactation will likely increase insulin and decrease NEFA concentration.

In cows, plasma concentration of α -tocopherol (vitamin E) decrease during early lactation period [15], and low concentration of plasma vitamin E is associated with increased incidence of fatty liver [9]. Supplemental vitamin E can decrease inflammatory cytokine production [10] and improve liver antioxidant status in mice with fatty liver [13], supplemental vitamin E also improves liver function in early lactation cows.

In human, vitamin E supplementation significantly improved liver health in steatohepatitis patients compared to placebo [12].

The results of our study indicate that feeding supplemental vitamin E revealed tendency to decrease BWC loss, NEFA as well as increasing milk production and DMI. In this case vitamin E probably improved liver function due to increase glucose in the blood and then by stimulation of insulin secretion suppresses fat mobilization from adipose tissue. Therefore the treated group lost less weight than that of the control group. The reduction in fat mobilization causes to decrease the amount of NEFA in the blood and consequently make the influx of NEFA into the liver slow, thus the liver has fewer problems for oxidation of NEFA, and as a consequence, accumulation of fat in the liver decreases. Besides due to improvement of liver function, more NEFA oxidized in the liver and so the level of beta-hydroxy butyric acid (BHBA)

decrease in the blood. But when NEFA increases in the blood, liver does not have the capacity to oxidize them or export them as VLDL, therefore they convert to fat and store in the liver or they convert to BHBA. when NEFA and BHBA increase in the blood the pH of blood decreases, and increase in NEFA concentration effect on hypothalamus which causes to decrease appetite (because appetite is controlled specifically by hypothalamus), and as a result, dry matter intake decreases in cows with fatty liver and ketosis, therefore DMI cannot support milk production, thus in our study, the cows in control group lost more weight compared to the treated group.

In conclusion, feeding vitamin E might be useful for early lactating dairy cows due to improvement of liver function, milk yield and DMI and reduction of BWC and NEFA.

REFERENCES

1. L. Doepel, H. Lapierre, and J.J. Kenney Peripartum Performance and Metabolism of Dairy Cows in Response to Prepartum Energy and Protein Intake. *J. Dairy Sci.* 85 2315-2334, 2002.
2. J.K. Drackley Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J. Dairy Sci.*, 82, 2259-2273, 1999.
3. J.K. Drackley, T.R. Overton, and G.N. Douglas Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during periparturient period. *J. Dairy Sci.* 84, (E Suppl.), E100-E112, 2001.
4. W.L. Gaines. The Energy Basis of Measuring Milk Yield in Dairy Cows. Illinois Agricultural Experiment Station Bulletin 308. Illinois, USA: University of Illinois, 1928.
5. R.R. Grummer. Etiology of lipid related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 76, 3882-3896, 1993.
6. R.R. Grummer, P.C. Hoffman, M.L. Luck, and S.J. Bertics Effect of of Prepartum and Postpartum Dietary Energy on Growth and Lactation of Primiparous Cows. *J. Dairy Sci.* 78, 172-180, 1995.
7. T.H. Herdt, Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*, 16, 215-230, 2000.
8. James K. Drackley, Heather M. Dann, G. Neil Douglas, Nicole A. Janovick Guretzky, Noah B. Litherland, John P. Underwood, and J.J. Loo Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *J. Animal Sci.* 4, 323-344, 2005.
9. P. Mudron, H. J. Rehage, P. Sallmann, M. Mertens, H. Scholz, and G. Kovac Plasma and liver alpha-tocopherol in dairy cows with left abomasal displacement and fatty liver. *Zentralbl. Veterinarmed.* 44, 91-97, 1997.
10. M.E. Poynter, and R.A. Daynes. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activation modulates cellular redox status, represses nuclear factor-kappa B signaling, and reduces inflammatory cytokine production in aging. *J. Biol. Chem.*, 273, 32833-32841, 1998.
11. C.K. Reynolds, P.C. Aikman, B. Lupoli, D.J. Humphries, and D.E. Beever. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *J. Dairy Sci.*, 86, 1201-1217, 2003.
12. A.J. Sanyal, N. Chalasani, K.V. Kowdley, A. McCullough, A.M. Diehl, N.M. Bass, B.A. Neuschwander-Tetri, J.E. Lavine, J. Tonascia, A. Unalp, M. Van Natta, J. Clark, E.M. Brunt, D.E. Kleiner, J.H. Hoofnagle, and P.R. Robuck., Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N. Engl. J. Med.*, 362, 1675-1685, 2010.
13. K. Soltys, G. Dikdan, and B. Koneru, Oxidative stress in fatty livers of obese Zucker rats: Rapid amelioration and improved tolerance to warm ischemia with tocopherol. *Hepatology*, 34, 13-18, 2001.
14. M. Vazques-Anon, M.L. S. Bertics, and R.R. Grummer, Peripartum liver triglycerides and plasma metabolites. *J. Dairy Sci.*, 77 1521-1528, 1994.
15. W.P. Weiss, J.S. Hogan, K.L. Smith, and K.H. Hoblet., Relationships among selenium, vitamin E, and mammary gland health in commercial dairy herds. *J. Dairy Sci* 73 (1990) 381-390.

Received 23.08.2012



Биолог. журн. Армении, 4 (64), 2012

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ДЕФОРМАЦИИ РОТОВОГО АППАРАТА У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПОДСЕМЕЙСТВ *ORTHOCLADIINAE* И *DIAMESINAE* (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)

Н.А. ПЕТРОВА*, С.В. ЖИРОВ*, К.В. АРУТЮНОВА**,
М.В. АРУТЮНОВА**

*Зоологический институт РАН, г. Санкт-Петербург

**Институт молекулярной биологии НАН РА
harutyunovamaria@mail.ru

Рассматриваются морфологические нарушения частей ротового аппарата личинок хирономид из подсемейств *Diamesinae* и *Orthoclaadiinae* из водоемов Армении. Их частота составляет в среднем 7.25%, что не превышает общепринятую норму. Отмечается незначительная роль загрязняющих веществ в образовании аберраций.

Chironomidae – водоемы Армении – ротовой аппарат личинок

Դիտվում են բերանի ապարատի մորֆոլոգիական շեղումները Հայաստանի ջրամբարներում բնակվող *Orthoclaadiinae* և *Diamesinae* ենթաընտանիքներին պատկանող բզզան-մոծակի թրթուրների մոտ: Նրանց հաճախականությունը կազմում է միջինը 7,25%, որը չի գերազանցում ընդունված նորման: Նշվում է աղտոտող նյութերի աննշան դերը աբերացիաների ձևավորման մեջ:

Chironomidae – Հայաստանի ջրակայներ – թրթուրների բերանի ապարատ

Morphological distortions of mouth parts of chironomid larvae of *Orthoclaadiinae* and *Diamesinae* subfamilies from reservoirs in Armenia were discussed. Their frequency was in average of 7.25%, which does not exceed the generally accepted norm. There is an insignificant role of pollutants in the formation of aberrations.

Chironomidae – reservoirs of Armenia – mouth parts of larvae

В настоящее время много внимания уделяется загрязнению водной среды, накапливающей поллютанты антропогенного и природного характера в донных отложениях. При проведении гидробиологических и токсикологических исследований актуальными являются работы по изучению морфологических деформаций тела личинок хирономид [1, 11, 12]. В России подобные исследования до сих пор единичны [1, 2]. В ходе исследования генотоксического влияния тяжёлых металлов на политенные хромосомы слюнных желёз личинок хирономид и на морфологические характеристики личинок у некоторых особей были обнаружены деформации отдельных частей головной капсулы. Такие особи оказались немногочисленными, и

нарушения касались только ротового аппарата – ментума либо мандибул. В настоящей работе рассматриваются некоторые типы морфологических аберраций у личинок хирономид и обсуждаются возможные причины их возникновения.

Материал и методика. Личинки хирономид собирали в водоемах Армении с 21.04.2010 г. по 09.09.2010 г. в бассейне главной и наиважнейшей для региона р. Раздан, а также в долине р. Касах, расположенной западнее. Высота местности над уровнем моря в точках сборов составляла от 842 м до 1890 м, pH среды варьировала от 5.5 до 7.0. Личинок собирали сачком с диаметром 15 см, промывали материал на месте сбора при помощи почвенного сита с диаметром ячеек 0.5 мм. Скорость течения в местах сбора составляла от 2 м/с до полного отсутствия течения. Сборы проводились на глубинах 0.1–0.5 м. Для исследования отбирались личинки подсемейств Diamesinae и Orthocladiinae. Они встречались в сообществах, населяющих слаботекущие водоемы с низкой степенью эвтрофикации на субстрате из тонкого слоя серого ила с подстилающим каменистым или песчаным грунтом. Собранный материал фиксировался на месте сбора в жидкости Карнуа (3 части 96%-ного этилового спирта + 1 часть ледяной уксусной кислоты).

Для каждой личинки готовили морфологические препараты, которые состояли из отдельных частей головной капсулы и последних 7–9 брюшных сегментов тела. Морфологические препараты готовили по общепринятым методикам [2, 9]. Общее количество личинок составило 138 особей, из них 10 имели морфологические нарушения.

Результаты и обсуждение. Были изучены личинки хирономид, имеющие те или иные морфологические деформации ротового аппарата, а именно незначительная выщербленность срединного зубца ментума у *Cricotopus curtus* (рис. 1а), скол центральной части срединного и первой пары боковых зубцов у *Diamesa insignipes* (рис. 1б), асимметричность срединного и первых боковых зубцов ментума у *Lappodiamesa davisii* (рис. 1в), асимметричность центральной части ментума у *Diamesa sp.* (рис. 1г), скол центральной части ментума у *D. tsutsui* (рис. 1д), асимметричность ментума вследствие разного количества боковых зубцов у *Cricotopus ex gr. bicinctus* (рис. 1е), скол вершины третьего истинного зубца мандибулы у *Diamesa sp.* (рис. 1ж), скол большей части третьего истинного зубца мандибулы у *Cricotopus ex gr. bicinctus* (рис. 1з), отсутствие нескольких истинных зубцов мандибулы у *Diamesa aberrata* (рис. 1и) и *Orthocladius sp.* (рис. 1к).

Аберрации затрагивали те части головной капсулы, которые принимают непосредственное участие в соскабливании и размельчении пищевых частиц – срединный зубец ментума и настоящие зубцы мандибулы. Степень повреждения варьировала от едва заметных щербин ментума (*Cricotopus curtus*) до отсутствия целых зубцов мандибулы (*Cricotopus bicinctus*). У некоторых особей повреждения явно возникли в процессе жизнедеятельности – скобления субстрата и перемалывания твердых частиц, как, например, сколы ментума и мандибулы у *Diamesa insignipes*, *D. tsutsui* и *Diamesa sp.* У других личинок, например ментум у *Cricotopus ex gr. bicinctus*, или мандибула у *Diamesa aberrata* и *Orthocladius sp.* выглядят как нарушения, возникшие в ходе онтогенеза. Из 138 изученных особей нарушения были отмечены у 10 личинок, что составило 7,25% от общего количества.

Морфологические дефекты ротового аппарата личинок могут представлять собой индуцированные изменения, возникшие в онтогенезе под действием антропогенных загрязнителей – ионов и соединений тяжелых металлов, пестицидов, поверхностно-активных веществ и т.п. В этом случае повреждения характеризуются «заживленными» краями разломов и трещин, которые сглаживаются по мере роста личинки. Но в ряде случаев эти деформации больше похожи на искусственно вызванные недавние механические изменения – поломки или стирание зубцов во время скобления твердого субстрата в донных отложениях, тем более что подстилающим дно субстратом, чаще всего, служат песок и галька. Такие аберрации характеризуются четкой линией разлома элементов ротового аппарата.

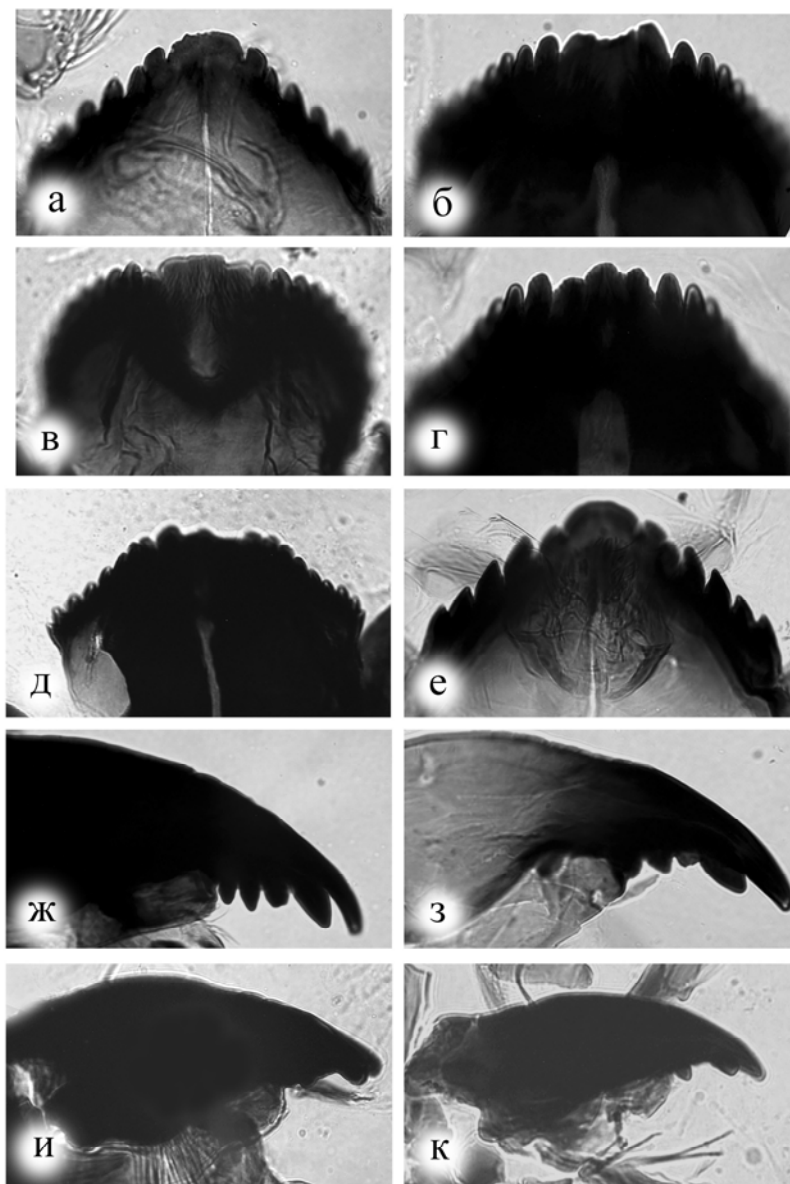


Рис. 1. Различные типы и степень морфологических отклонений в строении частей ротового аппарата у личинок хирономид: а. небольшой скол срединного зубца ментума (*Cricotopus curtus*); б. скол срединного и первого боковых зубцов ментума (*Diamesa sp.*); в. скол срединного и первого боковых зубцов ментума (*Diamesa davisii*); г. первые боковые зубцы ментума разной длины (*Diamesa sp.*); д. скол срединного и первого бокового зубцов ментума (*Diamesa tsutsui*); е. асимметрия в строении первых боковых зубцов ментума (*Cricotopus sp. ex gr. bicinctus*); ж. скол части 3-го истинного зубца мандибулы (*Diamesa sp.*); з. скол большей части 3-го истинного зубца мандибулы (*Cricotopus sp. ex gr. bicinctus*); и. отсутствие 3-го истинного зубца мандибулы (*Diamesa aberrata*); к. отсутствие 3-го истинного зубца мандибулы (*Orthocladus sp.*).

Случай асимметрии ментума у *Cricotopus sp. ex gr. bicinctus* напоминает классический терат - нарушение, возникающее в ходе онтогенеза случайным образом, вне зависимости от воздействия антропогенных загрязнителей.

Частота аберраций ротового аппарата у личинок из Армении не превышает средний процент деформаций, характерный для слабозагрязненных областей – 8 [11]. В Армении в горных ручьях и речках предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ не превышают норму, не выявлено избыточной концентрации тяжёлых металлов и органических веществ. Для горных районов Армении маловероятно антропогенное загрязнение тяжелыми металлами и синтетически-поверхностными активными веществами (СПАВ). Основной сброс загрязнителей относится к окрестностям Еревана, где водоемы подвергаются действию промышленных и бытовых сбросов и, как следствие, проходят ускоренный процесс эвтрофикации. Данные настоящего исследования позволяют предполагать незначительную роль загрязняющих агентов в возникновении вышеописанных морфологических дефектов.

Известно, что на появление морфологических отклонений у хирономид могут влиять абиотические и биотические факторы. К первым относятся температура и химический состав водной среды, скорость течения, подстилающие дно грунты, а также загрязнители - тяжелые металлы и некоторые органические вещества (пестициды, СПАВы) [1, 7]. Сервиа с соавторами [10] показал сезонную изменчивость появления подобных дефектов: наибольшая частота особей с дефектами была в самые холодные периоды года, а наименьшая – летом. Ко вторым, биотическим, относятся возраст личинок, стадии жизненного цикла, инвазии, инфекции и др., которые ослабляют или усиливают действие абиотических факторов.

Тенденция появления дефектов в ответ на разного рода загрязнения сильно варьирует среди различных таксонов хирономид [3, 10]. Так, например, у *Chironomus riparius* из области Сантена (Италия) особи с морфологическими отклонениями встречались с частотой 3,8 % [6], у *C. plumosus* из Финляндии (из района, где сбрасывают сточные воды целлюлозно-бумажные комбинаты) личинки с дефектами ротового аппарата обнаружены с частотой 9% [5], а у *C. acidophilus* из водоёма с кислой средой (Великобритания) были обнаружены деформированные личинки с частотой 5.7% [4]. Назарова [1] приводит таблицу со сводными данными, согласно которым разные загрязняющие агенты индуцируют морфологические дефекты в широком диапазоне – от 1,9% до 100%.

Вероятнее будет заключение, что в водоемах Армении аберрации возникают под действием естественных причин. В большинстве – механические повреждения при контакте с твердыми частицами субстрата, и изредка – в результате вероятностных сбоев программы индивидуального развития. Наблюдаемый процент особей с аберрациями не позволяет сделать более-менее обоснованный вывод об экологическом состоянии водоемов изученного региона. Для установления зависимости между степенью загрязнения и частотой дефектных особей, а также специфичности действия того или иного агента требуются гидрохимические анализы среды с учетом географического положения месторождений полиметаллических руд, чтобы исключить влияние естественных факторов на результат исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке фонда МНТЦ (Международный Научно-Технический центр), проект #А-1662, а также Программ фундаментальных исследований Президиума РАН “Генофонды и генетическое разнообразие” и “Происхождение биосферы и эволюция гео-биологических систем”.

ЛИТЕРАТУРА

1. Назарова Л., Морфологические деформации комаров-звонцов Diptera, Chironomidae в связи с загрязнением водоёмов. Успехи современной биологии. 122, 5, с. 516-523, 2002.
2. Панкратова В.Я., Личинки и куколки комаров подсемейства *Orthoclaadiinae* фауны СССР (Diptera, Chironomidae=Tendipedidae). Наука. Л., 344 p. 1970.
3. Bhattacharyay G., Sadhu A., Mazumdar A., Chaudhuri P. Antennal deformities of Chironomid larvae and their use in biomonitoring of trace metal pollutions in the river Damodar of West Bengal, India. Environmental Monitoring and Assessment. 108, p. 67-84. 2005.
4. Michailova P., Ilkova J., Kerr R., White K. Chromosome variability in *Chironomus acidophilus* Keyl from the Afon Goach, UK – a river subject to long – term metal pollution. Aquatic Insects. 31, p. 213-225, 2009.
5. Michailova P., Mettinen F. Cytotaxonomical variability of *Chironomus plumosus* L. and *Chironomus anthracinus* Zett. (Diptera, Chironomidae) from industrial and municipal polluted areas of Finland. Caryologia. 53, p. 69-81. 2000.
6. Michailova P., Petrova N., Sella G., Todorjva J., Zelano V., Cytogenetic characteristics of a population of *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae) from a polluted Po river station. Genetica. 98, p. 161-178, 1996.
7. Nasarova L., Riss W., Kahlheber A., Werding B., Some observations of buccal deformities in chironomid larvae (Diptera: Chironomidae) from the Cienaga Grande de Santa Marta, Colombia. Algunas observaciones sobre deformidades bucales en larvas de quironomidos (Diptera: Chironomidae) de la Cienaga Grande de Santa Marta, Colombia. Calsasia. 26, 1, p. 275-290, 2004.
8. Nazarova L., Govorkova L., Sabirov R., Latypova V. Morphological deformations of chironomid larvae on assessment of Kuybishev water reservoir ecological state. Environ. Radioecol. App. Ecol., 7, 2, p. 22-27, 2001.
9. Pinder L.C.V. The larvae of Chironomidae (Diptera) of the Holarctic region. Introduction. Ent. Scand. Suppl., 19, p. 7-10, 1983.
10. Servia M., Corbo F., Gonzalez M. Seasonal and interannual variations in the frequency and severity of deformities in larvae of *Chironomus riparius* (Meigen, 1804) and *Procladius olivacea* (Meigen, 1818) (Diptera, Chironomidae) collected in a polluted site. Environment Monitoring and Assessment, 64, p. 617-626, 2000.
11. Warwick F. Morphological deformities in Chironomidae (Diptera) larvae as biological indicators of toxic stress. In: M.S. Evans (ed.). Toxic Contaminants and Ecosystem Health. A Great Lakes Focus. New York: John Wiley and Sons. p. 281-320, 1988.
12. Warwick F., The use of morphological deformities in chironomid larvae for biological effects monitoring. National Hydrology Research Institute Paper Nr. 43, IWD Scientific series, 173, p. 1-34, 1990.

Поступила 31.08.2012



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4(64), 2012

ԲՐՈՒՑԵԼՑՈՋԻ ԱՌՏՈՐՈՇՈՒՄԸ ԵՎ ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅԱՆ ՀԱՄԱՃԱՐԱԿԱՐԱՆԱԿԱՆ ԴՐՍԵՎՈՐՈՒՄՆԵՐԸ

Ս.Լ.ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ, Ֆ.Ռ.ԻՄԿԱՆԴԱՐՅԱՆ, Մ.Ա.ՍԱՐԳՍՅԱՆ,
Ա.Ռ.ՄԿՐՏՅԱՆ

Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան
Արցախի պետական ագրարային համալսարան
Suren. Grigoryan@mail.ru

Հոդվածում ներկայացված է Լեռնային Ղարաբաղի Հանրապետությունում գյուղատնտեսական կենդանիների բրուցելյոզի ախտորոշման մեթոդները և համաճարակային դրսևորումները 2007-2011 թվականների ընթացքում: Հնգամյա հետազոտությունների արդյունքում պարզվել է, որ ըստ մանրէաբանական և շիճուկաբանական հետազոտությունների արդյունքների, հանրապետությունում ստեղծվել է բրուցելյոզի համաճարակի լարված իրավիճակ: Ուսումնասիրման արդյունքներով կենդանիների հիվանդացության ցուցանիշը առավել բարձր է Մարտունու, ինչպես նաև Շուշիի և Ասկերանի տարածաշրջաններում:

Մանրէ – ագլյուտինացում – ինֆեկցիա – բրուցելյոզ – հիվանդություն – արյան շիճուկ

В статье приводятся методы диагностики и аспекты эпизоотического проявления бруцеллеза сельскохозяйственных животных в Нагорно-Карабахской Республике за 2007-2011 гг. В результате пятилетних исследований выявлено, что, согласно данным бактериологических и серологических исследований, в республике сложилась напряженная эпизоотическая ситуация по бруцеллезу. Наиболее высокая заболеваемость животных отмечалась в Мартунинском, а также в Шушинском и Аскеранском районах.

Бактерия – агглютинация – инфекция – бруцеллез – болезнь – сыворотка крови

Methods for diagnostics, and epidemic expression of farm animal brucellosis in Republic of Mountainous Karabakh during 2007 to 2011 years are described in the article. Five-year investigations show that, according to bacteriological and serological examinations, the epidemic situation of brucellosis in the republic is complicated. The highest morbidity of the animals has been registered in Martuni, as well as Shushi and Askeran region.

Bacteria – agglutination – infection – brucellosis – disease – blood serum

Բրուցելյոզը, որպես կենդանիների և մարդկանց ծանր ընթացք ունեցող վարակիչ հիվանդություն, ախտահարում է ոչ միայն սեռական համակարգը, այլև ամբողջ օրգանիզմը [1,2]:

Բրուցելյոզի նկատմամբ կանխարգելման և պայքարի միջոցառումների արդյունավետությունը կախված է վարակի վաղ ախտորոշումից: Համաճարակաբանական, մանրէաբանական և շիճուկաբանական եղանակներով ախտորոշման արդյունքում բացահայտվել է, որ Լեռնային Ղարաբաղի բոլոր տարածաշրջանների բնակավայրերի մեծամասնությունը անապահով են բրուցելյոզի հարուցիչի տարբեր տիպերի և տարբերակների նկատմամբ: Մանրէաբանական ախտորոշման նպատակով անասնաբուժական լաբորատորիա է ուղարկվել նշված հիվանդության պատճառով վիժված կենդանիների պտուղը, պտղաթաղանթները, ստամոքսը, լյարդի և փայծաղի կտորներ: Շիճուկաբանական ախտորոշման նպատակով լաբորատորիա է ուղարկվել կաակածվող կենդանիների արյան շիճուկը և կաթը՝ ագլյուտինին և կոպլեմենտ կապող հակամարմինների առկայությունը որոշելու

համար: Ախտաբանական նյութի մեջ բրուցելյոզային բակտերիաների առկայությունը հայտնաբերելու նպատակով յուրաքանչյուր նմուշից պատրաստվել է 2-ական քսուք-արտատպվածք և սևեղելուց հետո ներկել ըստ Գրամի, Կոզլովսկու և Շուլյակի:

Նյութ և մեթոդ: Հիվանդության հարուցիչի աճեցման համար օգտագործվել է մսապեպտոնա-լյարդային արգանակ, մսապեպտոնային արգանակ, մսապեպտոնային ազար, ինչպես նաև բրուցելա-ազար: Մանրեական ցանքսերը դրվել է թերմոստատ 37°C աստիճանի պայմաններում 30 օր տևողությամբ: Մանրեական աճեցվածքի ստուգիչ դիտումները կատարվել է 24 ժ հետո, այնուհետև 3-4 օր ընդմիջումով, պարբերաբար մինչև սննդամիջավայրերում բնորոշ աճի հայտնվելը: Մանրեաբանական հետազոտությանը զուգընթաց կատարվել է նաև կենսաբանական փորձ ծովախոզուկների վրա:

Բրուցելյոզի շիճուկաբանական ախտորոշումը կատարվել է ստուգվող կենդանիների արյան շիճուկում յուրահատուկ հակամարմինների հայտնաբերման համար:

Արդյունքներ և քննարկում: Հետազոտության արդյունքները ցույց են տալիս, որ պտղի ընկերքից և ներքին պարենխիմատոզ օրգաններից անջատվել է բրուցելյոզի հարուցիչը պինդ սննդային միջավայրի մակերեսին: Աճեցվածքները առաջացնում են մանր, փայլուն, հավասար եզրերով արտահայտված զաղություններ: Արգանակի մեջ բրուցելյանները առաջացնում են հավասարաչափ պոտորություն և առաջատային օղակ, որը բարձր է արգանակի մակարդակից: Հետագայում փորձանոթի հատակում առաջանում է նստվածք:

Փորձանոթային եղանակով ագլյուտինացման ռեակցիայի համար կատարվել է խոշոր եղջերավոր կենդանիների արյան շիճուկի 4 նոսրացում 2 գործակցով՝ 1:50, 1:100, 1:200, 1:400: Հայտնի հակածնով արյան շիճուկներում անհայտ հակամարմինները հայտնաբերվել են բոլոր նոսրացումներում, սակայն դրական ախտորոշիչ տիտր է համարվել արյան շիճուկի 1:100 և բարձր նոսրացումները: Նույնը կատարվել է նաև ոչխարների արյան շիճուկի հետ, միայն այն տարբերությամբ, որ այս դեպքում արյան շիճուկը ֆիզիոլոգիական լուծույթում նոսրացվել է 1:25, 1:50, 1:100 և 1:200: Այս դեպքում դրական ախտորոշիչ տիտր է համարվել շիճուկի 1:50 և բարձր նոսրացումները: Հետազոտվող արյան շիճուկները դրական են հակազդել 50-75 և 100%-ով:

Այսպիսով Լեռնային Ղարաբաղի Հանրապետության տարածքում բացահայտելով բրուցելյոզի առկայությունը, կատարվել է ստորև բերվող համաճարակաբանական հետազոտություններ:

Համաճարակի ընթացքի դինամիկայի կարևոր բաղկացուցիչ մաս են համարվում հիվանդացությունը և օջախայնության գործակիցը: Հիվանդացությունը որոշակի պատկերացում է տալիս, եթե այն որոշվում է տվյալ հիվանդության նկատմամբ ընկալունակ կենդանիների տարեկան միջին գլխաքանակի նկատմամբ: Սովորաբար այդ ցուցանիշը որոշում են 100, 1000, 10000, 100000 գլուխ կենդանիների հաշվով [2,5]:

Օջախայնության գործակիցը ցույց է տալիս տվյալ վարչական տարածքում, անապահով կետում (համայնք, տարածաշրջան, մարզ, հանրապետություն) հիվանդ կենդանիների միջին գլխաքանակը: Նշված ցուցանիշներով որոշում են համաճարակի լարվածությունն ու ինտենսիվությունը: Վերլուծության այս եղանակը կարող է կանխորոշել համաճարակի հետագա ընթացքը, զարգացումը, ուժեղացումը կամ թուլացումը, որոնք կապված են համաճարակային ընթացքի կենսաբանական շարժիչ ուժերի ակտիվությունից և նրանց վրա ազդող գործոններից: Այդ ազդակները կարող են լինել կենսաբանական, բնաշխարհագրական և սոցիալ-տնտեսական [3,4]:

Համաճարակների դեմ պայքարի համակարգում կարևոր նշանակություն ենք տալիս այն գործոններին, որոնք արգելակում են ինֆեկցիաների առաջացումը, զարգացումը և տարածումը: Այդպիսի գործոններին են պատկանում հիվանդությունների կանխարգելման և պայքարի առանձնահատուկ և ընդհանուր միջոցները [6,7]:

Լեռնային Ղարաբաղի Հանրապետությունում խոշոր և մանր եղջերավոր կենդանիների բրուցելյոզի համաճարակաբանական մի քանի ցուցանիշների բացահայտման պատկերը բերվում է աղ. 1-ում:

Ընդունելով օջախայնության գործակցի առանձնահատուկ կարևորությունը համաճարակի ընթացքի շարժի գնահատման համար, աղյուսակում բերված վերլուծական տվյալները համոզիչ կերպով ցույց են տալիս այդ ցուցանիշի հարաբերական դրսևորումները թե տարածաշրջաններում և թե ամբողջ հանրապետությունում [5,8]:

Աղ.1. Համաճարակի ինտենսիվության մի քանի ցուցանիշների որոշումը բրուցելյոզի դեպքում

N	Շրջաններ	2007			2008			2009			2010			2011		
		Անապահով կետ	հիվանդ կենդանի	օջախ գործակիցներ	Անապահով կետ	հիվանդ կենդանի	օջախ գործակիցներ	Անապահով կետ	հիվանդ կենդանի	օջախ գործակիցներ	Անապահով կետ	հիվանդ կենդանի	օջախ գործակիցներ	Անապահով կետ	հիվանդ կենդանի	օջախ գործակիցներ
1	Ասկերան	40	154	3,85	40	195	4,87	40	293	7,32	40	481	12,0	40	409	10,2
2	Քաշաթաղ	38	193	5,07	38	232	6,10	38	230	6,05	38	114	3	38	45	1,18
3	Հաղրուք	8	-	-	8	-	-	8	5	0,62	8	24	3	8	148	18,5
4	Մարտակերտ	14	18	1,28	14	30	2,14	14	17	1,21	14	162	11,6	14	6	0,43
5	Մարտունի	17	26	1,53	17	21	1,23	17	33	1,94	17	55	2,23	17	70	4,12
6	Շահումյան	3	-	-	3	-	-	3	12	4	3	-	-	3	-	-
7	Շուշի	7	4	0,97	7	163	23,3	7	21	3	7	10	1,43	7	9	1,28
	Միջին ցուց.	127	395	3,11	127	491	3,87	127	616	4,85	127	846	6,66	127	687	5,41

Առանձին տարածաշրջանների օջախայնության ցուցանիշը վկայում է, որ բրուցելյոզի տարածման ուժգնությունը առավել բարձր է Ասկերանի տարածաշրջանում: Սկսած 2007թ-ից զգալիորեն ավելացել են հիվանդ և բրուցելյոզային հակաձևի նկատմամբ դրական հակազդող կենդանիների թիվը, 154-ից հետագա տարիներին հասնելով 195, 293, 481 և գրեթե այդ մակարդակի վրա պահպանվել է 2011 թվականին: Հետազոտության ենթակա 5 տարիների ընթացքում օջախայնության գործակիցը 2010 և 2011թթ. համապատասխանաբար կազմել է 12,0 և 10,2, որը բարձր ցուցանիշ ենք համարում բրուցելյոզի համար: Մեր կարծիքով այդպիսի ինտենսիվ վերելքը հետևանք է համայնքներում կազմակերպչական տնտեսական և անասնաբուժա-սանիտարական ցածր մակարդակի միջոցառումների: Մի կողմից չի կատարվել հիվանդ կենդանիների խոտատում, մյուս կողմից էլ չի իրականացվել պայմանական առողջ կենդանիների վարակումը կասեցնող միջոցառումներ:

Հիվանդության աննախադեպ տարածման օրինակ է համարվում նաև Հաղրուքի տարածաշրջանը, որտեղ օջախայնության գործակիցը 2011 թ. կազմել է 18,5: Ինչ վերաբերում է Մարտունու տարածաշրջանին, ապա հետազոտության վերջին , 2011 թ. մեկ անապահով կետին բաժին է ընկել 4,12 հիվանդ կենդանի, որը չնայած նախորդների համեմատությամբ զգալիորեն ցածր թիվ է, հաշվի առնելով, որ ելակետային 3-4 տարիների ցուցանիշը կազմել է ընդամենը 1-2 հիվանդ կենդանի, ապա հետագա անբավարար միջոցառումների արդյունքում 2011 թ. արձանագրվել է վարակի տարածումը վկայող բարձր ցուցանիշ: Մնացած վարչական տարածքներում, մասնավորապես Քաշաթաղի, Մարտակերտի և Շուշիի տարածաշրջաններում դիտվել է համաճարակի ինտենսիվության նվազում հատկապես հետազոտության վերջին տարիներին:

Որոշակի ուշադրության է արժանի բրուցելյոզի շարժի հանրապետական ցուցանիշը ըստ օջախայնության գործակցի: Ուսումնասիրման ենթակա բոլոր տարիներին դիտվել է ընկալունակ կենդանիների վարակման նոր դեպքեր: 2007 թ. վարակված կենդանիների թիվը կազմել է 395 գլուխ, իսկ հետագա տարիներին հիվանդության հարուցիչի փոխանցման տարբեր գործոնների և վարակման դարպասների համակցությամբ այն կազմել է 491, այնուհետև 616 և 846: Օջախայնության գործա-

կիցը համապատասխանաբար կազմել է 3,11; 3,87; 4,81 և 6,66: Միայն հետազոտության վերջին տարում փոքր-ինչ նվազել է նշված ցուցանիշը և յուրաքանչյուր անապահով կետում նշվել է 5,41 գլուխ հիվանդ և դրական հակազդող կենդանի:

Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ յուրաքանչյուր տարում հայտնաբերված բրուցելակիր կենդանիները չեն խոտանվել հարկադիր սպանդի ենթարկելու միջոցով, որի հետևանքով էլ նրանց քանակը ոչ թե նվազել, այլ ավելացել է անընդհատ վարակ-ման միջոցով:

Այսպիսով, հանրապետության միջին ցուցանիշը կազմել է 4,78, որին գերազանցում է միայն Ասկերանի և Շուշիի տարածաշրջանների համանուն միջին ցուցանիշները:

Այժմ հաշվարկները տարվում են հիվանդացության որոշման ուղղությամբ:

Աղ.2. Հիվանդացության գործակցի որոշումը

Հ/հ	Տարածաշրջան	2007	2008	2009	2010	2011	Ընդամ.
1	Ասկերան	0,032	0,027	0,037	0,066	0,077	0,048
2	Քաշաթաղ	0,028	0,010	0,016	0,095	0,028	0,035
3	Մարտակերտ	0,020	0,033	0,017	0,017	0,028	0,023
4	Մարտունի	0,038	0,039	0,083	0,076	0,037	0,054
5	Հաղբույթ	-	-	0,027	0,041	0,011	0,026
6	Շուշի	0,017	0,079	0,052	0,031	0,067	0,049
	Ընդամենը	0,027	0,037	0,062	0,065	0,049	0,039

Աղ. 2-ի տվյալների համաձայն, ըստ տարածաշրջանների 2010թ. հիվանդացության ամենաբարձր ցուցանիշը կազմել է 0,065, որը բավականին բարձր է ուսումնասիրվող ինֆեկցիայի համար: Հետագա տարիներին այդ գործակիցը նվազել է 5 տարիների միջին ցուցանիշը կազմել է 0,039:

Ինչ վերաբերում է հիվանդացության տարածաշրջանային ցուցանիշներին, ապա ակնհայտ է, որ ամենաբարձր մակարդակը նշվել է Մարտունու տարածաշրջանում՝ 0,054: 2-րդ հորիզոնականն է զբաղեցնում հիվանդացության համեմատաբար բարձր մակարդակով:

Այսպիսով, մանրէաբանական, շիճուկաբանական և կենսաբանական եղանակներով ախտորոշման արդյունքում բացահայտվել է որ Լեռնային Ղարաբաղի Հանրապետության բնակավայրերի մեծամասնության խոշոր և մանր եղջերավոր կենդանիները ախտահարված են բրուցելյոզի հարուցիչի տարբեր տիպերով:

Ազյուտինացիայի և կոմպլեմենտի կապակցման ռեակցիաներով հաստատվել է, որ տարբեր կենդանիների արյան շիճուկները 1:200 և բարձր տիտրերով դրականորեն են հակազդել բրուցելյոզային հակաձնի նկատմամբ: Հակամարմինների այդպիսի մեծ քանակություն արյան շիճուկում վկայում է, որ բրուցելյոզի հարուցիչը հիվանդ կենդանիների օրգանիզմից արտազատվում է տարբեր արտաթորանքների, ինչպես նաև կաթի միջոցով:

Կենդանիների հիվանդացության ամենաբարձր միջին ցուցանիշը արձանագրվել է Մարտունիում և կազմել է 0,054: Երկրորդ և երրորդ հորիզոնականներն 0,049 և 0,048 գործակիցներով զբաղեցնում են համապատասխանաբար Շուշիի և Ասկերանի տարածաշրջանները: Հետազոտության բոլոր տարիներին նշված վարչական տարածքներում դիտվել է լարված համաճարակային իրավիճակ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Գրիգորյան Ս.Լ.* Անասնաբուժական գործի միջոցառումների էկոնոմիկա, Երևան, էջ 170-2008, 2005:
2. *Бакулов И.А.* Проявление эпизоотического процесса и оценка его интенсивности В кн. Руководство по общей эпизоотологии под ред. И.А.Бакулова, А.Д.Третьякова, М., с. 137-149, 1979.
3. *Григорян С.Л., Мкртчян А.Р.* Распространенность бруцеллеза в Республике Армения. Серпухов, Московская область, ст.45, 2008.
4. *Димов С.К., Аракелян П.К.* Оптимизация противобруцеллезных мероприятий у с/х животных в Сибири. Бруцеллез пограничная инфекция животных и человека, Серпухов, Московская область, с.19-20, 2008.

5. *Конопаткин А.А.* Эпизоотический процесс и его движущие силы. В кн. Эпизоотология и инфекционные болезни с/х животных ред. А.А.Конопаткина, М., с.39-54, 1984.
6. *Azizj et al.* Treatment of human brucellosis with doxycycline plus zifamin ordoxycycline plus streptomycin: Azandomized doubleblind study. Ann. interh. Med., 117, 25, 1992.
7. *Olsen G.C.* Current Status of brucellosis in the united States 'Brucellosis as a trans-boundary infection of animals and humans' , Serpukhov, Moscow region, 57-58, 2008.
8. *Willer R.D.* Eradication of bovine brucellosis as a trans- boundary infection of animals and humans. Serpukhov, Mocscow region, 75-76, 2008.

Մուղվել է 27.04.2012



Biol. Journal of Armenia, 4 (64), 2012

THERMOPHILIC BACILLI ISOLATED FROM GEOTHERMAL SOILS OF GANDOM BERYAN IN LUT DESERT, IRAN AND THEIR IDENTIFICATION BASED ON PHENOTYPIC AND PHYLOGENETIC APPROACHES

S.F. SHARIFI ALGHABPOOR

Department of Microbiology, Plant and Microbe Biotechnology, Yerevan State University
sorour.sharif@gmail.com

Two thermophilic bacilli strains isolated from geothermal soil samples collected from Gandom-Beryan in Lut desert, Iran, were identified based on phenotypic and phylogenetic approaches and designed as *Bacillus* sp. Iranian S1 and *Bacillus* sp. Iranian S2. They both grew aerobically at 15–80 °C (optimum 56°C) and at pH 3-10 (optimum pH 7) and could tolerate up to 20% NaCl (optimum 2.5%). The 16S rRNA gene sequences of strains *Bacillus* sp. Iranian S1 and *Bacillus* sp. Iranian S2 have been deposited in the GenBank under accession numbers HQ823666 and HQ823667, respectively.

Thermophiles – geothermal soil bacilli – 16S rRNA genes – phylogenetic analysis

Լուր անապատի (Իրան) Գանդոմ-Բերյան երկրաջերմային տեղամասի հողից մեկուսացվել են և ֆենոտիպական ու ֆիլոգենետիկական բնութագրերի հիման վրա նույնականացվել են թերմոֆիլ աերոբ էնդոսպոր առաջացնող բակտերիաների երկու շտամներ՝ *Bacillus* sp. Iranian S1 և *Bacillus* sp. Iranian S2: Մեկուսացված շտամներն աճում են 15-80 °C ջերմաստիճանային միջակայքում (օպտիմումը՝ 50 °C), pH-ի 3-10 միջակայքում (օպտիմումը՝ 7), ընդունակ են դիմակայելու NaCl-ի մինչև 20 % կոնցենտրացիաներին (օպտիմումը՝ 2.5%): *Bacillus* sp. Iranian S1 և *Bacillus* sp. Iranian S2 շտամների 16S ռԲՆԹ գեների նուկլեոտիդային հաջորդականություններն ավանդադրվել են GenBank տվյալների բազայում համապատասխանաբար HQ823666 և HQ823667 համարներով:

Թերմոֆիլներ – երկրաջերմային հողերի բակտերիաներ – 16S ռԲՆԹ գեներ – ֆիլոգենետիկական վերլուծություն

Из почв участка Гандом-Берян пустыни Лут, Иран, изолированы и по фенотипическим и филогенетическим характеристикам идентифицированы два штамма аэробных термофильных эндоспорообразующих бактерий, обозначенных как *Bacillus* sp. Iranian S1 и *Bacillus* sp. Iranian S2. Изоляты растут при температуре 15–80°C (оптимальная температура 56°C), pH 3-10 (оптимальный pH 7), толерантны к 20% - ному NaCl (оптимальный при росте 2.5% NaCl). Последовательности гена 16S рНК штаммов *Bacillus* sp. Iranian S1 и *Bacillus* sp. Iranian S2 депонированы в базе данных GenBank под инвентарными номерами HQ823666 и HQ823667.

Термофилы – бактерии геотермальных почв – ген 16S рНК – филогенетический анализ

A number of aerobic thermophiles have been isolated from variety of geothermal environments such as terrestrial hot springs and hydrothermal vents, sulfataric fields, volcanic area [5, 8]. Hot habitats other than geothermal are solar-heated soils and deserts.

The deserts represent extreme environments for microorganisms [9]. Although the conditions of deserts vary strongly in the different regions of the world, all of them are characterized by a combination of extreme temperatures and desiccation, high soil salinity, low nutrient levels, high summer UV radiation levels, and physical instability caused by strong winds. Several investigations based on culture-dependant and molecular methods showed a unique and extraordinary microbial diversity in desert soils [3, 6, 12, 13]. The great majority of the bacteria isolated from desert soils was proved to be aerobic endospore-forming bacteria belonging to the genus *Bacillus* and related genera [9].

At the present study two bacilli strains from geothermal soil of Gandom-Beryan in Lut desert, Iran were isolated and identified based on phenotypic and phylogenetic approaches.

Materials and methods. *Study site and sampling.* Gandom-Beryan (meaning “Scorched Wheat” in Persian) is a 480 km² large plateau covered with dark volcanic lava that made extreme atmosphere of climate in this area (fig.1). Temperatures can often reach even 71°C and pH 6.2 [14]. Soil samples were collected using sterile glass flasks and mentioned it at 4°C until processed at laboratory.



Fig. 1. Location of Gandom Beryan in Lut Desert on map [11].

Enrichment and isolation. Samples were incubated in the medium contained (gram per liter) sodium chloride, 5; glucose, 20; yeast extract, 5; peptone, 10; CaCO₃, 6; agar-agar, 20; pH 7.2. One gram of soil sample was suspended in 9 ml sterile distilled water and by means of serial dilutions concentrations of 10⁻¹-10⁻⁶ were prepared. Then 1ml of each aliquot was spread on medium and incubated at 56°C for 24h. The pure cultures were obtained by plating the enrichment culture onto nutrient agar with subsequent subculturing [1].

Phenotypic characteristics. Phenotypic characteristics of the isolates were studied by standard methods described in [1, 2]. Morphological features of strains were investigated using a Nikon light microscope and TEM Zeiss EM10 electron microscope. Characterization of each bacterial isolate was performed morphologically according to colony color, size, elevation, margin and Gram staining [1]. To determine the ability of the strains to grow at different temperature (10-70°C) and pH (3-10) values and with different NaCl concentrations (0-22%) the same liquid medium mentioned above was applied. Growth was tested by measuring the optical density (OD) of cell suspension at 600 nm with a spectrophotometer (Model 722G UV-Visible). Hydrolytic activities were determined using as substrates milk, tween-80 and soluble starch [1, 2].

Phylogenetic analysis. Total DNA from pure culture was done by the CTAB/NaCl method described in [10]. The 16S rRNA gene fragments were PCR-amplified applying bacterial specific primers PIB16F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') and MIB16R (5'-GGCTGCTGGCACGTAGTTAG-3').

The PCR conditions used were an initial denaturation at 94°C for 2 min, followed by 35 cycles of denaturation at 95°C for one minute, annealing at 55°C for one minute then a final extension was given at 72°C for ten minute. The identity of the isolates was determined through a BLAST search [4]. Nucleotide sequences of the PCR products were sent to SinaGene Company of Iranian order to determine DNA sequencing (www.cinnaGen.com).

Phylogenetic analyses were conducted using MEGA version 5 software package and GeneBank database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) as a source for DNA sequences of closely related species. The phylogenetic tree was constructed by the neighbour-joining method using the distance matrix from the alignment [7]. The 16S rRNA gene sequences reported in this study have been deposited in the GenBank database under accession numbers HQ823666 and HQ823667.

Results and Discussion. Two isolates of aerobic endospore-forming Gram-positive, rod shaped bacilli designated as Iranian S1 and Iranian S2, respectively, were isolated and further characterized from the soil samples of Gandom-Beryanarea in Lut Desert of Iran. Colonies of isolate Iranian S1 were flat, very small, transparent, and without color. Colonies of isolate Iranian S2 were flat, with a denticulate edge, irregular shape and whitish.

Electronic microscopic studies of strains revealed that all endospores formation stages and envelopes during the stages were typical to spore-forming bacteria. The cell morphology of isolate Iranian S1 was differed from that of Iranian S2 grown under similar conditions. The cells of isolate Iranian S1 were short cylindrical, whereas cells of isolate Iranian S2 were short filamentous (fig. 2). In the cells of studied strains, elliptic endospores were located centrally and terminally (Iranian S1) or subterminally (Iranian S1) along the cell axis. Sporangium wasn't swollen for both strains.

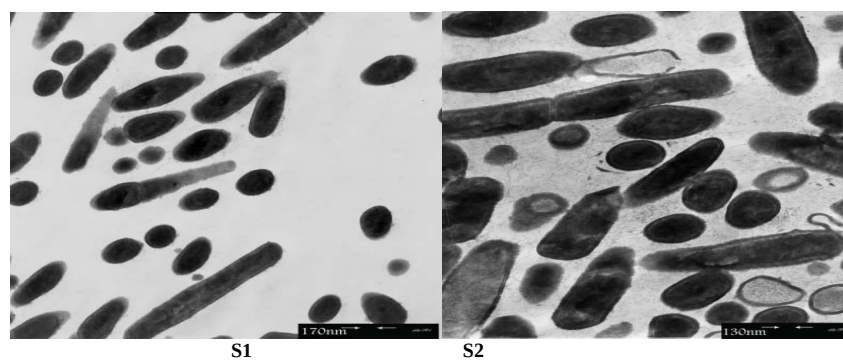


Fig. 2. Electron microscope images of isolates (x21000).

The growth rates of isolates Iranian S1 and Iranian S2 were determined at the temperature range of 20-80°C. For Iranian S1 the highest maximum growth rate was at 75°C, while isolate Iranian S2 had the highest maximum growth rate at 65°C. The optimum growth temperature was 56°C for both isolates. Iranian S1 was unable to grow at 70°C or below 25°C, and Iranian S2 was unable to grow above 75°C or below 25°C (fig. 3). Regarding the pH growth limitation, both isolates were grown in medium that had a range of pH values between 3 and 10. A pH range around neutrality favored optimal growth of the both isolates. The isolates did not grow at pH lower than pH 3. The maximum growth at pH 9 and 9.5 was noted for Iranian S1 and S2, respectively (fig.4). Both isolates grew with 0-22 % NaCl. The Iranian S1 was grown at a NaCl concentration up to 22%, and Iranian S2 was able to grow at 20% NaCl (fig.5). Thus, our isolates grew within the temperature and the pH ranges characteristic to their habitat [8].

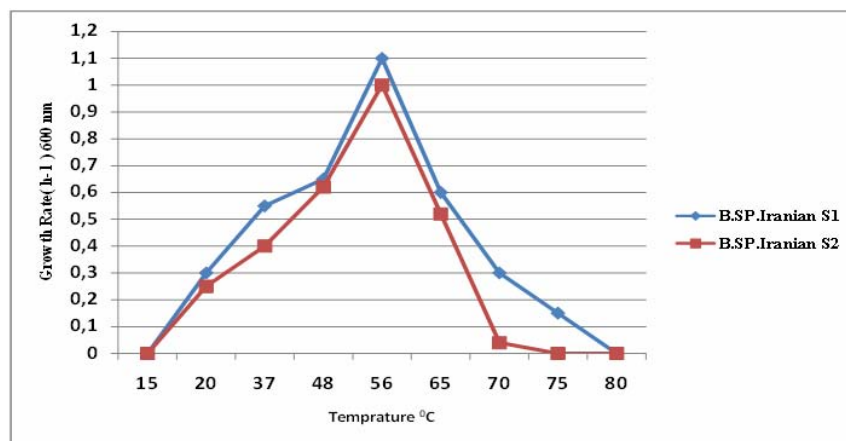


Fig. 3. Growth of strains at different temperature.

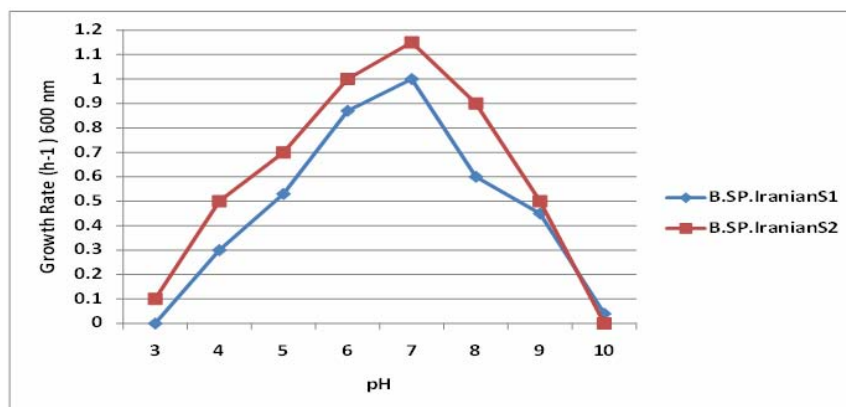


Fig. 4. pH range of isolates.

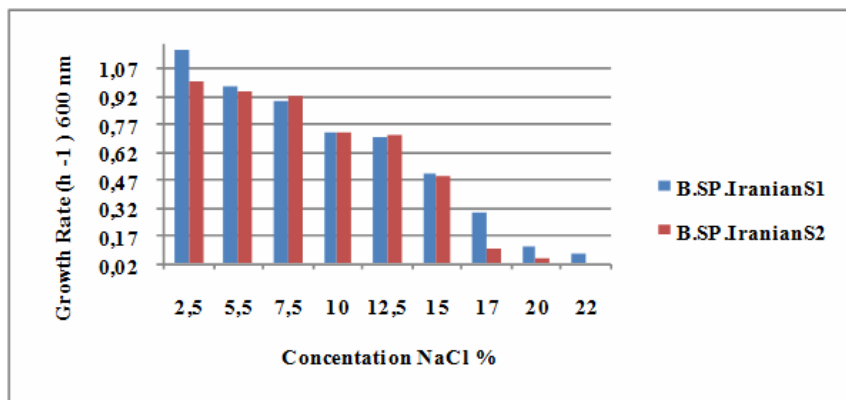


Fig. 5. Growth of strains in the presence of NaCl

Results of the biochemical properties of isolates are presented in Table 1 below.

Biochemical characteristic	Strains	
	S1	S2
Oxidase	+	+
Urease	--	--
Catalase	+	+
Methyl Red test	+	--
VogesProskauer test	w	w
Production of :		
Indole	--	--
Hydrolysis of :		
Tween-80	+	+
Gelatin	+	+
Starch	+	+
Citrate utilization	--	--
Gas production from glucose	+	+
Acid formation from:		
Glucose	+	+
Galactose	+	+
Lactose	+	+
Maltose	+	+
Sucrose	+	+
D-manitol	+	--
D-sorbitol	+	--
Salicin	+	+

signation: (+), (-) and w for positive, negative and slight positive reaction

A phylogenetic tree was constructed by the neighbor-joining method identified that both isolates were part of the cluster of genus *Bacillus* (fig.6).

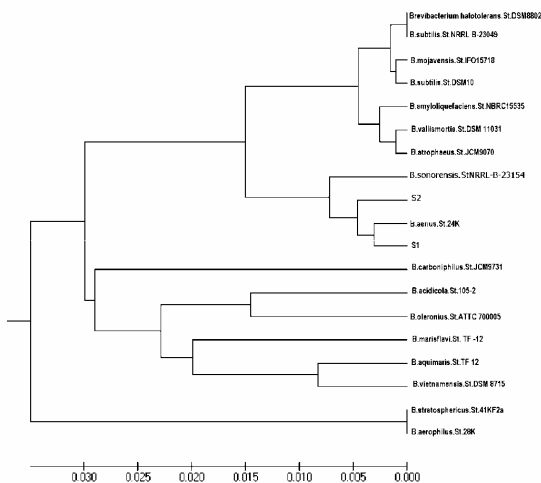


Fig.6. Phylogenetic tree was constructed by the neighbour-joining method using the distance matrix from the alignment.

Both strains were catalase- and oxidase-positive, able to utilize carbon sources such as glucose, maltose, sucrose, galactose, lactose and salicin, unable to produce indole from tryptophan. Only Iranian S1 showed a positive reaction in the methyl red experiment. Iranian S2 strain unable utilized D-manitol, D-sorbitol. Isolates were unable to utilize citrate, and were urease negative. Strains were showed positive results for starch, tween-80 and casein (milk) hydrolysis.

Based on their morphological, physiological and biochemical properties, isolates Iranian S1 and S2 were tentatively identified as *Bacillus* species. Comparative analysis of 16S rRNA gene nucleotide sequences of isolates Iranian S1 and S2 confirmed their close homology to the members of the genus *Bacillus*. The strain S1 was identified as *Bacillus* sp. LS04 (99%) and strain S2 was identified as *Bacillus* sp. DY17 (98%) (tab. 2).

Table 2. Closest sequences and % similarity of studied isolates

Strain no	The lengths of the DNA fragments, (bp.)	Closest Sequence	Similarity %	Accession no
Iranian S1	527	<i>Bacillus</i> sp. LS04	99	GU972598.1
Iranian S2	527	<i>Bacillus</i> sp. DY17	98	DQ821489.1

Although studied strains based on 16S rRNA genes sequences showed 98% homology values to *Bacillus* spp. and related species, this need to be further confirmed by fatty acid analysis, DNA-DNA hybridization, etc. While these results are important for further taxonomic work, positive results on lipolytic, caseinolytic and amylolytic activities are indicative of potential application of these bacterial cultures.

REFERENCES

1. Практикум по микробиологии. Под ред. Нетрусова А.И. М.: Изд-во АНРФ, 603, 2005.
2. Смайберт Р., Криг Н. Общая характеристика. В кн. Методы общей бактериологии. Под ред. Ф. Герхардта и др., 3, М., Мир, 8-97, 1984.
3. Angel R., Soares M.I., Ungar E.D., Gillor O. Biogeography of soil archaea and bacteria along a steep precipitation gradient. ISME J, 4, 553-563, 2010.
4. Altschul S.F., Madden T.L., Schaffer A.A., Zhang et al. Nucl. Acids Res., 25, p. 3389-3402, 1997.
5. Burgess E.A., Wagner I.D., Wiegel J. Thermal Environments and Biodiversity. In: Gerday C., Glansdorff N. (ed.) Physiology and Biochemistry of Extremophiles. ASM Press, Washington D.C., 2007.
6. Cary S.C., McDonald I.R., Barrett J.E., Cowan D.A. On the rocks: the microbiology of Antarctic Dry Valley soils. Nat Rev Microbiol., 8, 129-138, 2010.
7. Hall B.G. Phylogenetic trees made easy: A how-to manual, second edition. Sinauer associates, Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts, USA, 2004.
8. Kristjansson J.K., Stetter K. Thermophilic bacteria. In: Kristjansson J.K. (ed.) Thermophilic bacteria. CRC Press. Inc., Boca Raton, 1992.
9. Köberl M., Müller H., Ramadan E.M., Berg G. Desert Farming Benefits from Microbial Potential in Arid Soils and Promotes Diversity and Plant Health PLoS One, 28, 6, 9, e 24452, 2011.
10. Marmur J. Journal of Molecular Biology, 3, 208-218, 1961.
11. Noorollahi Y., Yousefi H., Itoi R., Ehara S. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 13, 5, p. 1127-1132, 2009.
12. Rios de Los A., Valea S., Ascaso C., Davila A., Kastovsky J., et al. Comparative analysis of the microbial communities inhabiting halite evaporates of the Atacama Desert. Int Microbiol., 13, 79-89, 2010.
13. Pointing S.B., Chan Y., Lacap D.C., Lau M.C., Jurgens J.A. et al. Highly specialized microbial diversity in hyper-arid polar desert. Proc. Natl. Acad. Sci USA, 106, 19964-19969, 2009.
14. www.wondermondo.com/countries/As/Iran/Kerman/Gandomberyan.

Received 27.08.2012



Биолог. журн. Армении, 4 (64), 2012

ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК В ЭРИТРОЦИТАХ РЫБ ИЗ РАЗНЫХ ВОДОЕМОВ АРМЕНИИ МЕТОДОМ ДНК-КОМЕТ

Г.Г. ОГАНЕСЯН¹, А.Э. СИМОНЯН¹, Б.К. ГАБРИЕЛЯН²,
С.Г. МИНАСЯН³, Р.М. АРУТЮНЯН¹

¹ЕГУ, кафедра генетики и цитологии,

hovgalina@list.ru, genetanatgc@yahoo.com, rouben_a@hotmail.com

²Институт зоологии НАН Армении, gabrielb@sci.am

³Центр мониторинга воздействия на окружающую среду

Министерства охраны природы РА,

seyran_minasyan@yahoo.com

Повреждения ДНК у рыб являются чувствительными биомаркерами генотоксического действия загрязнителей окружающей среды. Проведена сравнительная оценка уровней повреждений ДНК в эритроцитах карасей (*Carassius auratus gibelio*), обитающих в различных участках оз. Севан, методом ДНК-комет. Достоверное повышение уровня повреждений ДНК обнаружено у рыб из устьев рек Гаварагет и Дзкнагет, по сравнению с рыбами из оз. Севан. Одним из основных результатов работы явилось выявление достоверной положительной корреляции между уровнями повреждений ДНК у рыб и содержанием различных химических соединений в исследованных водоемах. Полученные результаты свидетельствуют о том, что метод ДНК-комет является чувствительным, эффективным и быстрым тестом для идентификации экогенотоксикантов, а карась является чувствительным биоиндикатором оценки загрязненности водоемов Армении.

Загрязнение водной среды – генотоксичность – метод ДНК-комет

ԴՆԹ-ի վնասվածքները ձկների մոտ ջրային միջավայրի աղտոտիչների գենաթունային ազդեցության զգայուն կենսամարկերներ են: Կատարվել է ԴՆԹ-ի վնասվածքների մակարդակի համեմատական գնահատում Սևանա լճի տարբեր կետերում բնակվող կարասի (*Carassius auratus gibelio*) էրիթրոցիտներում ԴՆԹ-կոմետ մեթոդով: Հայտանբերվել է ԴՆԹ-ի վնասվածքների հավաստի բարձրացում Գավառագետի և Ձկնագետի ջրերում բնակվող ձկների մոտ, համեմատած Սևանա լճի ձկների հետ: Աշխատանքի հիմնական արդյունքներից է եղել ձկների մոտ ԴՆԹ-ի վնասվածքների և ջրի քիմիական բաղադրության միջև դրական կորելյացիայի հայտնաբերումը: Ստացված արդյունքները վկայում են այն մասին, որ ԴՆԹ-կոմետ մեթոդը հանդիսանում է արդյունավետ և արագ թեստ գենաթունային միացությունների գնահատելու համար, իսկ կարասը զգայուն կենսաինդիկատոր է Հայաստանի ջրավազանների աղտոտվածությունը գնահատելու առումով:

Ջրային միջավայրի աղտոտվածություն – գենաթունային ազդեցություն – ԴՆԹ-կոմետ մեթոդ

DNA damage in fish can be used as sensitive biomarkers of genotoxic action of environmental contamination. The goal of this study was the comparative assessment of levels of DNA damage in erythrocytes of fish (*Carassius auratus gibelio*), living in certain parts of Lake Sevan, by the comet assay. A significant increase of the level of DNA damage in fish from the Rivers Gavaraget and Dznaget compared to DNA damage in fish from Lake Sevan was revealed. One of the basic results

of the study was the detection of the positive correlation between the DNA damage in fish and the results of the chemical analysis of water. The obtained results show, that the application of the comet assay in erythrocytes of *Carassius auratus gibelio*, is an efficient, fast and sensitive method for the estimation of genotoxicity of water bodies of Armenia.

Water pollution – genotoxicity – comet assay

Повышение уровня загрязненности водоемов вызывает негативные изменения у водных организмов, а также прямо или косвенно вредит здоровью человека [10]. Загрязнители окружающей среды могут вызывать повреждения генома, идентификация которых позволяет контролировать уровень загрязненности и оценивать последствия их влияния на живые организмы и экосистемы в целом.

Одним из эффективных методов мониторинга широкого спектра повреждений ДНК, вызванных факторами окружающей среды, является метод ДНК-комет или гель-электрофореза лизированных единичных клеток. Метод позволяет оценивать повреждения и репарацию ДНК на уровне отдельных клеток и может быть применен для оценки интегральной целостности генома [4].

Метод ДНК-комет основан на регистрации уровня миграции поврежденной ДНК, содержащей одонитевые и двунитевые разрывы, в электрическом поле, в результате которой образуется напоминающая комету структура. Количество ДНК, мигрировавшей по направлению к аноду, может являться показателем уровня повреждений его в изучаемых клетках. Преимуществами метода ДНК-комет являются возможность оценки повреждений ДНК в любых клеточных популяциях, небольшое количество экспериментального материала, а также отсутствие необходимости в наличии пролиферирующих клеток [18]. В последние годы метод ДНК-комет был успешно применен для оценки повреждений ДНК у разных растительных и животных организмов [6, 8, 9], в том числе у рыб [5].

Рыбы считаются наиболее адекватным объектом для оценки загрязнителей воды с мутагенным и канцерогенным потенциалом, поскольку метаболизируют и накапливают в организме содержащиеся в воде химические соединения. Так как рыбы реагируют на токсические соединения аналогично высшим позвоночным, они могут применяться для скрининга химических соединений, потенциально мутагенных и канцерогенных для человека [1].

По данным литературы, уровень повреждений ДНК у обитающих в воде организмов является быстрым и чувствительным индикатором загрязнения среды. Обнаружена зависимость уровня повреждений ДНК в эритроцитах рыб *Cyprinus carpio*, обитающих в реках Бразилии, от уровня их загрязненности [15]. Выявлена корреляция между загрязненностью озера, расположенного в районе метрополитена в Бразилии, и повышением уровня повреждений ДНК у рыб *Tilapia rendalli* [11]. На основе результатов оценки уровня повреждений ДНК в клетках крови, жабер и печени методом ДНК-комет было показано, что рыба *Squalius cephalus* L. 1758, обитающая в реках Сербии, представляет собой эффективную модель мониторинга водных экосистем. Показано, что жабры являются наиболее чувствительным, а кровь – наименее чувствительным биоиндикатором, вероятно, в связи с регулярным обновлением ее состава, и, таким образом, могут применяться преимущественно при высоких уровнях загрязнения [17]. Повышенный уровень повреждений ДНК был обнаружен в клетках крови *Cyprinus carpio*, обитающей в оз. Моган в Турции, где локализована канализационная система города и куда сбрасываются пестициды, используемые в сельском хозяйстве. Исследования показывают, что оз. Моган может быть загрязнено веществами, которые вызывают генотоксические эффекты [3].

Целью нашей работы была разработка биомаркеров генетического мониторинга загрязненности водоемов Армении. Для ее реализации уровни повреждений ДНК в эритроцитах карасей (*Carassius auratus gibelio*), обитающих в оз. Севан, у полуострова оз. Севан, в устьях рек Гаврагет и Дзкнагет, были оценены методом ДНК-комет и сопоставлены с данными о содержании в этих водоемах различных химических соединений.

Материал и методика. *Тестируемые животные.* Повреждения ДНК оценивали в эритроцитах семи карасей (*C. auratus gibelio*) из оз. Севан, шести карасей из вод вблизи полуострова оз. Севан, пяти карасей из устья р. Гаврагет и шести карасей из устья р. Дзкнагет (рис. 1). Возраст рыб варьировал от 4 до 6 лет.

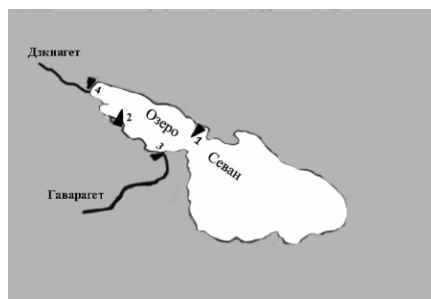


Рис. 1. Водоемы Армении с указанием локализаций мест биомониторинга рыб

Точки на карте

- ❖ 1 - к югу от села Шоржа (оз. Севан-контрольная группа)
- ❖ 2 - полуостров оз. Севан
- ❖ 3 - устье р. Гаврагет
- ❖ 4 - устье р. Дзкнагет

Образцы крови брались от каждой рыбы из сердца (*dorsal aorta*) или хвостовой вены (*caudal venous*). Гепаринизированная кровь разбавлялась PBS (phosphate-buffered saline) в соотношении 1:50.

Рыбы для экспериментальных исследований были любезно предоставлены Научным Центром зоологии и гидроэкологии НАН РА.

Метод ДНК-комет. В работе использовалась щелочная модификация метода комет [16] с небольшими модификациями.

Предметные стекла, покрытые слоем 1%-ного раствора агарозы, оставляли на ночь в термостате при 37°C для затвердевания. 10 мкл разбавленной в PBS крови с гепарином (1:50) смешивали с 90 мкл раствора легкоплавкой агарозы (LMA). 100 мкл смеси клеток с LMA капали на предметные стекла. Препараты оставляли на 10 мин при 4°C для затвердевания второго слоя и помещали в лизирующий раствор (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Трис, pH 10.0 с Тритоном X-100) на 1 ч при 4°C для разрушения протеинов и клеточных мембран. По окончании лизиса препараты погружали в аппарат для электрофореза, содержащий щелочной буфер (300 mM NaOH и 1 mM ЭДТА), на 20 мин для раскручивания цепей ДНК. Электрофорез проводили при напряжении 26 В и силе тока 300 мА в течение 15 мин. После электрофореза препараты промывали нейтрализационным буфером (0.4 мкг/мл Трис, pH 7.5) и окрашивали бромистым этидием (4 мкг/мл).

Автоматический анализ изображений комет проводили с применением коммерческой программы Comet Assay VI. Регистрировали два параметра повреждений ДНК – % ДНК в хвосте кометы и момент хвоста Оливе, равный произведению расстояния от центра ядра до центра плотности хвоста кометы на % ДНК в хвосте [13, 14].

Статистическая обработка данных была проведена с применением непараметрического теста Манна-Уитни и корреляционного анализа статистической программой Statgraphics PLUS 2.1.

Результаты и обсуждение. Уровни повреждений ДНК в эритроцитах карасей из оз. Севан, вод полуострова оз. Севан, устья рек Гаварагет и Дзкнагет оценивали методом ДНК-комет по параметрам % ДНК в хвосте кометы и момент хвоста Оливе. Полученные результаты предствлены на рис. 2 и 3 и в табл. 1. Оз. Севан является наименее загрязненным водоемом Армении, поэтому группа рыб из оз. Севан рассматривалась как контрольная.

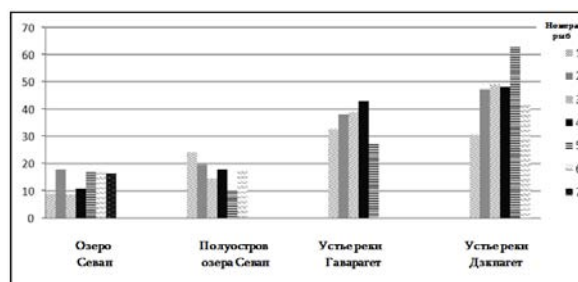


Рис. 2. Уровни повреждений ДНК (% ДНК в хвосте кометы на оси ординат) у рыб, обитающих в оз. Севан, у полуострова оз. Севан и в устьях рр. Гаварагет и Дзкнагет

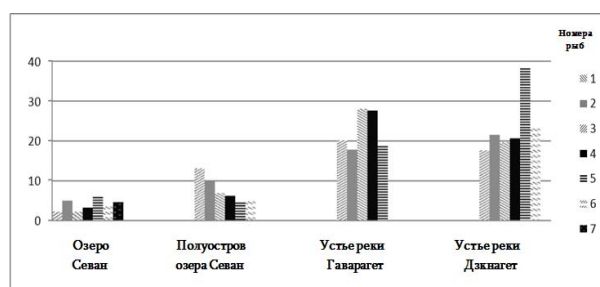


Рис. 3. Уровни повреждений ДНК (момент хвоста Оливе на оси ординат) у рыб, обитающих в оз. Севан, у полуострова оз. Севан и в устьях рр. Гаварагет и Дзкнагет

Обнаружено достоверное повышение уровня повреждений ДНК у рыб, обитающих в устьях рр. Гаварагет и Дзкнагет, по сравнению с контролем по параметрам %ДНК в хвосте и момент хвоста Оливе.

У рыб, обитающих в водах полуострова оз. Севан, повышения уровня повреждений ДНК по сравнению с контролем не обнаружено (табл. 1).

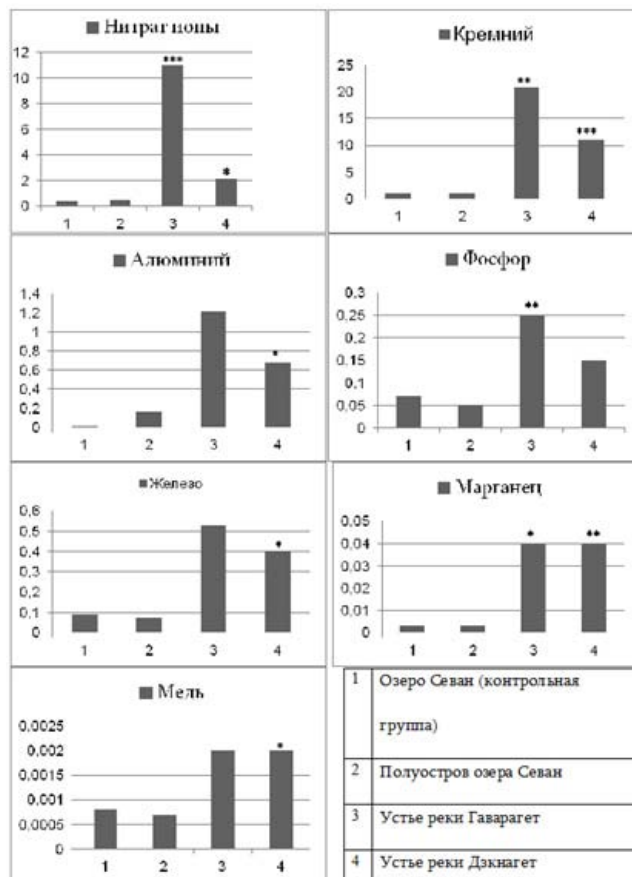
Табл. 1. Средние уровни повреждений ДНК в группах рыб, обитающих в оз. Севан, у полуострова оз. Севан и в устьях рр. Гаварагет и Дзкнагет

Среда обитания	Количество рыб	% ДНК в хвосте		Момент хвоста Оливе	
		Среднее $\pm$ ст. ошибка	Медиана	Среднее $\pm$ ст. ошибка	Медиана
Оз. Севан (контрольная группа)	7	13,88 $\pm$ 1,19	9,24	3,89 $\pm$ 0,39	2,49
Полуостров оз. Севан	6	17,36 $\pm$ 1,49	13,17	7,63 $\pm$ 0,82	5,19
Устье р. Гаварагет	5	35,99 $\pm$ 2,28	29,87*	22,48 $\pm$ 1,89	14,97*
Устье р. Дзкнагет	6	46,69 $\pm$ 1,95	43,33*	23,52 $\pm$ 1,41	19,24*

* $p < 0.01$ достоверная разница с контролем

С целью идентификации генотоксических соединений, вызывающих повышение уровней повреждений ДНК, были проанализированы данные химического анализа воды в четырех точках оз. Севан, которые совпадают с зонами отлова рыб, за 6-летний период (2006-2011гг.), любезно предоставленные Армянским центром мониторинга окружающей среды. Выбор этого периода времени был обусловлен возрастом рыб, который варьировал от 4 до 6 лет, таким образом действие химических элементов учитывалось в течение всей продолжительности их жизни.

Сравнительный анализ содержания загрязнителей в четырех водоемах показал, что в устье р. Гаварагет содержание нитрат ионов, кремния, фосфора и марганца достоверно выше контрольного уровня (в оз. Севан). В устье р. Дзкнагет содержание нитрат ионов, кремния, алюминия, железа, марганца и меди достоверно превышает контрольный уровень. В водах полуострова оз. Севан содержание всех отмеченных элементов не превышает контрольный уровень (рис. 4).



* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ достоверная разница с контролем

Рис. 4. Химические показатели качества воды в исследованных водоемах Армении за период времени с 2006 по 2011 гг. по сравнению с контролем (оз. Севан).

Обнаружена достоверная корреляция между уровнями повреждений ДНК (% ДНК в хвосте кометы) и уровнем содержания меди ($r=0,98$, $p=0,02$), а также между уровнями повреждений ДНК (момент хвоста Оливе) и уровнем содержания железа ($r=0,94$, $p=0,049$) и марганца ($r=0,98$, $p=0,02$).

Полученные данные позволяют предположить, что повышенное содержание меди, железа и марганца в рр. Гаварагет и Дзкнагет может вызывать повышение уровня повреждений ДНК в эритроцитах рыб.

Среди загрязнителей окружающей среды металлы вызывают особую озабоченность в связи с их потенциальным токсическим эффектом и способностью к биоаккумуляции в водных экосистемах. По данным литературы, генотоксичность меди и цинка показана при отдельном и совместном действии у двух видов рыб *Synodontis clarias* и *Tilapia nilotica* с использованием микроядерного теста [12], медь вызывает повышение уровня микроядер у рыбы *Oncorhynchus mykiss* [2]. Повышение уровня повреждений ДНК в эритроцитах рыбы *Prochilodus lineatus* при действии алюминия показано методом ДНК-комет [7]. Возможным механизмом токсичности железа может быть индукция повреждений ДНК за счет генерации свободных радикалов кислорода, которые могут стать причиной сайт-специфичных окислительных повреждений [20]. Несмотря на широкую распространенность, роль марганца в пресноводных экосистемах пока мало изучена и знания о механизмах его токсического действия на рыб ограничены. Исследования на рыбах *Carassius auratus* показали, что марганец вызывает окислительный стресс [18].

Полученные нами результаты согласуются с литературными данными о повышении уровня повреждений генома у водных организмов в условиях повышенного содержания меди, железа и марганца в водной среде и подтверждают целесообразность применения рыб для генетического мониторинга. На основе полученных данных можно заключить, что метод ДНК-комет является чувствительным и эффективным подходом для оценки экогенотоксичности водной среды, а карась (*Carassius auratus gibelio*), обитающий в водоемах Армении, может служить чувствительным биоиндикатором оценки их загрязненности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ali F. K., El-Shehawi A.M., Seehy M.A. Micronucleus test in fish genome: A sensitive monitor for aquatic pollution. African Journal of Biotechnology, 7, 606-612, 2008.
2. Bagdonas E., Vosyliene M.Z. A Study of Toxicity and Genotoxicity of Copper, Zinc and their Mixture to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Biologija, 1, 8-13, 2006.
3. Cok I., Ulutaş O.K., Okuşluk O., Durmaz E., Demir N. Evaluation of DNA damage in common carp (*Cyprinus carpio* L.) by comet assay for determination of possible pollution in Lake Mogan (Ankara). Scientific World Journal, 11, 1455–1461, 2011.
4. Collins A.R. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. Molecular Biotechnology, 26, 249-261, 2004.
5. de Andrade V.M., de Freitas T., da Silva J. Comet assay using mullet (*Mugil* sp.) and sea catfish (*Netuma* sp.) erythrocytes for the detection of genotoxic pollutants in aquatic environment. Mutat. Res., 560, 57-67, 2004.
6. Frenzilli G., Nigro M., Lyons B.P. The comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. Mutat. Res., 681, 80-92, 2009.
7. Galindo B.A., Troilo G., Cólus I.M.S., Martinez C.B.R., Sofia S.H. Genotoxic effects of aluminum on the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. Water, air and soil pollution, 212, 419-428, 2010.
8. Gichner T. DNA damage induced by indirect and direct acting mutagens in catalase-deficient transgenic tobacco. Cellular and acellular Comet assays. Mutat. Res., 535, 187-193, 2003.

9. *Heaton P.R.* Application of Single-Cell Gel Electrophoresis (Comet) Assay for assessing levels of DNA damage in canine and feline leukocytes. *J. Nutr.*, *132*, 1598–1603, 2002.
10. *Jha A.* Ecotoxicological applications and significance of the comet assay. *Mutagenesis* *23*, 207-221, 2008.
11. *Lemos D.S., Mantovani M.S.* Evaluation of environmental waters using the comet assay in *Tilapia rendalli*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *19*, 197-201, 2005.
12. *Obiakor M.O., Okonkwo J.C., Ezenonyeaku C.D., Ezenwelu C.O.* Genotoxicology: Single and Joint Action of Copper and Zinc to *Synodontis clarias* and *Tilapia nilotica*. *Appl. Sci. Environ. Manage*, *14*, 59-64, 2010.
13. *Olive P.L., Banath J.P., Durand R.E.* Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the "comet assay". *Radiat. Res.*, *122*, 86-94, 1990.
14. *Olive P.L., Wlodek D., Durand R.E., Banath J.P.* Factors influence DNA migration from individual cells subjected to gel electrophoresis. *Exp. Cell Res.*, *198*, 259-260, 1992.
15. *Rajaguru P., Suba S., Palanivel M., Kalaiselvi K.* Genotoxicity of a polluted river system measured using the alkaline comet assay on fish and earthworm tissues. *Environ. Mol. Mutagen.*, *41*, 85-91, 2003.
16. *Singh N.P., McCoy M.T., Tice R.R., Schneider E.L.* A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell Res.*, *175*, 184–191, 1988.
17. *Sunjog K., Kolarević S., Gačić Z., Mičković B., Nikčević M., Knežević-Vukčević J., Lenhardt M., Vuković-Gačić B.* Ecogenotoxicity analysis with Comet Assay in different tissues of chub (*Squalius cephalus* L.1758). In Proceedings of the BALWOIS Conference, pp. 1–5, Ohrid, Macedonia, 2012.
18. *Tice R.R., Agurell, E., Anderson, D.* The comet assay: applications in nutraceutical research for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, *35*, 206-221, 2000.
19. *Vieira M.C., Torronteras R., Córdoba F., Canalejo A.* Acute toxicity of manganese in goldfish *Carassius auratus* is associated with oxidative stress and organ specific antioxidant responses. *Ecotoxicol Environ Saf.*, *78*, 212-217, 2012.
20. *Vuori K.M.* Direct and indirect effects of iron on river ecosystems. Finnish zoological and botanical Publishing board Fennici, *32*, 317-329, 1995.

Поступила 21.08.2012



Биолог. журн. Армении, 4 (64), 2012

ОСОБЕННОСТИ ВОДНОГО РЕЖИМА ДУБА КРУПНОПЫЛЬНИКОВОГО В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЫСОТЫ ПРОИЗРАСТАНИЯ И ПОРОСЛЕВОЙ НАГРУЗКИ

В.А. ДАВТЯН, В.В. КАЗАРЯН, А.А. ГРИГОРЯН

Институт ботаники НАН РА
vikakaz43@mail.ru

Исследовался водный режим срубленных древостоев дуба крупнопыльникового на разных высотах произрастания и в зависимости от порослевой нагрузки. Показано, что с возрастом высоты над уровнем моря содержание общей и свободной воды уменьшается, а связанной – увеличивается. Параллельно возрастают водный дефицит, интенсивность транспирации и концентрация клеточного сока. Характер изменения этих показателей зависит также от порослевой нагрузки. Последовательное уменьшение последней приводит к сравнительному увеличению общей и свободной воды, тогда как вышеотмеченные остальные показатели закономерно убывают.

Полученные результаты обсуждаются с точки зрения изменения климатических факторов горных лесов и корреляционных взаимоотношений порослей.

Дуб крупнопыльниковый – поросль – высота над уровнем моря – водный режим

Ուսումնասիրվել է խոշորատեղ կաղնու հատված ծառուտների ջրային ռեժիմը աճելավայրերի տարբեր բարձրություններում և կախված կոճղաշվային ծանրաբեռնվածությունից: Ցույց է տրված, որ ծովի մակերևույթից բարձրության մեծացման հետ զուգընթաց պակասում է ընդհանուր և ազատ ջրի պարունակությունը, իսկ կապված ջրին՝ ավելանում: Զուգահեռաբար աճում է ջրային դեֆիցիտը, տրանսպիրացիայի ինտենսիվությունն ու բջջանյութի խտությունը: Անկախ աճելավայրի բարձրությունից այդ ցուցանիշների բնույթը փոխվում է կախված կոճղաշվային ծանրաբեռնվածությունից: Դրա նվազեցումը հանգեցնում է ընդհանուր և ազատ ջրի համեմատական ավելացման այն դեպքում, երբ վերոհիշյալ մյուս ցուցանիշները օրինաչափ պակասում են:

Ստացված ցուցանիշները քննարկվում են լեռնային անտառների կլիմայական գործոնների փոփոխության և կոճղաշվերի կոռելյացիոն փոխհարաբերությունների տեսանկյունից:

Կաղնի խոշորատեղ – մացառ – ծովի մակերևույթի բարձրություն – ջրային ռեժիմ

The water regime of felled ticket of *Quercus macranthera*. on different levels of vegetation depending on shoot load was investigated. It is shown that while increasing of height over sea level, the content of total and free water was reducing, but adhesive water was increasing. Parallel water deficit, transpiration intensity and cellular fluid concentration were growing.

Irrespective of height vegetation, the character of these indexes' changes varied depending on shoots load. Consecutive reduce of the last one brought to the increase of total and free water, while as above mentioned other indexes were naturally reducing.

Obtained data are discussed from the point of view of changes of mountain forests' climatic factors and shoots correlation.

После массовой вырубki дубрав в Северной Армении возникла необходимость быстрого восстановления срубленных древостоев вегетативным путем. С этой целью нами было исследовано влияние пневой порослевой нагрузки на листовую активность, корневую деятельность и рост дубов [5, 7, 8].

Эти опыты были ранее проведены нами на высоте 1500 м над ур. моря, между тем дубовые леса в Северной Армении произрастают на высотах от 1300 до 1900 м. В связи с этим для достоверности полученных результатов по порослевой нагрузке опыты были заложены на высотах 1300, 1500 и 1900 м над ур. моря.

С возрастанием высоты произрастания резко меняются условия среды. В числе важных климатических характеристик в горных условиях особенно ярко проявляются высокая интенсивность солнечной радиации и доза УФ излучения, низкое атмосферное давление, большая дневная амплитуда температуры воздуха, короткий период вегетации и т.д.[12]. Растения могут выживать в этих условиях, если приобрели свойства, соответствующие данному местопроизрастанию [8]. В этих условиях одной из главных особенностей функционирования организма является адаптация водного режима [5, 7].

Материал и методика. Объектами исследования служили вырубленные в 1993 г. древостои дуба крупнопольничкового (*Quercus macranthera* Fisch et Mey), произрастающие в Северной Армении (Ванадзорское лесничество Гугаркского лесхоза) на высотах 1300, 1500 и 1900 м над ур. моря.

Пни дуба подвергались порослевой нагрузке по следующим вариантам: 1- контроль, 2 - четыре поросли, 3 - три поросли, 4 - две поросли, 5 - одна.

Исследования проводились в период бурного роста с одновременным фиксированием напряженности факторов среды и влажности почвы (представлены средние данные за июнь, июль, август). Содержание форм воды, интенсивность транспирации и водный дефицит определялись по Гусеву [3], интенсивность освещения – люксметром Ю-116, относительная влажность воздуха – полевым психрометром, полная полевая влагоемкость почвы (ППВ) по Чеботареву [14]. Повторность определений по напряженности факторов среды 10-и, а по показателям водного режима 4-кратная.

Результаты и обсуждение. Результаты определения напряженности факторов среды представлены в табл. 1.

Таблица 1. Атмосферные и почвенные показатели в местопроизрастаниях срубленных дубрав (21-23 июля 2011 г.)

Высота над уровнем моря, м	Освещенность, К люкс	Температура воздуха, °С	Относит. влажность воздуха, %	ППВ почвы, %	Влажность почвы		Температура почвы, °С
					%	% от ППВ	
1300	66.8	21.5	58	44.3	19.6	44.2	19.0
1500	68.6	20.7	62	36.6	19.8	54.1	20.2
1900	73.2	19.3	67	41.4	31.9	77.0	23.0

Приведенные в таблице данные меняются по мере возрастания высотности произрастания, что закономерно для горных лесов [16].

В этих условиях имели место изменения в содержании форм воды (табл. 2).

Как видно из табл. 2, вследствие повышения высоты произрастания над уровнем моря понижается содержание общей и свободной воды, увеличивается связанная, причиной чего являются, с одной стороны, усиление солнечной инсоляции, силы ветра, с другой – увеличение числа устьиц и их диффузионной проводимости [1, 16]. Повышение содержания связанной воды следует рассматривать как защитную реакцию растений на эти изменения. На изменение форм воды, безусловно, оказывает влияние также порослевая нагрузка. С уменьшением числа порос-

лей на пне увеличивается общая и свободная вода при одновременном уменьшении связанной. В результате имеет место повышение соотношения свободной и связанной воды.

Таблица 2. Содержание форм воды в листьях дуба крупнопольничкового при различной порослевой нагрузке

Варианты Количество порослей	Формы воды, % на сыр. вес			
	Общая	Свободная	Связанная	Свободная связанная
1300 м над ур. моря				
контроль	68.7	39.8	28.9	1.38
4	70.2	41.6	28.6	1.45
3	71.2	42.9	28.3	1.52
2	71.8	44.1	27.7	1.59
1	72.9	45.6	27.3	1.67
1500 м над ур. моря				
контроль	66.5	36.7	29.8	1.23
4	68.1	38.5	29.6	1.30
3	70.1	40.8	29.3	1.39
2	70.6	41.8	28.8	1.45
1	71.3	43.1	28.2	1.53
1900 м над ур. моря				
контроль	64.8	34.2	30.6	1.12
4	66.4	36.4	30.0	1.21
3	67.2	37.5	29.7	1.26
2	68.4	39.1	29.3	1.33
1	69.7	40.6	29.1	1.40

Горные климатические условия оказывают значительное влияние на процесс транспирации как один из основных регулирующих внутренних факторов водного баланса растений. Наши исследования в этом аспекте показали, что с увеличением высоты произрастания интенсивность транспирации закономерно возрастает во всех вариантах (рис. 1).

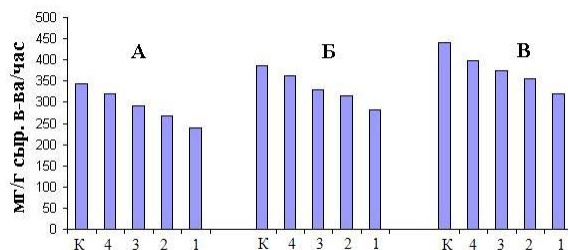


Рис. 1. Интенсивность транспирации дуба крупнопольничкового на разных высотах произрастания (А- 1300м; Б- 1500м; В- 1900м над ур. моря) при различной порослевой нагрузке пней. К- контроль; 4,3,2,1- соответственно число порослей на пне.

Как известно, изменение интенсивности транспирации зависит от устьичных движений. Их открытие связано с содержанием CO_2 в воздухе, заполняющем подустьичную воздушную полость [4]. С высотой над уровнем моря концентрация CO_2 в воздухе падает [2, 10], при этом тургор замыкающих клеток увеличивается и устьицы открываются, тем самым влияя на величину интенсивности транс-

пирации. Это явление не обособленное и находится в тесной связи с концентрацией клеточного сока и водным дефицитом, что было выявлено в наших исследованиях (рис. 2).

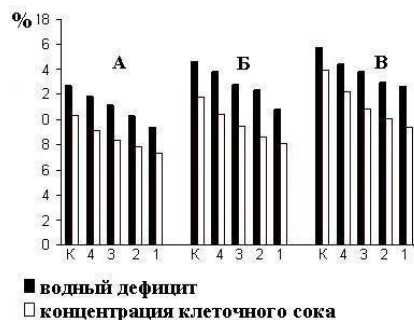


Рис. 2. Водный дефицит и концентрация клеточного сока дуба крупнопыльникового в зависимости от высоты произрастания и порослевой нагрузки. Обозначение те же, что и на рис.1.

Как видно из рис. 2, по мере повышения высоты произрастания над уровнем моря, концентрация клеточного сока листьев увеличивается во всех вариантах опыта, а при уменьшении порослевой нагрузки имеет место обратный эффект. Следовательно, наблюдается причинно-следственная связь между концентрацией клеточного сока, водным дефицитом и интенсивностью транспирации.

При этом нельзя не учитывать роль водного дефицита в процессе транспирации, ибо известно, что он является одним из регулирующих факторов интенсивности транспирации [9].

Данные рис. 2 свидетельствуют об увеличении водного дефицита по мере повышения высоты произрастания, что обусловлено пониженной атмосферной влажностью воздуха, усилением солнечной радиации, силой ветра и испаряемостью с поверхности почвы [11].

Показатели водного режима листьев опытных порослей с возрастанием высоты произрастания изменяются с такой же закономерностью, как и у контрольных вариантов. Разница проявляется только в том, что с параллельным уменьшением порослевой нагрузки в листьях повышается содержание общей и свободной воды, а показатели связанной воды, водного дефицита и транспирации падают.

Эти изменения в водном обмене порослей, происходящие под воздействием условий высокогорья, коррелятивно передаются корням и носят адаптивный характер.

Таким образом, обобщая полученные результаты, можно прийти к заключению, что уровень исследованных показателей водного режима при одной и той же порослевой нагрузке меняется в зависимости от высоты местности.

Это обстоятельство необходимо учитывать при выборе оптимального числа порослей на пне путлм вегетативного возобновления срубленных дубрав на различных высотах произрастания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гезальян М.П. Исследования оводненности листьев на основе определения диэлектрической проницаемости воды. Автореф. канд. дисс.. Ереван, 17 с., 1968.

2. Гулисашвили В.З. Горное лесоводство. М.- Л., Гослесбумиздат, 354 с., 1956.
3. Гусев Н.А. Некоторые методы исследования водного режима растений. Л., "Наука" 129 с., 1960.
4. Гэлстон А., Девис П., Сэтер Р. Жизнь зеленого растения. М., Мир 552 с., 1983.
5. Давтян В.А., Казарян В.В., Овакимян Ж. О. Известия аграрной науки. Тбилиси, 8, 2, с.111 -114, 2010.
6. Дубров А.П. Действие ультрафиолетовой радиации на растения. М., изд-во АН СССР, 123с., 1963.
7. Казарян В.В., Давтян В.А., Симонян Р.К. Материалы научн. конф."Проблемы современной дендрологии" М., с. 702-705, 2009.
8. Казарян В.В., Давтян В.А. Научные чтения памяти проф. Яценко-Хмелевского. С-Петербург, с.22-23, 2009.
9. Казарян В.О., Гезальян М.П. ДАН Арм. ССР, XLVI, 4, с. 195-199, 1968.
10. Костюкович Н.И. Лесная метеорология. Минск, "Высшая школа", 288 с., 1975.
11. Крамер П., Козловский Т. Физиология древесных растений. М., Гослесбумиздат, 627 с., 1963.
12. Лархер В. Экология высокогорий. Тбилиси, Мецниереба, с. 50-59, 1988.
13. Роде А.А. Основы учения о почвенной влаге. Л., Гидрометеиздат, II, 286 с., 1969.
14. Чеботарев А.И. Общая гидрология (воды, суши). Л., Гидрометеиздат, 138 с., 1978.
15. Чукатели Т.Я. Особенности адаптации интродуцированных древесных растений в субаридных условиях Восточной Грузии. Тбилиси, Мецниереба, 195 с., 1989.
16. Körner Ch., Mayr R. Oxford ets., p. 205-218, 1980.

Поступила 12.04.2012



Биолог. журн. Армении, 4 (64), 2012

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

А.Х. АГАДЖАНЫН, А.А. АГАДЖАНЫН

Ереванский госуниверситет, кафедра биохимии
ana2011@mail.ru

Изучены антиоксидантные свойства некоторых лекарственных растений как для жирорастворимых, так и для водорастворимых соединений. Полученные данные показывают, что для жирорастворимых соединений высокой антиоксидантной активностью обладает девясил, за ним следует календула. Для водорастворимых соединений антиоксидантная активность высока в календуле, затем в душице и в ромашке. Самой низкой антиоксидантной активностью обладает солодка. Обобщая, можно сказать, что для жирорастворимых и водорастворимых соединений высокой антиоксидантной активностью обладают девясил и календула, меньшей активностью – крапива и зверобой.

Лекарственные растения – свободные радикалы – антиоксиданты – витамины

Ուսումնասիրվել են որոշ դեղաբույսերի հակաօքսիդանտային հատկությունները ինչպես ջրալուծ, այնպես էլ ճարպալուծ միացությունների համար: Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ ճարպալուծ միացությունների համար բարձր հակաօքսիդանտային հատկությամբ օժտված են կղմուխը, որին հետևում է վաղենակը: Ջրալուծ միացությունների համար բարձր հակաօքսիդանտային հատկություն է հայտնաբերվել վաղենակում, այնուհետև ինկաճաղկում և երիցուկում: Ամենացածր հակաօքսիդանտային հատկությամբ օժտված է մատուտակը: Ընդհանրացնելով կարելի է ասել, որ ինչպես ճարպալուծ, այնպես էլ ջրալուծ միացությունների համար բարձր հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված են կղմուխը և վաղենակը, ցածր ակտիվությամբ՝ եղինջը և սրժոնդը:

Դեղաբույսեր – ազատ ռադիկալներ – հակաօքսիդանտներ – վիտամիններ

The antioxidant properties of some herbs for water- soluble and fat -soluble compounds have been studied. The facts show that for fat-soluble compounds *Inula* L. has high antioxidant properties, whom follows *Calendula officinalis* L. For water-soluble compounds *Calendula officinalis* L. has high antioxidant properties whom follow *Origanum vulgare* L. and *Matricaria chamomila* L. The *Glycyrrhiza glabra* L. has the lowest antioxidant properties. At last, for fat-soluble and water-soluble compounds *Inula* L. and *Calendula officinalis* L. have high antioxidant activities. The *Urtica dioica* L. and *Hypericum perforatum* L. have low activities.

Herbs - free radicals – antioxidants - vitamins

Известно, что под воздействием кислорода выделяются побочные продукты процесса окисления, так называемые свободные радикалы. Однако в организме существуют механизмы их нейтрализации, позволяющие ему максимально использовать кислород и остаться в живых. Для этого используются специальные защитные

средства под названием антиоксиданты, поступающие в организм с пищей. Без них организм не прожил бы и нескольких секунд.

К числу важнейших антиоксидантов в последнее время относят, помимо витаминов С и Е, также витамин А и другие каротиноиды, цинк, селен, глутатион, N-ацетилцистеин, таурин, липоевую кислоту, кофермент Q10 [7]. Известно, что витамин С восстанавливает окисление витамина Е, тем самым обеспечивая содержание этого витамина в клеточных мембранах. Помимо этого, витамин С, являясь водорастворимым соединением, взаимодействует с активными формами кислорода (O_2 , H_2O_2 , OH) [2,4].

Как показали исследования, антиоксиданты не только снижают риск развития многих заболеваний, но и замедляют процесс старения. Рак, сердечно-сосудистые заболевания, артриты, болезнь Альцгеймера и преждевременное старение - вот лишь короткий список заболеваний, развивающихся в результате недостаточной защиты организма от свободных радикалов. Все сказанное отнюдь не умаляет важности кислорода - элемента жизни. Достаточное поступление кислорода необходимо для жизни и здоровья клеток, а нехватка его несовместима с жизнью [1].

Таким образом, чтобы получить максимальную пользу для здоровья, необходимо обеспечить организм кислородом в сочетании с антиоксидантами. Кислород можно сравнивать с электричеством, а антиоксиданты - с изоляцией.

Материал и методика. Нами были исследованы следующие 10 растений: девясил высокий (*Inula helenium* L.), солодка голая (*Glycyrrhiza glabra* L.), зверобой (*Hypericum perforatum* L.), календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.), шалфей (*Salvia officinalis* L.), крапива двудомная (*Urtica dioica* L.), ромашка лекарственная (*Matricaria chamomilla* L.), душица (*Origanum vulgare* L.), щавель альпийский (*Rumex alpinus* L.), цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.). Антиоксидантную активность измеряли по ингибированному влиянию на люминесценцию, сравнивая со стандартом. Для определения антиоксидантных свойств в случае водорастворимых соединений в качестве стандарта брали аскорбиновую кислоту, а в случае жирорастворимых - тролокс.

Результаты и обсуждение. Изучали антиоксидантные свойства растений как для водорастворимых, так и для жирорастворимых соединений. Результаты показаны в табл.1, 2.

Таблица 1. Антиоксидантные свойства лекарственных растений для жирорастворимых соединений, n=5

Лекарственное растение	Антиоксидантные свойства по сравнению с тролоксом, нМоль
Девясил высокий	2,931±0,32
Солодка голая	1,915±0,25
Зверобой	1,438±0,21
Календула лекарственная	2,339±0,30
Крапива двудомная	1,493±0,21
Ромашка лекарственная	0,871±0,05
Цикорий обыкновенный	0,393±0,03

Разбавление экстракта в 10 раз, $p < 0,001$

Полученные данные показывают, что для жирорастворимых соединений высокой антиоксидантной активностью обладает девясил высокий, за ним следует календула лекарственная. Интересно, что солодка голая уступает указанным растениям.

Таблица 2. Антиоксидантные свойства лекарственных растений
(для водорастворимых соединений) n=5

Лекарственное растение	Антиоксидантные свойства по сравнению с вит.С, нМоль
Девясил высокий	0,558±0,04
Солодка голая	0,197±0,01
Зверобой	1,267±0,14
Календула лекарственная	2,175±0,31
Шалфей	0,790±0,05
Крапива двудонная	0,548±0,04
Ромашка лекарственная	1,643±0,23
Душица	1,785±0,23
Щавель	0,342±0,03

Разбавление экстракта в 10 раз, $p < 0,001$

Из табл.2 видно, что для водорастворимых соединений антиоксидантная активность высока в календуле, за ней следуют душица и ромашка, а самой низкой активностью обладает солодка.

Стоит обратить внимание на положительное действие девясила высокого и календулы лекарственной. Литературные данные свидетельствуют о снижении секреторной активности кишечника и о регулирующем влиянии девясила на его моторику [6]. Было установлено, что под действием настоя девясила уменьшаются перистальтика и секреторная активность кишечника, однако повышается желчеобразование и заметно усиливается желчеотделение в двенадцатиперстную кишку. Препараты девясила также снижают секреторную активность бронхов и оказывают отхаркивающее действие [3,4].

Полученные нами данные относительно высокой антиоксидантной активности календулы дают возможность применять этот препарат при ряде заболеваний. Отмечено положительное действие препаратов календулы при сердечно-сосудистых заболеваниях, сопровождающихся сердцебиением, отдышкой, отеками. В гастроэнтерологической практике календулу применяют как противовоспалительное, ранозаживляющее, спазмолитическое и желчегонное средство [5]. В цветках календулы содержится большое количество каротиноидов, флавоноидов, витамина С и органических кислот, которые обуславливают функции печени, улучшают состав желчи в ней, понижают концентрацию билирубина и холестерина, повышают секреторную и выделительную функции. Эти свойства календулы обусловлены очень высокой концентрацией витамина С как антиоксиданта. Солодку применяют в медицинской практике в качестве отхаркивающего, обволакивающего и смягчающего кашель средства при заболеваниях верхних дыхательных путей, особенно у детей и лиц пожилого возраста. Корень солодки назначают также при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, при хронических воспалительных состояниях желудочно-кишечного тракта, особенно при повышенной кислотности желудочного сока. Из корня солодки при бронхиальной астме средней тяжести глицирам способствует ликвидации бронхоспазма, восстановлению функции внешнего дыхания, уменьшению числа эозинофилов в периферической крови.

Обобщая сказанное, можно прийти к общему заключению, что в изученных нами растениях высокой антиоксидантной активностью обладают девясил высокий

и календула, меньшей крапива и зверобой, роль которых при лечении различных заболеваний мы не обсуждаем.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Аткинс Р.С.* Биодобавки. М., 2004.
2. *Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф.* Биологическая химия. М., 2000.
3. *Северин С.Е.* Биохимия. М., 2004.
4. *Соколов С.Я.* Справочник по лекарственным растениям. М., 1988.
5. *Junaidah M., Asmah R., Norhayati A., Muskinah M.* Воздействие сока *Strobilanthes crispus* на заживление ран у гипергликемических крыс. Малайзия, 2006.
6. *Nooman A. Khalaf., Ashok K. Shaky.* Antioxidant activity of some common plants. Faculty of Pharmacy and Medical Sciences, Amman University, Jordan, 2007.
7. *Surapaneni K.M., Vishnu P.V.* Lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E. antioxidant enzymes. Biology and Medicine. 1, 3, p.44-49, India , 2009.

Поступила 11.04.2012



**ACTION OF FATTY ACIDS ON THE BINDING CAPACITY
OF PORPHYRINS TO BLOOD PROTEINS:
SPECTRAL INVESTIGATIONS**

I.

**A.G. GYULKHANDANYAN¹, R.K. GHAZARYAN², V.N. KNYUKSHTO³,
STASHEUSKI³, B.M. DZHAGAROV³, G.V. GYULKHANDANYAN¹**

A.S.

¹*Institute of Biochemistry, NAS of Armenia,*

²*Department of Chemistry, Pharmaceutical Faculty, Yerevan State Medical University*

³*Institute of Physics, NAS of Belarus, Minsk, Belarus*

gvg536898@yahoo.com

It is shown that long-chain fatty acids (palmitate, stearate) can compete with the porphyrins for binding sites on molecules of serum albumin and hemoglobin, significantly reducing the level of binding of protein-porphyrin pairs. It is also shown that the main carrier protein of porphyrins in blood is the serum albumin.

Proteins – fatty acids – porphyrins – serum albumin – hemoglobin – spectroscopy

Ցույց է տրված, որ երկարաշղթա ճարպաթթուները (պալմիտինաթթուն, ստեարինաթթուն) կարող են մրցակցել պորֆիրինների կապման տեղերի համար շիճուկային ալբումինի և հեմոգլոբինի մոլեկուլներում, ինչը զգալիորեն իջեցնում է սպիտակուց-պորֆիրին զույգերի կապման աստիճանը: Ցույց է տրված նաև, որ արյան մեջ պորֆիրինների հիմնական սպիտակուց տեղափոխիչը շիճուկային ալբումինն է:

*Սպիտակուցներ – ճարպաթթուներ – պորֆիրիններ – շիճուկային ալբումին –
հեմոգլոբին – սպեկտրոսկոպիա*

Показано, что длинноцепочечные жирные кислоты (пальминовая, стеариновая) могут конкурировать с порфиринами за места связывания на молекулах сывороточного альбумина и гемоглобина, что значительно снижает уровень связывания пары белок-порфирин. Показано также, что основным белком-носителем порфиринов в крови является сыворо-точный альбумин.

*Белки – жирные кислоты – порфирины – сывороточный альбумин –
– спектроскопия*

гемоглобин

Blood proteome is a medium, which rapidly respond to a variety of changes in an organism, including diseases. In photodynamic therapy of tumors (PDT) binding and delivery of photosensitizers (PS) to the tumor is one of the important tasks of this method [7]. Delivery of PS was implemented through the blood and such proteins as serum albumin, hemoglobin, and lipoproteins play a key role in this problem [1, 9, 10, 12]. Presence of ligands, including fatty acids, greatly complicates the solution of tasks in relation to the possible competition of the two ligands (porphyrin and fatty acid) for binding sites on carrier proteins. Among photosensitizers for photodynamic therapy of the most actively being explored cationic porphyrins [7, 13]. Previously methods were developed and a series of cationic porphyrins with different peripheral groups and

central metals (more than 80 compounds) were synthesized [11, 3]. The aim of this study was to investigate the influence of long-chain fatty acids (FA) on the binding of porphyrins to macromolecule of carrier proteins and determination of the most probable carrier protein of porphyrins in the blood.

Presented problems we solved in two steps: 1) study the photophysical properties of porphyrins and selection of suitable porphyrins by criterion of generation of singlet oxygen and 2) study of the binding of selected porphyrins to carrier proteins. To solve the problems of the first stage the studies and detailed analysis of the photophysical properties of new porphyrins and metalloporphyrins (total 21 compounds) were conducted. The problems of the second stage were resolved via methods of optical spectroscopy and molecular docking.

Materials and methods. Bovine serum albumin (BSA), bovine serum albumin free fatty acid (BCA, FFA), human serum albumin-free fatty acid (HSA), human hemoglobin (Hb), sodium salts of fatty acids (palmitic and stearic) were purchased from Sigma-Aldrich Chemical Co. (USA). Water-soluble cationic porphyrins and metalloporphyrins with different central metal atoms (Zn, Ag, Co, Fe, Mn, Cu, etc.) and various peripheral functional groups (hydroxyethyl-, butyl-, allyl-, methallyl-) were synthesized at the Yerevan State Medical University in accordance with the procedures described in [11, 3]. The structure of synthesized compounds was investigated and confirmed by NMR, IR, and absorption spectroscopy. In fig. 1 shows the basic structure of the investigated porphyrins:

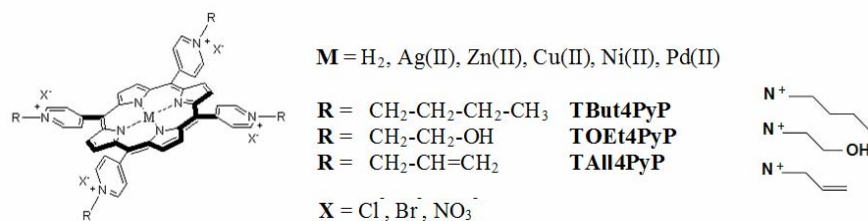


Fig.1. Basic structure of cationic porphyrins.

All other reagents were analytical clean grade.

For studies of photophysical properties of porphyrin solutions were prepared in distilled water and studied at room temperature in 10 mm quartz cuvette. To determine the fluorescence quantum yield we used a relative method. As a standard solution we used of Zn-tetraphenylporphin in toluene with the fluorescence quantum yield 3.0%. The quantum yields of singlet oxygen (γ_Δ) we were determined by a relative method. As a standard we used meso-tetra [4-N-metilpiridil] porphyrin (TM4PyP) with $\gamma_\Delta = 77\%$ [2].

Luminescence spectra were recorded on the laser fluorometer, created in the laboratory of Photonics of molecules of the Institute of Physics, NAS of Belarus. In standard configuration, excitation of samples was carrying out by laser pulses with energies of 4 uJ and duration 0.7 ns, with the frequency of 1 kHz at a wavelength of 531 nm.

Absorption spectra and binding constants of porphyrins with proteins was determined by the method described in [5]. Fatty acids were injected with the proteins in the appropriate ratio (the ratio of protein-fatty acid ranged from 1:1 to 1:5). The binding constant (K) of protein-porphyrin pairs (as well as protein-porphyrin-fatty acid) was determined by analyzing the decrease in the absorption of the Soret band when increasing concentrations of the corresponding protein (or protein-fatty acid) were added to the porphyrin solution, according to the modified equation of Kapp et al. [8]:

$$A_0/A_0-A = 1/fK[C_{\text{prot}}] + 1/f \quad (1)$$

where A_0 and A are the porphyrin solution absorbance in the absence and presence of the protein, respectively. The value of K was defined from an adsorption isotherm. On the adsorption isotherm A_0/A_0-A (ordinate) vs. $1/[C_{\text{prot}}]$ (abscissa), the value $1/f$ is a segment on the axis A_0/A_0-A corresponding to a point $1/[C_{\text{prot}}] = 0$.

The experimental results were statistically processed using a Student test.

Results and Discussion. 1. Luminescent properties of new cationic porphyrins. For all 21 compounds absorption and fluorescence spectra were measured. Moreover, for all complexes of metalloporphyrins containing atoms of Co, Ag, Fe and Cu, were not found own glow of complex or the impurity luminescence of free-base porphyrin. For other compounds - free porphyrins and their complexes with Zn atoms characteristically a significant fluorescence. All the studied compounds were photostable.

2. The quantum yields of singlet oxygen and triplet characteristics of water-soluble cationic porphyrins. From the set of all new porphyrins maximum close of spectral absorption characteristics to the known porphyrin TM4PyP had TBut4PyP. The quantum yields of singlet oxygen, and kinetic characteristics of the glow of singlet oxygen for TM4PyP were investigated in tris-buffer and for TBut4PyP in various aqueous solutions (tris-buffer, deionized, distilled and redistilled water): for TM4PyP $\gamma_{\Delta}=77\%$, for TBut4PyP $\gamma_{\Delta}=78-79\%$. Table 1 shows the quantum yields of singlet oxygen, and kinetic characteristics of the glow of singlet oxygen of solution of zinc porphyrin complexes which investigated in distilled water at room temperature.

We note that there are the differences in rise time (τ_T) of signal of singlet oxygen for 3-N-pyridyl and 4-N-pyridyl of derivatives and of free bases. In solutions of metalloporphyrins similar were only durations of luminescence quenching of singlet oxygen (τ_{Δ}). Perhaps the introduction of the metal ion has significantly changed the triplet characteristics of porphyrins, which reflected in the differing for all metallocomplexes values γ_{Δ} and τ_T .

Table 1*. The quantum yields of singlet oxygen production of porphyrins

Compound	γ_{Δ} , %	τ_T , mks	τ_{Δ} , mks
H ₂ TByt4PyP	78	1.9	3.7
ZnTByt4PyP	90	2.7	3.9
ZnTByt3PyP	84	3.0	3.9
ZnTOEt4PyP	87	2.8	3.7
ZnTOEt3PyP	87	2.5	3.6
ZnTAl4PyP	91	2.6	3.7

*The sta

ndard deviation does not exceed 5%

3. The influence of fatty acids on the binding of porphyrins with carrier proteins. Previously [4-6], we investigated the binding of cationic porphyrins with carrier-proteins of ligands in the blood (serum albumin and hemoglobin) and it was shown that the binding is non-specific and reversible, and also depends on the pH. So for ZnTByt4PyP porphyrin the binding constants with BSA changed from $6.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ to $2.0 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ at pH 4.0 and 9.5, respectively [5]. Relatively low binding constants of porphyrins and metalloporphyrins ($0.95-3.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) indicate the electrostatic character of interactions of cationic porphyrins with negatively charged molecule of BSA [4]. At the same time it is well known that a major function of serum albumin in blood is the binding and transport of fatty acids. In this connection we investigated the effect of long chain fatty acids (palmitic and stearic) on binding of porphyrins with carrier-proteins. Using the received binding constants for the two porphyrins (TBut4PyP and Zn-TBut4PyP) and two proteins (HSA Fatty Acid free and Hb) in the absence of fatty acids [5, 6], we assessed changes in the binding constant in the presence of fatty acids (palmitic and stearic). The results for two proteins and two porphyrins indicate a clear tendency to reduce the binding constant with increasing ratio fatty acid/protein in a solution of porphyrin (tab. 2 and 3). In this case, the binding constant of pair porphyrin TBut4PyP-HAS with

competition of fatty acid (at a ratio of fatty acid/protein = 1:1) according spectral data is reduced in the 1.3-1.6 times, whereas for Hb the decrease is more significant: in the 2.2-2.4 times. From these data an important conclusion follows that the fatty acids (palmitic and stearic) play an essential role in the binding of ligands for SA and Hb. Tables testifies also that binding with porphyrins in the presence of fatty acids compared with the BSA in the case of Hb in solution occurs the more significant decrease of binding constants. This testifies that the main carrier protein of porphyrins in blood is serum albumin.

Table 2*. Evaluation of binding constants for HSA/porphyrin pairs in the presence of fatty acids.

Ratio FA: protein	HSA (Zn-TBut4PyP) K ($\times 10^5 \text{ M}^{-1}$)		HSA (TBut4PyP) K ($\times 10^5 \text{ M}^{-1}$)	
	Na palmitate	Na stearate	Na palmitate	Na stearate
1 : 1	2.07	1.68	2.43	1.87
2 : 1	1.65	1.47	0.77	1.02
4 : 1	1.11	1.22	0.70	0.64
5 : 1	0.74	1.0	0.31	0.57

average of 4 experiments. The standard deviation does not exceed 5%.

Table 3*. Evaluation of binding constants for human Hb/porphyrin pairs in the presence of fatty acids.

Ratio FA: protein	Hb (Zn-TBut4PyP) K ($\times 10^5 \text{ M}^{-1}$)		Hb (TBut4PyP) K ($\times 10^5 \text{ M}^{-1}$)	
	Na palmitate	Na stearate	Na palmitate	Na stearate
1 : 1	1.35	1.28	1.36	1.24
2 : 1	1.08	1.26	1.23	1.18
4 : 1	0.81	1.19	1.14	1.15
5 : 1	0.69	1.05	0.92	0.86

* Each value is the average of 4 experiments. The standard deviation does not exceed 5%.

Based on studies of photophysical and spectral properties of porphyrins have made the following conclusions:

1. Free base porphyrins and their zinc complexes exhibits high photosensitizing activity.
2. The nature of the aqueous solution has no effect on the high efficiency of singled oxygen of studied porphyrins.
3. The most promising porphyrins for photodynamic investigations by criterion of generating singlet oxygen are metalloporphyrins ZnTByt4PyP and ZnTAll4PyP.
4. It is shown that long-chain fatty acids (palmitate, stearate) can compete with the porphyrins for binding sites on molecules of serum albumin and hemoglobin, significantly reducing the level of binding of protein-porphyrin pair. This fact should be considered when applied the method of PDT of tumor and photosensitizer dose calculations must consider the level of fatty acids in blood.

5. Results testify that binding with porphyrins in the presence of fatty acids compared with the BSA in the case of Hb in solution occur the more significant decrease of binding constants. This testifies that the main carrier protein of porphyrins in blood is serum albumin.

This work was supported by grants from the State Committee of Science of the Ministry of Education and Science of Armenia (Project 11RB-016) and the Foundation for Fundamental Research of the Republic of Belarus (Project F11ARM-017).

REFERENCES

1. *Cohen S. and Margalit R.* Binding of porphyrin to human serum albumin. *Biochem J.*, **270**, 325-330, 1990.
2. *Frederiksen P.K., McIlroy S.P., Nielsen C.B., Nikolajsen L., Skovsen E., Jørgensen M., Mikkelsen K.V., Ogilby P.R.* Two-photon photosensitized production of singlet oxygen in water. *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 1, 255-269, 2005.
3. *Ghazaryan R.K., Sahakyan L.A., Tovmasyan A.G., Vardanyan S.G., Gazaryan A., Aloyan L., Gyulkhandanyan G.V. and Hovhannesyan V.E.* Synthesis of new water-soluble cationic porphyrins and their catalytic and biological activity. *ISTC 7th International Seminar, Scientific Advances in Chemistry: Heterocycles, Catalysis and Polymers as Driving Forces*. p.40, November, 2004. Russia, Yekaterinburg, Abstracts, 2004.
4. *Gyulkhandanyan G.V., Gyulkhandanyan A.G., Gyulkhandanyan L.Zh., Ghazaryan R.K., Amelyan G.V., Gevorgyan E.S., Kevorkian G.A., Sakanyan V.A.* Binding of some cationic porphyrins with serum albumin. *Biolog. Journ. of Armenia*, **62**, 1, 15-22, 2010.
5. *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. *Biolog. Journ. of Armenia*, **62**, 2, 52-56, 2010.
6. *Gyulkhandanyan L.Zh.* Binding of cationic porphyrins to hemoglobin and cytochrome *c*. *Electr. J. NAN RA*, **14**, 1, 41-46, 2010.
7. *Hudson R., Boyle R.* Strategies for selective delivery of photodynamic sensitizers to biological targets. *J. Porphyrins Phthalocyanines. J. Porphyrins Phthalocyanines*, **8**, 954-975, 2004.
8. *Kapp E.A., Daya S. and Whitley C.G.* Protein-ligand interactions: Interaction of nitrosamines with nicotinic acetylcholine receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **167**, 1383-1392, 1990.
9. *Kessel D.* Porphyrin-lipoprotein association as a factor in porphyrin localization. *Cancer Lett.*, **33**, 183-188, 1986.
10. *Kongshaug M., Moan J. and Brown S. B.* The distribution of porphyrins with different tumor localizing ability among human plasma proteins. *Br. J. Cancer*, **59**, 184-188, 1989.
11. *Madakyan V.N., Kazaryan R.K., Khachatryan M.A., Stepanyan A.S., Kurtikyan T.S. and Ordyan M.B.* The new derivatives of meso-tetra-(4-pyridyl) porphyrine and their some conversions. *Khimiya heterociklicheskih soedinenii*, **2**, 212-216, 1986.
12. *Sil S., Bose T., Roy D., and Chakraborti A.S.* Protoporphyrin IX-induced structural and functional changes in human red blood cells, haemoglobin and myoglobin. *J. Biosci.*, **29**, 3, 101-111, 2004.
13. *Wu L., Yang L., Huang J., Zhang L., Weng X., Zhang X., Shen C., Zhou X., Zheng C.* Cationic ester porphyrins cause high levels of phototoxicity in tumor cells and induction of apoptosis in HeLa Cells. *Chem Biodivers.*, **6**, 7, 1066-1076, 2009.

Received 15.11.2012



Биолог. журн. Армении, 4 (64), 2012

ВЛИЯНИЕ НЕБЕЛКОВЫХ АМИНОКИСЛОТ НА АКТИВНОСТЬ СЕРИНОВЫХ ПРОТЕАЗ ТРИПСИНА И ПРОТЕИНАЗЫ К

Н.А. ОГАНЕСЯН, М.Б. ЧИТЧЯН, А.М. ОГАНЕСЯН,
М.А. МЕЛКУМЯН, Г.Г. ОГАНЕЗОВА, Н.С. АВЕТИСЯН

НПЦ "Армбиотехнология" НАН РА
arm_biotech@yahoo.com, nelliog@yahoo.fr

Исследовано взаимодействие небелковых аминокислот с трипсином и протеиназой К. Методом докинг анализа выявлено, что (2R,3S)- β -гидроксильцин связывается с аспарагиновой кислотой¹⁸⁹ трипсина, входящей в центр связывания с субстратом фермента, и показано, что активность трипсина в присутствии 2 мМ (2R,3S)- β -гидроксильцина подавляется на 56,9%. Добавление в реакционную смесь (S)- β -(N-бензиламино)-аланина, (S)- α -метил- β -фенилаланина или (R)- α -метил- β -фенилаланина приводит к усилению ингибирующего действия (2R,3S)- β -гидроксильцина на трипсин. (R)- β -имидазол-ил-(S)-аланин снижает процент ингибирования трипсина (2R,3S)- β -гидроксильцином на 38,4. Согласно данным докинг анализа, (S)-аллил-аланин образует водородные связи с серином¹³², входящим в центр связывания с субстратом протеиназы К, а (R)- α -метил- β -фенилаланин связывается с серином²²⁴, входящим в каталитический центр протеиназы К. (S)-аллил-аланин (3мМ) и (R)- α -метил- β -фенилаланин (4мМ) ингибируют по отдельности протеиназу К на 50%, а при их совместном воздействии ингибирование фермента усиливается на 25%.

Обсуждается возможность использования смесей небелковых аминокислот для эффективного ингибирования трипсина и протеиназы К.

Небелковые аминокислоты – докинг – трипсин – протеиназа К – ингибирование

Ուսումնասիրվել է ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների փոխազդեցությունը տրիպսինի և պրոտեինազ Կ-ի հետ: Դոքինգ անալիզի մեթոդով բացահայտվել է, որ (2R, 3S)- β -հիդրօքսիլէյցինը կապվում է տրիպսինի ասպարագինաթթվի¹⁸⁹ հետ, որը ընդգրկված է ֆերմենտի սուբստրատի հետ կապման կենտրոնի կազմում: Ցույց է տրված, որ տրիպսինի ակտիվությունը 2 Մոլ (2R, 3S)- β -հիդրօքսիլէյցինի ներկայությամբ նվազում է 56,9 %-ով: (S)- β -(N-բենզիլամինո)-ալանինի, (S)- α -մեթիլ- β -ֆենիլալանինի կամ (R)- α -մեթիլ- β - ֆենիլալանինի ավելացումը ռեակցիոն միջավայրին բերում է տրիպսինի արգելակման ուժեղացմանը (2R,3S)- β -հիդրօքսիլէյցինով: (R)- β -իմիդազոլիլ-(S)-ալանինը թուլացնում է տրիպսինի արգելակումը (2R,3S)- β -հիդրօքսիլէյցինով 38,4 %-ով: Համաձայն դոքինգ անալիզի տվյալների (S)-ալիլ-ալանինը ջրածնային կապեր է հաստատում պրոտեինազ Կ-ի սուբստրատի հետ կապման կենտրոնում գտնվող սերին¹³² հետ, իսկ (R)- α -մեթիլ- β -ֆենիլալանինը կապվում է պրոտեինազ Կ-ի կատալիտիկ կենտրոնում գտնվող սերին²²⁴ -ի հետ: 3 Մոլ և (S)-ալիլ-ալանինը և 4 Մոլ (R)- α -մեթիլ- β -ֆենիլալանինը արգելակում են պրոտեինազ Կ-ն 50 %-ով, իսկ նրանց համատեղ ազդեցությունը 25 %-ով ուժեղացնում է ֆերմենտի արգելակումը: Քննարկվում է ոչ սպիտակուցային ամինաթթուների խարնուրդների օգտագործման հնարավորությունը տրիպսինի և պրոտեինազ Կ-ի արդյունավետ արգելակման համար:

Ոչ սպիտակուցային ամինաթթուներ – դոքինգ – տրիպսին – պրոտեինազ Կ – արգելակում

The interaction of nonprotein amino acids with trypsin and proteinase K has been studied. It was revealed by docking analysis that (2R,3S)- β -hydroxyleucine binds with aspartic acid189 in the substrate binding site of trypsin. (2R,3S)- β -hydroxyleucine inhibits the activity of trypsin a 56.9%. (S)- β -(N-benzylamino)-alanine, (S)- α -methyl- β -phenylalanine and (R)- α -methyl- β -phenylalanine strengthen the inhibition of trypsin by (2R,3S)- β -hydroxyleucine. (R)- β -imidazolyl-(S)-alanine decreases the inhibition of trypsin by (2R,3S)- β -hydroxyleucine a 38.4 %. According to the docking analysis (S)-allyl-alanine forms hydrogen bonds with serine¹³² in the substrate binding site of proteinase K, and (R)- α -methyl- β -phenylalanine forms hydrogen bonds with serine²²⁴ in the catalytic site of proteinase K. (S)-allyl-alanine (3 mM) and (R)- α -methyl- β -phenylalanine (4 mM) inhibit proteinase K used separately increase a 50%, but if used together, the inhibition increases by 25 %. The possible using of nonprotein amino acids mixture for effective inhibition of trypsin and proteinase K is discussed.

Nonprotein amino acids – docking – trypsin – proteinase K – inhibition

Оптически активные небелковые α -аминокислоты встречаются в природе как в свободном виде, так и в составе белков, антибиотиков и других макромолекул. Благодаря широкому спектру биологической активности, они успешно применяются в медицине, фармакологии, микробиологии и других областях науки. Одним из важных свойств небелковых аминокислот является способность подавлять активность различных ферментов.

Протеазы занимают ключевые позиции в различных физиологических процессах, протекающих в организме, что позволяет их рассматривать в качестве удобных мишеней для лекарственных препаратов. Трипсин и протеиназа К относятся к классу сериновых протеаз. К этому классу относятся также протеазы некоторых вирусов [4]. Ингибиторы вирусных протеаз путем подавления формирования капсида вирионов останавливают процесс размножения вирусных частиц, в связи с чем рассматриваются как перспективные противовирусные препараты. К числу таких ингибиторов, широко используемых в медицинской практике, относятся пептиды, в состав которых входят небелковые аминокислоты [7-9]. Кроме того, так называемые «коктейли», состоящие из набора ингибиторов различных протеаз, используются в экспериментах, проводимых при исследованиях протеома [2]. Поиск новых ингибиторов протеаз расширяет возможности разработки и усовершенствования лекарственных препаратов.

Ранее исследования биологической активности оптически активных небелковых α -аминокислот с содержанием различных алифатических, ароматических и гетероциклических заместителей позволили выявить и охарактеризовать новые ингибиторы трипсина и протеиназы К [3]. Оказалось, что наиболее сильным ингибирующим воздействием на трипсин обладают оба стереоизомера β -гидроксилейцина, а также дипептид N-формил-метионил-(2S,3R)- β -гидроксилейцин. (2S,3R)- β -гидроксилейцин, (R)- и (S)-аллил-аланин проявили ингибирующие свойства по отношению к протеиназе К. Интересно, что (R)-, (S)- α -метил- β -фенилаланин, (R)-, (S)-аллил-глицин, (R)-, (S)-аллил-аланин, (2S,3R)-, (2R,3S)- β -гидроксилейцин в виде свободных аминокислот подавляют активность протеиназы К, однако в составе дипептидов теряют это свойство. В настоящей работе исследовано влияние различных смесей небелковых аминокислот на трипсин и на протеиназу К.

Материал и методика. В работе использовали следующие небелковые аминокислоты: (R)- β -имидазол-ил-(S)-аланин, пара-фтор-(R)-фенилаланин, (R)- α -метил- β -фенилаланин, (S)- α -метил- β -фенилаланин, (S)- β -(N-бензиламино)-аланин. Эти соединения синтезированы в НППЦ «Армбиотехнология» НАН РА. Бычий трипсин, бычий сывороточный альбумин, протеиназа К *Tritirachium album Limber* и другие реагенты приобретены у фирмы Sigma (USA).

Измерение активности ферментов.

Активность трипсина определяли по методу, предложенному "Millipore Corporation" [11] (Worthington 1977). За единицу активности трипсина принимается количество трипсина, гидролизующего 1 мМ TAME за 1 мин при 25°C, pH 8,2, в присутствии 0,01 М ионов кальция.

Активность протеиназы К определяли путем измерения количества свободных аминокрупп по орто-фталальдегидному (ОФА) методу, описанному Гейд и Браун [1]. Реакционная смесь содержит 0,1 М фосфатный буфер, pH 7,2, 0,2% SDS, 0,02 М меркаптоэтанол, 10 мг/мл бычий сывороточный альбумин и 0,4 мг/мл протеиназы К. Отбирается проба (50 мкл), остальная смесь инкубируется 30 мин при 37°C. Реакция останавливается добавлением 6-ти микролитров 30%-ной трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Концентрация свободных аминокрупп в реакционной среде определяется с помощью ОФА реагента. В 50 мкл реакционной смеси добавляется 1,5 мл ОФА реагента и 1,5 мл H₂O. Измерение поглощения проводится через 15 мин инкубации при 340 нм.

Моделирование.

Структуры аминокислот и пептидов построены с помощью программы ChemOffice 2005 (Chem3D Ultra9.0). Свободная энергия лиганда минимизирована методом Newton-Raphson. Структуры кристаллов трипсина и протеиназы К взяты из web сайта <http://www.rcsb.org>. Докинг лиганда с макромолекулой проводили с использованием программы AutoGrid4, AutoDock4 (<http://autodock.scripps.edu>). Аффинность связывания лиганда оценивается с помощью функции, основанной на считывании Гибсовской энергии связывания лиганда с макромолекулой. Программа AutoDock использует ламарковский генетический алгоритм [6]. Константа ингибирования вычислялась по следующей формуле:

$$KI = \exp((\Delta G \times 1000)/(Rcal \times TK)), \text{ где}$$

$$Rcal = 1.98719 \text{ cal}/(\text{mol} \times K) \text{ (газовая константа),}$$

$$TK = 298.15 \text{ K (комнатная температура по Кельвину).}$$

Результаты и обсуждение. Действие (S)- α -аллилаланина и (R)- α -метил- β -фенилаланина на активность протеиназы К. Взаимодействие небелковых аминокислот с протеиназой К изучено методом докинг анализа. Результаты анализа приведены в табл. 1. Отрицательные значения свободной энергии связывания свидетельствуют о способности (S)-аллил-аланина и (R)- α -метил- β -фенилаланина взаимодействовать с протеиназой К (табл. 2). Данные докинг анализа показали, что водородная связь образуется между N-концевым азотом (R)- α -метил- β -фенилаланина и кислородом гидроксильной группы серина²²⁴. NH₂-группа (S)-аллил-аланина связывается водородными связями с –COO- группой серина¹³² (рис.1) [5].

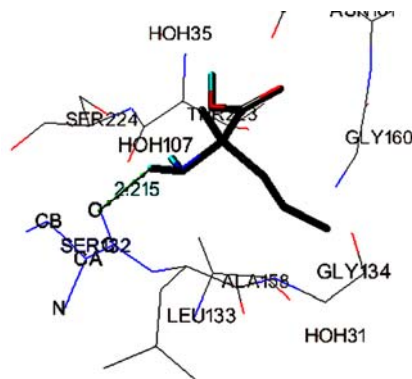


Рис. 1. Комплекс протеиназы К с (S)-аллилаланином.

Определяли активность протеиназы К в присутствии 4 мМ (S)-аллил-аланина, 3 мМ (R)- α -метил- β -фенилаланина, а также в присутствии смеси этих двух аминокислот. Выбрана такая концентрация аминокислот, при которой каждая аминокислота в отдельности ингибирует протеиназу К приблизительно одинаково (около 50%). Результаты определения активности протеиназы К приведены в табл. 1.

Табл.1. Ингибирующее действие (S)-аллил-аланина и (R)- α -метил- β -фенилаланина на протеиназу К

Соединения	ΔG ккал/моль	K _i мМ	Ингибирование (%)
(S)- α -аллилаланин (4 мМ)	-4,91	0,25	49,8
(R)- α -метил- β -фенилаланин (3 мМ)	-3,34	3,55	49,5
(S)- α -аллил-аланин(4мМ), (R)- α -метил- β -фенилаланин (3 мМ)	-	-	75,3
(S)- α -аллил-аланин(8 мМ), (R)- α -метил- β -фенилаланин (3 мМ)	-	-	94,5

Выявлено, что при использовании смеси (S)- α -аллил-аланина и (R)- α -метил- β -фенилаланина ингибирование протеиназы К происходит сильнее приблизительно на 25 %, чем при использовании каждой из аминокислот в отдельности и в той же концентрации. Следует отметить, что наибольшее ингибирование протеиназы К (до 92,5 %) достигается при концентрации (S)- α -аллил-аланина до 8 мМ и (R)- α -метил- β -фенилаланина 3 мМ. Повышение концентрации (R)- α -метил- β -фенилаланина в реакционной смеси не оказывает значительного влияния на ингибирование фермента.

Влияние небелковых аминокислот на ингибирование трипсина (2R,3S)- β -гидроксильцином. Исследовано взаимодействие небелковых аминокислот с трипсином методом докинга. Вычислены значения свободной энергии связывания ΔG и константа ингибирования K_i. Результаты вычислений приведены в табл. 2.

Табл.2. Ингибирование трипсина небелковыми аминокислотами

Соединения	ΔG ккал/моль	K _i мМ	Ингибирование (%)
β -имидазолил-(S)-аланин(5мМ)	-5,59	80,41	16,7
β -имидазолил-(S)-аланин (5мМ), (2R,3S)-гидроксильцин (2мМ)	-	-	18,5
p-фтор-(R)-фенилаланин	+25,00	-	22
p-фтор-(R)-фенилаланин(5 мМ), (2R,3S)-гидроксильцин (2мМ)	-	-	56,4
(R)- α -метил- β -фенилаланин (5мМ)	-6,93	8,26	0
(R)- α -метил- β -фенилаланин (5 мМ), (2R,3S)-гидроксильцин (2 мМ)	-	-	86,6
(S)- α -метил- β -фенилаланин (5 мМ)	-6,57	15,3	0
(S)- α -метил- β -фенилаланин (5 мМ), (2R,3S)- β -гидроксильцин (2 мМ)	-	-	72,4
(S)- β -(N-бензиламино)-аланин (5 мМ)	-6,0	11,3	0
(S)- β -(N-бензиламино)-аланин (5 мМ), (2R,3S)-гидроксильцин (2 мМ)	-	-	79,1
(2R,3S)- β -гидроксильцин (2 мМ)	-6,91	12,02	56,9

Для исследования влияния небелковых аминокислот на ингибирование трипсина (2R,3S)- β -гидроксильцином аминокислоты смешивали в таких соотношениях, при которых конечная концентрация (2R,3S)- β -гидроксильцина в реакционной смеси составляла 2 мМ. Другие аминокислоты добавляли в

реакционную смесь в концентрации 5 мМ. Полученные результаты приведены в табл. 2. Измерение активности свидетельствуют о том, что *p*-фтор-(*R*)-фенилаланин слабо ингибирует трипсин и не оказывает никакого влияния на ингибирование фермента (2*R*,3*S*)- β -гидроксилейцином. (*S*)- β -(*N*-бензиламино)-аланин способен взаимодействовать с трипсином, но на активность фермента не оказывает влияния, хотя согласно данным докинг анализа, одним из возможных сайтов связывания является глицин¹⁹². (*S*)- β -(*N*-бензиламино)-аланин в смеси с (2*R*,3*S*)- β -гидроксилейцином усиливает ингибирование последнего. (*S*)- и (*R*)- α -метил- β -фенилаланин взаимодействуют с трипсином, однако не оказывают влияния на активность трипсина. При использовании (*S*)- и (*R*)- α -метил- β -фенилаланина вместе с (2*R*,3*S*)- β -гидроксилейцином ингибирование трипсина значительно усиливается. β -имидазол-(*S*)-аланин способен взаимодействовать с трипсином ($\Delta G = -5,59$), слабо ингибирует фермент, однако при добавлении в реакционную смесь снижает процент ингибирования (2*R*,3*S*)- β -гидроксилейцином почти на 38.

Исследования последних лет показали, что ферменты, в частности протеазы, все чаще оказываются в роли удобных мишеней для лекарственных препаратов. Путем скрининга небелковых аминокислот нами были выявлены и охарактеризованы новые ингибиторы трипсина и протеиназы К [3]. В настоящей работе исследовано влияние (*R*)- α -метил- β -фенилаланина и (*S*)-аллил-аланина на активность протеиназы К. Согласно данным, полученным путем докинг анализа, (*R*)- α -метил- β -фенилаланин образует водородные связи с серином²²⁴ каталитического центра протеиназы К, в то время как (*S*)-аллил-аланин формирует водородные связи с серином¹³², который вместе с тирозином¹⁰⁴ входит в центр связывания с субстратом фермента. В каталитический центр протеиназы К входит серин²²⁴, гистидин⁶⁹ [5]. Измерение активности протеиназы К показали, что смесь, состоящая из (*R*)- α -метил- β -фенилаланина (4 мМ) с (*S*)-аллил-аланина (3 мМ) ингибирует протеиназу К на 75,3%, в то время как по отдельности эти аминокислоты ингибируют фермент почти на 50%. Возможно, усиление ингибирования активности фермента происходит за счет одновременного блокирования каталитического сайта и сайта связывания с субстратом протеиназы К.

Ранее было показано, что (2*R*,3*S*)-гидроксилейцин ингибирует трипсин со значением $IC_{50} = 1,92$ мМ. Данные докинг анализа показали, что (2*R*,3*S*)-гидроксилейцин образует водородную связь с аспарагиновой кислотой¹⁸⁹ центра связывания с субстратом трипсина (рис. 2) [3].

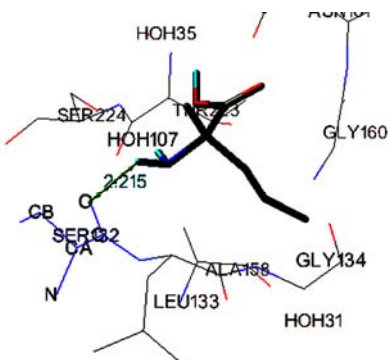


Рис. 2. Комплекс трипсина с (2*R*,3*S*)-гидроксилейцином.

Центр связывания с субстратом трипсина включает аспарагиновую кислоту¹⁸⁹ и глицин¹⁹². Каталитический центр трипсина включает серин¹⁹⁵, аспарагиновую кислоту¹⁰² и гистидин⁵⁷ [10]. Известные ингибиторы трипсина также образуют водородную связь с аспарагиновой кислотой¹⁸⁹ трипсина [12]. При комбинировании (2*R*,3*S*)-гидроксилейцина в концентрации 2 мМ с различными небелковыми аминокислотами оказалось, что подавление активности фермента усиливается, когда в реакционной среде присутствует (S)-β-(N-бензиламино)-аланин, (S)-α-метил-β-фенилаланин или (R)-α-метил-β-фенилаланин. Следует отметить, что эти аминокислоты без (2*R*,3*S*)-гидроксилейцина на активность трипсина не действуют. Согласно результатам докинга, (S)-β-(N-бензиламино)-аланин, (S)-α-метил-β-фенилаланин или (R)-α-метил-β-фенилаланин способны формировать комплексы с трипсином. К тому же (S)-β-(N-бензиламино)-аланин, возможно, связывается с глицином¹⁹², который находится в центре связывания с субстратом фермента, что может оказаться причиной усиления ингибирования фермента. Ингибирование активности трипсина заметно слабеет при использовании смеси β-имидазолил-(S)-аланина с (2*R*,3*S*)-гидроксилейцином. Интересно, что добавление β-имидазолил-(S)-аланина в реакционную среду полностью подавляет эффект (2*R*,3*S*)-гидроксилейцина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gade, W., Brown, J.L. Purification, characterization and possible function of alpha-N-acylamino acid hydrolase from bovine liver. *Biochim. Biophys. Acta*, 13, 86-93, 1981.
2. Havanapan, P.O., Thongboonkerd, V. J. Are protease inhibitors required for gel-based proteomics of kidney and urine? *Proteome Res.*, 8, 3109-3117, 2009.
3. Hovhannisyan, N.A., Harutyunyan, Sh. S., Hovhannisyan, A. M., Hambardzumyan, A.A., Chitchyan, M.B., Melkumyan, M.A., Oganezova, G.G., Avetisyan, N.S. The novel inhibitors of serine proteases. *Amino Acids*, 37, 531-536, 2009.
4. Hsu, J.T.A., Wang, H-Ch, Chen, G-Wu, Shih, Sh-Ru Antiviral Drug Discovery Targeting to Viral Proteases. *Current Pharmaceutical Design (Curr Pharm Des)*, 12, 1301-1314, 2006.
5. Miller, A., Hinrichs, W., Womn, W.M., Saengerj, W. Crystal Structure of Calcium-free Proteinase K at 1.5-Å Resolution. *The Journal of Biol. Chem.*, 269, 23108-23111, 1994.
6. Morris, G.M., Goodsell, D.S., Halliday, R.S., Huey, R., Hart, W.E., Belew, R.K., Olson, A.J. Automated Docking Using a Lamarckian Genetic Algorithm and Empirical Binding Free Energy Function. *J.Comput.Chem.*, 19, 1639-1662, 1998.
7. Mueller, N.H., Yon, C., Ganesh, V.K., Padmanabhan, R. Characterization of the West Nile virus protease substrate specificity and inhibitors. *Int. J. Biochem Cell Biol.*, 39, 606-614, 2007.
8. Schramm, H.J., Boetzel et al., Buttnner, J., Fritsche, E., Gohring, W., Jaeger, E., Konig, S., Thumfart, O., Wenger, T., Nagel, N.E., Schramm W. The inhibition of human immunodeficiency virus proteases by 'interface peptides'. *Antiviral Res.*, 30, 155-170, 1995.
9. Steinkulher, C., Kock, U., Narjes, F., Matassa, V.G. Hepatitis C virus serine protease inhibitors: current progress and future challenges. *Current Medical Chemistry (Curr.Med.Chem.)*, 8, 919-932, 2001.
10. Stroud, R.M. Kay, L.M, Dickerson, R.E. The structure of bovine trypsin: electron density maps of the inhibited enzyme at 5 Ångstrom and 2-7 Ångstrom resolutions. *J. Mol. Biol.*, 83, 185-208, 1974.
11. Worthington. *Enzymes and related biochemicals*. Millipore Corporation, Bredford, 197-198, 1977.
12. Zablotna E., Kret A., Jaskiewicz A., Olma A., Leplawy M.T., Rolka K. Introduction of alphahydroxymethylamino acid residues in substrate specificity P1 position of trypsin inhibitor SFTI-1 from sunflower seeds retain its activity. *Biochem.Biophys. Res. Commun.*, 340, 823-828, 2006.

Поступила 27.06.2012



Биол. журн. Армении, 4 (64), 2012

АННЕКСИН-А5 КАК МАРКЕР ГИПЕРФУНКЦИИ АПОПТОЗА ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

А.С. ЧАВУШЯН

Институт молекулярной биологии НАН РА
a_chavushyan@mb.sci.am

Определены уровни белка аннексина-А5 в сыворотке крови хронических больных шизофренией, принимавших типические нейролептики, в сравнении с первичными больными, не принимавшими нейролептики, и со здоровыми лицами. Согласно полученным данным, в крови как хронических, так и первичных больных шизофренией наблюдались повышенные, по сравнению с нормой, уровни аннексина-А5. При этом уровни аннексина-А5 у первичных больных были выше, чем у хронических. Сделан вывод, что шизофрения характеризуется гиперфункцией апоптоза, что гораздо более выражено у первичных больных, не принимавших нейролептики, чем у хронических больных, принимающих типические нейролептики.

Аннексин-А5 – апоптоз – шизофрения

Որոշված են անեքսին-А5 սպիտակուցի մակարդակները տիպիկ նեյրոլեպտիկներ ընդունող շիզոֆրենիայով առաապող քրոնիկ հիվանդների արյան շիճուկում, համեմատությամբ նեյրոլեպտիկներ չընդունած առաջնային հիվանդների և առողջ անձանց հետ: Համաձայն ստացված տվյալների, ինչպես քրոնիկ, այնպես էլ առաջնային հիվանդների արյան մեջ՝ նորմայի համեմատ, գրանցվել են անեքսին- А5-ի բարձր մակարդակներ: Ընդ որում, անեքսին- А5-ի մակարդակները առաջնային հիվանդների մոտ ավելի բարձր էին քան քրոնիկ հիվանդների մոտ: Եզրակացվում է, որ շիզոֆրենիան բնորոշվում է ապոպտոզի հիպերֆունկցիայով, ինչն առավել արտահայտված է նեյրոլեպտիկներ չընդունած առաջնային հիվանդների, քան տիպիկ նեյրոլեպտիկներ ընդունող քրոնիկ հիվանդների մոտ:

Անեքսին – А5 – ապոպտոզ – շիզոֆրենիա

The levels of annexin-A5 protein in the blood serum of chronic patients with schizophrenia treated with typical neuroleptics were determined in comparison with the first-episode neuroleptic-free schizophrenia patients and healthy subjects. According to obtained data, in the blood of both chronic and first-episode patients increased levels of annexin-A5 were detected, as compared to healthy subjects. The levels of annexin-A5 in the blood of first-episode patients were higher than in chronic patients. The conclusion has been drawn that schizophrenia is characterized by apoptosis hyperfunction, which is more pronounced in first-episode neuroleptic free patients than in chronic patients treated with typical neuroleptics.

Annexin-A5 – apoptosis – schizophrenia

Ряд экспериментальных и клинических данных свидетельствует о важной роли аномального апоптоза в патогенезе многих психических заболеваний, включая шизофрению (ШФ) [5, 9]. Резонно предположить, что нарушение на уровне апоптоза может являться одним из факторов, ответственных за характерные для ШФ дефекты синаптической пластичности [4, 14], приводящие к нарушению когнитивных функций [8], за развитие нейродегенеративных процессов [1], дефекты цитоархитектоники мозга [3] и дисфункцию иммунной системы [11]. Однако прямые доказательства вовлечения аномального апоптоза в патомеханизмы ШФ на сегодняшний день практически отсутствуют.

В последние годы внимание многих исследовательских групп сосредоточено на изучении биологической активности маркера апоптоза – растворимой форме белка аннексин-А5, источником которого являются апоптотические клетки [10, 12].

В настоящей работе определены уровни аннексина-А5 в сыворотке крови относительно большой когорты хронических больных ШФ, принимавших типические нейролептики, в сравнении с первичными больными, не принимавшими нейролептики, и со здоровыми лицами.

Материал и методика. В исследование были вовлечены больные параноидной формой ШФ, диагностированные врачами психиатрами Норкской клиники Психиатрического медицинского центра МЗ РА на основе критериев Международной классификации болезней (МКБ-10; код: F20.0) [13]. Контрольную группу физически и психически здоровых лиц без наследственной отягощенности ШЗ составили доноры Медицинского центра Эрбуни МЗ РА. В исследование было вовлечено 122 хронических больных ШФ, принимавших типические нейролептики (мужчины/женщины: 87/35; средний возраст ($M \pm \delta$): $45,65 \pm 8,89$ лет; средняя давность заболевания ($M \pm \delta$): $16,68 \pm 10,49$ лет; первая манифестация заболевания: $28,97 \pm 11,05$ лет), 10 первичных больных ШФ, не принимавших нейролептики (мужчины/женщины: 5/5; манифестация заболевания ($M \pm \delta$): $26,2 \pm 9,1$ лет) и 81 здоровое лицо (мужчины/женщины: 17/64; средний возраст ($M \pm \delta$): $40,77 \pm 11,19$ лет). На проведение настоящего исследования было получено разрешение Комитета по этике Института молекулярной биологии НАН РА (IRB #00004079).

Забор крови проводили в 9:00-10:00 ч утра натошак пункцией из локтевой вены. Пробы крови сразу же помещали на лед, затем центрифугировали при $3000 \text{ g} \times 10$ мин и отбирали сыворотку, которую использовали в последующих экспериментах. Концентрацию аннексина-А5 в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) при использовании коммерческого набора реагентов (Uscn Life Science, Inc.) в соответствии с инструкцией производителя и выражали в нанogramмах на 1 мл сыворотки (нг/мл).

Статистическую обработку полученных данных проводили, используя программный пакет “GraphPad Prism 3.03” (GraphPad Software, Inc., США), при помощи непараметрического анализа. При одновременном сравнении трех групп достоверность различий определялась на основании однофакторного дисперсионного анализа (H-тест Крускала-Уоллиса). Множественные сравнения между группами проводили с использованием критерия Данна (Q-тест). Значения $p < 0,05$ были приняты как статистически достоверные.

Результаты и обсуждение. Согласно полученным данным, концентрация аннексина-А5 в крови хронических и первичных больных ШФ в среднем в 2,3 раза ($p < 0,001$, Q-тест) и 3,7 раза ($p < 0,001$, Q-тест) соответственно статистически значимо превышала аналогичный параметр в группе здоровых лиц. При этом уровни аннексина-А5 в крови первичных больных в 1,6 раз статистически значимо превышали содержание этого белка в крови хронических больных ($p < 0,01$, Q-тест).

Полученные данные представлены в табл. 1.

Таблица 1. Уровни аннексина-А5 (нг/мл) в крови больных ШФ и здоровых лиц.

[Аннексин-А5], Ме (ИКР)	Исследуемая группа		
	Здоровые лица	Больные ШФ	
		хронические	первичные
	1,7 (1,37-2,27)	3,94 (1,29-5,9)	6,22 (4,57-7,37)

Данные представлены в виде медианы (Ме) и интерквартильного размаха (ИКР) в диапазоне 25% и 75% процентилей; p (H-тест) $< 0,0001$.

Полученные данные позволяют заключить, что для больных ШФ характерна гиперфункция апоптоза, которая гораздо более выражена у первичных больных, не принимавших нейролептики, чем у хронических больных, принимавших типические нейролептики.

Дисфункция апоптоза (как гипо-, так и гипер-) вовлечена в патогенез многих психических заболеваний [6]. Высокие уровни апоптотического маркера аннексина-А5 в крови больных ШФ могут являться результатом интенсификации процессов запрограммированной гибели клеток, циркулирующих в крови, как это наблюдается в случае глубокой депрессии [2], или отражать нарушение на уровне нейронального апоптоза, что наблюдается при маниакально-депрессивном психозе [7]. Различие в уровнях аннексина-А5 между первичными и хроническими больными может являться результатом воздействия типических нейрорепрессивных либо отражать воздействие других факторов, связанных с хроническим течением этого заболевания.

Патогенез ШФ характеризуется гиперфункцией апоптоза, что гораздо более выражено у первичных больных, не принимавших нейрорепрессивных, чем у хронических больных, принимающих типические нейрорепрессивные.

Автор выражает благодарность своему научному руководителю и сотрудникам лаборатории макромолекулярных комплексов Института молекулярной биологии РАН, руководителям и медицинскому персоналу Норкской клиники Психиатрического медицинского центра и Медицинского центра Эрбуну МЗ РА за содействие в проведении настоящей работы, а также больным и здоровым лицам, вовлеченным в данное исследование.

ЛИТЕРАТУРА

1. Csernansky J.G. Neurodegeneration in schizophrenia: evidence from in vivo neuroimaging studies., Sci. World J., 7, p. 135-143, 2007.
2. Eilat E., Mendlovic S., Doron A., Zakuth V., Spier Z. Increased apoptosis in patients with major depression: a preliminary study., J Immunol., 163, 1, p. 533-534, 1999.
3. Falkai P., Bogerts B. Cytoarchitectonic and developmental studies in schizophrenia., In: Neurobiology and Psychiatry (Cambridge University press), 2, p.43-70, 1993.
4. Gigante A.D., Young L.T., Yatham L.N., Andreazza A.C., Nery F.G., Grinberg L.T., Heinsen H., Lafer B. Morphometric post-mortem studies in bipolar disorder: possible association with oxidative stress and apoptosis., Int J Neuropsychopharmacol, 14, 8, p.1075-1089, 2011.
5. Glantz L.A., Gilmore J.H., Lieberman J.A., Jarskog L.F. Apoptotic mechanisms and the synaptic pathology of schizophrenia., Schizophr Res., 81, 1, p. 47-63, 2006.
6. Holcik M. Apoptosis in health and disease: clinical and therapeutic aspects., Cambridge University Press, UK, 249 p., 2005.
7. Kim H.W., Rapoport S.I., Rao J.S. Altered expression of apoptotic factors and synaptic markers in postmortem brain from bipolar disorder patients., Neurobiol. Disease., 37, 3, p. 596-603, 2010.
8. Lublin H. Cognitive dysfunction in schizophrenia., Acta Psychiatr Scand Suppl., 408, p. 5-9, 2001.
9. Olney J.W. Excitotoxicity, apoptosis and neuropsychiatric disorders., Curr Opin Pharmacol., 3, 1, p. 101-109, 2003.
10. Reutelingsperger C.P., van Heerde W.L. Annexin V, the regulator of phosphatidylserine-catalyzed inflammation and coagulation during apoptosis., Cell. Mol. Life Sci., 53, 6, p. 527-532, 1997.
11. Rothermundt M., Arolt V., Bayer T.A. Review of immunological and immunopathological findings in schizophrenia., Brain Behav Immun., 15, 4, p. 319-339, 2001.
12. Swairjo M.A., Concha N.O., Kaetzel M.A., Dedman J.R., Seaton B.A. Ca⁽²⁺⁾-bridging mechanism and phospholipid group recognition in the membrane-binding protein annexin V., Nat. Struct. Biol., 2, 11, p. 968-974, 1995.
13. The international statistical classification of diseases and related health problems. 10th ed., World Health Organization, Geneva, 1243 pp., 1992.
14. Yin D.M., Chen Y.J., Sathyamurthy A., Xiong W.C., Mei L. Synaptic dysfunction in schizophrenia., Adv. Exp. Med. Biol., 970, p. 493-516, 2012.

Поступила 01.03.2012



Biolog. Journal of Armenia, 4 (64), 2012

EFFECT OF HIGH LEVELS OF ZINC ON ANTIBODY RESPONSE AND TOTAL WHITE BLOOD CELL IN BROILER CHICKS VACCINATED AGAINST COCCIDIOSIS

S.A. SAJADIFAR

Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics, Armenian State Agrarian University
sajadifar.sobhan@yahoo.com

In this study one-day-old broiler chicks were used with three dietary zinc (40, 120 and 200 mg/kg). At 2, 22, 32, 42 days of age, the blood serums were tested for antibody titer against Newcastle disease vaccination (NDV), using the standard Haemagglutination Inhibition (HI) test. On 42 d, total white blood cells (WBC) were counted using a hemocytometer. At 42 d, levels of 120 and 200 mg Zn kg⁻¹ diet were similar and significantly increased the antibody titer against NDV. Also both these two levels had a significant effect on total WBC, and increased it in compare with control group ($P < 0.05$). It seems that the use of these levels in broilers' diet could be considered a natural promoter of immune system against diseases.

Antibody titer – broiler – performance – white blood cell – zinc

Ցինկի 120 և 200 մգ/կգ չափաբաշխներով բրոյլեր ճտերին կերակրման դեպքում 42-րդ օրը նկատվել է նյութապայան հիվանդության նկատմամբ վակցինացիոն հակամարմինների տիտրի բարձրացում և արյան մեջ լեյկոցիտների ընդհանուր քանակության ավելացում: Ցինկի նշված չափաբաշխներով բրոյլերներին կերակրումը կարելի է համարել օրգանիզմի բնական իմունախթանիչ:

Հակամարմինների տիտր – բրոյլեր – աճ և զարգացում – լեյկոցիտ – ցինկ

Нашими исследованиями установлено, что скормливание цыплятам цинка в дозах 120 и 200 мг/кг приводит к значительному повышению титра вакцинационных антител против болезни Ньюкасла и общему количеству лейкоцитов в крови на 42-й день. Использование указанных доз цинка можно рассматривать как естественную иммуностимуляцию организма.

Титр антител – бройлер – рост и развитие – лейкоцит – цинк

Coccidiosis is recognized as the parasitic disease that has the greatest economic impact on poultry production. The intestinal parasitism is a major stress factor that can lead to malnutrition and lowered performance. Depending on the localization, disease in poultry has two forms: coccidiosis of the caecum that is caused by *Eimeria tenella* and intestinal coccidiosis that is caused by a number of parasites: *E. necatrix*, *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. brunetti*, *E. mitis*, *E. mivati*, *E. praecox* and *E. hagani*. Immunity against coccidiosis is highly specific and cross protection has not been documented. That means that different species of the parasite can cause disease in susceptible birds (Hofstad, 1984).

Having a healthy immune system will lead to prevention of diseases and increase of poultry's resistance. Balance of the nutrients is directly involved in optimizing the production function and variation in their levels can have a substantial impact on immune systems (Van der Zijpp, 1983). The objective of this study was to evaluate of effect of high levels of zinc on antibody titer against Newcastle disease vaccination and total white blood cells count in broiler vaccinated against coccidiosis.

Materials and methods. Birds and treatments. One hundred and forty-four one-day-old Ross 308 broiler chicks were used according to a completely randomized design, with three dietary zinc (Zn-So₄) levels and four replicates of 12 birds. Three zinc levels (40, 120 and 200 mg/kg) were added to the basal diet (tabl. 1) to establish the treatments. On day 7, all broilers were vaccinated against coccidiosis (Livacox Q®, Merial) via oral administration. Birds were kept in floor pens, and diets and fresh water were provided ad libitum from day one. The lighting program used was 24 hours of artificial light during the entire experimental period, which lasted 42 days.

Table 1. Ingredients and calculated composition of the starter and finisher diets

Ingredients	Starter, %	Finisher, %
Corn	53.55	59.57
Soybean meal 44%CP	38.93	33.34
Monodibasic Phosphate	1.43	1.21
Limestone	1.35	1.38
Vegetable oil	3.84	3.51
Salt	0.41	0.43
DL-methionine	0.207	0.214
L-Lysine HCl	0.129	0.197
Choline HCl 60%	0.06	0.05
Mineral-vitamin premix ¹	0.1	0.1
Total	100	100
Calculated Nutrients		
Crude protein %	22	20
ME, kcal/kg	3,050	3,100
Calcium, %	0.9	0.85
Available phosphorus, %	0.4	0.35
Sodium, %	0.2	0.21
Chloride, %	0.27	0.29
Digestible Lys, %	1.15	1.07
Digestible Met., %	0.49	0.48
Digestible Met+Cys %	0.81	0.77
Digestible Thr, %	0.78	0.71
Choline, mg/kg	1,420	1,300

1 - Composition (per kg): manganese, 75,000 mg; iron, 50,000 mg; copper, 8,000 mg; iodine, 750 mg; vitamin A, 8,000 kIU; vitamin D₃, 2,000 kIU; vitamin K₃, 1,800 mg; vitamin B₁, 1,800 mg; vitamin B₂, 6,000 mg; vitamin B₆, 2,800 mg; vitamin B₁₂, 12,000 µg; pantothenic acid, 10,000 mg; niacin, 40,000 mg; folic acid, 1,000 mg; biotin, 60,000 µg; selenium, 0.3 mg/kg. Basal diets Zn measured by atomic absorption spectrometer and Zinc contents were 74 and 72 mg/kg in starting and finishing basal diets.

Antibody responses. Birds of all groups were intramuscularly injected with 0.1 ml of killed Newcastle disease vaccine (Cevac®Broiler NDK) at eight days of age. Two blood samples from each replicate were collected at 2, 22, 32, 42 days of age. All the blood samples obtained from wing vein and serums were separated by 3000 rpm centrifuging for 15 min. The serums were tested for antibody against NDV, using the standard Haemagglutination Inhibition (HI) test and the results were expressed as log 2.

Total white blood cells (WBC) count On 42d, blood samples were collected from wing vein using sterile lancet. Briefly, 490 μ l of brilliant cresyl blue dye was mixed with 10 μ l whole blood sample and total leukocytes were counted using a hemocytometer.

Statistical Analysis. Experimental data normality was verified, and then data were submitted to analysis of variance, using SAS (1997) software package. Means were compared using Duncan multiple test.

Results and Discussion. Antibody responses. Fig. 1 shows the effects of graded levels of Zn on antibody titer against Newcastle disease vaccination (NDV). At 22 and 32 d of age, broilers supplemented with 200 and 120 mg Zn showed a higher response respectively, whereas at 42 d, levels of 120 and 200 mg were similar and significantly increased the antibody titer against NDV ($p < 0.05$). Bartlett and Smith (2003) reported the broilers receiving 68 and 181 mg Zn had a higher response for total, IgM, and IgG antibodies.

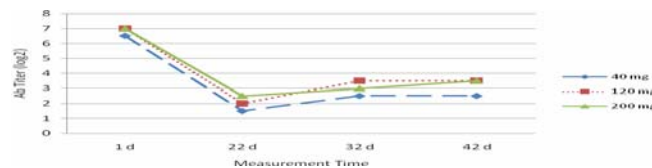


Fig.1. Antibody response of broilers fed different levels of zinc

Total white blood cells (WBC) count. Fig. 2 displays the effects of Zn supplementation on white blood cell count (WBC). Results shows that levels of 120 and 200 mg significantly increased WBC in compare with control. It can be due to effects of Zn on different parts of WBC including lymphocytes (Tanaka et al., 1990), monocytes (James et al., 1987) and neutrophils (Sunzel et al., 1995).

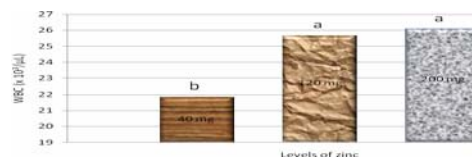


Fig.2. Effects of Zn supplementation on white blood cell count.

^{a, b}Columns that do not share the same letters differ significantly ($p < 0.05$)

The overall results of this study showed that both levels of 120 and 200 mg Zn kg⁻¹ diet seems to increase antibody titer against NDV and total WBC. The use of these levels in broilers' diet could be considered as a natural promoter of immune system against diseases.

REFERENCES

1. Bartlett J.R. and M.O. Smith. Effects of different levels of zinc on the performance and immunocompetence of broilers under heat stress. *Poultry Science*, 82, 1580-1588, 2003.
2. Hofstad, M.S. Diseases of poultry. Iowa State University Press. Ames. 1984.
3. James S.J., M. Swendseid and T. Makinodan. Macrophage-mediated depression of T-cell proliferation in zinc-deficient mice. *J. Nutr.* 117, 1982-1988, 1987.
4. SAS Institute: SAS User's Guide. Statistics. SAS Institute, Inc., Cary, NC. Virden, W.S., Yeatman, J.B., Barber, S.J., Willeford, K.O., Ward, T.L., Fakler, 1997.
5. Sunzel B., S. Holm, C.O. Reuterving, T. Soderberg, G. Hallmans and L. Hanstrom. The effect of zinc on bacterial phagocytosis, killing and cytoprotection in human polymorphonuclear leucocytes. *APMIS*, 103, 635-644, 1995.
6. Tanaka Y., S. Shiozawa, I. Morimoto and T. Fujita. Role of zinc in interleukin 2 (IL 2) mediated T-cell activation. *Scand. J. Immunol.* 31, 547-552, 1990.
7. Van der Zijpp A.J. The effect of genetic origin, source of antigen, and dose of antigen on the immune response of cockerels. *Poult. Sci.* 62, 205-211, 1983.

Received 06.06.2012



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 4(64), 2012

ՕՔՍԻԴԱՅԻՆ ԳՈՐԾԸՆԹԱՑՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԳԼՔՈՒՂԵՂՈՒՄ ԾԵՐԱՑՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ

Ա.Ա. ՀԱԿՈԲՋԱՆԻԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտ
ahakobjanian@gmail.com

Օքսիդային գործընթացներն ուսումնասիրվել են երիտասարդ (3-4 ամսական) ու ծեր (25-27 ամսական) առնետների մոտ: Ծեր առնետների գլխուղեղի միտոքոնդրիումային ֆրակցիայում դիտվել է լիպիդների ազատ ռադիկալային օքսիդացման ռեակցիաների (մալոնային երկալդեհիդի և հիդրոպերօքսիդների) ավելացում և ազոտի օքսիդի կուտակում: Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ տարիքի հետ էականորեն ավելանում են ազատ ռադիկալային գործընթացներն, որոնք կարող են հանգեցնել օքսիդային սթրեսի զարգացմանը:

Ծերացում – միտոքոնդրիումներ – գերօքսիդներ – ազոտի օքսիդ

Исследовали окислительные процессы у молодых (3-4 месяца) и старых (25-27 месяцев) крыс. Отмечено увеличение реакций свободнорадикального окисления липидов (гидроперекисей и малонового диальдегида) и накопление окиси азота в митохондриальной фракции головного мозга старых крыс. Полученные данные свидетельствуют о существенном увеличении при старении активности свободнорадикальных процессов, которые могут приводить к развитию окислительного стресса.

Старение – митохондрии – перекиси – окись азота

The oxidative processes in young (3-4 months old) and old (25-27 months old) rats were studied. An increase of free radical oxidation reactions of lipids (hydroperoxides and maleic dialdehyde) and accumulation of nitric oxide were observed in the mitochondrial fraction of old rat's brain. These results testify an essential increase of activity of free radical processes which can during aging that can lead to development of oxidative stress.

Aging – mitochondria – peroxides – nitric oxide

Ծերացումը բարդ կենսաբանական ֆենոմեն է, որն իր մեջ ներառում է տարբեր ֆիզիոլոգիական գործընթացների պրոգրեսիվ կորուստը: Օրգանիզմի ծերացումն ուղեկցվում է տարիքի հետ ասցված ախտաբանական գործընթացների զարգացմամբ, ինչպիսիք են չարորակ գոյացումները, էնդոկրին և իմունային խախտումները, նեյրոդեգեներատիվ խանգարումները [1]: Միաժամանակ ծերացման և տարիքային դիսֆունկցիաների ախտաբանության կենսաբանական մեխանիզմները դեռևս բավարար ուսումնասիրված չեն:

Լավ հայտնի է, որ ազատ ռադիկալային օքսիդացման գործընթացները կարևոր դեր են խաղում բջջային նյութափոխանակության մեջ: Ազատ ռադիկալների արտադրման ին-տենսիվությունը մեծանում է տարիքի հետ և իրենից ներկայացնում է օքսիդային սթրեսի զարգացման պատճառներից մեկը: Ազոտի օքսիդն իրենից ներկայացնում է ազատ ռադիկալային միացություն, քանի որ նրա թթվածնի ատոմն ունի չզուգավորված էլեկտրոն: Թթվածնի այլ ակտիվ ձևերի (սուպերօքսիդ անիոն, հիդրոքսիլ ռադիկալ) հետ միասին նիտրոքսիլային ռադիկալի առաջացումը բջջային կենսաթաղանթների ապա կառուցվածքայնացման առանցքային օղակն է տարբեր ախտաբանական ազդեցությունների ժամանակ [2]:

Վերը նշվածից ելնելով, ներկա հետազոտության նպատակն է եղել երիտասարդ և ծեր առնետների գլխուղեղի միտոքոնդրիումային ֆրակցիայում լիպիդների ազատ ռադիկալային օքսիդացման և սպիտակուցների օքսիդային մոդիֆիկացիաների ուսումնասիրությունը:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրությունը կատարվել է 150-230գ զանգվածով ոչ գծային առնետների վրա: Ուսումնասիրվել են երիտասարդ (3-4 ամսական, ստուգիչ խումբ) և ծեր (25-27 ամսական) առնետներ:

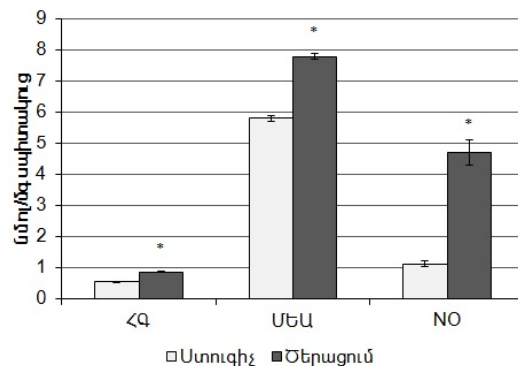
Գլխուղեղի միտոքոնդրիումներն անջատվել են 0.25 Մ սախարոզ և 0.01 Մ տրիս-HCl բուֆեր պարունակող միջավայրում, դիֆերենցիալ ցենտրիֆուգման մեթոդով 13000 g պայմաններում, կորիզների՝ 600 g արագության տակ նստեցումից հետո: [4]

Լիպիդների գերօքսիդացման (ԼԳ) ակտիվության մասին դատվել է հիդրոգերօքսիդների (ՀԳ) և մալոնային երկալդեհիդի (ՄԵԱ) առաջացման քանակությամբ: ՀԳ-ն որոշվել է ամոնիումի թիոցիանատի հետ գունավորման ռեակցիայով, սպեկտրոֆոտոմետրի մեթոդով՝ կլանման 480 նմ ալիքի երկարությունում [5]: ՄԵԱ-ն որոշվել է թիոբարբիտուրաթթվի ռեակցիայով [5]: Սպիտակուցի քանակությունը որոշվել է Լոուրիի մեթոդով [8]:

Ազոտի օքսիդի պարունակությունն որոշվել է Գրիսսի ռեակտիվի (1% սուլֆանիլամիդ, 0.1% նաֆթիլեներկամին, 2.5% ֆոսֆորական թթու) միջոցով, իսկ լուծույթի արտաբջիան չափվել է 546 նմ ալիքի երկարության տակ [3]:

Ստացված տվյալները վիճագրականորեն մշակվել են Ստյուդենտի t-չափանիշի օգտագործմամբ:

Արդյունքներ և քննարկում: Երիտասարդ առնետների գլխուղեղում բացահայտվել է ազատ ռադիկալային ռեակցիաների ինտենսիվության որոշակի ստացիոնար մակարդակ: Ծեր առնետների գլխուղեղի միտոքոնդրիումային ֆրակցիայում օքսիդային գործընթացների ուսումնասիրությունը թույլ տվեց բացահայտել լիպիդների գերօքսիդացման գործընթացի ակտիվացման վերջնական արգասիքներից մեկի՝ ՄԵԱ-ի և ՀԳ-ի պարունակության ավելացում առնետների գլխուղեղի միտոքոնդրիումային ֆրակցիայում (նկ. 1):



Նկ.1. Հետազոտվողների օքսիդային գործընթացների արգասիքների քանակությունը երիտասարդ (3-4 ամսական) և ծեր (25-27 ամսական) առնետների գլխուղեղում (n=7):

Հաշվարկը կատարվել է 1 մգ սպիտակուցի վրա:

ՀԳ – հիդրոգերօքսիդներ, ՄԵԱ – մալոնային երկալդեհիդ, NO – ազոտի օքսիդ:

*- p<0.001

Գլխուղեղի միտոքոնդրիումային ֆրակցիայում լիպիդների գերօքսիդների պարունակության ավելացմանը նպաստում են նրանում հեշտ օքսիդացող սուլֆատրասների, ինչպիսիք են պոլիչիազեցած ճարպաթթուները, բարձր պարունակությունը, ինչպես նաև ԼԳ-ի խթանիչ հանդիսացող ոչ հեմինային երկաթի առկայությունը: Այդ պայմաններում էլեկտրոնների տեղափոխման միտոքոնդրիումային շղթան անկայուն ու չափից դուրս ռեակցիոնունակ մետաբոլիտների՝ թթվածնի ակտիվ ձևերի առաջացման հզոր աղբյուր է դառնում:

Ազոտի օքսիդի պարունակության ուսումնասիրությամբ բացահայտվել է նրա պարունակության ավելացումը ծեր առնետների գլխուղեղի միտոքոնդրիումային ֆրակցիայում: NO-ի՝ սուպերօքսիդ անիոնի հետ փոխազդեցության դեպքում առաջանում են ակտիվ միացություններ, ինչպիսին է գերօքսիհիտրիտը (ONOO-) [7]:

Գերօքսիդիտրիտն օժտված է ավելի մեծ ռեակցիոնունակությամբ, քան NO-ն ու սուպերօքսիդ ռադիկալը, նրա տոքսիկ ազդեցությունն արտահայտվում է միտոքոնդրիումային ֆերմենտների արգելակմամբ, որը հանգեցնում է ԱԵՖ-ի արտադրության նվազմանը: Ավելացած կոնցենտրացիաների դեպքում գերօքսիդիտրիտը փոխազդում է շնչառական շղթայի կոմպլեքսների հետ (ցիտոքրոմօքսիդազ, ուբիքինոն), որի արդյունքում տեղի է ունենում ԱԵՖ-ի սինթեզի անկում [6], և օքսիդային սթրես է զարգանում:

Այսպիսով, ստացված տվյալները վկայում են ազատ ռադիկալային գործընթացների ակտիվության տարիքային էական փոփոխության մասին, որի արդյունքն է հանդիսանում գերօքսիդացման արգասիքների և ազոտի օքսիդի պարունակության ավելացումը:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Анисимов В.Н.* Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб: Наука, 2003.
2. *Ванин А.Ф.* Оксид азота в биологии. Биохимия, 63, 7, с.867-869, 1998.
3. *Голиков П.П., Николаева Н.Ю., Гавриленко И.А. и др.* Оксид азота и перекисное окисление липидов как факторы эндогенной интоксикации при неотложных состояниях. Бюлл. exper. биол. мед., 7. с. 6-9, 2000.
4. Методы биохимических исследований. Под ред. Прохоровой МИ. Л. Изд. Ленинградского университета, 1982.
5. Современные методы в биохимии. Под ред. Ореховича В.Н., М. Медицина, 1977.
6. *Brown G.C., Borutaite V.* Nitric oxide inhibition of mitochondrial respiration and its role in cell death. Free Radic Biol Med. 33, 11, 1440-50, 2002.
7. *Crow J.P., Beckman J.S.* The role of peroxynitrite in nitric oxide-mediated toxicity. Curr Top Microbiol Immunol., 196, 57-73, 1995.
8. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 1, 265-75, 1951.

Ստացվել է 30.03.2012