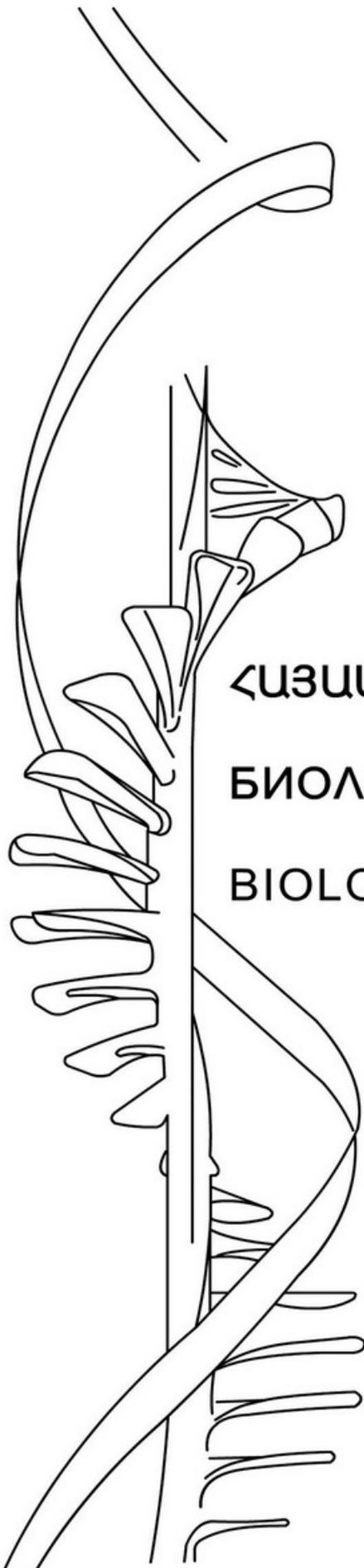




ISSN 0366-5119

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

2014

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

ԽՄԲԱԳՐԱՎԱՆ ԿՈԼԵԳԻԱ

Է.Ս. Գևորգյան (*գլխավոր խմբագիր*), Ռ.Մ. Հարությունյան (*գլխավոր խմբագրի տեղակալ*),
Ա.Ս. Բոյաջյան (*գլխավոր խմբագրի տեղակալ*),
Ա.Յ. Եսայան (*պատասխանատու քարտուղար*), Գ.Գ. Գևորգյան, Ա.Յ. Թռչունյան,
Լ.Ռ. Մանվելյան, Ս.Խ. Մայրապետյան, Ժ.Յ. Վարդանյան.

ԽՄԲԱԳՐԱՎԱՆ ԽՈՐՀՈՒՐԴ

Յու.Թ. Ալեքսանյան, Է.Գ. Աֆրիկյան, Մ.Ա. Դավթյան, Ճ.Ի. Հակոբյան, Վ.Պ. Հակոբյան,
Ս.Հ. Մովսիսյան, Կ.Ս. Պոգոսյան, Գ.Հ. Փանոսյան, Լ.Լ. Օսիպյան

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Յ.Ս. Գևորգյան (*главный редактор*), Ռ.Մ. Արությունյան (*заместитель главного редактора*),
Ա.Ս. Բոյաջյան (*заместитель главного редактора*),
Ա.Գ. Եսայան (*ответственный секретарь*), Գ. Գ. Գևորգյան, Ա.Ա. Թրչունյան,
Լ.Ր. Մանվելյան, Ս.Մ. Մայրապետյան, Ջ.Ա. Վարդանյան

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Յու.Տ. Ալեքսանյան, Յ.Գ. Աֆրիկյան, Մ.Ա. Դավթյան, Ջ.Ի. Հակոբյան, Վ.Պ. Հակոբյան,
Ս.Օ. Մովսեսյան, Կ.Ս. Պոգոսյան, Գ.Ա. Փանոսյան, Լ.Լ. Օսիպյան

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.G. Gevorgyan,
A.H. Trchounian, L.R. Manvelyan, S.Kh. Mayrapetyan, Zh.H. Vardanyan.

THE EDITORIAL COUNCIL

Յու.Տ. Ալեքսանյան, Յ.Գ. Աֆրիկյան, Մ.Ա. Դավթյան, Ջ.Ի. Հակոբյան, Վ.Պ. Հակոբյան,
Ս.Մ. Մովսեսյան, Կ.Ս. Պոգոսյան, Գ.Ա. Փանոսյան, Լ.Լ. Օսիպյան

Հայաստանի Կենսաբանական Հանդես, 2014
© Биологический Журнал Армении, 2014
Biological Journal of Armenia, 2014

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

• Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •

Խաչատրյան Գ.Է., Մկրտչյան Ն.Ի., Միմոնյան Ն.Վ., Առաքելյան Վ.Բ. Հայաստանի ատոմային էլեկտրակայանի հարակից տարածքներից վերցրած հողերի նմուշներից անջատված *Pseudomonas* և *Bacillus* ցեղերին պատկանող բակտերիաների բջիջների քանակն ու ռադիոզգայունությունը..... 6

Հովհաննիսյան Ռ.Լ., Ռուխկյան Մ.Յա. Սևանա լճի ձկների հելմինթներով վարակվածության դինամիկան՝ լճի հիդրոլոգիական ռեժիմի փոփոխությունների պայմաններում..... 14

Հայրապետյան Ն.Ն., Խաչատրյան Մ.Յ., Սեմերջյան Գ.Յ. Աղետինդեզամիևազի որոշ ֆիզիկաքիմիական հատկությունների ուսումնասիրությունը տարբեր կենսաբանական օբյեկտներում..... 18

Միմոնյան Լ.Ն. Ավշային հանգույցների ախտահարումը խոզերի աֆրիկական սուր ժանտախտի (գենտոիպ II) ժամանակ..... 24

Խաչիկյան Թ.Գ. Համբարյան Լ.Ռ. Գավառագետ և Մասրիկ գետերի ֆիտոպլանկտոնային համակեցության քանակական զարգացման կախվածությունը միջավայրի որոշ աբիոտիկ գործոններից..... 29

Միսակյան Ա.Է. Փայծաղի ախտահարումը խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի (գենտոիպ II) դեպքում..... 35

Սողոմոնյան Դ.Ռ., Զալանթարյան Վ.Պ., Թռչունյան Ա.Յ. Ցածր pH-ում ճառագայթված *Lactobacillus acidophilus*-ի F₀F₁-ԱԵՖագային ակտիվության փոփոխությունը ցեֆտազդիմի ներկայությամբ..... 39

Հովհաննիսյան Վ.Ս., Միրոմյան Լ.Ս., Խաչատրյան Կ.Ս. Վանաձոր քաղաքի և հարակից տարածքների երկթևերի ֆաունան և էկոլոգիան..... 44

Հակոբյան Լ.Լ. *Penicillium* ցեղին պատկանող սնկերի տեսակները Հայաստանում իրացվող չամիչներում..... 49

Պարոնյան Մ.Յ. Գրամ-դրական և գրամ-բացասական միկրոօրգանիզմների Ֆոտոնակտիվացումը կատիոնային պորֆիրիններով..... 54

Վարդանյան Ժ.Յ., Բաղայան Վ.Լ., Խաչիկյան Ա.Ա. Հատապտղային կենու (*Taxus baccata* L.) տարածվածությունը և ցենոտիկ առանձնահատկությունները Հայաստանի Հանրապետության տարբեր անտառաճման պայմաններում 58

Մայրապետյան Ս.Խ., Կարապետյան Ա.Ս., Ալեքսանյան Ջ.Ս., Գալստյան Յ.Ս., Ստեփանյան Բ.Թ. Տարբեր սննդալուծության ազդեցությունը *Callisia fragrans*-ի արդյունավետության վրա բացօթյա հիդրոպոնիկայի պայմաններում..... 65

Նանագյուլյան Ս.Գ., Շահագիզյան Ի.Վ., Ստեփանյան Ա.Ս. Երևանի պետական համալսարանի քարաթուերի հերբարիումի տվյալների բազա..... 70

• Համառոտ հաղորդումներ •

Մարության Ս.Վ., Նավասարդյան Ա.Լ., Առաքելյան Լ.Ռ., Նավասարդյան Լ.Յ. Ռենտգենյան ճառագայթման ազդեցությունը խմորասնկային բջիջներում ցիտիդինային միացությունների դեզամինացման վրա..... 75

Պողոսյան Ա.Յ. Երկսեր նյութ/չուր համակարգի լամելային փուլի ուսումնասիրությունը մոլեկուլային դինամիկայի մեթոդով..... 78

Մարջանյան Մ.Ա., Բարխանի Յ. Վարանդի Նոր տվյալներ չրիկան բզեզների (*Coleoptera, Elateridae*) Մազանդարան (Իրան) մարզի ֆաունայի վերաբերյալ..... 81

Խաչատրյան Տ.Ս. Վահանագեղծի ակտիվության մարկերների դերը առնետների մոտ ենթակլինիկական հիպոթիրեոզի ժամանակ..... 84

СОДЕРЖАНИЕ

•Экспериментальные и теоретические статьи•

<i>Хачатрян Г.Э., Мкртчян Н.И., Симонян Н.В., Аракелян В.Б.</i> Содержание и радиочувствительность клеток бактерий родов <i>Pseudomonas</i> и <i>Bacillus</i> в образцах почв из участков, прилегающих к Армянской атомной электростанции.....	6
<i>Оганесян Р.Л., Рухкян М.Я.</i> Динамика инвазивности рыб озера Севан гельминтами вследствие изменений гидрологического режима озера.....	14
<i>Айрапетян Н.Н., Хачатрян М.А., Семерджян Г.Г.</i> Исследование некоторых физико-химических свойств адениндезаминазы в различных биологических объектах....	18
<i>Симонян Л.Н.</i> Патология лимфатических узлов при острой африканской чуме свиней (генотипа II)	24
<i>Хачикян Т.Г., Гамбарян Р.Л.</i> Зависимость развития количественных показателей фитопланктонного сообщества рек Гаварагет и Масрик от некоторых абиотических факторов среды.....	29
<i>Мисакян А.Э.</i> Патология селезенки при Африканской чуме свиней (генотипа II)	35
<i>Согомонян Д.Р., Калантарян В.П., Трчунян А.А.</i> Изменение F ₀ F ₁ -АТФ азной активности облученной <i>Lactobacillus acidophilus</i> в присутствии цефтазидима при низком рН.....	39
<i>Оганесян В.С., Мирумян Л.С., Хачатрян К.С.</i> Фауна и экология двукрылых города Ванадзор и его окрестностей.....	44
<i>Акопян Л.Л.</i> Виды грибов из рода <i>Penicillium</i> в изюмах, реализуемых в Армении.....	49
<i>Паронян М.Г.</i> Фотоинактивация грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов катионными порфиринами.....	54
<i>Варданян Ж.А., Бадалян В.Л., Хачикян А.А.</i> Ценоотические особенности и распространение ягодного тисса (<i>Taxus baccata</i> L.) в различных лесорастительных условиях Республики Армения	58
<i>Майрапетян С.Х., Карапетян А.С., Алексанян Д.С., Галстян А.М., Степанян Б.Т.</i> Влияние различных питательных растворов на продуктивность <i>Callisia fragrans</i> в условиях открытой гидропоники.....	65
<i>Нанагюлян С.Г., Шахазизян И.В., Степанян А.С.</i> База данных лишайников гербария Ереванского государственного университета.....	70

•Краткие сообщения•

<i>Марутян С.В., Навасардян А.Л., Аракелян Л.Р., Навасардян Л.А.</i> Влияние рентгеновского облучения на дезаминирование цитидиновых соединений в дрожжевых клетках...	75
<i>Погосян А.Г.</i> Молекулярно-динамическое исследование ламеллярной фазы систем амфифильное вещество /вода.....	78
<i>Марджанян М.А., Баримани Х.Варанди</i> Новые данные к фауне щелкунов (<i>Coleoptera, Elateridae</i>) провинции Мазандаран (Иран)	81
<i>Хачатрян Т.С.</i> Роль маркеров активности щитовидной железы при субклиническом гипотиреозе у крыс.....	84

CONTENTS

•Experimental and theoretical articles•

<i>Khachatryan G.E., Mkrtchyan N.I., Simonyan N.V., Arakelyan V.B.</i> The content and radiosensitivity of bacteria of <i>Pseudomonas</i> and <i>Bacillus</i> genera in soil samples from the sites adjacent to Armenian nuclear power plant.....	6
<i>Hovhannisyan R.L., Rukhkyan M.Ya.</i> Invasiveness dynamics of lake Sevan fish by helminthes due to changes in the hydrological regime of the lake.....	14
<i>Hayrapetyan N.N., Khachatryan M.H., Semerdgyan G.H.</i> The study of some physico-chemical properties of adenine deaminase in various biological objects.....	18
<i>Simonyan L.N.</i> Pathology of lymph nodes at the acute African swine fever (genotype II)	24
<i>Khachikyan T.G., Hambaryan L.R.</i> Dependence of quantitative development of phytoplankton communities of rivers Gavaraget and Masrik from abiotic factors.....	29
<i>Misakyan A.E.</i> Pathology of spleen at the African swine fever (genotype II)	35
<i>Soghomonyan D.R., Kalantaryan V.P., Trchounian A.H.</i> Changes in the F ₀ F ₁ -ATPase activity of irradiated <i>Lactobacillus acidophilus</i> in the presence of ceftazidime at low pH.....	39
<i>Hovhannisian V.S., Mirumyan L.S., Khachatryan K.S.</i> The fauna and ecology of dipteran of Vanadzor city and its surroundings.....	44
<i>Hakobyan L.L.</i> Fungi species from <i>Penicillium</i> genera in raisins consumed in Armenian Republic	49
<i>Paronyan M.H.</i> Photoinactivation of gram-positive and gram-negative microorganisms by cationic porphyrins.....	54
<i>Vardanyan Zh.H., Badalyan V.L., Khachikyan A.A.</i> Cenotic features and distribution of a Berry yew (<i>Taxus baccata</i> L.) in various forest habitat conditions of Armenia.....	58
<i>Mairapetyan S.Kh., Karapetyan A.S., Alexanyan J.S., Galstyan H.M., Stepanyan B.T.</i> The influence of different nutrient solutions on the productivity of <i>Callisia fragrans</i> in open-air hydroponic conditions.....	65
<i>Nanagulyan S.G., Shahazizyan I.V., Stepanyan A.S.</i> The database of lichens herbarium of Yerevan State University.....	70

• Short communications •

<i>Marutyan S.V., Navasardyan A.L., Arakelyan L.R., Navasardyan L.A.</i> Influence of x-rays on the deamination of citidine compounds in yeasts.....	75
<i>Poghosyan A.H.</i> Study of Molecular Dynamics of Lamellar Phase of Amphiphile/Water Systems.....	78
<i>Marjanyan M., Barimani H., Varandi</i> New notes on fauna of click-beetles (<i>Coleoptera, Elateridae</i>) of Mazandaran province (Iran).....	81
<i>Khachatryan T.S.</i> The role of thyroid gland activity markers under subclinical hypothyroidism in rats.....	84



Биолог. журн. Армении, 3 (66), 2014

СОДЕРЖАНИЕ И РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК БАКТЕРИЙ РОДОВ *PSEUDOMONAS* И *BACILLUS* В ОБРАЗЦАХ ПОЧВ ИЗ УЧАСТКОВ, ПРИЛЕГАЮЩИХ К АРМЯНСКОЙ АТОМНОЙ ЭЛЕКТРОСТАНЦИИ

Г.Э. ХАЧАТРЯН¹, Н.И. МКРТЧЯН¹, Н.В. СИМОНЯН¹,
В.Б. АРАКЕЛЯН²

¹Ереванский физический институт, ²Ереванский госуниверситет
garnik@mail.yerphi.am

Из образцов почв, взятых из районов, прилегающих к Армянской атомной электростанции вдоль преимущественного направления ветров, выделены представители сравнительно радиочувствительных близкородственных видов бактерий *Pseudomonas putida* и *P. fluorescens* и сравнительно радиорезистентных бацилл *Bacillus mesentericus* и *B. subtilis*. Исследовано их количественное содержание в почвах точек мониторинга и радиочувствительность. Показано, что в почвах с повышенным содержанием ¹³⁷Cs количество клеток *Pseudomonas* ниже, при этом радиорезистентность их несколько повышена. Содержание клеток рода *Bacillus* варьирует без определенной закономерности, а кривые выживаемости имеют практически одинаковые характеристики во всех точках.

Армянская АЭС – содержание ¹³⁷Cs в почве – численность биотипов *Pseudomonas* – радиочувствительность *P. fluorescens* – численность *B. mesentericus* – радиочувствительность *B. subtilis*.

Քամիների գերիշխող ուղղությամբ Հայկական ատոմային էլեկտրակայանին հարող տարածքների հողերից վերցրած նմուշներից անջատվել են բավականին ռադիոզգայուն, մոտ ազգակից *Pseudomonas putida* և *P. fluorescens* բակտերիաների տեսակների, և բավականին ռադիոկայուն *Bacillus mesentericus* և *B. subtilis* բացիլների ներկայացուցիչներ: Ուսումնասիրվել են դրանց բանական պարունակությունը հողերի մոնիտորինգի կետերում և ռադիոզգայունությունը: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ հողում ¹³⁷Cs քանակի բարձր պարունակության դեպքում գրանցվել է *Pseudomonas* ջեղի բջիջների քանակի պակաս, այսինչ ռադիոկայունությունը մի փոքր ավելացել է: *Bacillus* տեսակների բջիջների քանակը ողջ տարացքում տատանվում է առանց որոշակի օրինաչափության, իսկ կենսակայունության կորերն ունեն գործնականում միանման ընդհանուր մոնիտորինգի բոլոր կետերից անջատված բջիջների համար:

Հայկական ԱԷԿ – ¹³⁷Cs պարունակությունը հողում – *Pseudomonas* բիոտիպերի քանակը – *P. fluorescens*-ի ռադիոզգայունությունը – *B. mesentericus*-ի քանակը, *B. subtilis*-ի ռադիոկայունությունը

From the samples of soils taken from the sites adjoining to the Armenian Nuclear Power Plant along the predominant direction of winds representatives of rather radiosensitive closely-related species of bacteria *Pseudomonas putida* and *P. fluorescens* and rather radioresistant bacilli *B. mesentericus* and *B. subtilis* were isolated. Their quantitative content in the soils of monitoring points and radiosensitivity was investigated. It was shown that in soils with the raised quantity of ¹³⁷Cs the amount of *Pseudomonas* cells is understated; contrariwise their radioresistance was a little bit raised. The maintenance of cells of *Bacillus species* varied without certain law, and survival curves had practically identical characteristics in all the points.

Armenian NPP – content of ¹³⁷Cs in the soil – quantity of *Pseudomonas* biotype, radiosensitivity of *P. fluorescens*, quantity of *B. mesentericus* – radioresistance of *B. subtilis*.

Последствия непосредственного воздействия Армянской АЭС, а именно основного радиоактивного компонента выбрасываемых аэрозолей – ^{137}Cs на интегральное содержание микроорганизмов в образцах почвы, прилегающей к АЭС, на фоне глобальных выпадений рассматривались в работе [11].

Следует отметить, что при исследовании реакции микробиоты на изменение содержания радионуклидов в почве информативна также оценка численности отдельных видов, составляющих микробное население почвы. Не менее информативно и определение радиобиологических параметров кривых выживания клеток отдельных видов микрофлоры. Известно, что в природных условиях в популяциях различных живых организмов под влиянием воздействия повышенного естественного фона ионизирующего излучения (например, на местах выхода радиоактивных руд) и антропогенной компоненты, связанной с деятельностью человека по использованию атомной энергии, происходят различного рода адаптивные изменения, мобилизуются репарационные возможности организмов, что в конечном счете приводит к увеличению радиорезистентности на популяционном уровне или изменению их радиобиологических характеристик. При этом вероятность изменения радиобиологических параметров радиочувствительных организмов больше, чем радиорезистентных [4, 14].

В качестве объектов для радиобиологических исследований, составляющих бактериальную микрофлору почвы исследуемых районов мониторинга, мы выбрали клетки бактерий *Pseudomonas* и *Bacillus*. Выбор был сделан в соответствии с литературными данными: *Pseudomonas* в качестве наиболее радиочувствительной составляющей бактериального населения почвы, а *Bacillus* – наиболее резистентной [6, 15]. Естественно, что для проведения сравнительных исследований по оценке численности и радиочувствительности отдельных видов, формирующих микробное население почвы, необходимым условием является их наличие во всех точках наблюдения. Однако идентификация культур – это достаточно трудоемкий и длительный процесс. В связи с этим перед нами встала задача разработки комплекса процедур, который позволил бы в кратчайшие сроки и ограниченным числом относительно простых операций выявить в анализируемых образцах искомые культуры.

Материал и методика. Отбор образцов почв и определение численности микроорганизмов проводили в соответствии с методикой, детально описанной в работе [11].

Для обеспечения большей достоверности получаемых результатов проводили параллельные высевы на чашки Петри с мясопептонным агаром (МПА) из исходных пробирок с выбранными разведениями клеточных суспензий, а также повторяли эксперименты на каждой почвенной пробе не менее трех раз.

Методы выделения и идентификации микроорганизмов. Идентификацию микроорганизмов проводили с использованием приемов и методов традиционной микробиологии, применяя классические селективные и элективные среды и подходы [1-3, 5, 7-10, 13, 16-19]. Ниже приводятся шаги, выработанные для достижения поставленной цели, и перечень основных сред, которые при проведении анализа бактериальных культур были использованы для их роста.

Пастеризация [7, 10]. В качестве первого шага на пути к выделению бактерий применяли термообработку исходной почвенной суспензии, что позволило отделить спорообразующие бактерии (бациллы) от неспорообразующих. Для этой цели аликвоту из соответствующего разведения бактериальной суспензии прогревали в течение 20 мин в ультратермостате при температуре 80°C , после чего производили посев на соответствующую среду.

Рост на среде с трифенилметановым красителем [7]. Параллельно проводили посев на селективную среду, содержащую трифенилметановый краситель, на которой способны расти только грамотрицательные бактерии. Среду обычно готовили на основе МПА. В качестве красителя использовали бриллиантовый зеленый в соотношении 1:200000 (1 мг красителя на 200 мл среды).

Ниже приводятся наименования основных сред, использованных при идентификации почвенных культур. Остальные упоминаются по мере необходимости в разделе *результаты и обсуждение*.

Среды *Pseudomonas agar F* [17]. Посев на данной среде позволял удостовериться в истинности отобранного биотипа бактерий, как относящегося к видам *Ps. putida* и *Ps. fluorescens* по характерной окраске среды, которая при росте на ней выделенных культур приобретает желто-зеленую окраску различной интенсивности.

Селективная среда по Мосселю [18]. Содержит на 900 мл исходной среды 100 мл яичной эмульсии, добавленной в стерильных условиях, и полимиксин Б. Эта среда позволяет идентифицировать *B. cereus* и *B. subtilis*, поскольку при росте на ней они приобретают специфическую окраску: *B. cereus* – окрашивается в красный цвет, *B. subtilis* – в желтый.

В ходе идентификации были также дополнительно использованы следующие среды:

- мясопептонный агар (МПА)/сусло агар в соотношении 1:1;
- стандартная плотная питательная среда на основе желатины (тест на разжижение желатины) [2, 8];
- стандартная плотная питательная среда, содержащая крахмал (тест на гидролиз крахмала [8];
- специфическая среда с тремя сахарами: характерное изменение цвета вдоль скошенного агара при сочетании поверхностного и глубинного посевов и его разрыв, вследствие газовыделения [8];
- жидкая питательная среда, при инкубации в которой со временем происходит формирование поверхностной пленки, характерной для каждого из видов: отличие по цвету и форме, специфический запах акаций [13].

Таким образом, комплекс вышеописанных сред и приемов позволил создать экспресс-подход, благодаря которому удавалось за короткие сроки определять в опытных образцах почвы искомые культуры.

Для большей достоверности при определении принадлежности выделенных культур к тому или иному виду мы также сочли необходимым провести сравнение культуры, выделенной нами из почвы, с культурами-образцами, о родовой принадлежности которых имелась достоверная информация. Речь идет об идентификации культур родов *Pseudomonas* и *Bacillus*. В случае отсутствия возможности приобретения нужной культуры из достоверного источника (например, из ВКМ), эти культуры (в нашем случае: *B. subtilis* – сенная палочка и *B. mesentericus* – картофельная палочка) выделялись согласно классическим прописям [1, 10].

Для рода *Pseudomonas* в качестве контрольных культур были использованы штаммы *Ps. putida* ВКМ В-1458Д и *Ps. fluorescens* ВКМ В-1470, полученные ранее из Пушкино.

Определение радиочувствительности. В экспериментах по определению радиочувствительности использовали выращенные при температуре 28-30⁰С на скошенном мясопептонном агаре 18-часовые культуры клеток бактерий *B. subtilis* и *Pseudomonas* (биотипы *putida* и *fluorescens*), выбранные нами в качестве объектов и выделенные из указанных точек мониторинга.

Разведения клеточной суспензии для облучения и контроля готовили таким образом, чтобы на каждой чашке выросло в среднем 300-400 колоний. Выбор посевного материала с таким содержанием колониеобразующих единиц обусловлен, прежде всего, удобством подсчета и достаточной нагрузкой в статистическом смысле при определении выживаемости по методу макроколоний. Облучение клеточных суспензий рентгеновскими лучами проводили на установке РУП-17 (напряжение на трубке 165 кВ, сила тока 15 мА, мощность дозы 24 Гр/мин) при комнатной температуре. Контрольные и облученные образцы после соответствующих разведений высевали на мясопептонный агар в чашки Петри и выращивали в термостате при температуре 28-30⁰С. Подсчет макроколоний проводили через двое суток после посева. К этому времени, как правило, и контрольные, и облученные различными дозами рентгеновских лучей жизнеспособные клетки формировали видимые невооруженным глазом макроколонии. Каждый опыт повторялся 4-5 раз. Стандартная ошибка определения средних значений выживаемости клеток при усреднении результатов разных опытов, как правило, составляла 5%.

Результаты и обсуждение. Идеология, которой мы руководствовались при выборе точек мониторинга, была подробно описана в предыдущей публикации [11].

Учитывая то, что роды *Bacillus* и *Pseudomonas* представляют собой крупные систематические группы, члены которой могут быть неравномерно распределены в почве пунктов наблюдения, нашей первоочередной задачей являлась необходимость остановить выбор на представителях тех видов, которые, согласно литературным свидетельствам, распространены достаточно широко в исследуемой местности и идентификацию которых можно реализовать с наибольшей достоверностью. Изначально в кругу наших интересов оказались *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. mesentericus*, которые, по литературным данным [12], распространены в исследуемых почвах, для идентификации которых были подобраны различные методические приемы и селективные среды и относительно которых в литературе было найдено детальное описание морфологических, физиологических и биохимических признаков [1-3, 5, 7-10, 13, 16-19].

С использованием различных дифференциальных сред (МПА-бриллиантовый зеленый, МПА-сусло-агар, среда Мосселя, стерильная картошка с мелом, желатиновая среда, селективные среды для псевдомонад: агар F и агар P, специфическая среда с тремя сахарами) были проведены работы по выделению из почвенных образцов бактерий родов *Pseudomonas* и *Bacillus* и изучению их культурально-морфологических и физиолого-биохимических особенностей. Для выделения грамотрицательных бактерий, к которым относится род *Pseudomonas*, подходящими являются среды с добавкой трифенилметановых красителей (среда с бриллиантовым зеленым), присутствие которых подавляет рост грамположительных культур. Сочетание этой среды с селективными средами F и P позволило выделить биотипы *P. fluorescens* и *P. putida*. При росте на них среда вокруг колоний этих культур приобретает характерную желтовато-зеленую окраску, что позволяет легко определить интересующий нас биотип. В качестве полноценной среды для оценки числа бактерий рода *Pseudomonas* использовался мясо-пептонный агар (МПА), для бацилл – МПА/сусло-агар в соотношении 1:1.

Представители рода *Bacillus*, являясь спорообразующими культурами, легко отделяются от остальных с помощью метода пастеризации или селективного ингибирования температурой, который заключается в 20-минутной инкубации культур в водяной бане при температуре 80°C. При этом погибают практически все остальные бактериальные культуры, а также вегетативные клетки *Bacillus*, не успевшие образовать эндоспоры. После инкубации производился посев на среде МПА/сусло-агар и проводился подсчет колоний. Для контроля полученных результатов параллельно проводили посев исходной почвенной суспензии на ряд селективных сред. Например, на среде Мосселя [18] с добавкой сульфата полимиксина “В” колонии *B. subtilis* приобретали желтую окраску, колонии *B. cereus* – красную. Аналогичный контроль искомым бацилл позволяла осуществлять среда по Вильямсу, при росте на которой колонии *B. subtilis* и *B. cereus* приобретали желтую окраску на фоне фиолетового цвета среды [19] и т.д. Как уже упоминалось в разделе **материал и методика**, для большей достоверности мы сравнивали выделенные культуры с контрольными, полученными по классическим методикам из вытяжки сена в случае *B. subtilis* и картофеля с мелом в случае *B. mesentericus* [1].

На среде, состоящей из смеси равных частей МПА и сусло-агара, колонии выбранных нами в качестве тест-культур представителей рода *Bacillus* имели следующие характеристики:

B. mesentericus (картофельная палочка) – колонии плотно прилегают к агаризованной среде и имеют морщинистую поверхность [9]. Поверхность штриха на МПА/сусло агар – возвышающиеся мучнистые складки [2]. *B. subtilis* (сенная па-

лочка) – вид весьма схожий с *B. mesentericus*, но в отличие от него ферментирующий углеводы с газообразованием при росте на специфической среде с тремя сахарами [9]. Рост по штриху: край штриха лопастной, поверхность бугоркато-складчатая, вдоль штриха тянется нитевидный гребень [2].

Выбранный биотип рода *Pseudomonas* изначально выявлялся на тестовой среде *Pseudomonas* агар F и выглядел на чашках следующим образом: примерно через 24-48 ч среда вокруг колоний/штриха окрашивалась выделяемым пигментом, формируя все более увеличивающийся ореол желтовато-зеленого цвета. Сам штрих/коллония приобретал тот же цвет. В ходе исследований были выделены штаммы указанного биотипа рода *Pseudomonas* во всех пунктах наблюдения как с наветренной, так и с подветренной стороны. Параллельный посев культур на среды F и B [8] позволял легко идентифицировать *P. fluorescens*.

Из культур рода *Bacillus* в конечном итоге выбор был остановлен на культурах *B. mesentericus* и *B. subtilis*. Вид *B. mesentericus* был выделен во всех девяти пунктах наблюдения, тогда как вид *B. subtilis* удалось выделить лишь в шести из них (что подтвердило имеющиеся литературные данные [12]).

Ниже представлены результаты исследования количественного определения вышеуказанных микроорганизмов в точках взятия проб, результаты которых приведены в табл. 1.

Таблица 1. Количественное содержание ^{137}Cs и содержание радиочувствительных бактерий рода *Pseudomonas* и радиорезистентных – *Bacillus* в верхнем пятисантиметровом слое почвы вдоль преимущественного направления ветров.

Название района взятия пробы	Содержание ^{137}Cs в верхнем пятисантиметровом слое почвы (Бк/м ²)	Количество колониеобразующих клеток	
		<i>B. mesentericus</i> в 1 г сухой почвы (x10 ⁵)	Биотипы <i>P. fluorescens</i> в 1 г сухой почвы (x10 ⁶)
Ошакан	1630	2.0	3.0
Агавнатун	502	2.5	5.0
Арагац	505	1.9	5.6
Цахкунк	495	1.6	3.5
АЭС	498	2,0	3,8
М-1	629	2.2	1,6
Мецамор	601	1,5	2,0
Мргашат	487	1,8	4,1
Нор-Армавир	462	2,2	5,0

Из табл. 1 видно, что содержание радиочувствительных бактерий рода *Pseudomonas* в почве уменьшается с подветренной стороны АЭС и минимально в точке, соответствующей максимальному содержанию в почве ^{137}Cs . Это обстоятельство указывает на то, что содержание ^{137}Cs в почве достаточно для подавления роста радиочувствительных микроорганизмов. Что касается радиорезистентных клеток *B. mesentericus*, то, как видно из табл. 1, какой-либо определенной закономерности в изменении их содержания в разных точках наблюдения не регистрируется.

На рис.1 приведены результаты экспериментов по определению зависимости выживаемости клеток бактерий *P. fluorescens*, выделенных из участков мониторинга, локализованных вдоль направлений: на северо-восток (А – наветренная сторона) и юго-запад (Б – подветренная сторона) от ААЭС, от дозы рентгеновского облучения.

В табл. 2 приведены значения D_0 (величины дозы, приводящей к инактивации 63% облученных клеток) кривых выживания клеток бактерий *P. fluorescens*, приведенных на рис. 1.

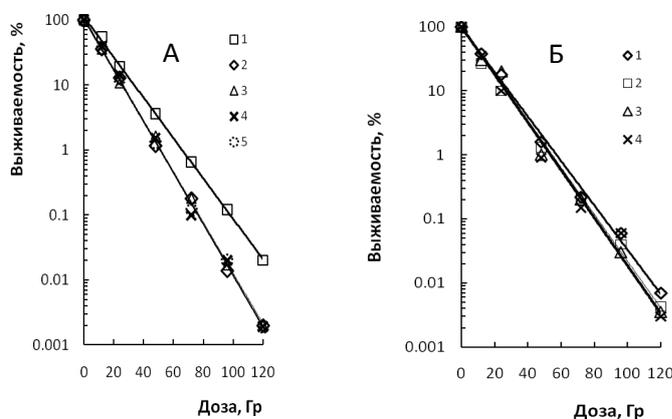


Рис. 1. Кривые доза-эффект клеток бактерий *P. fluorescens*, выделенных из участков мониторинга с наветренной (А) и подветренной (Б) сторон. А: 1 – Ошакан, 2 – Агванатун, 3 – Арагац, 4 – Цахкунк, 5 – ААЭС; Б: 1 – М-1, 2 – Мецамор, 3 – Мргашат, 4 – Нор-Армавир.

Таблица 2. Значение D_0 , или величины радиорезистентности клеток бактерий *P. fluorescens*, выделенных из всех точек мониторинга, расположенных с наветренной (1-5) и подветренной (6-9) от АЭС сторон.

№ образца	Район отбора проб	Расстояние от АЭС, км	D_0 , Гр
1	Ошакан	17	14,0
2	Агванатун	10	11,0
3	Арагац	5	11,0
4	Цахкунк	2,5	11,0
5	Непосредственно у ААЭС	0	11,0
6	Точка М-1	2,5	12,5
7	Мецамор	5	11,0
8	Мргашат	10	11,0
9	Нор-Армавир	17	11,0

Как следует из результатов экспериментов, приведенных на рис. 1 и в табл. 2, зависимость радиочувствительности клеток бактерий *Pseudomonas* от дозы облучения их рентгеновскими лучами во всех случаях описывается экспонентой. D_0 клеток бактерий *Pseudomonas*, выделенных из точек мониторинга, равноудаленных от АЭС и расположенных как в направлении преобладающих ветров, так и обратном направлении, практически не различаются. Исключение составляют клетки бактерий, выделенных из района с. Ошакан и точки М-1, радиочувствительность которых несколько меньше.

Иная картина наблюдается в случае клеток *Bacillus*. На рис. 2 приведены зависимости выживаемости клеток бактерий *B. subtilis*, выделенных из почвенных образцов, отобранных в точке М-1, с. Ошакан и с. Арагац от дозы облучения.

Как видно из рис. 2, форма кривых выживания клеток бактерий *B. subtilis*, обитающих в точках мониторинга с разным содержанием ^{137}Cs в почве, одна и та же: начальное плечо, далее прямолинейный участок в интервале доз 120-480 Гр, и при дальнейшем увеличении дозы наблюдается замедление кинетики процесса инактивации. Как известно, зависимость радиочувствительности клеток от дозы облучения обычно описывается двумя основными группами кривых: экспоненциальными или сигмоидными. Полученные нами кривые выживания клеток *B. subtilis*, имеют вид сигмоидной кривой, с так называемым “хвостом”.

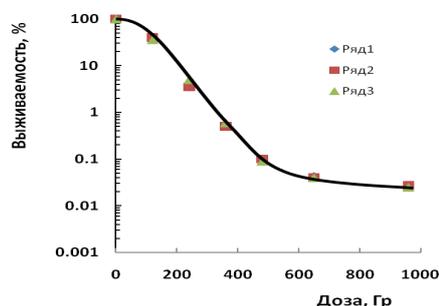


Рис.2. Кривые доза-эффект клеток бактерий *B. subtilis*, выделенных из следующих участков: 1 – точка М-1; 2 – Арагац; 3 – Ошакан.

Такая форма кривой характерна для неоднородных по радиочувствительности облучаемых культур. Наши исследования проводились на культурах в экспоненциальной фазе роста, в которой преобладают вегетативные клетки, но присутствуют и споры. Таким образом, зарегистрированная нами форма кривой, скорее всего, объясняется тем, что начальный участок кривой отражает гибель вегетативных клеток, а конечный – гибель спор, радиорезистентность которых гораздо выше. Данные, приведенные на рис. 2, свидетельствуют о том, что количественные характеристики кривых доза-эффект клеток *B. subtilis*, выделенных из разных точек мониторинга, не различаются. Значения D_0 для всех кривых равно примерно 120 Гр.

Исследования показали, что численность радиочувствительных бактерий рода *Pseudomonas* вдоль преимущественного направления ветров уменьшается с подветренной стороны ААЭС и минимальна в точке, соответствующей максимальному содержанию в почве ^{137}Cs . Что касается бактерий *B. mesentericus*, которые примерно в 100 раз радиорезистентнее бактерий рода *Pseudomonas*, то никакой закономерности в изменении их численности, коррелирующей с кривой распределения ^{137}Cs в почвах вокруг ААЭС, не было зафиксировано. В результате исследований сравнительной радиочувствительности клеток бактерий *B. subtilis*, выделенных из точек мониторинга с разным содержанием ^{137}Cs , изменения радиочувствительности не было обнаружено. Иная картина наблюдалась в случае радиочувствительных псевдомонад. Значение величины дозы, приводящей к инактивации 63% облученных клеток, выделенных из точек, соответствующих максимуму на кривой распределения ^{137}Cs в почве вокруг ААЭС (с относительно высоким содержанием ^{137}Cs в почве), несколько завышено. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при постоянном воздействии повышенного радиационного фона, даже в пределах допустимых доз, наиболее уязвимой мишенью являются радиочувствительные организмы. Для адаптации к новым условиям обитания в них происходят процессы, приводящие к активации репарационных систем клеток и в конечном итоге к повышению радиорезистентности.

Работа выполнена в рамках Проекта МНТЦ А-773. Авторы выражают благодарность руководству Центра.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аникеев В.В., Лукомская К.А. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. М.: Просвещение, с. 22, 83, 1977.
2. Большой практикум по микробиологии, ред. Г.Л. Селибер, М.: Высшая школа, с. 283-287, 1962.

3. *Бороздина И.Б.* Сравнительная характеристика бактерий рода *Pseudomonas* при культивировании на искусственных средах, Вестник ВГУ, серия: химия, биология фармация, 2, с. 67-71, 2010.
4. *Киселев П.Н., Кашкин Р.П., Болтакс Я.Б., Витовская Г.А.* Приобретение радиорезистентности микробной клеткой при обитании в среде с повышенным уровнем естественной радиации, Микробиология, 30, с.20, 1961.
5. Краткий определитель бактерий Берги, ред. Дж. Хоулта, М., Мир, с.112-118, 286-294, 1980.
6. *Кузин А.М., Каушанский Д.А.* Прикладная радиобиология, М.: Энергоиздат, с. 48, 1981.
7. Методы общей бактериологии, ред. Ф. Герхардт, М.: Мир, 1, с. 281, с. 299, 1983.
8. Методы общей бактериологии, ред. Ф. Герхардт, М.: Мир, 3, с. 21, 23-24, 43, 82, 1983.
9. *Мишустин Е.Н., Емцев В.Т.* Микробиология, М., Колос, с.218, 1970.
10. Руководство к практическим занятиям по микробиологии, ред. Н.С.Егоров, М., МГУ, с. 222, 1983.
11. *Хачатрян Г.Э., Мкртчян Н.И., Симонян Н.В. Аракелян В.Б., Пюскюлян К.И., Атоян В.А.* Реакция микробиоты почвы, прилегающей к Армянской атомной электростанции, на ее воздействие. Биолог. журн. Армении, 66, 2, с.68-74, 2014.
12. *Хачикян Л.А.* Микрофлора основных типов почв Армении, Ереван, с. 147, 1998.
13. *Шапошников В.Н.* Техническая микробиология, М., Советская наука, 68, с. 22, 126, 1947.
14. *Шевченко В.А.* Эволюция популяций в условиях повышенного уровня радиации. В кн.: Молекулярные механизмы генетических процессов. М., Наука. 1983.
15. *Hall E.J.* Radiobiology for the Radiologist / Williams and Wilkins Press, p.19, 2000.
16. *Holbrook R, Anderson J.M.* An improved selective and diagnostic medium for the isolation and enumeration of *Bacillus cereus* in foods. Canadian J. Microbiol., 26, 7, p. 753-759, 1980.
17. *King E.O., Ward M.K., Raney D.E.* Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein, J. Lab. Clin. Med., 44, p. 401-407, 1954.
18. *Mossel D.A.A., Koopmann M.J., Jongerius E.* Enumeration of *Bacillus cereus* in foods, Appl. Microbiol., 15, p. 650-653, 1967.
19. *Williams O.B.* Tryptone medium for the detection of flat sour spores, Food Research, 3, 1, p.217-221, 1936.

Поступила 28.02.2014



Биолог. журн. Армении, 3 (66), 2014

ДИНАМИКА ИНВАЗИРОВАННОСТИ РЫБ ОЗЕРА СЕВАН ГЕЛЬМИНТАМИ ВСЛЕДСТВИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГИДРОЛОГИЧЕСКОГО РЕЖИМА ОЗЕРА

Ր.Լ. ՕԳԱՆԵՅԱՆ, Մ.Կ. ՐԱԽԿՅԱՆ

*Научный центр зоологии и гидроэкологии НАН РА, Институт зоологии
ruhov37@rambler.ru*

Обнаружены 11 видов гельминтов (в т. ч. 9 видов биогельминтов) в полости тела, кишечнике, сердце, хрусталиках глаз, на жабрах и плавниках рыб из оз. Севан. Изучена степень инвазированности рыб гельминтами в условиях изменений гидрологического режима озера в различные годы. Приводятся данные по изучению динамики степени инвазированности рыб.

Гельминтофауна рыб – оз. Севан – динамика инвазированности рыб

Սևանա լճում հայտնաբերվել է 11 տեսակ հելմինթներ (այդ թվում 9 տեսակ բիոհելմինթներ) ձկների մարմնի խոռոչում, աղիներում, սրտում, աչքի սապյակում, խոռիկներում և լողակներում: Ուսումնասիրվել է լճի ձկների հելմինթներով վարակվածության աստիճանը՝ լճի հիդրոլոգիական ռեժիմի տարբեր տարիների փոփոխությունների պայմաններում: Հոդվածում բերված են ձկների վարակվածության աստիճանի դինամիկայի ուսումնասիրության տվյալները:

Ձկների հելմինթոֆաունա – Սևանա լիճ – ձկների վարակվածության դինամիկա

11 species of helminths are revealed in the Lake Sevan (including 9 species of biohelminths). They are found in the body cavity, intestine, heart, eye lens, the gills and the fins of the fishes. The extent of invasiveness of the lake fish by helminths due to the changes of the hydrological regime in different years was studied. The article presents data on the study of fish invasiveness extent dynamics.

Helminth fauna of fishes – Lake Sevan – fish infestation dynamics

Озеро Севан является крупнейшим водоемом Кавказа и имеет важное экономическое значение. Гидроэкологические преобразования озера, произошедшие за последние десятилетия, отражают этапы трансформации экосистемы озера, в первую очередь его эвтрофирования. Они привели к качественным и количественным изменениям гидробионтов озера, состава кормовой базы, спектра питания и др. Необходимо отметить также изменение гидрологического режима озера (повышение уровня воды) за последние годы, вызвавшее в целом положительные изменения в его экосистеме.

Однако вследствие проникновения новых видов животных, а также интродуцированных инвазивных видов из близлежащих затопленных болотных участков, изменился видовой состав ихтиофауны озера. Естественно, это не могло не отразиться на гельминтофауне рыб. Следовательно, выявление изменений степени инвазированности рыб оз. Севан обнаруженными биогельминтами представляет научный и практический интерес.

Целью данной работы было изучение степени инвазированности рыб оз. Севан обнаруженными биогельминтами в динамике, в связи с изменением гидрологического режима оз. Севан.

Материал и методика. Гельминтологические исследования рыб проводили на оз. Севан в 2007-2010 гг. Методом паразитологических вскрытий по общепринятой методике [1] было обследовано 703 экз. рыб 2-х семейств, 4-х видов: из сем. *Cyprinidae* – 175 экз. севанской храмули (*Caroeta caroeta sevangi* Filippi, 1865), 274 экз. серебряного карася (*Carassius auratus gibelio* Bloch, 1782), 31 экз. севанского усача (*Barbus goktschaicus* Kessler, 1877); из сем. *Coregonidae* – 223 экз. севанского сига (*Coregonus lavaretus* Linnaeus, 1758).

Сбор и камеральную обработку гельминтов рыб проводили по общепринятой методике [1], определение гельминтов – по Определителю ... [12]. Определение вида личинок диплостом проводили по таблице Шигина [14].

Результаты и обсуждение. Из 703 экз. обследованных рыб оз. Севан инвазировано 318 экз. (45, 2 %). Обнаружено 11 видов паразитов, относящихся к 5 систематическим группам: Monogenea – 1 (*Dactylogyrus goktschaicus*), Trematoda – 6 (*Diplostomum spathaceum*, *D. paraspachaceum*, *D. paracaudum*, *D. rutili*, *D. mergi*, *Ichthyocotylurus erraticus*), Cestoda – 1 (*Ligula intestinalis*), Nematoda – 2 (*Rhabdochona fortunatovi*, *Rh. macrostoma*), Crustacea – 1 (*Tracheliastes* sp.). Они найдены в полости тела, кишечнике, сердце, хрусталиках глаз, на жабрах и плавниках рыб.

Трематоды р. *Diplostomum*.

Впервые метацеркарии трематод р. *Diplostomum* – *Diplostomum spathaceum* в оз. Севан были обнаружены в 1950-е гг. у сигов и севанской форели. Экстенсивность инвазии (ЭИ) рыб диплостомами составляла 100%, при интенсивности инвазии (ИИ) от 2 до 95 экз. [13]. В 1970-ые гг. инвазированность рыб трематодами р. *Diplostomum* была также высока [2, 7]. В 1980-е гг. ЭИ сигов и усачей составляла 100%, форелей – 80%, храмуль – 40 %, но ИИ начинала спадать по сравнению с 1950-ми гг., составляла 1-20 экз. (у усача доходила до 90 экз.) [2, 7].

У карася, в 1983г. случайно интродуцированного из прудовых хозяйств Арагатской долины в оз. Севан, в конце 80-х гг. уже были обнаружены трематоды р. *Diplostomum* [2,7]. В 1990-е гг. ЭИ карасей трематодами р. *Diplostomum* составляла 90%, храмуль – 87 % [9]. В последние годы инвазированность рыб диплостомами снизилась. ЭИ наиболее высока у карасей – 52 %, у храмуль – 45%, у сигов – 10%, с ИИ 1-2 экз. [3, 4, 10]. Как видно, количественные показатели (как ЭИ, так и ИИ) значительно меньше, по сравнению с данными прошлых лет, что связано с уменьшением численности и сокращением области распространения лимнейд. В настоящее время карась является наиболее многочисленным видом оз. Севан [5, 6].

Трематоды *Ichthyocotylurus erraticus*.

До спуска уровня воды оз. Севан метацеркарии *I. erraticus* не регистрировали, возможно, потому что исследовали только кишечник рыб [8]. В 1950-1980 гг. зараженность сига метацеркариями *I. erraticus* составляла 100% , причем в 1950-е гг. ИИ у сига доходила до 500 экз. [13], а в 1980-е гг. она снизилась до 300 экз. [2, 7]. Зараженность форели и сига *I. erraticus* на протяжении 35 лет (1954-1989 гг.) составляла 100%, причем ИИ доходила до 500 экз. (у сига). В конце 1980-х гг. метацеркарии *I. erraticus* обнаружены также на сердце храмули, ЭИ составляла 47,2 %, максимальная ИИ – 50 экз.[2]. С 2006 г. наблюдалось снижение ЭИ сигов (38%) и уменьшение ИИ (2-12 экз.), но, тем не менее, зараженность оставалась высокой [3, 4]. В перикардиальной полости сигов нами обнаружены цисты трематод *I. erraticus*, ЭИ = 6 %, ИИ – 1-2 экз. Очевидно, снижение ЭИ и ИИ рыб метацеркариями *I. erraticus* связано с резким сокращением численности основных хозяев данного вида – сига и храмули [5, 6].

Цестоды *Ligula intestinalis*.

До спуска уровня воды озера наблюдалась низкая инвазированность лигулой храмули и усача [8]. Доминирующими в ихтиофауне озера в те годы были севанская форель (эндемичный вид), а также сиговые, невосприимчивые к этой инвазии. После спуска уровня воды ЭИ лигулой у молоди храмули повысилась до 80 %, а у взрослых особей встречались лишь ее единичные экземпляры [2, 7]. В 1980-х гг. зараженность севанской храмули снизилась вдвое, по сравнению с 1970-ми гг., ЭИ составляла 34,2 %, ИИ ср. – 2 экз. [2, 7]. В 1990-е гг. ЭИ храмули составляла 17,2 %, с ИИ ср. – 2 экз. [9].

В полости тела храмуль и карасей оз. Севан нами обнаружены плероцеркоиды ремнеца *L. intestinalis*. ЭИ у храмуль составляла 12, 9 %, ИИ – 1-2 экз., т. е. ЭИ еще более снизилась; у карасей ЭИ составляла 26 %. Как хозяин данного вида в оз. Севан карась впервые был отмечен нами в 2007 г. [3, 10]. Это свидетельствует о переходе паразита на нового хозяина.

Нематоды.

Впервые вид *Rhabdochona fortunatovi* у храмули оз. Севан был обнаружен в 1932г. [8]. В исследованиях 50-90-х гг. данный вид не регистрировался [13, 2, 7, 9]. Он был обнаружен в последние годы, ЭИ составляла 11, 2 %, ИИ – 1-2 экз. [10, 4]. Вид *R. macrostoma* нами обнаружен и описан у севанской храмули сравнительно недавно [11].

Антропогенное воздействие на экосистему озера Севан, происходящее за последние десятилетия, не могло не отразиться на гельминтофауне рыб озера. Изменения гидрологического режима озера привели к качественным и количественным изменениям гельминтофауны рыб и повлияли на степень инвазированности рыб гельминтами, что и констатируется нашими исследованиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Быховская-Павловская И.Е.* Паразиты рыб. Руководство по изучению. Л., Наука, 121 с., 1985.
2. *Вартанян Л.К.* Паразитофауна рыб озера Севан и некоторых других водоемов и водотоков Армении. Автореф. канд. дисс., Ереван, 22 с., 1993.
3. *Воропаева Е.Л., Толстенков О.О., Оганесян Р.Л.* Современное состояние паразитофауны рыб озера Севан. Экология озера Севан в период повышения его уровня. Результаты исследований Российско-Армянской биологической экспедиции по гидроэкологическому обследованию озера Севан (Армения) (2005-2009 гг.). Махачкала, Наука ДНЦ, с. 290-306, 2010.
4. *Воропаева Е.Л., Толстенков О.О., Оганесян Р.Л.* Динамика паразитофауны рыб озера Севан. Российский паразитологический журнал, 4, с. 14-26, 2011.
5. *Габриелян Б.К.* Рыбы озера Севан. Ереван, "Титутюн", 252 с., 2010.
6. *Герасимов Ю.В., Габриелян Б.К., Малин М.И., Рубенян А.Р.* Многолетняя динамика запасов рыб озера Севан и их современное состояние. Экология озера Севан в период повышения его уровня. Результаты исследований Российско-Армянской биологической экспедиции по гидроэкологическому обследованию озера Севан (Армения) (2005–2009 гг.). Махачкала: Наука ДНЦ, 2010, с. 249–278.
7. *Григорян Дж.А.* Изменение паразитофауны рыб озера Севан в разные годы (до и после спуска озера). Биолог. журн. Арм., 33, 3, с. 300-306, 1980.
8. *Динник Ю.А.* Паразитические черви рыб оз. Севан. Тр. Севанской озерной станции, 4, 1-2, Ереван, с. 105-132, 1933.
9. *Оганесян Р.Л.* О гельминтофауне карповых рыб оз. Севан. Тез. докл. респ. науч. конф. по зоологии, Ереван, с. 87-88, 1998.
10. *Оганесян Р.Л., Рухлян М.Я.* К гельминтофауне рыб озера Севан. Биолог. журн. Армении, 63, 3, с. 20-25, 2011.

11. *Оганесян Р.Л., Рухкян М. Я.* Обнаружение *Rhabdochona macrostoma* (Nematoda: Rhabdochonidae) у севанской храмули. Биолог. журн. Армении, 65, 1, с. 116-119, 2013.
12. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР. 3. Паразитические многоклеточные (Вторая часть). Л., Наука, 1987, 583с.
13. *Павлова И.А.* Паразиты сигов, акклиматизированных в оз. Севан. Известия ВНИОРХ, вып. 42, с. 150-165, 1957.
14. *Шигин А.А.* Трематоды фауны СССР. Род *Diplostomum*. Метациркулярии. М., Наука, 256 с., 1986.

Поступила 20.12.2013



Биол. журн. Армении, 3 (66), 2014

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АДЕНИНДЕЗАМИНАЗЫ В РАЗЛИЧНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

Н.Н. АЙРАПЕТЯН, М.А. ХАЧАТРИАН, Г.Г. СЕМЕРДЖЯН

*Ереванский госуниверситет, кафедра биохимии
nn.hayrapetyan@gmail.com*

Изучали активность аденазы в гомогенатах органов кролика и лягушки, исследовали воздействие ионов Mg^{++} , Cd^{++} на уровень активности фермента. Согласно полученным данным, ионы Cd^{++} оказывают более сильное ингибирующее влияние на активность аденазы. С помощью гельфильтрации выявили наличие двух изоферментов во всех исследованных объектах. Показано, что изоферменты различаются по своим кинетическим свойствам.

Аденаза – изоферменты – K_m изоферментов – ингибиторы

Ուսումնասիրվել է աղեսագի ակտիվությունը ճագարի և գորտի օրգանների հոմոգենատներում, Mg^{++} , Cd^{++} իոնների ազդեցությունը ֆերմենտի ակտիվության վրա: Համաձայն ստացված տվյալների, Cd^{++} իոնները ավելի ուժեղ արգելակիչ ազդեցություն են ցուցաբերում աղեսագի ակտիվության վրա: Բոլոր հետազոտված օբյեկտներում ժելֆիլտրացիայի եղանակով բացահայտվել են 2-ական իզոֆերմենտներ: Ցույց է տրվել, որ իզոֆերմենտները տարբերվում են իրենց կինետիկական հատկություններով:

Աղեսագ – իզոֆերմենտներ – իզոֆերմենտների K_m – արգելակիչներ

The activity of adenase in the homogenates of the rabbit's and frog's organs, as well as the effect of Mg^{++} , Cd^{++} ions on the activity of the enzyme, have been studied. According to the obtained data, Cd^{++} ions have stronger inhibiting effect on the activity of adenase. Two isoenzymes have been revealed in each of the studied objects by gel-filtration. It has been demonstrated that the isoenzymes differ in their kinetic properties.

Adenase – isoenzymes – K_m of isoenzymes – inhibitors

В последнее время появилось много научных публикаций, посвященных изучению адениндезаминазы (аденинаминогидролаза, аденаза, ЕС 3.5.4.2) при различных патологических состояниях. Изменение активности адениндезаминазы в сыворотке крови человека проявляется при системной красной волчанке [2], склеродермии [5], болезни костно-мышечной системы – ревматоидном артрите [7]. Адениндезаминаза является чувствительным индикатором метаболических нарушений, интенсивности воспалительных процессов, имеющих место при остеоартрозе, подагре [1, 4]. Имеющиеся литературные данные об изменениях показателей активности адениндезаминазы при развитии патологий не дают исчерпывающей информации о свойствах этого фермента в норме, хотя это в определенных состояниях позволило бы “контролировать” работу фермента, что, возможно, привело бы к изменению состояния, спровоцированного изменением аденазной активности.

Материал и методика. Объектом исследования служили органы кролика и лягушки. После декапитации в холодных условиях быстро извлекали печень, почки и готовили 20% гомогенаты на 0,1 М К-фосфатном буфере (гомогенизатор Поттер-Эльведжема, продолжительность гомогенизации 2-3 мин). Инкубационная смесь содержала 1 мл гомогената, 0,5 мл аденина (30 мкмоль), 1,5 мл 0,1 М К-фосфатного буфера, pH 7,4. Аденазную активность определяли в гомогенатах, инкубированных с субстратом в течение 120 мин при 37°C. Катализ останавливали 20%-ным ТХУ, после чего пробы центрифугировали 10 мин со скоростью 5000 об/м и в насадке определяли аммиак микродиффузионным методом Зелингсона в модификации Силаковой [6]. Для фракционирования аденазы применяли гельфильтрацию на колонке с сефадексом G-150. В выделенных фракциях белок определяли спектрофотометрически (СФ-4А, длина волны 280 нм). Величину K_m изоферментов определяли графическим методом Лайнуивера-Берка [3].

Результаты и обсуждение. В статье представлены результаты изучения некоторых физико-химических свойств адениндезаминазы (изоэнзимный спектр, K_m изоэнзимов, ингибиторы). В первой серии экспериментов определяли активность адениндезаминазы в гомогенатах органов (печень, почки) лягушки, кролика.

Таблица 1. Влияние ионов Mg^{2+} и Cd^{2+} на активность адениндезаминазы в гомогенатах органов лягушки и кролика (мкм NH_3 на 1 г св. тк.)

Объект	Кролик				Лягушка			
	Печень		Почки		Печень		Почки	
Mg^{2+} , мкм	акт.	инг., %						
0	50,01±0,16	–	11,06±0,04	–	58,01±0,18	–	21,60±0,09	–
0,5	48,98±0,08	2,1	11,02±0,21	0,4	56,2±0,15	3,1	20,12±0,09	6,9
1,0	48,90±0,10	2,2	10,02±0,24	9,4	56,4±0,11	2,8	19,28±0,24	10,7
2,5	48,86±0,13	2,2	9,00±0,11	18,6	56,00±0,22	3,5	19,06±0,1	11,8
5,0	48,91±0,16	2,2	9,02±0,24	18,4	54,06±0,14	6,8	19,12±0,23	11,5
Cd^{2+} , мкм	акт.	инг.(%)	акт.	инг.(%)	акт.	инг.(%)	акт.	инг.(%)
0	50,01±0,16	–	11,06±0,04	–	58,01±0,18	–	21,60±0,09	–
0,5	35,13±0,01	29,8	7,15±0,21	35,4	36,85±0,12	36,5	16,24±0,08	24,8
1,0	32,00±0,18	36	6,08±0,14	45	30,11±0,24	48,1	13,66±0,16	36,8
2,5	24,01±0,02	52	3,96±0,08	64,2	26,05±0,06	55,1	9,01±0,10	58,3
5,0	25,00±0,12	50	3,88±0,11	64,9	22,76±0,05	60,8	6,95±0,08	67,8

Согласно данным табл. 1, уровень дезаминирования аденина в гомогенатах печени как кролика, так и лягушки значительно выше (50,01 мкм и 58,01 мкм соответственно), чем в гомогенатах почек (11,06 мкм и 21,60 мкм соответственно). Далее исследовали влияние ионов Mg^{++} , Cd^{++} на активность аденазы. Гомогенаты инкубировали 120 мин при 37°C в присутствии ионов металлов (0,5-5 мкм на пробу). Полученные данные свидетельствуют о том, что ионы Mg^{++} ингибируют аденазу во всех исследуемых гомогенатах, причем в гомогенатах почек в большей степени, и по мере увеличения концентрации Mg^{++} степень ингибирования возрастает. При увеличении концентрации ионов Mg^{++} до 5 мкм активность аденазы печени кролика ингибируется на 2,2 %, активность аденазы почек на – 18,4 %, аденаза печени лягушки ингибируется на 6,8%, аденаза почек – на 11,5%. Надо отметить, что аденаза почек более чувствительна к ионам Mg^{++} , чем аденаза печени. Трудно объяснить процесс ингибирования аденазы ионами Mg^{++} , т.к. Mg^{++} чаще выполняет роль активатора ферментов, не способен образовывать комплексы с пуриновыми основаниями, снижая возможность образования фермент-субстратного комплекса. Дезаминирующую способность фермента во всех исследуемых объектах более активно угнетают ионы Cd^{++} , причем уже при концентрации 0,5 мкмоль. Согласно полученным результатам (табл. 1), аденаза печени кролика ингибируется Cd^{++} на 29,8%, аденаза почек на 35,4%, в гомогенатах органов лягушки в присутствии 0,5 мкм Cd^{++} ингибирование аденазы печени составляет 36,5%, почек – 24,8 %.

Более высокие концентрации Cd^{++} ионов (1–5 мкмоль) усиливают процесс инактивации фермента. Наиболее сильное ингибирующее влияние при концентрации 5 мкм отмечено в гомогенатах почек лягушки (67,8 %). Вероятно, причиной инактивации фермента ионами Cd^{++} являются SH-группы активного центра фермента, которые образуют прочные комплексы с ионами Cd^{++} и изменяют нативную конформацию белка. В следующей серии экспериментов проводили гельфильтрацию надосадков гомогенатов исследуемых органов с целью выделения молекулярных форм (изоэнзимов) аденазы. Гельфильтрацию проводили через сефадекс G-150, который промывали тремя объемами 0,1 М К-фосфатного буфера (рН 7,4). В колонку (2,5х60см) наносили 5 мл супернатанта, полученного при центрифугировании гомогенатов. Было собрано 40 фракций (скорость элюции 0,5 мл/мин, объем фракций 5 мл).

В каждой фракции спектрофотометрическим методом определяли белок (длина волны 280 нм) и аденазную активность. При гельфильтрации активность фермента проявилась 2-мя пиками - двумя изоферментами (АД I, АД II). Первый пик (АД I) фильтруется с фракцией высокомолекулярных белков, второй (АД II) – с фракцией низкомолекулярных белков (рис. 1-4).

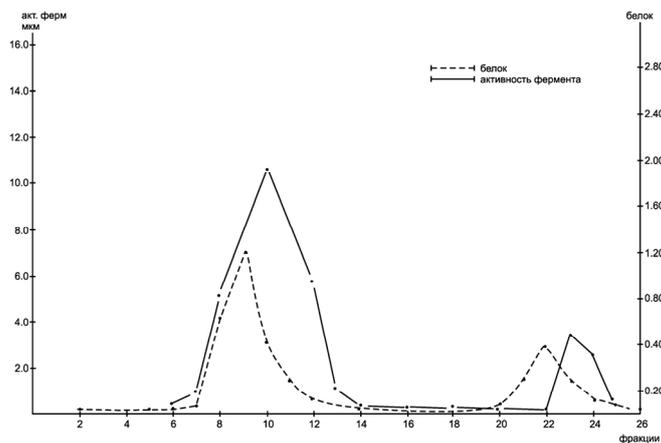


Рис. 1. Изоэнзимный спектр адениндезаминазы почек кролика

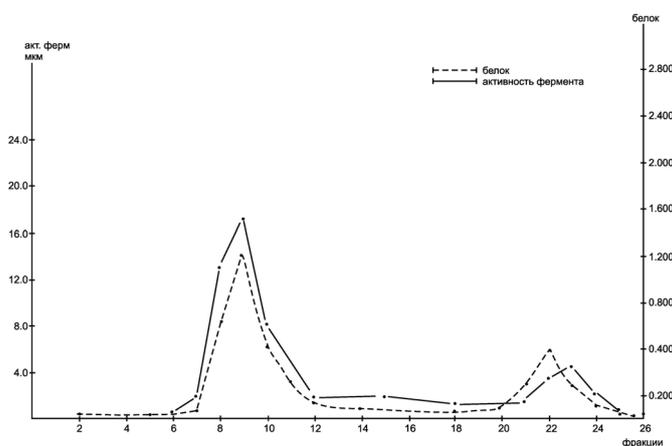


Рис. 2. Изоэнзимный спектр адениндезаминазы печени кролика

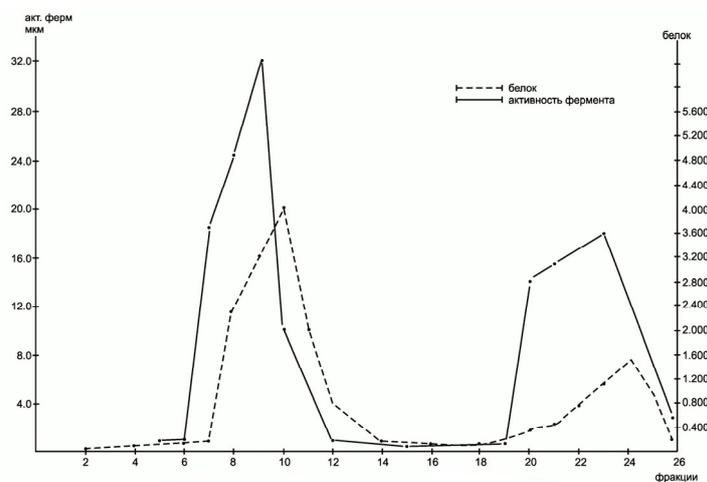


Рис. 3. Изоэнзимный спектр адениндезаминазы почек лягушки

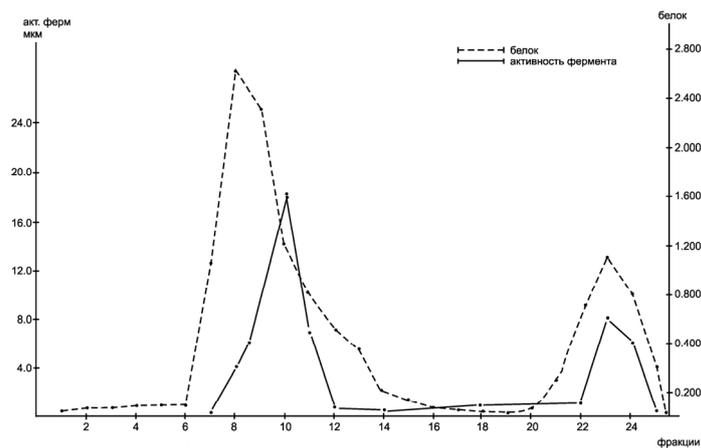


Рис. 4. Изоэнзимный спектр адениндезаминазы печени лягушки

Далее была рассмотрена зависимость активности изоферментов аденаз различного происхождения от концентрации субстрата. Кинетические константы (K_m) выделенных изоэнзимов аденазы определяли по графику, построенному методом двойных обратных величин (метод Лайнуивера-Берка). Для определения K_m изоферментов в инкубационную смесь добавляли аденин в концентрациях 5, 10, 20, 30, 40 мкм. Из приведенных графиков видно, что изоформы, выделенные из надосадков гомогенатов, обладали разным сродством к аденину. Так, значения K_m аденазы для высокомолекулярного изофермента (АД I) из печени кролика $0,25 \times 10^{-3}$ М, из почек кролика $0,5 \times 10^{-3}$ М. K_m низкомолекулярного изофермента печени кролика (АД II) $2,0 \times 10^{-3}$ М, низкомолекулярного изофермента почек кролика $2,0 \times 10^{-3}$ М (рис. 5, 6).

Аналогичные данные получили и для изоферментов органов лягушки – АД I печени и почек лягушки – $0,25 \times 10^{-3}$ М и $0,5 \times 10^{-3}$ М соответственно, АДII печени – $2,0 \times 10^{-3}$ М и АДIII почек – $1,75 \times 10^{-3}$ М (рис. 7, 8).

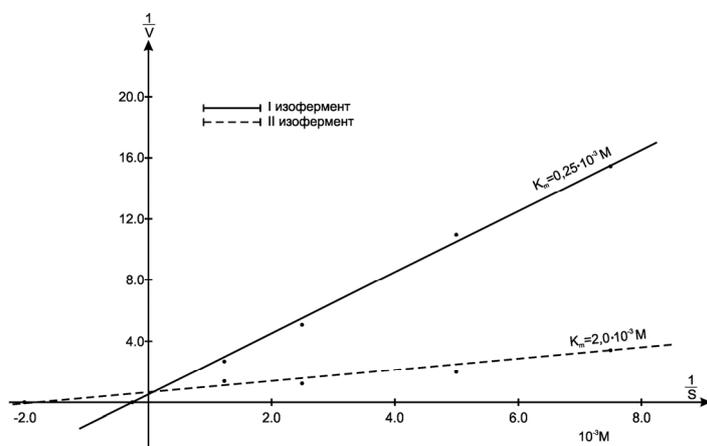


Рис. 5. K_m изоферментов адениндезаминазы печени кролика

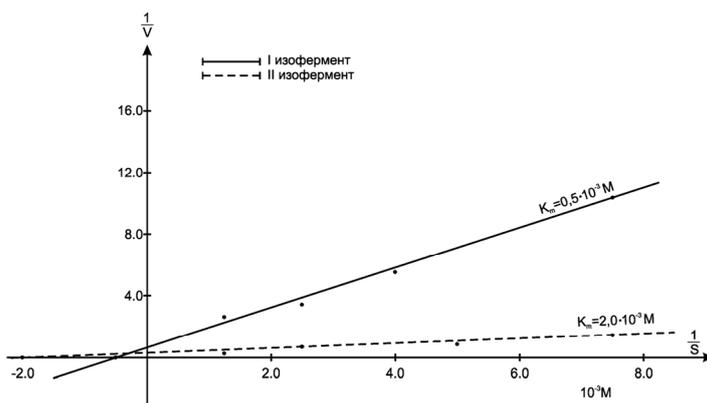


Рис. 6. K_m изоферментов адениндезаминазы почек кролика

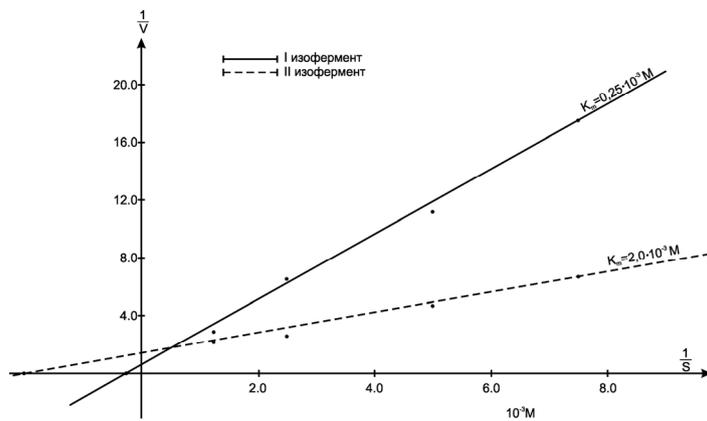


Рис. 7. K_m изоферментов адениндезаминазы печени лягушки

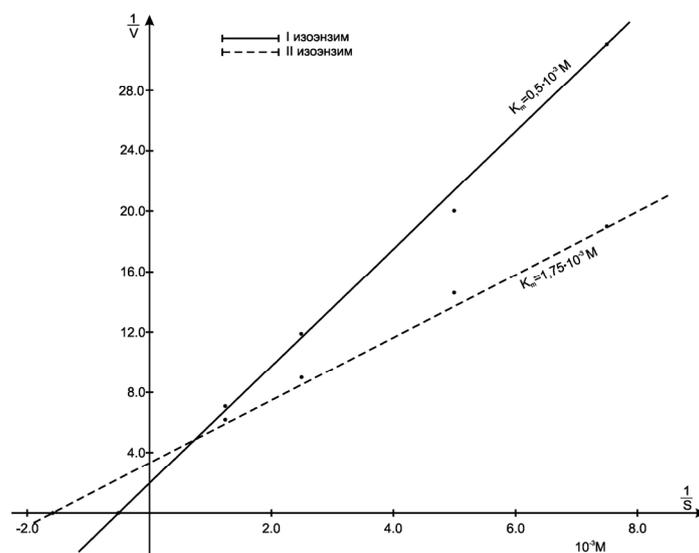


Рис. 8. K_m изоферментов адениндезаминазы почек лягушки

Сравнительный анализ полученных значений K_m показал, что во всех изученных объектах большее сродство к аденину проявляют высокомолекулярные изоферменты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галаева О.Ю. и др. Энзимы пуринового метаболизма в клетках крови больных остеоартрозом в процессе эволюции болезни, Практическая медицина, 09(12), 2012.
2. Девятаева Н.М. Клинико-диагностическое значение исследования активности 5-нуклеотидазы, АМФ-дезаминазы, адениндезаминазы, аденозиндезаминазы в лизатах лимфоцитов, эритроцитов и плазме крови больных системной красной волчанкой. Автореф. дисс. на соиск. степ. канд. мед. наук, Оренбург, с.27, 2005.
3. Диксон М., Уэбб Ф., Ферменты, М.м Мир, 1966.
4. Зборовский А.Б., Бедина С.А. Энзимы пуринового метаболизма в дифференциации подагрического артрита и остеоартроза, Мед. акад. журнал, 10, 2, с. 77-83, 2010.
5. Мартынянов В.Ф., Абрамов Н.Б., Бедина С.А. Активность энзимов пуринового метаболизма у больных склеродермией, Рос. журнал кожных и вен. болезней, 1, с.34-36, 2010.
6. Силакова и др., Микрометод определения аммиака и глютамина в тканевых трихлоруксусных экстрактах, Вопр. мед. химии, с. 538, 1962.
7. Ушакова И.С. Клинико-патогенетическое значение исследования активности ферментов адениловой ветви пуринового метаболизма в лизатах лимфоцитов, эритроцитов и плазме крови больных ревматоидным артритом. Автореф. дисс. на соиск. степ. канд. мед. наук, ВГУ, 2007.
8. Sutin N. Chemistry Department, Brookhaven National Laboratory, Upton, N.Y., USA.

Поступила 26.11.2013



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(66), 2014

ԱՎՇԱՅԻՆ ՀԱՆԳՈՒՅՑՆԵՐԻ ԱՆՏԱՀԱՐՈՒՄԸ ԽՈՉԵՐԻ ԱՖՐԻԿԱՆ ՍՈՒՐ ԺԱՆՏԱԽՏԻ (ԳԵՆՈՏԻՊ II) ԺԱՄԱՆԱԿ

L.L. ՍԻՄՈՆՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտ
Բջջի կենսաբանության և վիրուսաբանության լաբորատորիա,
lilusimon@gmail.com

Ուսումնասիրվել է ավշային հանգույցների ախտաբանությունը խոզերի աֆրիկյան սուր ժանտախտ (ախտահարված գենոտիպ II վիրուսով) հիվանդության դինամիկայում: Հիվանդության դրսևորման առաջին օրից արյան շիճուկում նկատվում է վիրեմիա: Ավշային հանգույցներն ախտահարվում են հիվանդության վաղ փուլերից սկսած (2-3-րդ օր): Ավշային հանգույցների հիմնական ախտաբանական փոփոխություններն են արյունազեղումները, ավշային ֆոլիկուլների հիպերպլազիան, որին հաջորդում է հիպոպլազիան:

*խոզերի աֆրիկյան ժանտախտ – ավշային հանգույց – ավշային ֆոլիկուլ –
արյունազեղում – հիպերպլազիա – հիպոպլազիա*

Исследована патология лимфатических узлов при африканской чуме свиней (АЧС) (зараженных вирусом генотипа II) в динамике острой формы болезни. С первого дня болезни в сыворотке крови была обнаружена вирусемия. Нами показано, что при АЧС, вызываемой генотипом II, лимфатические узлы поражаются на начальных стадиях болезни (на 2-3-й день). Основными патологическими изменениями лимфатических узлов являются: кровоизлияние, гиперплазия лимфатических фолликулов, на поздних стадиях гипоплазия.

*Африканская чума свиней – лимфатический узел – лимфатический фолликул –
кровоизлияние – гиперплазия – гипоплазия*

Lymph nodes pathology of the pigs in the dynamics of acute African swine fever (infected by genotype II virus) was studied. Viremia was revealed in blood serum from the first day of disease. The lymph nodes were affected from the early stages (2-3 post infection days). The main pathological changes in lymph nodes were hemorrhages, hyperplasia of lymph follicles, which is followed by hypoplasia.

African Swine fever – lymph node – lymph follicle – hemorrhage – hyperplasia – hypoplasia

Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի սուր տարբերակը ծանր, մահացու ելքով վիրուսային հիվանդություն է, որը կաթնասուններից ախտահարում է միայն խոզերին: Աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսը խոշոր, լրացուցիչ թաղանթով, երկշղթա ԴՆԹ-ով վիրուս է, որը Asfarviridae ընտանիքի միակ ներկայացուցիչն է: Խոզի օրգանիզմում վիրուսը բազմանում է հիմնականում մոնոնուկլեար ֆագոցիտային համակարգի բջիջներում, հատկապես մոնոցիտներում և մակրոֆագերում: Հիվանդության ավելի ուշ շրջանում կարող են ախտահարվել նաև այլ բջիջներ: Աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսը միակ ԴՆԹ արբովիրուսն է, որը փոխանցվում է հողվածոտանիների միջոցով (*Ornithodoros* տգեր): Վիրուսի գենոմը պարունակում է մոտավորապես 150 գեն: Վիրուսի ԴՆԹ-ն կոդավորում է իր գենոմի ռեպլիկացիային և տրանսկրիպցիային անհրաժեշտ ֆերմենտներ, կառուցվածքային սպիտակուցներ և այնպիսի սպիտակուցներ, որոնք կարևոր են տիրոջ օրգանիզմում վիրուսի պահպանման և տարածման համար: Վիրուսի ԴՆԹ-ն կոդավորում է նաև ախտահարված բջիջների ապոպտոզին նպաստող սպիտակուցներ [1]:

Աֆրիկյան ժանտախտն առաջին անգամ նկարագրել է Մոնթգոմերին 1921 թվականին որպես ենթասուր կամ սուր վարակիչ հիվանդություն, որը բնութագրվում է 100% մահացությամբ, նկատելի արյունազեղումներով, այտուցով և կոագուլոպաթիայով: Մաուրերը և այլոք փաստել են, որ առաջին ախտահարումները հայտնաբերվում են լիմֆոիդ հյուսվածքներում [2,9]:

Ինչպես հայտնի է խոզերի ավշային հանգույցներում կեղևային և միջուկային նյութերը տեղակայված են հակառակ (ի տարբերություն մարդու), նախ միջուկային նյութն է, ապա՝ կեղևային [3]: Պերիֆերիան՝ ծայրամասը, պարունակում է մակրոֆագեր և պլազմոցիտներ: Ծոցերն ավելի նեղ են, փափկալարերը բացակայում են: Փոքր ավշային հանգույցները կարող են միաձուլվել և առաջացնել խոշոր հանգույց: Հանգույցի դրունքը հաճախ դժվար տեսանելի է:

Խոզերի ավշային հանգույցների ֆուլկուլներում գերմինատիվ (*centrum germinale*) կամ բազմացման կենտրոնի լուսավոր գոտին (*light zone*) հստակ տարբերակելի չէ մուգ գոտուց (*dark zone*) ինչպես մարդու մոտ: Լուսավոր գոտին տեղակայված է գերմինատիվ կենտրոնի բևեռում՝ ավշային հանգուցի պատիճից հեռու (ունի հակառակ դասավորություն ի տարբերություն մարդու): Պսակի ձևով դասավորված լիմֆոցիտները նույնպես գտնվում են գերմինատիվ կենտրոնի խորքում՝ պատիճից հեռու: Խոզերի ավշային հանգույցներում տրաբեկուլները՝ շարակցահյուսվածքային խտրոցները, անցնում են որջ հանգույցով, իսկ գերմինատիվ կենտրոնների լուսավոր գոտին ուղղված է դեպի տրաբեկուլները՝ հաճախ լիմֆոցիտների պսակի հետ միասին: Ինչպես ցույց են տվել Բաումը և Գրաունը, խոզերի մոտ ավիշը հանգույց է թափանցում ոչ թե հանգույցի ուռուցիկ կողմից, այլ դրունքով և տրաբեկուլներով, իսկ դուրս գալիս՝ պերիֆերիայից [7]:

Ավշային հանգույցների հիմնական ֆունկցիան ֆիլտրումն է և ֆագոցիտոզը, ինչպես նաև լիմֆոպոեզը և իմունոլոգիական պաշտպանությունը:

Աֆրիկյան ժանտախտով վարակված խոզերի մոտ նկատվում է ջերմության բարձրացում, անորթքսիա, մաշկի ցիանոզ, սրտի զարկերի և շնչառության հաճախականության մեծացում: Հիվանդությանը բնորոշ է վիրեմիա, ներքին օրգանների համակարգային ախտահարումներ և մահ [4,10]:

Վարակված խոզերի մոտ նախկինում ուսումնասիրվել են ավշային հանգույցների ախտահարումները [2,4,10], սակայն գենոտիպ II վիրուսի դեպքում ուսումնասիրությունները կատարվում են առաջին անգամ: Մեր նպատակն է ուսումնասիրել խոզերի ավշային հանգույցների հյուսվածաբանական և ախտաանատոմիական փոփոխությունները խոզերի աֆրիկյան սուր ժանտախտի (ախտահարված գենոտիպ II վիրուսով) դինամիկայում:

Նյութ և մեթոդ: Խոզերին վարակել են կիրառելով աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսը (գենոտիպ II): Վիրուսի տիտրը յուրաքանչյուր ներմկանային ներարկման համար կազմում էր 10^4 50% հեմադսորբցիոն դոզա (HAD50)/մլ: Վարակի ընթացքում կատարվել է վիրուսի տիտրում և ներկայացվել որպես \log_{10} HAD50/մլ [5]:

Հետազոտությունների համար օգտագործվել են նույն տարիքի (3 ամսական) և 30-33 կգ բաշով 12 առողջ խոզ (Landrace breed) [8]:

Բոլոր խոզերից մինչև ներարկումը վերցվել են արյան նմուշներ ստուգիչ արժեքների համար՝ պահպանելով հեմոլիզից և հյուսվածքների վարակումից խուսափելու պայմանները: Արյան նմուշները վերցվել են առաջնային սիներակից [11]:

10 խոզ վարակվել են ներմկանային ներարկման ճանապարհով, իսկ երկուսը, որոնց ներմկանային ներարկվել է 0,1 մլ ֆիզ. լուծույթ, օգտագործվել են որպես չվարակված ստուգիչ խումբ [6]: Կենդանիների խնամքը և էֆթանագիան կատարվել է համաձայն ամերիկյան անասնաբույժների բժշկական ասոցիացիայի էֆթանագիայի մասին ուղեցույցի և կենդանիների խնամքի ու կիրառման ուղեցույցի (ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտի ներինստիտուտային վերահսկող խորհրդի/էթիկայի անկախ կոմիտեի, ՆԻՎԽ00004079):

Վարակված և ստուգիչ խմբի խոզերի էֆթանագիան կատարվել է ածխածնի երկօքսիդի ինհալացիայի միջոցով (75-80% ածխածնի երկօքսիդ 20 րոպեում):

Հյուսվածաբանական հետազոտությունների համար վերցված ավշային հանգույցները ֆիքսվել են ֆորմալինի 10%-անոց չեզոք լուծույթում, ապա կարծրացվել պարաֆինով: Պատրաստվել են 4-5 մկմ հաստությամբ լայնական կտրվածքներ ռոտորային միկրոտոմով:

Պրեպարատները ներկվել են հեմատոքսիլին եոզինով, ուսումնասիրվել են Leica DM1000 մանրադիտակով, արվել են միկրոֆոտոլուսանկարներ Leica DMA թվային ֆոտոդիջիտով:

Վիճակագրական վերլուծությունը կատարվել է ըստ Student's t-test-ի:

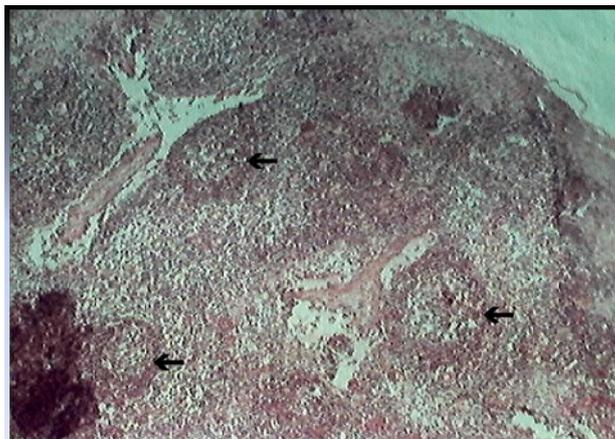
Արդյունքներ և բննարկում: Աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսով վարակված խոզերի մոտ առաջին կլինիկական ախտանշաններն ի հայտ են գալիս վարակումից 2-3 օր հետո ախորժակի անկումով, դեպրեսիայով: 2-4-րդ օրերի ընթացքում դիտվում է հիպերթերմիա՝ մինչև 40°C: Միևնույն ժամանակ նկատվում են վարքի անկում, դժվարություն շնչառության պրոցեսում և մաշկի կարմրություն: Վարակելուց 5-6 օր հետո խոզերի մոտ նկատվում է արյունային լուծ (միայն 20% դեպքերում) և որոշ խոզերի մոտ կոմատոզ վիճակ: Բոլոր վարակված խոզերը էֆթանագիայի են ենթարկվել 6-7-րդ օրը: Եթե առաջին կլինիկական ախտանշաններն ի հայտ են գալիս միայն 2-3-րդ օրը, ապա վիրեմիան նկատվում է արդեն վարակումից հետո 1-2-րդ օրերին և հասնում է իր գագաթնակետին 5-6-րդ օրերին: Բոլոր վարակված խոզերի մոտ արյան շիճուկում վիրուսի բարձր տիտր (մինչև 104-105HAD) գրանցվել է 1-ին օրից մինչև հիվանդության տերմինալ փուլը ($p < 0,05-0,01$):

Չերձման արդյունքում ավշային հանգույցներում հայտնաբերվել են մասնակի արյունազեղումներ, սկսած հիվանդության 3-րդ օրից, իսկ հիվանդության ավելի ուշ շրջանում ախտահարված էին ավշային հանգույցների մեծ մասը: Ախտահարված ավշային հանգույցներն ունեն մուգ կապույտ գույն, իսկ լայնական կտրվածքում նկատելի են մասնակի կամ միախառնված արյունազեղումներ (սկ. 1): Սոմատիկ և վիսցերալ ավշային հանգույցների ախտաանատոմիական հետազոտություններում հայտնաբերված փոփոխությունները սկզբում բնութագրվում են սերոզ, ապա սերոզ-հեմորագիկ և հեմորագիկ լիմֆոցիտոզով:



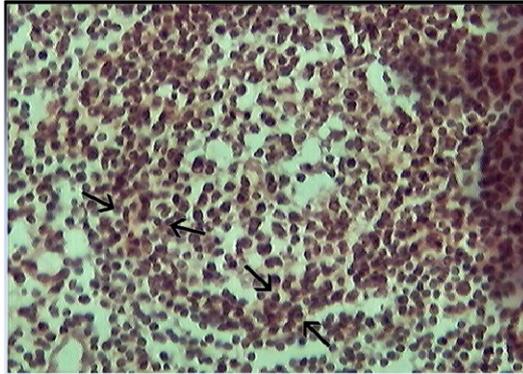
Սկ. 1. Ախտահարված ավշային հանգույց գանգվածային արյունազեղումներով

Ավշային հանգույցների հյուսվածաբանական հետազոտություններում լավ տեսանելի են ավշային ֆոլիկուլները բազմացման կենտրոններով (սկ. 2):



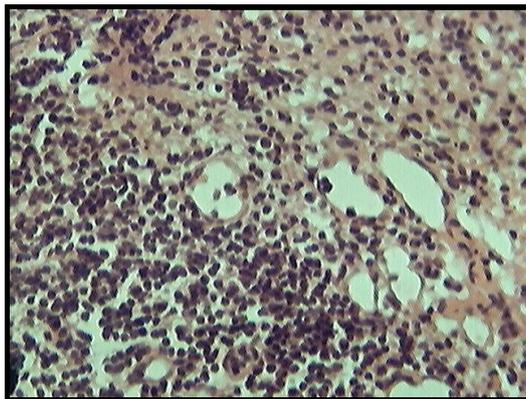
Սկ. 2. Ավշային ֆոլիկուլ բազմացման կենտրոնով, օր x 4, օկ. x 10 (ավշային ֆոլիկուլների բազմացման կենտրոնները նշված են սլաքներով)

Վարակման 3-րդ օրից սկսած ավշային հանգույցներում մանրադիտակային հետազոտությունների արդյունքում հայտնաբերվում են ախտաբանական փոփոխություններ: Առաջնային ախտաբանական փոփոխությունները բնութագրվում են էրիթրոցիտների ներթափանցման և պարենխիմային բջիջների նվազման պատկերով (նկ. 3):



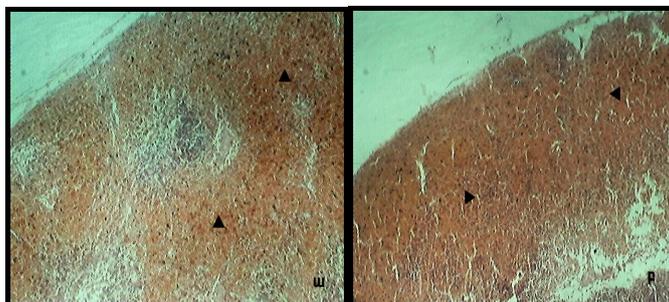
Նկ. 3. Ախտահարված ավշային հանգույցը հիվանդության 3-րդ օրը, օբ x 25, օկ. x 10 (էրիթրոցիտների ներթափանցումը նշված է սլաքներով)

Պարենխիմայում շատանում են ախտահարված և քայքայված բջիջների թիվը (նկ. 4):



Նկ. 4. Ախտահարված բջիջներն ավշային հանգույցում, օբ x 25, օկ. x 10

Հիվանդության ավելի ուշ փուլերում ավշային հանգույցներում հայտնաբերվում է հեմորագիկ լիմֆադենիտ (նկ. 5ա, բ):



Նկ.5. Հեմորագիկ լիմֆադենիտ (ավշային հանգույցի բորբոքում) հիվանդության 4-րդ (ա) և 6-րդ (բ) օրը, օբ x 4, օկ. x 10 (նշված է սլաքներով)

Արյունազեղումների ինտենսիվությունը մեծանում է և հիվանդության տերմինալ փուլում տարբեր աստիճանով ախտահարված են լինում ավշային հանգույցների 60 %-ից ավելին: Որոշ ավշային հանգույցներում հանդիպում է նաև հիպերպլազիա, որը, հավանաբար, հանդիսանում է կոմպենսատոր ռեակցիա: Որոշ դեպքերում հիպերպլազիան ավշային ֆոլիկուլների դատարկման հետևանքով փոխարինվում է հիպոպլազիայով: Ավշային ֆոլիկուլներում նկատվում են արյունազեղումներ:

Այսպիսով, մեր կողմից կատարված աշխատանքում ցույց է տրված, որ խոզերի աֆրիկյան սուր ժանտախտ հիվանդության ամենավաղ փուլերից սկսած (2-3-րդ օր) առաջանում են ավշային հանգույցների ախտահարումներ՝ մասնակի, իսկ հետագայում զանգվածային արյունազեղումների տեսքով: Նկարագրվել է նաև ավշային ֆոլիկուլների հիպերպլազիա, որն ավելի ուշ փուլերում լիմֆատիկ բջիջների արտամղման հետևանքով փոխվում է հիպոպլազիայի:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Макаров В.В.* Африканская чума свиней, Российский университет дружбы народов, М., 2011.
2. *Anderson E.C.* African swine fever: Current concepts on its pathogenesis and immunology. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 5, 2, 477-486, 1986.
3. *Bims R.M. and Hall J.G.* The Paucity of lymphocytes in the lymph of unanaesthetised pigs. The British Journal of Experimental Pathology, 47, 3, 275-280, 1966.
4. *Carrasco L., Chacón-M de Lara F., Martín de Las Mulas J., Gómez-Villamandos J.C., Sierra M.A., Villeda C.J., Wilkinson P.J.* Ultrastructural changes related to the lymph node haemorrhages in acute African swine fever. Res Vet Sci., 62, 3, 199-204, 1997.
5. *Enjuanes L., Carrascosa A.L., Moreno M.A., Viñuela E.* Titration of African swine fever (ASF) virus. J Gen Virol. 32, 471-477, 1976.
6. *Howey E.B., O'Donnell V., de Carvalho Ferreira H.C., Borca M.V., Arzt J.* Pathogenesis of highly virulent African swine fever virus in domestic pigs exposed via intraoropharyngeal, intranasopharyngeal, and intramuscular inoculation, and by direct contact with infected pigs. Virus Res. 2013 Dec 26;178(2):328-39. doi: 10.1016/j.virusres.2013.09.024. Epub 2013 Sep 26.
7. *Hunt A.C.* Micro-anatomy of the lymph nodes of the pig. British Journal of Experimental Pathology, XLIX, 4, 338-339, 1968.
8. *Karalyan Z., Zakaryan H., Arzumanyan H., Sargsyan K., Voskanyan H., Hakobyan L., Abroyan L., Avetisyan A., Karalova E.* Pathology of porcine peripheral white blood cells during infection with African swine fever virus. BMC Vet Res. 28;8:18. doi: 10.1186/1746-6148-8-18, 2012 Feb.
9. *Maurer F.D., Griesmer R.A. and Jones T.C.* The pathology of African swine fever – a comparison with hog cholera. Am. J. vet. Res., 19, 517-593, 1958.
10. *Rodríguez F, Fernández A, Martín de las Mulas JP, Sierra MA, Jover A.* African swine fever: morphopathology of a viral haemorrhagic disease. Vet Rec., 139, 11, 249-54, 1996.
11. *Zhang W.R., Ku P.K., Miller E.R. and Ullrey D.E.* Stability of glutathione peroxidase in swine plasma samples under various storage conditions. Can. J. Vet. Res., 50, 390-392, 1986.

Ստացվել է 24.03.2014



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(66), 2014

ԳՎԱՌԱԳԵՏ ԵՎ ՄԱՍՐԻԿ ԳԵՏԵՐԻ ՖԻՏՈՊԼԱՆԿՏՈՆԱՅԻՆ ՀԱՄԱԿԵՑՈՒԹՅԱՆ ԶԱՆԱԿԱԿԱՆ ՉԱՐԳԱՑՄԱՆ ԿԱԽՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆ ՄԻՋՎԱՅՐԻ ՈՐՈՇ ԱԲԻՈՏԻԿ ԳՈՐԾՈՆՆԵՐԻՑ

Թ.Գ. ԽԱՉԻԿՅԱՆ, Լ.Ո. ՀԱՄԲԱՐՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Կենդանաբանության և հիդրոէկոլոգիայի գիտական կենտրոնի
Հիդրոէկոլոգիայի և ձկնաբանության ինստիտուտ
tkhachikyan@mail.ru

2008-2011 թթ. կատարվել են Գավառագետ և Մասրիկ գետերի ֆիտոպլանկտոնային համակցության հետազոտություններ: Տեսակային բազմազանությամբ և քանակական ցուցանիշներով գետերում գերակայել են դիատոմային ջրիմուռները: Զանազան ցուցանիշներով ենթադրվում են կապտականաչ, իսկ տեսակային բազմազանությամբ՝ կանաչ ջրիմուռները: Կորելյացիոն վերլուծության արդյունքում բացահայտվել են ֆիտոպլանկտոնային համակցության առանձին խմբերի քանակական ցուցանիշների և միջավայրի որոշ աբիոտիկ գործոնների միջև գոյություն ունեցող կապերը:

Գետեր – ֆիտոպլանկտոն – աբիոտիկ գործոններ – կորելյացիոն-ռեգրեսիոն վերլուծություն

Проведены исследования фитопланктонного сообщества рек Гаварагет и Масрик в период с 2008-2011 гг.. По видовому разнообразию и количественным показателям в фитопланктоне рек преобладали диатомовые водоросли. Субдоминантной группой в сообществе по количественным показателям являлись сине-зеленые водоросли, а по видовому разнообразию – зеленые. В результате проведенного корреляционного анализа выявлена зависимость между количественными показателями фитопланктонного сообщества, его отдельными группами и некоторыми абиотическими факторами среды.

Реки – фитопланктон – абиотические факторы – корреляционно-регрессионный анализ

The studies of phytoplankton communities in Gavaraget and Masrik rivers were carried out in 2008-2011. Diatom algae dominated on a quantitative variety and quality indicators – in the rivers. The blue green algae prevailed by quantitative indices, and green algae – on a specific variety. The existing communication has been revealed between quantitative indices of separate groups of phytoplankton communities and some abiotic factors of the environment as a result of the correlation analysis.

Rivers – phytoplankton – abiotic factors – correlation-regression analysis

Ֆիտոպլանկտոնը, հանդիսանալով ջրային էկոհամակարգերի տրոֆիկ շղթայի առաջնային օղակ, բավականին արագ է արձագանքում միջավայրի պայմանների փոփոխությանը: Ջրիմուռների տեսակային կազմը հանդիսանում է բազմաթիվ գործոնների համատեղ ազդեցության ինտեգրալ ցուցանիշ, որը բնութագրում է ջրային համակարգերի վիճակը, տրոֆայնության մակարդակը և ջրերի աղտոտվածության աստիճանը [5]: Միջավայրի պայմանների փոփոխությունը հանգեցնում է ֆիտոպլանկտոնային համակցության ոչ միայն տեսակային կազմի, այլև առանձին տեսակների և խմբերի քանակական ցուցանիշների փոփոխմանը [16]: Պլանկտոնային ջրիմուռների զարգացման համար միջավայրի աբիոտիկ գործոններից կարևոր նշանակություն ունեն ջրի ջերմաստիճանը, ջրածնային ցուցիչը, կենսածին տարրերի՝ հատկապես ազոտի և ֆոսֆորի քանակությունները [13]:

2008-2011 թթ. Գավառագետ և Մասրիկ գետերում կատարվել են ֆիտոպլանկտոնային համակեցության հետազոտություններ: Ֆիտոպլանկտոնի զարգացման վրա նշված գործոնների ազդեցությունը բացահայտելու նպատակով կատարվել է կոռելյացիոն վերլուծություն ֆիտոպլանկտոնային համակեցության առանձին խմբերի բանակական ցուցանիշների և նշված աբիոտիկ գործոնների միջին սեզոնային մեծությունների միջև:

Գավառագետը սկիզբ է առնում Գեղամա լեռնավահանի հյուսիսային լանջերից 3050 մ բարձրությունից և թափվում Փոքր Սևան: Երկարությունը 50 կմ է, ջրհավաք ավազանը՝ 480 կմ²: Սևումը հիմնականում (83%) ստորերկրյա է, վարարումը՝ ապրիլ-հունիսին: Տարեկան միջին ծախսը 3.82 մ³/վ է, հոսքը՝ 120.6 մլն. մ³ [2]: Մասրիկ գետը Սևանա լճի ամենաջրառատ վտակներից է, որը սկիզբ է առնում Վարդենիսի լեռնավանդակի 2880 մ բարձրությունից: Գետի երկարությունը 45 կմ է, իսկ ջրհավաք ավազանի մակերեսը՝ 685 կմ²: Գետը սնվում է հալոցքային ջրերով: Տարեկան միջին ծախսը 3.97 մ³/վ է, հոսքը՝ 125 մլն. մ³ [2]: Մասրիկ գետը թափվում է Մեծ Սևան:

Նյութ և մեթոդ: Աշխատանքի համար նյութ են ծառայել 2008-2011 թթ. ընթացքում (մարտ-նոյեմբեր) Սևանա լիճ թափվող Գավառագետ և Մասրիկ գետերից վերցված փորձամուշները: Փորձամուշների նախնական և հետագա լաբորատոր մշակումները կատարվել են ջրակենսաբանության մեջ ընդունված մեթոդներով [3]: Ուսումնասիրվել է ֆիտոպլանկտոնային համակեցության որակական և քանակական կազմը: Ջրիմուռների տեսակային կազմի որոշումը կատարվել է տեսակի իդենտիֆիկացման համընդհանուր ճանաչում գտած որոշիչների և ուղեցույցների օգնությամբ [4, 7, 15, 20]:

Ջրաքիմիական (рН, N[NH₄⁺], N[NO₂], N[NO₃], N_{հալք.}, P_{հալք.}) և ջրաֆիզիկական (ջերմաստիճան) տվյալները տրամադրվել են ՀՀ Բնապահպանության նախարարության «Շրջակա միջավայրի վրա ներգործության մոնիտորինգի կենտրոնի կողմից» (Հայէկոմոնիտորինգ, 2008-2011 թթ.):

Տվյալների վիճակագրական վերլուծությունը կատարվել է Statistica 6.0 ծրագրային փաթեթի օգնությամբ:

Արդյունքներ և քննարկում: 2008-2011 թթ. հետազոտման ընթացքում Գավառագետում հայտնաբերվել է պլանկտոնային ջրիմուռների 71 տեսակ, որոնցից 54-ը՝ դիատոմային (Bacillariophyta), 9-ը՝ կանաչ (Chlorophyta), 8-ը՝ կապտականաչ (Cyanophyta): Ֆիտոպլանկտոնի ընդհանուր թվաքանակը տատանվել է 16000-456000 քջ/լ, իսկ կենսազանգվածը՝ 0.05-2.4 գ/մ³ տիրույթում: Տեսակային բազմազանությամբ և քանակական ցուցանիշներով (4000-240000 քջ/լ, 0.09-2.2 գ/մ³) հիմնականում գերակայել են դիատոմային ջրիմուռները, ինչն էլ բնորոշ է լեռնային գետերի ֆիտոպլանկտոնին [6, 10, 12, 14]: Ի տարբերություն կանաչ և կապտականաչ ջրիմուռների, դիատոմային ջրիմուռներն առավել լավ են հարմարված գետային բիոտոպին և որոշակի ադապտացիոն մեխանիզմների շնորհիվ կարողանում են գոյատևել բիոտոպի ոչ կայուն ջրաբանական պայմաններում: Հիմնականում զարգացել են *Navicula*, *Fragilaria*, *Pinnularia*, *Melosira*, *Cocconeis* և *Cymbella* ցեղերի տեսակները:

Կապտականաչ ջրիմուռները քանակական ցուցանիշներով հանդիսացել են ենթադոմինանտ խումբ (4000-140000 քջ/լ, 0.009-0.5 գ/մ³), առավել հաճախակի արձանագրվել են *Aphanotece clathrata* և *Microcystis aeruginosa* տեսակները: Կանաչ ջրիմուռները գարնանը և աշնանը ֆիտոպլանկտոնի ընդհանուր քանակական ցուցանիշներում ունեցել են փոքր ներդրում, մինչդեռ ամռան ամիսներին նկատվել է տեսակային բազմազանության և քանակական ցուցանիշների մեծացում, ինչն էլ, հավանաբար, կապված է ամռանը գետի հոսքի արագության փոքրացման հետ: Արձանագրվել են *Oocystis*, *Scenedesmus*, *Coelastrum* և *Ankistrodesmus* ցեղերի տեսակները:

Մասրիկ գետում հետազոտման ընթացքում գրանցվել է պլանկտոնային ջրիմուռների 117 տեսակ, որոնցից 82-ը՝ դիատոմային (Bacillariophyta), 22-ը՝ կանաչ (Chlorophyta), 12-ը՝ կապտականաչ (Cyanophyta) և 1-ը՝ դեղնականաչ (Xanthophyta): Ֆիտոպլանկտոնային համակեցության ընդհանուր թվաքանակը տատանվել է 64000-1460000 քջ/լ, իսկ կենսազանգվածը՝ 0.3-10.5 գ/մ³ տիրույթում: Դիատոմային ջրիմուռները գերակայել են ոչ միայն տեսակային բազմազանությամբ, այլ նաև՝ քանակական ցուցանիշներով (28000-1208000 քջ/լ, 0.22-9.6 գ/մ³): Գերակշռել են *Navicula*, *Fragilaria*, *Diatoma*, *Pinnularia*, *Cymbella*, *Melosira*, *Cocconeis* և *Rhoicosphenia* ցեղերի տեսակները: Կապտականաչ ջրիմուռները քանակական ցուցանիշներով եղել են ենթադոմինանտ (12000-272000 քջ/լ, 0.03-0.7 գ/մ³), չնայած ներկայացել են համեմատաբար աղքատ տեսակային կազմով: Դեղնականաչ մշտական ներկայացուցիչներն են եղել *Aphanotece clathrata* և *Microcystis aeruginosa* տեսակները: Արձանագրվել են նաև *Aphanizomenon flos-aquae*, *Oscillatoria limosa*, *Os. limnetica*, *Phormidium foveolarum*, *Ph. papyraceum*, *Spirulina sp.* և այլ տեսակներ:

Կանաչ ջրիմուռները տեսակային բազմազանությամբ զբաղեցրել են երկրորդ տեղը, մինչդեռ ֆիտոպլանկտոնի ընդհանուր բանական ցուցանիշներում ունեցել են համեմատաբար փոքր ներդրում: 2011 թ. ամռանը դիտվել է բացառություն, երբ կենսազանգվածով գերակայել են կանաչ ջրիմուռները (1.1 գ/մ³): Դա պայմանավորված է եղել *Pandorina morum* խոշոր գաղութային տեսակի զարգացմամբ [1]: Կանաչ ջրիմուռներից արձանագրվել են նաև *Binuclearia lauterbornii*, *Ankistrodesmus falcatus*, *Closterium acutum*, *Oocystis borgei*, *Scenedesmus obliquus* և այլ տեսակներ:

2008-2011 թթ. միջինացված արժեքներով Գավառագետում ջրի ջերմաստիճանը տատանվել են 6.5-9.3⁰C (աղ. 1), իսկ Մասրիկ գետում՝ 8-14.7⁰C տիրույթում (աղ. 2): Ջերմաստիճանը պլանկտոնային ջրիմուռների զարգացման համար կարևոր գործոն է, քանի որ այն ազդում է ջրիմուռների բջիջների ֆունկցիոնալ ակտիվության վրա և կարող է արագացնել կամ դանդաղեցնել կյուբափոխանակության պրոցեսները [9]: Ջերմաստիճանի բարձր արժեքները նպաստավոր են հատկապես կապտականաչ և կանաչ ջրիմուռների զարգացման համար:

Գավառագետում ջրածնական ցուցիչի արժեքները տատանվել են 7.4-7.3, իսկ Մասրիկ գետում՝ 7.9-8.1 տիրույթում (աղ. 1, 2): Ջրածնական ցուցիչը կարևոր ջրաէկոլոգիական ցուցանիշ է, որի արժեքից է կախված ջրային էկոհամակարգերում պլանկտոնային ջրիմուռների կենսագործունեությունը, ինչպես նաև ռեոպլանկտոնում ջրիմուռների ալկալաֆիլ, ինդիֆերենտ և ացիդոֆիլ տեսակների առկայությունն ու հարաբերակցությունը:

Հետազոտության արդյունքները ներկայացված են աղ. 1, 2, 3, 4-ում:

Աղյուսակ 1. Գավառագետի ջրաֆիզիկական և ջրաքիմիական որոշ ցուցանիշների 2008-2011 թթ. միջին սեզոնային արժեքները

	T, °C	pH	N[NH ₄ ⁺]	N[NO ₂]	N[NO ₃]	N _{total}	P _{total}
Գարուն	6.5	7.5	0.27	0.024	2.63	2.9	0.45
Ամառ	9.3	7.7	0.2	0.04	2.8	3.04	0.5
Աշուն	6.8	7.4	0.17	0.02	3	3.2	0.7

Աղյուսակ 2. Մասրիկ գետի ջրաֆիզիկական և ջրաքիմիական որոշ ցուցանիշների 2008-2011 թթ. միջին սեզոնային արժեքները

	T, °C	pH	N[NH ₄ ⁺]	N[NO ₂]	N[NO ₃]	N _{total}	P _{total}
Գարուն	8.05	8	0.3	0.014	1.125	1.43	0.23
Ամառ	14.7	8.1	0.2	0.04	1.115	1.35	0.18
Աշուն	8.5	7.9	0.11	0.02	1.01	1.14	0.18

Կենսածին տարրերից ջրային էկոհամակարգերի համար հատկապես կարևորվում է ազոտի և ֆոսֆորի դերը: Տարբեր հեղինակներ ուսումնասիրել են կենսածին տարրերի ազդեցությունը պլանկտոնային ջրիմուռների զարգացման վրա, սակայն ըստ Յոնգի [21] ֆիտոպլանկտոնային համակեցության և կենսածինների միջև փոխհարաբերությունները դեռևս վերջնականապես պարզաբանված չեն, քանի որ միևնույն կենսածինի ազդեցության վերաբերյալ տարբեր հետազոտողների մոտ կարծիքները հակասական են:

Գավառագետում հանքային ազոտի և ֆոսֆորի առավել բարձր ցուցանիշներ գրանցվել են աշնանը (աղ. 1), իսկ Մասրիկ գետում՝ գարնանը (աղ. 2): Մակերևութային ջրերում հանքային ազոտը հանդիպում է ամոնիումային՝ NH₄⁺, նիտրիտային՝ NO₂⁻ և նիտրատային՝ NO₃⁻ իոնների ձևով: Գետերին առավել բնորոշ են նիտրատները, ջրի ինտենսիվ խառնման և օդափոխման պայմաններում ամոնիումային և նիտրիտային իոնները առավել անկայուն են [11]:

Ջրիմուռները առավել լավ յուրացնում են նիտրատային և ամոնիումային ազոտը, սակայն կարող են յուրացնել նաև նիտրիտային ազոտ [9]: Կենսածին տարրերի և նրանց տարբեր ձևերի նկատմամբ պահանջարկը կախված է ջրիմուռների տեսակային պատկանելիությունից: Ֆիտոպլանկտոնի զարգացման համար ազոտը և ֆոսֆորը կարող են հանդիսանալ սահմանափակող գործոն [13]:

Գավառագետի ֆիտոպլանկտոնային համակեցության առանձին խմբերի քանակական ցուցանիշների, ջրի ջերմաստիճանի, ինչպես նաև ջրաքիմիական արժեքների (pH, N[NH₄⁺], N[NO₂], N[NO₃], N_{հսւթ.}, P_{հսւթ.}) միջին սեզոնային մեծությունների միջև կատարած կոռելյացիոն վերլուծության արդյունքում ուղիղ կապ է բացահայտվել դիատոմային ջրիմուռների թվաքանակի և հանքային ֆոսֆորի քանակության սեզոնային փոփոխությունների միջև, հակառակ կապ՝ pH-ի արժեքների սեզոնային փոփոխությունների հետ: Դիատոմային ջրիմուռների կենսազանգվածի և հանքային ֆոսֆորի, ամոնիումային իոնների քանակության սեզոնային փոփոխությունների հետ ևս դիտվել է ուղիղ կախվածություն (աղ. 3): Կապտականաչ ջրիմուռների թվաքանակի և pH-ի միջև դիտվել է հակառակ կապ, իսկ կենսազանգվածի և ջերմաստիճանի միջև՝ ուղիղ կապ: Կանաչ ջրիմուռների և կոռելյացիոն վերլուծության ենթարկված արհիտիկ գործոնների միջև որոշակի կապեր չեն արձանագրվել:

Աղյուսակ 3. Գավառագետի ֆիտոպլանկտոնային համակեցության և միջավայրի որոշ արհիտիկ գործոնների միջև կոռելյացիոն-ռեգրեսիոն վերլուծության արդյունքները

Գավառագետ	Թվաքանակ, 10 ³ բջ/լ			Կենսազանգված, գ/մ ³		
	Դիատոմային	Կապտականաչ	Կանաչ	Դիատոմային	Կապտականաչ	Կանաչ
T, °C	-0.36	0.2	-0.05	-0.18	0.86	-0.11
pH	-0.5	-0.5	0.09	-0.4	-0.02	0.11
N[NH ₄ ⁺]	0.33	0.3	-0.03	0.54	0.14	-0.09
N[NO ₂]	-0.39	-0.14	0.001	-0.02	-0.01	0.03
N[NO ₃]	0.33	-0.23	0.07	-0.07	-0.41	0.09
N _{հսւթ.}	0.4	-0.21	0.06	-0.01	-0.43	0.09
P _{հսւթ.}	0.67	0.35	0.07	0.5	-0.28	0.09

Մասրիկ գետում դիատոմային ջրիմուռների թվաքանակի և կենսազանգվածի սեզոնային փոփոխության ուղիղ կապ է գրանցվել հանքային ֆոսֆորի, հանքային ազոտի և նիտրատների քանակության սեզոնային փոփոխությունների միջև (աղ. 4): Ըստ Պիրսելի հետազոտությունների [18], ջրում նիտրատների և ֆոսֆատների առատությունը նպաստում է դիատոմային ջրիմուռների զարգացմանը:

Աղյուսակ 4. Մասրիկ գետի ֆիտոպլանկտոնային համակեցության և միջավայրի որոշ արհիտիկ գործոնների միջև կոռելյացիոն-ռեգրեսիոն վերլուծության արդյունքները

Մասրիկ	Թվաքանակ, 10 ³ բջ/լ			Կենսազանգված, գ/մ ³		
	Դիատոմային	Կապտականաչ	Կանաչ	Դիատոմային	Կապտականաչ	Կանաչ
T, °C	-0.11	0.27	0.33	-0.06	0.43	0.3
pH	-0.003	-0.07	-0.15	-0.06	0.32	-0.09
N[NH ₄ ⁺]	0.33	0.21	-0.19	0.28	0.32	-0.18
N[NO ₂]	-0.003	0.23	-0.02	0.05	0.4	-0.11
N[NO ₃]	0.57	0.3	-0.13	0.6	0.4	-0.37
N _{հսւթ.}	0.6	0.33	-0.14	0.6	0.5	-0.34
P _{հսւթ.}	0.67	0.32	-0.14	0.59	0.55	-0.17

Կապտականաչ ջրիմուռների կենսազանգվածի սեզոնային փոփոխության ուղիղ կապ է գրանցվել հանքային ֆոսֆորի և հանքային ազոտի սեզոնային փոփոխությունների միջև (աղ. 4): Ըստ Ռեյնոլդսի [19], կապտականաչ ջրիմուռները պահանջկոտ են ֆոսֆորի նկատմամբ, մինչդեռ համաձայն այլ հետազոտողների, կապտականաչ ջրիմուռների և ֆոսֆորի քանակության միջև որոշակի կախվածություն չի նկատվում [17]:

Մասրիկ գետում կանաչ ջրիմուռների բանակական ցուցանիշների և միջավայրի ընտրված աբիոտիկ գործոնների միջև դիտվել են հիմնականում թույլ կապեր:

Այսպիսով, հետազոտությունների վերլուծությունների արդյունքները ցույց են տվել, որ Գավառագետ և Մասրիկ գետերում տեսակային բազմազանությամբ և բանակական ցուցանիշներով գերակայել են դիատոմային ջրիմուռները, ինչն էլ բնորոշ է լեռնային գետերի ֆիտոպլանկտոնին: Զանազան ցուցանիշներով ենթադրմանատ են հանդիսացել կապտականաչ, իսկ տեսակային բազմազանությամբ՝ կանաչ ջրիմուռները:

Առավել լավ հարմարված լինելով ռեոպլանկտոնին, դիատոմային ջրիմուռների բանակական զարգացումը պայմանավորված է եղել հիմնականում հանքային ֆոսֆորի, ազոտի, նիտրատների և ամոնիումային իոնների արժեքների սեզոնային փոփոխություններով:

Գավառագետում կապտականաչ ջրիմուռների կենսազանգվածի փոփոխությունները կախված են եղել ջրի ջերմաստիճանի, իսկ Մասրիկ գետում՝ հանքային ֆոսֆորի և ազոտի բանակությունների սեզոնային փոփոխություններից: Սա, հավանաբար, բացատրվում է նրանով, որ Գավառագետում ջրի ջերմաստիճանը եղել է համեմատաբար ցածր, մինչդեռ կենսածինների բանակությունները եղել են առավել բարձր և կապտականաչ ջրիմուռների զարգացման համար նպաստավոր: Մասրիկ գետում դիտվել է հակառակ պատկեր:

Կանաչ ջրիմուռների և միջավայրի աբիոտիկ գործոնների միջև կոռելյացիոն կապերը եղել են առավել թույլ կամ բացակայել են, ինչը փաստում է այն մասին, որ գետերում ջրիմուռների այս խմբի զարգացումը հիմնականում պայմանավորված է եղել հիդրոդինամիկ ռեժիմի ազդեցությամբ: Վերջինս էլ, հավանաբար, հանդիսացել է նրանց զարգացումը սահմանափակող գործոն:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Խաչիկյան Թ.Գ., Համբարյան Լ.Ռ.* Սևանա լճի հիմնական վտակների ֆիտոպլանկտոնային համակենցության բնութագիրը: Կենսաբազմազանություն ու վայրի բնության պահպանության էկոլոգիական հիմնախնդիրներ, Երևան, էջ 127-130, 2013:
2. Հայաստանի բնաշխարհ: Հայկական հանրագիտարան: Երևան, 691 էջ, 2006:
3. *Абакумов В.А.* Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений. Л., “Гидрометеоздат”, с. 78-86, 1983.
4. *Баринова С.С., Медведева Л.А.* Атлас водорослей - индикаторов сапробности. (российский Дальний Восток). Владивосток. Дальнаука, 364 с, 1996.
5. *Васильева-Кралина И.И.* Состав и динамика развития водорослей озер г. Якутска и его окрестностей (среднее течение реки Лены). Альгология. 7, 1, с. 30-34, 1997.
6. *Ермолаев В.И.* Фитопланктон р. Пясины (Западный Таймыр). Новые данные о фитогеографии Сибири. Новосибирск, Наука, с. 16-29, 1981.
7. *Киселев И.А., Зинова А.Д., Курсанов Л.И.* Определитель низших растений. Водоросли. М., Сов. Наука, 2, 312 с., 1953.
8. *Курейшевич В.А., Гусейнова В.П., Сакевич А.И.* Влияние метаболитов водорослей на качество воды в условиях действия природных и антропогенных факторов. Гидробиол. журн. 39, 6, с. 57-72, 2003.
9. *Михеева Т.М.* Сукцессия видов в фитопланктоне: определяющие факторы. Минск, 72 с., 1983.
10. *Никулина Т.В.* Таксономическая структура и эколого-географическая характеристика альгофлоры бассейна реки Раздольной (Приморье). Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова, Вып. 3, с. 223-236, 2005.
11. *Никаноров А.М.* Гидрохимия. Санкт-Петербург. Гидрометеозд., с. 226-245, 2001.
12. *Порецкий В.С., Шишукова В.С.* Диатомовые Телецкого озера и связанных с ним рек. Диатомовый сборник. Л., Изд-во Ленингр. ун-та, с. 107-172, 1953.
13. *Судницына Д.Н.* Экология водорослей Псковской области. Псков, 120 с., 2005.
14. *Харитонов В.Г.* Диатомовые водоросли бассейна р. Анадырь (Чукотский автономный округ). Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Л., 20 с., 1981.
15. *Царенко П.М.* Краткий определитель хлорококковых водорослей Украинской ССР. “Наукова думка”. 206 с., 1990,.
16. *Hecky R. Kilham P.* Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: a review of recent evidence on the effects enrichment. Limnology and Oceanography. pp. 796-822, 1988.

17. *Hegewald E., Hesse M., Jeeti-Bai N.* Okologische und physiologische Studien an Planktonalgen aus ungarischen Gewässern. Arch. Hydrobiol, Suppl. 60, 2, pp. 172-201, 1981.
18. *Persall W.H.* Phytoplankton in the English lakes. The composition of the phytoplankton in relation to dissolved substances. J. Ecol., pp. 241-262, 1932.
19. *Reynolds C.S.* The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge. 384 p., 1984.
20. *Swale E.M.* Phytoplankton of two English rivers. J. Ecol., 57, 1, pp. 1-23, 1969.
21. *Young K., Morse G.K., Scrimshaw M.D., Kinniburgh J.H., MacLeod C.L., Lester J.H.* The relation between phosphorus and eutrophication in the Thames catchment. UK Science of the total Environment. pp. 157-183, 1999.

Ստացվել է 02.04.2014



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(66), 2014

ՓԱՅՃԱՂԻ ԱՆՏԱՅԱՐՈՒՄԸ ԽՈՉԵՐԻ ԱՖՐԻԿԱՆ ԺԱՆՏԱԽՏԻ (ԳԵՆՈՏԻՊ II) ԴԵՊՋՈՒՄ

Ա.Է. ՄԻՍԱԿՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտ,
Բջջի կենսաբանության և վիրուսաբանության լաբորատորիա
allamisakyan@mail.ru

Ներկայացված են տվյալներ փայծաղի ախտածնաբանական փոփոխությունների, ինչպես նաև վիրեմիայի զարգացման առանձնահատկությունների մասին ընտանի խոզերի մոտ աֆրիկյան ժանտախտի վիրուսով (գենոտիպ II) փորձարարական վարակման պայմաններում: Դրանք բնութագրվում են փայծաղի հեմորագիկ և շնահեմորագիկ սպլենիտով, որն ուղեկցվում է լիմֆոիդ ֆոլիկուլների ռեդուկցիայով, լիմֆոցիտների կարիոպիկնոզով և կարիոռեքսիսով և վաղ զարգացող վիրեմիայով, որն առավելագույն տիտրերի է հասնում վարակումից հետո 5-7-րդ օրերին:

խոզերի աֆրիկյան ժանտախտ – վիրուս II գենոտիպ – փայծաղ – վիրեմիա

Представлены данные о патоморфологических изменениях селезенки, возникающих при экспериментальной инфекции вирусом африканской чумы свиней (генотип II). Инфекция характеризовалась виремией с первых дней после инфицирования и острым течением с летальным исходом на 7-9 сут.

Для патоморфологических изменений в селезенке характерно развитие геморрагического спленита на 2-4 сут после начала инфекции. Микроскопический анализ выявил редукцию лимфоидных фолликулов на 5-7 сут после начала инфекции, а также кариопикноз и кариорексис лимфоцитов с 3 по 7 сут.

Африканская чума свиней – вирус II генотипа – селезенка – виремия

The article presents data from the experimental reproduction of African swine fever (ASF) in domestic pigs, infected with highly virulent ASF virus (genotype II). The pathomorphological changes are characterized by hemorrhagic and serohaemorrhagic affection of spleen, which accompanied with lymphoid follicle's reduction, karyopiknosis and karyorrhexis of lymphocytes, as well as early viraemia, which has high titres in 5-7 days post infection.

African Swine fever – genotype II virus – spleen – viraemia

Խոզերի աֆրիկյան ժանտախտը (ԽԱԺ) (լատ. *Pestis africana suum*) ընտանի և վայրի խոզերի սուր հպավարակային բնական օջախայնությամբ հիվանդություն է, որի հարուցիչը *Asfarviridae* ընտանիքին պատկանող *Asfarvirus* ցեղի ԴՆԹ պարունակող վիրուս է: Այն բնական կերպով բռնկվել է հարավային և արևելյան Աֆրիկայում և որպես բնական վիրուսակիրներ հանդիսանում են աֆրիկյան վայրի խոզերը, *Ornithodoros* ցեղին պատկանող արգասիդային տզերը: Գոյություն ունեն վիրուսի 22 գենոտիպեր, որոնցից ՀՀ-ում հանդիպում է բարձր վիրուլենտությամբ օժտված գենոտիպ II-ը, որը պատճառ է դառնում հիվանդության սուր ձևի զարգացման և բերում կենդանիների 100 % մահացության: Վիրուսը չի վարակում որևէ այլ կենդանատեսակի կամ մարդկանց (բացի *Ornithodoros* ցեղի տզերից):

Կապված 2007թ. Հայաստանի, ինչպես նաև Ռուսաստանի, Բելառուսի, Ուկրաինայի տարածաշրջաններ Վրաստանից խոզերի աֆրիկյան ժանտախտի (ԽԱԺ) բարձր վիրուլենտությամբ օժտված II գենոտիպով վիրուսի ներթափանցման հետ՝ ակտիվ զարգացող խոզաբուծությունը վտանգած է հետևյալ պատճառներով: ԽԱԺ-ը խիստ

հպավարակային, բարձր մահացությամբ հիվանդություն է (որոշ շտամերով վարակումից հետո կենդանի մնացած խոզերը ընդմիջտ մնում են վիրուսակիր), ձևավորվում են բնական օջախներ, չկան պատվաստանյութեր [1,8]:

ԽԱԺ-ը բնութագրվում է տենդով, արյունազեղումներով, թուլությամբ, ականջախեցիների, կրծքի, որովայնի, վերջույթների ցիանոզով [2]: Հիվանդության պաթոգենեզի հիմքում ընկած է իմունային համակարգի օրգանների լիմֆոիդ և միելոիդ հյուսվածքներում, արյունատար և լիմֆատիկ անոթների Էնդոթելային բջիջներում, մակրոֆագերում վիրուսի վերարտադրումն, որն ուղեկցվում է իմունային համակարգի օրգանների (ավշային հանգույցների, փայծաղի, ոսկրածուծի և այլն), ախտահարմամբ, մակրոֆագերի, Էնդոթելային բջիջների քայքայմամբ: Դրա հետևանքով տեղի է ունենում կենսաբանական ակտիվ միջնորդանյութերի (ցիտոկիններ, ինտերլեյկիններ, կոմպլեմենտի գործոն և այլն) ձերբագատում:

Մասնավորապես փայծաղը, լինելով իմունային համակարգի գլխավոր օրգան, առաջնահերթ ընդգրկվում է ախտահարման մեջ: Խոզերի փայծաղը՝ պատված նուրբ ֆիբրոելաստիկ պատյանով, կազմված է ռետիկուլոէնդոթելային ցանցի վրա հիմնված կարմիր և սպիտակ կակղաններից: ԽԱԺ-ի ժամանակ վիրուսի երկրորդային ռեպլիկացիան տեղի է ունենում սպիտակ կակղանի լիմֆատիկ ֆոլիկուլների շուրջը արակային լիմֆատիկ գոտիների լիմֆոցիտներում, պլազմատիկ բջիջներում, մակրոֆագերում: Վիրուսի ռեպլիկացիա տեղի է ունենում նաև կարմիր կակղանի ձգանների Էնդոթելային բջիջներում: Արդյունքում զարգանում են փայծաղի բորբոքային, դետրոլիկտիվ փոփոխություններ՝ հետևապես նաև ֆունկցիոնալ խանգարումներ:

Չնայած բազմաթիվ հետազոտությունների, այնուամենայնիվ ԽԱԺ վարակի պաթոգենեզին վերաբերող շատ հարցեր դեռևս ուսումնասիրված չեն [3]: Ուսումնասիրված են հիմնականում ԽԱԺ-ի թույլ և միջին վիրուլենտությամբ շտամերով փորձարարական վարակման պայմաններում զարգացող ախտաձևաբանական փոփոխությունները: Հետևապես, կարևոր ենք համարում ընտանի խոզերի մոտ ախտաբանական փոփոխությունների ուսումնասիրությունը գենոտիպ II վիրուսով փորձարարական վարակի պայմաններում, որն առկա է ՀՀ տարածքում:

Հետազոտության նպատակն է հայտնաբերել փայծաղի հիմնական ախտաբանական փոփոխությունները հիվանդության դինամիկայում, ինչպես նաև վիրեմիայի զարգացման առանձնահատկությունները ԽԱԺ-ի վիրուսով (գենոտիպ II) ընտանի խոզերի փորձարարական վարակի պայմաններում:

Նյութ և մեթոդ: Ընտանի խոզերի փորձարարական վարակումը կատարվել է Հայաստանի և Արաստանի տարածքում առկա ԽԱԺ-ի բարձր վիրուլենտությամբ գենոտիպ II վիրուսով: Յուրաքանչյուր ներմկանային ներարկման համար օգտագործված վիրուսի տիտրը կազմել է 10^4 50% հեմագլոբինին դոզա (HAD 50/մլ): Վիրուսի տիտրումը կատարվել է ըստ համապատասխան ցուցանիշների և ներկայացվել որպես $\log_{10}HAD50/մլ$ [4]:

Փորձի համար օգտագործվել են մինևույն տարիքի (3 ամսական) 30-33 կգ առողջ Լանդրաս ցեղատեսակի խոզեր՝ 10-ը վարակման և 2-ը ստուգիչ նպատակներով [7]: Նախապես ստուգիչ նպատակներով բոլոր խոզերից վերցվել է արյան նմուշ (4-5 մլ)՝ պահպանելով հեմոլիզից և հյուսվածքների ախտահարումից խուսափելու պայմանները: Արյան նմուշը վերցվել է առաջնային սիներակից [9]:

Տաղը խոզեր վարակվել են ներմկանային ներարկմամբ [6]: Երկու խոզերը ներարկվել է 1.0 մլ ֆիզիոլոգիական լուծույթ ն/մ՝ որպես չվարակված ստուգիչ կենդանիներ: Կենդանիների ինամբը ու էֆթանազիան կատարվել է համապատասխան AVMA էֆթանազիայի մասին ուղեցույցի և կենդանիների ինամբի ու կիրառման տեղային ուղեցույցի՝ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտի ներինստիտուտային վերահսկող խորհրդի էթիկայի անկախ կոմիտեի ՆԻՎԻ00004079 համաձայն:

Վարակումից 7 օր հետո կատարվել է վարակված, ինչպես նաև ստուգիչ կենդանիների էֆթանազիա ածխածնի երկօքսիդի ինհալացիայով (75-80 % ածխածնի երկօքսիդ 20 րոպեի ընթացքում):

Փորձի ընթացքում կատարվել է կենդանիների ամենօրյա կլինիկական զննում: Հյուսվածաբանական հետազոտման համար վերցվել է նմուշ փայծաղից, որը ֆիքսվել է ֆորմալինի 10 %-անոց չեզոք լուծույթում, կարծրացվել պարաֆինով: Պատրաստվել են 4-5 մկմ լայնական կտրվածքներ ռոտորային միկրոտոմով: Հյուսվածաբանական հետազոտության համար պրեպարատները ներկվել են հեմատոքսիլին եոզինով, ուսումնասիրվել են Leica DM1000 մանրադիտակով, արվել են միկրոֆոտոլուսանկարներ Leica DMA թվային ֆոտոսցիկով:

Վիճակագրական վերլուծությունը կատարվել է ըստ Student's t-test-ի:

Արդյունքներ և քննարկում: Փորձարարական վարակման ժամանակ (գենոտիպ II) կլինիկական ախտանշաններն որոշակիորեն տարբերվում են նախորդ հետազոտու-

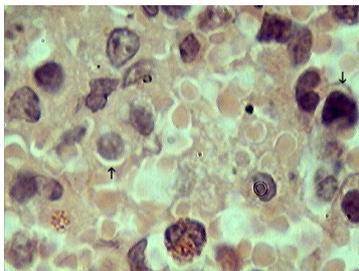
թյան ժամանակ ստացված տվյալներից, որը կատարվել է վիրուսի Malawi 83 իզոլատով [5]: Առաջին կլինիկական ախտանշաններն ի հայտ են գալիս վարակումից 2-3 օր հետո՝ ախորժակի բացակայության, դեպրեսիայի ձևով: 2-4-րդ օրվանից դիտվում է հիպերթերմիա (40°C և ավելի): Միաժամանակ դիտվում է վարքագծի ակտիվության ընկճում, շնչառության դժվարացում, մաշկի կարմրություն: Վարակումից 5-6 օր հետո դիտվում է արյունային փորլուծություն (20 % դեպքերում), լեթարգիկ վիճակ, այնուհետև վարակումից 7 օր հետո բոլոր վարակված կենդանիները ենթարկվում են սպանդի: Այսպիսով, վարակումից հետո մինչև 3-րդ օրը հիվանդությունն ընթանում է առանց ախտանիշների: Վիրեմիան արտահայտվում է վարակումից հետո 1-2-րդ օրերի ընթացքում և առավելագույնի է հասնում 5-7-րդ օրերին (վիրեմիայի տիտրը 5.0-5.5 log₁₀ HAD 50/մլ): ԽԱԺ վիրուսի բարձր տիտր գրանցվում է բոլոր վարակված խոզերի մոտ վարակումից 7 օր հետո (p<0,05-0,01): Այսպիսով, ԽԱԺ վիրուսով (գենոտիպ II) փորձարարական վարակումը բնութագրվում է վաղ արտահայտվող վիրեմիայով:

Մեր կողմից կատարված հետազոտությունների արդյունքում հերձման ժամանակ մակրոսկոպիկ ուսումնասիրությամբ հայտնաբերվել է փայծաղի չափերի մեծացում՝ մուգ բալագույն երանգներով: Մեծամասամբ առկա է փայծաղի սեպտիկ ախտահարում: Օրգանի չափերը մեծացած են 2-4 անգամ՝ կակղանի հեմորագիկ ինֆիլտրացիայի հետևանքով: Կուսիստենցիան փափուկ է, եզրերը՝ կլորացած (սկ. 1): Կտրվածքի վրա կակղանն ունի մուգ կարմիր երանգ, հեշտությամբ քերվում է շիլայանման զանգվածի ձևով (հեմորագիկ սպլենիտ): Մեր կողմից օրգանում նկարագրվել են հեմորագիկ ինֆարկտի բազմաթիվ օջախներ:



Սկ. 1. Ախտահարված փայծաղը հիվանդության 6-րդ օրը (մասշտաբը՝ 1սմ)

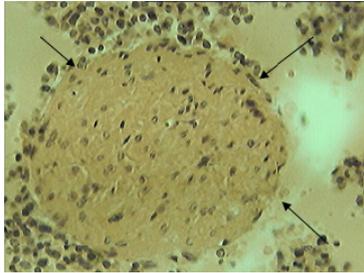
Հիվանդության վաղ շրջանում նկատվում է փայծաղի հիպերպլազիա, հիվանդության զարգացմանը զուգընթաց՝ հեմորագիկ սպլենիտ: Հյուսվածաբանական հետազոտությամբ հիվանդության սկզբնական շրջանում (3-4-րդ օրեր) նկատվում է ֆոլիկուլների հիպերպլազիա, հետագայում (6-7-րդ օրերին) սրանց ռեդուկցիա, լիմֆոցիտների կարիոպիկնոզ և կարիոռեքսիս (սկ.2, 3ա,բ):



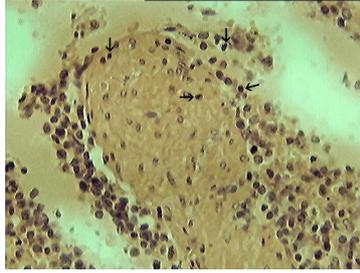
Սկ. 2. Հեմորագիկ սպլենիտ, լիմֆոցիտների կարիոռեքսիս հիվանդության 3-րդ օրը (x1250)

Օրգանում հայտնաբերվում են տարածուն արյունազեղումներ՝ հեմոսիդերինի կուտակմամբ (6-7-րդ օր) (սկ.4, 5):

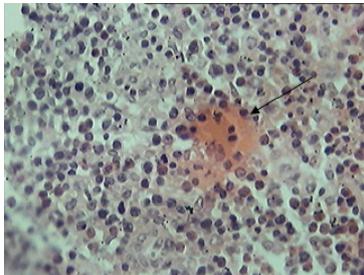
Այսպիսով, ԽԱԺ-ի վիրուսով (գենոտիպ II) փորձարարական վարակումը բնութագրվում է վաղ զարգացող վիրեմիայով, փայծաղի հեմորագիկ և շճահեմորագիկ սպլենիտով, օրգանի չափերի մեծացմամբ, արյունազեղման օջախներով: Փայծաղի հյուսվածաբանական հետազոտությունը ցույց է տալիս հիվանդության սկզբնական շրջա-



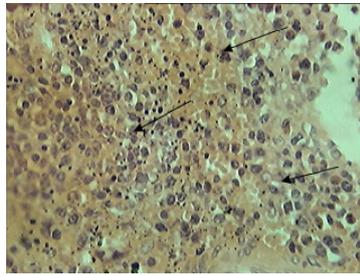
Նկ. 3ա. Ֆոլիկուլների ռեդուկցիա, հիվանդության 6-րդ օրը (x250)



Նկ. 3բ. Ֆոլիկուլների ռեդուկցիա, լիմֆոցիտների կարիոպիկնոզ հիվանդության 6-րդ օրը (x250)



Նկ. 4. Արյունազեղման օջախ հեմոսիդերինի կուտակմամբ հիվանդության 6-րդ օրը (x250)



Նկ. 5. Տարածուն արյունազեղումներ՝ հեմոսիդերինի կուտակմամբ հիվանդության 6-րդ օրը (x250)

Նուժ ֆոլիկուլների հիպերպլազիա, ապա նրանց ռեդուկցիա, լիմֆոցիտների կարիոպիկնոզ և կարիոռեբսիս: Առկա են տարածուն արյունազեղումներ՝ հեմոսիդերինի կուտակմամբ:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Белянин С.А., Васильев А.П., Колвасов Д.В. и др.* Патогенность вируса африканской чумы свиней, циркулирующего на территории РФ. Роль ветеринарной науки в реализации продовольственной доктрины РФ: Мат-лы международной научно-практической конференции. ГНУ ВНИИВ ВиМ. Покров, с. 14-20, 2011.
2. *Макаров В.В.* Африканская чума свиней. Российский университет дружбы народов, М., 268 с., 2011.
3. *Blome S, Gabriel C, Beer M.* Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar, *Virus Res.*, 173, 1, 122-30, 2013.
4. *Enjuanes L, Carrascosa AL, Moreno MA, Viñuela E.* Titration of African swine fever (ASF) virus. *J Gen Virol.* 1976;32:471-477. doi: 10.1099/0022-1317-32-3-471. [PubMed] [Cross Ref].
5. *Gomez-Villamandos JC, Carasco L, Caballero MJ, Nervas J, Villeda CJ, WilKinson PJ, Sierra MA.* African swine fever virus infection bone marrow: Lesions and pathogenesis. *Vet Pathol.*, 34, 94-107, 1997.
6. *Howey EB1, O'Donnell V, de Carvalho Ferreira HC, Borca MV,* *Arzt. J. Virus. Res.* 2013 Dec Pathogenesis of highly virulent African swine fever virus in domestic pigs exposed via intraoropharyngeal, intranasopharyngeal, and intramuscular inoculation, and by direct contact with infected pigs. 26;178(2):328-39. doi: 10.1016/j.virusres.2013.09.024. Epub 2013 Sep 26.
7. *Karalyan ZI, Zakaryan H, Arzumanyan H, Sargsyan K, Voskanyan H, Hakobyan L, Abroyan L, Avetisyan A, Karalova E.* Pathology of porcine peripheral white blood cells during infection with African swinefever virus. *BMC Vet Res.* 2012 Feb 28;8:18. doi: 10.1186/1746-6148-8-18.
8. *Oura C.* African swine fever virus: on the move and dangerous. *Vet. Rec.*, 173, 10, 243-5, 2013.
9. *Zhang W.R., Ku P.K., Miller E.R. and Ullrey D.E.* Stability of Glutathione Peroxidase in Swine Plasma Samples under various storage conditions. *Can. J. Vet. Res.* 50, 390-392. 1986.

Ստացվել է 26.03.2014



Biol. Journal of Armenia, 3 (66), 2014

CHANGES IN THE F_0F_1 -ATPASE ACTIVITY OF IRRADIATED *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* IN THE PRESENCE OF CEFTAZIDIME AT LOW pH

D.R. SOGHOMONYAN^{1*}, V.P. KALANTARYAN², A.H. TRCHOUNIAN¹

¹Department of Microbiology, Plants and Microbes Biotechnology, Yerevan State University

²Department of Microwave Radiophysics and Telecommunication, Yerevan State University
d.soghomonian@ysu.am

The aim of this study was the investigation of the effects of low intensity electromagnetic irradiation (EMI) at the frequencies of 51.8 and 53 GHz and of antibiotic ceftazidime on the N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCCD) inhibited ATPase activity of membrane vesicles of lactic acid bacteria *Lactobacillus acidophilus* grown at low pH (pH 4.0 or 6.5) and assayed at the same pH. It was shown that both frequencies EMI stimulated ATPase activity of *L. acidophilus* grown at pH 4.0, but EMI combined with ceftazidime and DCCD decreased ATPase activity at pH 4.0 and pH 6.5. It was suggested that the F_0F_1 -ATPase might be a target for EMI even at low pH.

L. acidophilus – low pH – ATPase activity

Աշխատանքի նպատակն է ուսումնասիրել ցածր ուժգնությամբ, 51.8 և 53 ԳՀց հաճախակա-
նությամբ էլեկտրամագնիսական ալիքների (ԷՄԱ) և հակաբիոտիկ ցեֆտազիմի ազդեցությունը
ցածր pH-ում (pH 4.0 և pH 6.5) աճեցրած *Lactobacillus acidophilus* կաթնաթթվային բակտերիաների
թաղանթային բջտիկների N,N'-դիցիկլոհեքսիլկարբոդիմիդի (ԴՑԿԴ) նկատմամբ զգայուն ԱԵՖազային
ակտիվությունը նույն pH-ներով փորձարարական լուծույթներում: Ցույց է տրվել, որ ԷՄԱ երկու
հաճախություններն էլ խթանում են pH 4.0-ում աճեցրած *Lactobacillus acidophilus* թաղանթային
բջտիկների ԱԵՖազային ակտիվությունը, բայց ԷՄԱ-ի, ցեֆտազիմի և ԴՑԿԴ-ի զուգակցումը
զգալիորեն ճնշում է ԱԵՖ-ազային ակտիվությունը ցածր pH-ում: Ենթադրվում է, որ F_0F_1 -ԱԵՖազը
կարող է ԷՄԱ թիրախ հանդիսանալ նույնիսկ ցածր pH-ում:

L. acidophilus – ցածր pH – ԱԵՖազային ակտիվություն

Целью данной работы явилось изучение влияния низкоинтенсивных электромагнит-
ных волн (ЭМВ) с частотами 51.8 и 53 ГГц и антибиотика цефтазидима на N,N'-диди-
клогексилкарбодиимид (ДЦКД) чувствительную АТФазную активность мембранных ве-
зикул молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus*, выращенных при низком pH (pH
4.0 и 6.5) и в экспериментальных растворах с тем же pH. Было показано, что обе частоты
ЭМВ стимулируют АТФазную активность мембранных везикул молочнокислых бактерий
L. acidophilus, выращенных при pH 4.0, но комбинированное действие цефтазидима, ЭМВ и
ДЦКД значительно снижает АТФазную активность при обоих pH. Предполагается, что
 F_0F_1 -АТФаза является мишенью для ЭМВ даже при низком pH.

L. acidophilus – низкий pH – АТФазная активность

Lactic acid bacteria, including lactobacilli, are known to be present in different foods
and have an excellent record for safety. They are used as starter cultures in food fermenta-
tion and as probiotics – health - promoting microbes. Intestinal lactobacilli have several
interactions with host organisms and have been linked with numerous health benefits. As
probiotic bacteria, lactic acid bacteria are confronted with several challenges such as acidic

pH and high bile salt concentration. *Lactobacillus acidophilus* is one of the widespread probiotic bacteria, which can overcome acid and bile barrier of stomach and intestine, respectively, and then beneficially affect host by improving its intestinal microbial balance.

As shown before, the cell membrane multi-subunit F_0F_1 -ATPase, which links the production of ATP to the proton motive force [1], is an important element in response and tolerance to low pH in some bacteria through the controlling H^+ concentration between the cell cytoplasm and external medium [2]. Nowadays in addition to these intestinal unfavorable conditions there are many physical factors and chemicals which can affect bacteria and lead to disturbance of their functional activity.

One of the physical factors affecting bacteria is the high frequency electromagnetic irradiation (EMI), which is widely used in telecommunication as well as in therapeutic practice, food and wine preservation; it has different application. In the environment and different applications, small and very small doses of this EMI at the frequencies of 51.8 and 53 GHz have been determined to affect growth, survival and living properties of different bacteria, namely *Escherichia coli* [3-5], *Enterococcus hirae* [6], and *Lactobacillus acidophilus* [7]. Among cellular targets for EMI are water molecules, plasma membrane, the N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCCD) sensitive H^+ -translocating F_0F_1 -ATPase, the main membrane-associated enzyme of bioenergetics relevance, and bacterial genome. These targets are considered as common ones for EMI effects on bacteria [8-10] but exact primary targets and detailed mechanisms of the effects are not clear yet. Previously, it has been shown that EMI at both frequencies affected ATPase activity of *L. acidophilus* grown at pH 6.5 [10] but effects on bacteria grown at low pH are unknown.

In this work we investigated ATPase activity of *L. acidophilus*, irradiated with EMI at frequencies 51.8 and 53 GHz and in the presence of antibiotic ceftazidime at low pH. The ATPase activity of the membrane vesicles of *Lactobacillus acidophilus* was assayed in two cases: when bacteria were grown at pH 4.0 or pH 6.5 but the assayed pH was adjusted to 4.0.

Materials and methods. For all experiments *L. acidophilus* VKMB-1660 wild type strain (laboratory stock) was used. The bacterial growth, isolation of membrane vesicles and preparation to assays as well as irradiation of bacteria with EMI were detailed in previous paper [10].

ATPase activity was determined by amount of liberated inorganic phosphate (Pi) after adding 5 mM ATP by Taussky and Shorr method [12]. The corrections were made for blanks without ATP or membrane vesicles. Relative ATPase activity was expressed in nmol Pi per mg protein in 1 min. The assay mixture contains 50 mM Tris-HCl (pH 6.5 and 4.0), 0.4 mM $MgSO_4$ and 100 mM KCl. When it was necessary, membrane vesicles were pre-incubated with ceftazidime (20 μ M) or DCCD (0.2 mM) for 10 min.

Average data from triple measurements were represented with standard errors determined as before [4, 7, 11, 13].

Results and Discussion. It was shown previously, that the low intensity, extremely high frequency EMI suppressed the membrane vesicles overall ATPase activity of *L. acidophilus* grown at pH 6.5 1.3-fold and 2.6-fold, respectively [10]. The suppression was more considerable in the presence of DCCD, inhibitor for the F_0F_1 -ATPase (0.1 mM), – 2.18-fold and 4.4-fold, respectively, and when EMI was combined with ceftazidime (20 μ M), the inhibition of ATPase activity was much more expressed, especially in the presence of DCCD- 3.3 fold and 7.5 fold, respectively [10]. Moreover, 51.8 and 53 GHz EMI had strong antibacterial effects on *L. acidophilus* and enhanced the effect of ceftazidime on their growth, survival and H^+ fluxes across the membrane, but it increased DCCD-inhibited H^+ efflux. In contrast to this, EMI in combination with ceftazidime decreased DCCD-sensitive H^+ effluxes [7].

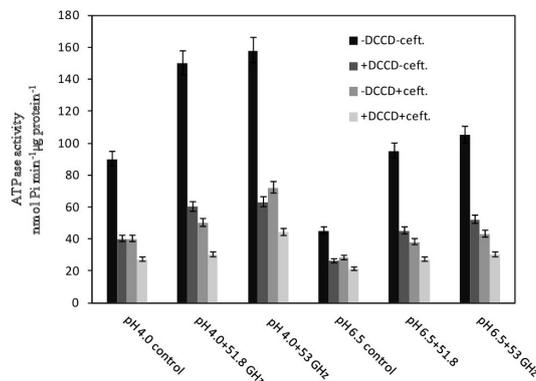


Figure 1. The effects of 51.8 and 53 GHz frequencies EMI and DCCD on overall ATPase activity of *L. acidophilus* membrane vesicles in presence and absence of ceftazidime (20 μ M). Control was without irradiation; 0.2 mM DCCD was added. pH assay mixture 4.0. pHs of growth media 4.0 and 6.5. For the others, see “Materials and Methods”.

As shown in fig. 1, EMI at both frequencies mentioned (the flux intensity of 0.06 mW/cm²) stimulated ATPase activity of membrane vesicles from *L. acidophilus* grown at pH 4.0 and assayed at pH 4.0. But when bacteria were grown at pH 4.0 ATPase activity was higher on ~47 % than ATPase activity of bacteria which were grown at pH 6.5 (see fig. 1). When the assayed pH was adjusted to 6.5 (by 0.1 M HCl), EMI at both frequencies was suppressed ATPase activity of membrane vesicles of *L. acidophilus* grown at pH 4.0 in 1.2-1.8 folds (fig. 2) as it was shown before for LAB grown at pH 6.5 [10], but at 53 GHz frequency it inhibited less than when grown at pH 4.0 (see fig. 2). As at pH 4.0 or pH 6.5 of growth media and upon the assays, DCCD (0.2 mM) inhibited ATPase activity of membrane vesicles of non-irradiated (control) and irradiated cells and this inhibition was much more expressed in the presence of antibiotic ceftazidime (20 μ M).

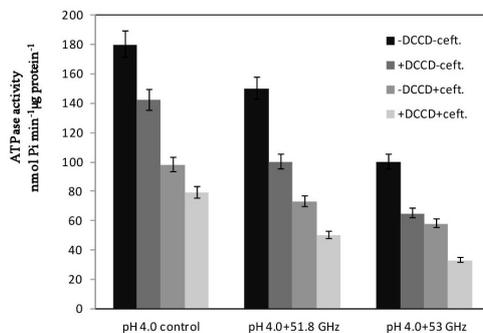


Figure 2. The effects of 51.8 and 53 GHz frequencies EMI and DCCD on overall ATPase activity of *L. acidophilus* membrane vesicles in presence and absence of ceftazidime (20 μ M). pH of assay mixture 6.5, pH of growth medium 4.0. For the others, see legends to Figure 1.

The DCCD-sensitive ATPase activity had been calculated from parallel measurements (tab. 1): a significant decrease in DCCD-inhibited ATPase activity of *L. acidophilus* membrane vesicles after exposure of bacteria with EMI at the frequencies of 51.8 or 53 GHz was determined in the absence and in the presence of ceftazidime. The DCCD-inhibited ATPase activity was increased, when the assayed pH was adjusted to 4.0 and in the absence of ceftazidime (tab. 1). However, the combination of EMI and ceftazidime suppressed the DCCD-sensitive ATPase activity.

Table 1. DCCD-sensitive ATPase activity of *L. acidophilus* membrane vesicles under 51.8 and 53 GHz frequencies EMI and in the presence of ceftazidime. pH of growth media 4.0 and 6.5 and assay pH 4.0 and 6.5.

pH of growth medium	Assay pH	-ceftazidime	+ceftazidime
pH 4.0 control	pH 6.5	38.0±0.60	19.0±0.81
pH 4.0 + 51.8 GHz		50.0±1.00	23.0±0.73
pH 4.0 + 53 GHz		35.0±0.50	25.0±0.90
pH 4.0 control	pH 4,0	40.0±0.70	13.0±0.71
pH 4.0 + 51.8 GHz		90.0±0.75	20.0±0.64
pH 4.0 + 53 GHz		95.0±0.90	28.0±1.00
pH 6.5 control	pH 4,0	19.0±0.50	7.7± 0.88
pH 6.5 + 51.8 GHz		50.0±0.80	11.0±0.73
pH 6.5 + 53 GHz		53.0±0.92	13.0±0.90

Thus, EMI with extremely high frequency stimulated the DCCD sensitive ATPase activity of membrane vesicles of *L. acidophilus* grown at acidic pH. The H⁺ translocating F₀F₁-ATPase, a key enzyme of bacterial membrane, might be a target for EMI. Interestingly, it was shown for *Lactobacillus casei*, that the expression of the H⁺-ATPase coded gene expression increased along with the increased acidity of incubation: expressions was increased 3.3-times and 2.8-times at pH 4.0 and pH 5.0, respectively, than at pH 6.5; so there may be some relationship between H⁺-ATPase and acid tolerance in *L. casei* [14].

It should be noted that at a low external pH (< 3.5), *L. acidophilus* can maintain cytoplasmic pH at values close to neutral [15]. In 1984, Kobayashi et al. reported that H⁺-ATPase content of *S. faecalis* increased when cells are grown at a pH of less than 8.0 in the presence of protonophores. To maintain the cytoplasmic pH at 7.6–7.8, cells expel protons at pH of less than 7.6, and then extrusion diminishes after the cytoplasmic pH reaches 7.6. It was suggested that this is the reason for the increase in H⁺-ATPase content during growth at a low cytoplasmic pH [16].

In summary, in addition to inhibitory effects on *L. acidophilus* growth and survival and H⁺ fluxes across the membrane at pH 6.5 [7], EMI at 51.8 and 53 GHz frequencies enforced the influence of antibiotic ceftazidime on DCCD-inhibited ATPase activity at different pHs. But it was of interest that at low pH EMI stimulated the DCCD sensitive ATPase activity but its combination with ceftazidime and DCCD decreased ATPase activity. These changes allow to suggest that H⁺ translocating F₀F₁ ATPase is a target for EMI even in low pH.

L. acidophilus is a probiotic strain and the acid tolerance is one of the main characteristics of probiotics, thus, these results could be applied in biotechnology and food industry.

REFERENCES

1. Paul D.C. and Colin. H. Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67, 429-453, 2003.
2. Martin-Galiano A.J., Overweg K., Ferrandiz M.J. Transcriptional analysis of the acid tolerance response in *Streptococcus pneumoniae*. *Microbiology*, 151, 3935-3946, 2005.
3. Tadevosyan H., Kalantaryan V., Trchounian A. The effects of electromagnetic radiation of extremely high frequency and low intensity on the growth rate of *Escherichia coli* and the role of medium pH. *Biophysics*, 52, 893-898, 2007.
4. Tadevosyan H., Kalantaryan V., Trchounian A. Extremely high frequency electromagnetic radiation enforces bacterial effects of inhibitors and antibiotics. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 51, 97-103, 2008.

5. Torgomyan H., Kalantaryan V., Trchounian A. Low intensity electromagnetic irradiation with 70.6 and 73 GHz frequencies affects *Escherichia coli* growth and changes water properties. *Cell Biochemistry and Biophysics*, *60*, 275-281, 2011.
6. Ohanyan V., Sarkisyan A., Tadevosyan H. et al. The action of low-intensity extremely high frequency electromagnetic radiation on growth parameters for bacteria *Enterococcus hirae*. *Biophysics*, *53*, 406-408, 2008.
7. Soghomonyan D., Trchounian A. Comparable effects of low-intensity electromagnetic irradiation at the frequency of 51.8 and 53 GHz and antibiotic ceftazidime on *Lactobacillus acidophilus* growth and survival. *Cell Biochemistry and Biophysics*, *67*, 829-835, 2013.
8. Torgomyan H., Trchounian A. *Escherichia coli* membrane-associated energy-dependent processes and sensitivity toward antibiotics changes as responses to low-intensity electromagnetic irradiation of 70.6 and 73 GHz frequencies. *Cell Biochemistry and Biophysics*, *62*, 451-461, 2012.
9. Torgomyan H., Trchounian A. Bactericidal effects of low-intensity extremely high frequency electromagnetic field: An overview with phenomenon, mechanisms, targets and consequences. *Critical Reviews on Microbiology*, *39*, 102-111, 2013.
10. Soghomonyan D.R. The Effects of low-intensity electromagnetic irradiation at the frequencies of 51.8 and 53 ghz and antibiotic ceftazidime on *Lactobacillus acidophilus* FoF₁ - ATP-ase Activity, *Biolog. Journal of Armenia*, *65*, 89-92, 2013.
11. Soghomonyan D., Akopyan K., Trchounian A. pH and oxidation–reduction potential change of environment during growth of lactic acid bacteria: Effects of oxidizers and reducers. *Applied Biochemistry and Microbiology* *47*, 27-31, 2011.
12. Taussky H., Shorr E. A microcolorimetric method for the determination of inorganic phosphorus, *Journal of Biological Chemistry* *202*, 675-685, 1953.
13. Trchounian A., Ohandjanyan E., Bagramyan K., Vardanyan V., Zakharyan E., Vassilian A., et al. Relationship of the *Escherichia coli* TrkA system of potassium ion uptake with the F₀F₁-ATPase under growth conditions without anaerobic or aerobic respiration. *Bioscience Reports*, *18*, 143-154, 1998.
14. Chen X., Sun Z., Meng H., Zhang H. The acid tolerance association with expression of H⁺-ATPase in *Lactobacillus casei*. *International Journal of Dairy Technology*, *62*, 272-276, 2009.
15. Kashket E.R. Bioenergetics of lactic acid bacteria: cytoplasmic pH and osmotolerance. *FEMS Microbiology Reviews*, *46*, 233-244, 1987.
16. Kobayashi H., Suzuki T., Kinoshita N., Unemoto T. Amplification of the *Streptococcus faecalis* protontranslocating ATPase by a decrease in cytoplasmic pH. *Journal of Bacteriology*, *158*, 1157-1160, 1984.

Received on 01.09.2014



Биолог. журн. Армении, 3 (66), 2014

ФАУНА И ЭКОЛОГИЯ ДВУКРЫЛЫХ Г. ВАНАДЗОР И ЕГО ОКРЕСТНОСТЕЙ

В.С. ОГАНЕСЯН¹, Л.С. МИРУМЯН¹, К.С. ХАЧАТРЯН²

¹Научный центр Института зоологии и гидроэкологии НАН РА

²Ванадзорский государственный педагогический университет
varugh_zool52mail.ru

Дается оценка современного состояния фауны и эколого-биологических особенностей синантропных насекомых комплекса гнуса (сем. Tabanidae, Simuliidae, Culicidae) и галлиц-фитофагов (сем. Cecidomyiidae) г. Ванадзор и его окрестностей. В результате исследований зарегистрировано 23 вида мошек, 6 – комаров, 25 – слепней и 10 видов галлиц-фитофагов.

Двукрылые – слепни – мошки – галлицы-фитофаги – Ванадзор – фенология

Տրվում է Լռոռու մարզի զագիրքի խմբի սիւնասորոպ միջատների (ընտ. Tabanidae, Simuliidae, Culicidae) և ֆիտոֆագ գալավալկների ֆաունայի, բազմազանության ժամանակակից վիճակի և Էկոլոգա-կենսաբանական առանձնահատկությունների գնահատականը Վանաձորում և նրա արվարձաններում: Հետազոտությունների արդյունքում գրանցվել է մտերների 23 տեսակ, մոծակների- 6, բռռուկների 25 և ֆիտոֆագ գալավալկների 10 տեսակներ:

Երկթևեր – բռռուկներ – գալավալկներ – Վանաձոր – ֆենոլոգիա

The current state of the fauna and ecological and biological features of synanthropic insects of the bloodsucking insects' complex (fam. Tabanidae, Simuliidae, Culicidae) and gall midges - phytophagous (fam. Cecidomyiidae) of Vanadzor and its surroundings were estimated. As a result of studies have been registered 23 species of blackflies, 6 – mosquitoes, 25 – horse flies and 10 species of gall midges – phytophagous.

Double-winged insects – mosquitoes – blackflies – gall midge – Vanadzor – phenology

Двукрылые – это древняя и быстро эволюционирующая группа насекомых, известная с позднего триаса. В настоящее время в составе двукрылых насчитывается примерно 80 000 видов насекомых.

Кровососущие двукрылые имеют важное социально-медицинское значение для деятельности и здоровья человека [1], чем и аргументирован большой интерес к этой группе насекомых.

Вопросами видового состава, экологии, географического распространения кровососущих двукрылых Лорийской области занимались многие исследователи [2, 7, 8]. Однако анализ данных собранного материала показал, что на фоне возрастающего антропогенного пресса на природные ландшафты, а также климатических, вследствие чего и экологических изменений, необходимо продолжить дальнейшее изучение видового состава, численности и особенностей ландшафтно-географического распределения комплекса гнуса в биоценозах и техноценозах г. Ванадзор и его окрестностей.

Данные о видовом составе и экологических особенностях галлиц-фитофагов г. Ванадзор и его окрестностей приводятся впервые.

Материал и методика. Работа выполнена в лаборатории энтомологии Института зоологии НАН Республики Армения в период с 2006-2011 гг. Сбор мошек, слепней и комаров проводился по общепринятой методике [4-7], а сбор галлиц – по методике Мамаева [3].

При сборе водных двукрылых учитывались также ширина и глубина потока реки, характер дна, температура воды, распределение личинок и куколок на различных субстратах, плотность их заселения (экз./дм²) и др.

Результаты и обсуждение. Из разных биоценозов Лорийского марза собрано 23 вида мошек, 6 видов комаров, 25 видов слепней и 10 видов галлиц-фитофагов (табл. 1)

Среди кровососущих двукрылых представители сем. Tabanidae в Лорийском марзе, как и в других зонах Армении, по числу видов занимают ведущее место [7].

По обилию мошек в Армении выделяются два очага: реки, связанные с бассейном р. Кура, и реки, связанные с бассейном р. Аракс [2, 8]. Река Памбак в основном протекает по лесным долинам и выделяется высокой численностью мошек. В бассейне р. Памбак обитают 23 вида кровососущих мошек.

Лёт мошек (сем. Simuliidae) в Лори-Памбакском физико-географическом районе начинается во II-III декаде апреля - начале мая и продолжается до конца сентября [7]. Наиболее поздние сроки лёта (конец июля) отмечены у *Odagmia kiritshenkoi* и *Simulium kurense*. В высокогорных участках лёт многих видов мошек прекращается в середине августа. Продолжительность лёта у *Eusimulium regine*, *Eu. latipes* длится 20-30 сут, а у *S. kurense*, *Wilhelmia turgaica*, *Od. caucasicum* – 30-45 сут.

Дневная активность мошек в Лори-Памбакском физико-географическом районе начинается при температуре воздуха 12-15⁰ С в низинных участках с 8-9 ч и продолжается до 20-21 ч, а в высокогорных участках с 10 ч до 19³⁰-20⁰⁰ ч. Из перечисленных видов своей численностью и активностью нападения особенно выделяется курильская мошка *S. kurense*. Лёт комаров (сем. Culicidae) в Лори-Памбакском физико-географическом районе начинается во II-III декаде мая при температуре 15-17⁰С и продолжается до середины октября. Максимальная численность комаров наблюдается в конце июня, в июле и до второй половины августа при температуре 25-30⁰С. Суточная активность комаров имеет два пика: с 4-6 ч и с 20-23 ч. Комары родов *Anopheles* и *Culex* яйца откладывают на поверхности стоячих или слабопроточных водоемов.

Комары рода *Anopheles* (*An. maculipennis*) в основном составляют около 60 % всех выловленных комаров в районе исследования. Местами днёвок служат растительные заросли, подвалы и чердаки домов.

Изучение фенологии показало, что лёт слепней (сем. Tabanidae) в Лори-Памбакском физико-географическом районе начинается во II-III декаде мая (*Tabanus guatuornotatus*, *Chrysops flavipes flavipes*) и продолжается до конца сентября (*T. portschinskii* и *T. bromius bromius*). Наиболее поздние сроки лёта (конец июля) отмечены у *T. tergestinus* и *T. glaucopis*. Сроки лёта в низинах наиболее коротки у слепня *T. rupium*, продолжительность их лёта длится 25 сут. У других она длится 65-100 сут. На высокогорных участках лёт многих видов слепней прекращается в конце июля. Продолжительность лёта у *T. tergestinus* и *A. fulvus* длится 20-30 сут, а у *T. bromius bromius* – 100-105 сут (табл. 1).

Дневная активность слепней в Лори-Памбакском физико-географическом районе начинается при температуре воздуха 18-22⁰ С, в низинных участках с 9 ч и продолжается до 20-21 ч, а на высокогорных участках – с 11ч до 19-19³⁰ ч.

Таблица 1. Кровососущие двукрылые в Лори-Памбакском физико-географическом районе

Виды	Бассейн р.Памбак		
	Течение		
	Верхнее	Среднее	Нижнее
Мошки			
1	<i>Eusimulium fontium</i> (Tert.)		+
2	<i>Eu. azerbaijanicum</i> Djaf.	+	
3	<i>Eu. regine</i> (Tert.)	+	
4	<i>Eu. austral</i> (Rubz.)		+
5	<i>Eu. latipes</i> (Mg.)		+
6	<i>Eu. murvanidzei</i> (Rubz.)		+
7	<i>Obuchovia margaritae</i> (Rubz.)	+	+
8	<i>Ob. popovae</i> (Rubz.)		+
9	<i>Simulium kurense</i> (Puri)		+
10	<i>S. aureofulgens</i> Tert.		+
11	<i>S. tornogradskii</i> Rubz.	+	+
12	<i>S. bukovskii</i> (Rubz.)	+	+
13	<i>Odagmia debacle</i> (Tert.)		+
14	<i>Od. variegatum</i> (Mz.)		+
15	<i>Od. kiritshenkoi</i> (Rubz.)		+
16	<i>Od. caucasicum</i> (Rubz.)	+	+
17	<i>Tetisimulium condici</i> (Bar.)	+	+
18	<i>T. bezzii</i> (Corti.)	+	
19	<i>Prosimulium pronevitschae</i> (Rubz.)	+	+
20	<i>P. arvernense</i> Grenier		+
21	<i>Wilhelmia mediteranea</i> (Puri)		+
22	<i>Wil. turgaica</i> (Rubz.)	+	+
23	<i>Cnephia znoikoi</i> (Rubz.)		+
Слепни			
1	<i>Chrysops flavipes flavipes</i> Mg.	+	+
2	<i>Chr.sejunctus</i> Szil.		+
3	<i>Chr. caecutiens ludens</i> Lw.		+
4	<i>Tabanus guatuornotatus</i> Mg.	+	+
5	<i>T.rupium</i> Br.	+	+
6	<i>T.bromius</i> L.		+
7	<i>T.bromius bromius</i> L.	+	+
8	<i>T. portschinskii</i> Ols.	+	+
9	<i>T.tergestinus</i> Egg.		+
10	<i>T.indrae</i> Vappa Bog.et Sam.	+	+
11	<i>T.bifarius</i> Lw.	+	+
12	<i>T.autumnalis brunnescens</i> Szil.		+
13	<i>T.cordiger</i> Mg.	+	+
14	<i>T.glaucopis</i> Mg.	+	+
15	<i>T.unifasciatus</i> Lw.		+
16	<i>T.olsifjevi</i> Haus.	+	+
17	<i>T.hauseri</i> Ols.	+	+
18	<i>T. mik</i> Br.		+
19	<i>Hybomitra caucasica</i> End.	+	+
20	<i>Theriopectes tricolor</i> Zell.	+	+
21	<i>Th.carabaghensis</i> Portschi.	+	+
22	<i>Haematopota subcylindrica</i> Pand.		+
23	<i>Atylotus fulvus</i> Mg.		+
24	<i>Nemorius caucasicus</i> Ols.	+	+
25	<i>Phylipomyia aprica</i> Mg.	+	+
Комары			
1	<i>Anopheles maculipennis</i> Meig.	+	+
2	<i>An. bifurcatus</i> L.		+
3	<i>Aedes caspius</i> Pall.		+
4	<i>A.geniculatus</i> Ol.	+	+
5	<i>A.vexans</i> Mg.	+	+
6	<i>Culex pipiens</i> L.	+	+

Изучены эколого-биологические особенности галлиц-фитофагов (сем. Cecidomyiidae) Лорийского марза. Указанные виды зарегистрированы на всех жизненных формах растений: деревьях, кустарниках и травах (табл. 2). Все виды галлиц-фитофагов Лорийского марза относятся к весенне-летней и летне-осенней фенологическим группам.

Для видов галлиц, связанных с генеративными органами (*Asphondylia hornigi*, *A. verbasci*, *Clinodiplosis cilicrus*, *Dasineura bayeri*, *D. leguminicola*, *Jaapiella cirsiicola*, *Rhopalomyia syngenesiae*), период активного развития совпадает с периодом цветения растений. Соответственно, в связи с одноразовым цветением или плодоношением растений, все галлицы, развивающиеся на них, имеют 1-2 генерации в год.

Таблица 2. Галлицы-фитофаги Лорийского марза

	Виды	Кормовое растение	Место сбора
1	<i>Asphondylia hornigi</i> Wachtl.	<i>Origanum vulgare</i>	Ванадзор, Шаан
2	<i>A. verbasci</i> Vallot.	<i>Verbascum sp.</i>	Шаан
3	<i>Clinodiplosis cilicrus</i> Kieff.	<i>Trifolium hybridum</i>	Степанаван, Шаан
4	<i>Bremiola onobrychidis</i> Bremi	<i>Onobrychis sp.</i>	Спитак, Ванадзор
5	<i>Dasineura leguminicola</i> Lint.	<i>Trifolium hybridum</i>	Ванадзор, Фиолетово, Шаан
6	<i>D.rosae</i> Bremi	<i>Rosa canina</i>	Степанаван, Ванадзор, Фиолетово
7	<i>D. bayeri</i> Rubs.	<i>Sisymbrium loeselii</i>	Гюлагарак, Ванадзор, Шаан
8	<i>Hartigiola annulipes</i> Hartig.	<i>Fagus sp.</i>	Дарпас, Ванадзор, Алаверди
9	<i>Jaapiella cirsiicola</i> Rubs.	<i>Cirsium obvalatum</i>	Степанаван, Ванадзор, Фиолетово
10	<i>Rhopalomyia syngenesiae</i> Loew.	<i>Anthemis triumfetii</i>	Ванадзор, Фиолетово

У галлиц (*B. onobrychidis*, *D.rosae*, *H. annulipes*), развивающихся на вегетативных органах растений (листья, верхушечные почки), число поколений определяется длительностью вегетативного сезона и доходит до 2-3-х и более поколений в год [9].

Таким образом, в г. Ванадзор и сопредельных с ним территориях обнаружено 25 видов слепней, 23 вида мошек, 10 видов галлиц-фитофагов и 5 видов комаров. Большинство из указанных видов являются синантропными. Кровососущие двукрылые имеют медико-ветеринарное, а галлицы-фитофаги – хозяйственное значение.



Рис. 1. Состав гнуса

Анализ состава гнуса, нападающего на людей и животных, показал, что в пределах г. Ванадзор и других населенных пунктах доля комаров от общего числа кровососов составляет 68,5 %, слепней – 22,5 %, а мошек – 9 %. В прибрежных участках рек в пределах города количество двукрылых в процентном отношении следующее: мошки – 46,7 %, слепни – 38,3 %, комары – 15 %. В городских парках и в лесу доминируют комары и слепни – 56,8 % и 42,2 % соответственно, а мошки – 1 %. В прибрежных участках рек вне города картина следующая: мошки – 55,5 %, слепни – 30 %, комары – 14,5 %. (рис.1).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Айбулатов С.В.* Насекомые комплекса гнуса (Diptera: Ceratopogonidae, Culicidae, Simuliidae, Tabanidae) Курганского п-ова Ленинградской обл. Энтомологическое обозрение, 88, вып.2. с.343-359, 2009.
2. *Качворян Э.А., Оганесян В.С., Петрова Н.А., Зеленцов Н.И.* Видовой состав хирономид и мошек (Diptera: Chironomidae, Simuliidae) р. Раздан в Армении и гидрохимические особенности водоема. Энтномол. обзор. С.-Петербург, 86, 1, с. 73-82, 2007.
3. *Мамаев Б.М.* Эволюция галлообразующих насекомых галлиц. Ленинград, Наука, 235 с. 1968.
4. *Мончадский А.С.* Летающие кровососущие двукрылые – гнус (способы защиты и методы исследования). Изд-во АН СССР. М.-Л., 67 с., 1952.
5. *Оганесян В.С., Тертерян А.Е.* Устройство для ловли реофильных и гемигидробионтных личинок слепней (Diptera, Tabanidae). Биолог. журн. Армении, 39, 7, с. 620-622, 1986.
6. *Растегаева К.С.* Роль наездников (*Telenomus* и *Trypogamma*) в ограничении численности слепней в природе. Зоол. журн. 44, 12. с.1870-1871, 1965.
7. *Рубцов И.А.* Мошки фауны СССР, 6, 6, 860 с., 1956.
8. *Тертерян А.Е.* Фауна мошек Армении, Ереван, 272 с., 1968.
9. *Mirumian L.S.* Phytophagous gall midges (Diptera: Cecidomyiidae) of Armenia. Acta Soc. Zool. Bohem. 75, p. 87-106, 2011.

Поступила 24.01.2014



Biolog. Journal of Armenia, 3 (66), 2014

FUNGI SPECIES FROM PENICILLIUM GENERA IN RAISINS CONSUMED IN ARMENIA

L.L. HAKOBYAN

Yerevan State University, Department of Microbiology
lusinehl@yahoo.com

Raisin is widely used as dried fruit with high food value. It is also used as ingredient in such products ready to use as muesli and various confectionery products. Mycological safety of raisin is an actual problem from the point of view of its potential possibility of contamination by mycotoxins. 63 samples of Armenian and imported raisins are investigated. 31 species of filamentous fungi are isolated, 12 of which belonged to *Penicillium* genera. *P. expansum*, *P. griseofulvum*, *P. velutinum* and *P. ciatophora* of all isolated species had average frequency of occurrence. All the rest showed rare frequency of occurrence.

Raisin – fungi – Penicillium – filamentous – mycological safety

Չամիչը լայնորեն օգտագործվում է որպես բարձր սննդային արժեքով չոր մթերք: Այն նաև օգտագործվում է որպես բաղադրիչ այնպիսի սպառման ենթակա սննդամթերքների մեջ, ինչպիսիք են մյուսլիները և հրուշակեղենի զանազան տեսակները: Չամիչի սնկաբանական անվտանգությունը հանդիսանում է արդիական խնդիր՝ միկոտոքսիններով նրա աղտոտվածության հավանականության տեսանկյունից: Ուսումնասիրվել են հայկական և ներմուծված չամիչների 63 նմուշներ: Անջատվել են միցելիալ սնկերի 31 տեսաներ, որոնցից 12-ը պատկանել են *Penicillium* ցեղին: Բոլոր անջատված սնկերից *P. expansum*, *P. griseofulvum*, *P. velutinum* և *P. ciatophora* տեսակները ունեցել են միջին հանդիպման հաճախականություն: Իսկ մնացածների մոտ նկատվել է ցածր հանդիպման հաճախականություն:

Չամիչ – սնկեր – Penicillium – միցելիալ – սնկաբանական անվտանգություն

Изюм широко используется в качестве сухофрукта с высокой пищевой ценностью. Он также используется в качестве ингредиента в таких продуктах, готовых к употреблению, как мюсли и разнообразные кондитерские изделия. Микологическая безопасность изюма является актуальной проблемой, с точки зрения потенциальной возможности его контаминации микотоксинами. Исследовано 63 образца армянского и импортированного изюма. Изолирован 31 вид мицелиальных грибов, 12 из которых принадлежали роду *Penicillium*. Из всех выделенных видов *P. expansum*, *P. griseofulvum*, *P. velutinum* и *P. ciatophora* имели среднюю частоту встречаемости. У остальных частота встречаемости редкая.

Изюм – грибы – Penicillium – мицелиальные – микологическая безопасность

Research in different countries of over the world have shown that there is considerable information on the contamination of raisin by filamentous fungi-potential producers of mycotoxins. Dried fruits including raisin often are affected by fungi from *Aspergillus* and *Penicillium* genera. It is reported in many researches.

As a result of analyses of 60 dried fruit samples (raisins, dates and figs) in Yemen Republic [13] 23 species of filamentous fungi from 15 genera were isolated. *Penicillium chrysogenum* is considered to be among dominated species. As a result of the study by Argentinian scientists toxigenic species of filamentous fungi were detected even after disinfection of samples [12]. Fungi from *Aspergillus* genera were dominated. The frequency of occurrence of species from *Penicillium* genera was 13.5 %. All isolated strains of *P. citrinum* were strong producers of citrinin. According to Magan and Aldred [9], ochratoxigenic fungi *P. verrucosum* was found in samples of raisin in Europe. In other mycological study [7] of raisin 29 species of filamentous fungi were revealed. *Penicillium* species have high frequency of occurrence after *A. flavus*, *A. niger* and *A. fumigatus*.

Thirty-six species from 12 genera were identified from analyzed 100 samples of dried vine fruit taken from different supermarkets in 10 provinces in Egypt [17]. Along with the species of the genus *Penicillium*: *P. chrysogenum* and *P. oxalicum* were the most encountered species. In some researches [18] the genera *Penicillium* is reported as the most common and is found in all samples of dried figs, prunes, apricots and grapes. This genera is presented with four species from which *P. chrysogenum* is the most common fungi in last tree dried fruits from listed above.

The aim of this research is: identification of fungi species from genus *Penicillium*, determination of their frequency of occurrence in different varieties of raisins and contamination degree of raisin samples by filamentous fungi from genus *Penicillium*.

Materials and methods. In order to identify fungi-contaminant of dried vine fruits realizing in markets and supermarkets in Yerevan 63 samples of Armenian and imported (mostly from Iran) raisin were analyzed. The sampling was carried out from 2004 to 2010 by dot method [5] at the markets as well as production areas.

The analyses were carried out by direct plating and serial dilution methods (1:10 dilution). For isolation of filamentous fungi CYA (Chapek-Yeast Agar medium, HiMedia Ltd.) and GYA (Glucose-Yeast Agar medium, HiMedia Ltd.) were used. Dilution method was done according to Pitt and Hocking [11]. After incubation of plats the contamination levels (CFU/g (colony forming units)) [2, 3] and the frequencies of occurrence of fungi were determined [1, 4]. Identification of isolated fungi was carried out by microscopy method on the basis of morphological characteristics [10, 14].

Results and Discussion. The results of mycological analyzes of Armenian and imported samples of raisin have shown that 12 of all 31 isolated species of filamentous fungi belonged to the *Penicillium* genera.

On frequency of occurrence *P. expansum* (29.4%) specie occupies the first place which is followed by *P. grisofulvum* (23.5%), *P. velutinum* (14.3%) and *P. ciatophora* (11.8%). The values of frequency of other isolates were between 3.57 %–7 % (fig. 1).

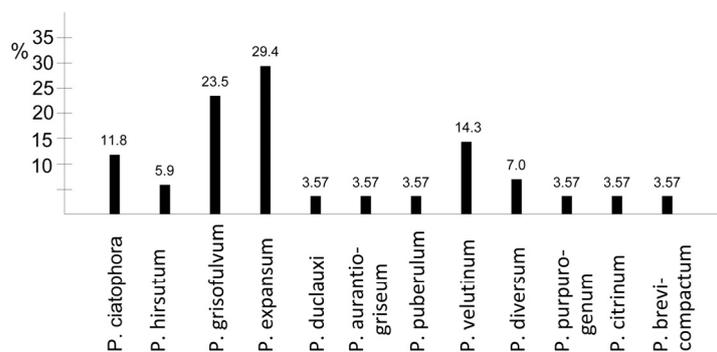


Figure 1. Frequency of occurrence of fungi of *Penicillium* genera isolated from all raisin samples in 2004-2010.

While summarizing the results of research it is revealed that the most frequently occurring species in Armenian raisin samples only are *P. grisofulvum* (32.2%) and *P. velutinum* (25.8%). The frequency of *P. expansum* (13.3%) is reduced. Besides the frequencies of occurrence of *P. diversum* (13%) and *P. grisofulvum* (32.2%) increased (Figure 2). This can be explained by the fact that these two species are not detected in imported samples of raisin. If considering the Armenian samples only, one should note increase in their percentage ratio along with reducing the number of investigated samples.

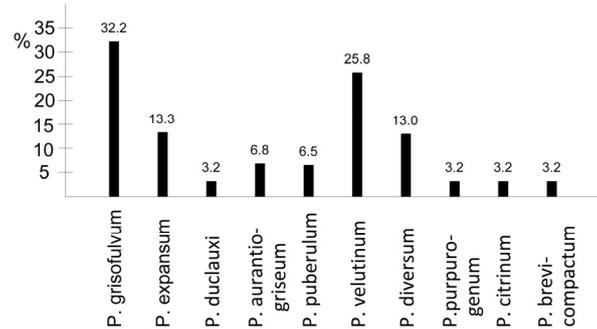


Figure 2. Frequency of occurrence of fungi of *Penicillium* genera isolated from Armenian raisin samples in 2004-2010.

Table 1. Species of fungi isolated from Armenian and imported raisins.

Raisin samples	Species from <i>Penicillium</i> Genera
Armenian raisin	<i>P. duclauxi</i> Delacr. <i>P. aurantiogriseum</i> Dierckx <i>P. puberulum</i> Bainier <i>P. velutinum</i> Beyma <i>P. grisofulvum</i> Dierckx <i>P. diversum</i> Raper and Fennell <i>P. citrinum</i> Thom <i>P. purpurogenum</i> Stoll <i>P. brevicompactum</i> Dierckx <i>P. expansum</i> Link ex Gray
Iranian raisin	<i>P. duclauxi</i> Delacr. <i>P. ciatophora</i> <i>P. hirsutum</i> Dierckx
Kazakh raisin	<i>P. ciatophora</i> <i>P. expansum</i> Link ex Gray
Uzbek raisin	<i>P. puberulum</i> Bainier
Californian raisin	<i>P. velutinum</i> Beyma <i>P. expansum</i> Link ex Gray

Some detected species of *Penicillium* genera are considered to be potential producers of mycotoxins. For example species *P. grisofulvum*, *P. velutinum* and *P. citrinum* are producers of citrinin [15, 16], *P. purpurogenum* can produce rubratoxin [25], *P. aurantiogriseum* and *P. puberulum* – cyclopiazonic acid and penicillic acid [6, 15], *P. brevicompactum* – mycophenolic acid and *P. duclauxi*-patulin [6].

Raisin is imported into Armenia mainly from Iran and sometimes from other countries of the world. With level of contamination by filamentous fungi imported varieties of raisin is significantly differ from local samples too. Armenian raisin is comparably more contaminated than Iranian and other varieties (Table 2). This can be explained by presence of sulfur dioxide (SO₂) in Iranian raisin. SO₂ is often used to prevent contamination of raisin by microscopic fungi. In local samples SO₂ is detected in low content and there was high level of contamination by fungi respectively [8]. That is to say SO₂ has inhibitory influence on the growth of filamentous fungi. Three species of identified *Penicillium*;

P. duclauxi, *P. hirsutum* and *P. expansum*, have high resistance against sulfur dioxide due to their capability to make coremia. And in spite of presence of SO₂ these species are main contaminants of Iranian raisin.

Table 2. Contamination levels of raisin samples from different countries by species genus from *Penicillium*

Samples	Number of analyzed samples	Number of species from genus <i>Penicillium</i>	Levels of contamination in CFU/g
Armenian raisin	28	10	20 – 70
Iranian raisin	18	3	10 – 30
Californian raisin	7	2	20 – 40
Uzbek raisin	5	1	10 – 30
Kazakh raisin	5	2	10 – 40

The contamination level of Armenian samples of raisin by species from genera exceeded 70 CFU/g.

There is very few number of researches about contamination of dried vine fruits by fungi species from *Penicillium* genera. But the results of these analyzes have shown that the problem is more serious, because there are potential producers of mycotoxins species among isolated fungi such as *P. citrinum*, *P. purpurogenum*, *P. expansum*.

REFERENCES

1. Мирчинк Т.Г. Почвенная Микология, М., МГУ, 1988.
2. Controle de la qualite des produits alimentaires controle microbiologique. NF ISO 7954-88. Direktivesgenerales pour le denombrement des levures et moisissures. 1993.
3. Controle de la qualite des produits alimentaires controle microbiologique. NF ISO 7698-91. Direktivesgenerales pour le denombrement des levures et moisissures. 1993.
4. El-Kady I.A., Abdel-Hafez J.N., El-Maraghy S.S. Contribution to the fungal flora of cereal grains in Egypt. In Journal Mycopathologia, 77, p. 103-109, 1982.
5. European Commission. Guidance document for competent authorities for the control of compliance with EU legislation on aflatoxins. SANCO/1208/2005-rev.1. 2006.
6. Frisvad J.C. and Samson R.A. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium* A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. Studies in Mycology, 49, p. 1-17, 2004.
7. Giridhar P. and Reddy S.M. Incidence of mycotoxigenic fungi on raisins. Current Advances in Plant Science 14, p. 291-294, 2001.
8. Hakobyan L., Grigoryan K., Kirakosyan A. Contamination of raisin by filamentous fungi – potential producers of ochratoxin A. Potravinarstvo. ISSN: 1337-0960, 4, 4, p. 28-33, 2010.
9. Magan N., Aldred D. Conditions of formation of ochratoxin A in drying, transport and in different commodities. In Food Additives & Contaminants: part A, 22, Issue 1, p. 10-16, 2007.
10. Pitt J.I. The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. London, Academic press, 1979.
11. Pitt J.I., Hocking A.D. Fungi and Food Spoilage. Blackie Academic and Professional. London, p. 350, 1997.
12. Romero S.M., Comerio R.M., Larumbe G., Ritiene A., Vaamonde G., Fernandez P.V. Toxigenic fungi isolated from dried vine fruits in Argentina. In International journal of food microbiology, vol. 104, no.1, p. 43-49, 2005.

13. *Saeed M.S., Alghalibi M.S., Abdul-Rahman M.S.* Mycoflora and mycotoxin contamination of some dried fruits in Yemen Republic. In Univ. Bull. Environ. Res., 7, 2, p. 235-243, 2004.
14. *Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J., Filtenborg O.* In Introduction to Food-borne fungi. 4thed. Central bureau Voor Schimmelcultures, Baarn, Nether-Lands. p.450. 1995.
15. *Smith J.E., Henderson R.S.*, Mycotoxins and Animal Foods. ISBN0-8493-4904-4, p. 868, 1991.
16. *Weidenborner M.* Encyclopedia of food Mycotoxins, Berlin, 2001.
17. *Youssef M.S., Abo-Dahab, N.F., Abou-Seidah A.A.* Mycobiota and mycotoxin contamination of dried raisins in Egypt. African Journal of Mycology and Biotechnology, 8, 3, pp. 69-86, 2000.
18. *Zohri, A.A., Abdel-Gawad, K.M.* Survey of mycoflora and mycotoxins of some dried fruits in Egypt. J. Basic Microbiology, 4, p. 279-288, 1993.

Received on 01.09.2014



Biolog. Journal of Armenia, 3 (66), 2014

PHOTOINACTIVATION OF GRAM-POSITIVE AND GRAM-NEGATIVE MICROORGANISMS BY CATIONIC PORPHYRINS

M.H. PARONYAN

Science and Production Center "Armbiotechnology" of NAS of Armenia
paronyan_marina@mail.ru

The effectiveness of new cationic porphyrins and their Zn-complexes (6 compounds) was tested against two Gram-positive (*St. aureus* and *St. epidermidis*) and two Gram-negative (*E. coli* K-12 and *Salmonella sp.*) bacteria. It is shown that cationic porphyrins have high photodynamic activity against of both types of microorganisms.

Cationic porphyrins – photodynamic inactivation – Gram-positive and Gram-negative bacteria

Փորձարկվել է նոր կատիոնային պորֆիրինների և նրանց Zn- համալիրների (6 միացություններ) արդյունավետությունը երկու գրամդրական (*St. aureus* և *St. epidermidis*) և երկու գրամբացասական (*E. coli* K-12 և *Salmonella sp.*) մանրէների նկատմամբ: Ցույց է տրվել, որ երկու տեսակի մանրէների դեմ էլ կատիոնային պորֆիրիններն ունեն բարձր ֆոտոդինամիկական ակտիվություն:

Կատիոնային պորֆիրիններ – ֆոտոդինամիկական ակտիվություն – գրամդրական և գրամբացասական մանրէներ

Эффективность новых катионных порфиринов и их Zn-комплексов (6 соединений) была проверена против двух грамположительных (*St. aureus* and *St. epidermidis*) и двух грамотрицательных (*E. coli* K-12 and *Salmonella sp.*) бактерий. Показано, что катионные порфирины имеют высокую фотодинамическую активность против обоих типов микроорганизмов.

Катионные порфирины – фотодинамическая инактивация – грамположительные и грамотрицательные бактерии

Incremental increase in strains resistant to antibiotics and antiseptics caused great interest in investigations of alternative antibacterial strategies [5, 8]. Currently photodynamic inactivation of microorganisms (PDI) is the most promising direction for the destruction of various bacteria [5, 14]. The concept of photodynamic inactivation of microorganisms follows the principles of photodynamic therapy (PDT) of tumors [5, 6]: non-toxic dyes – photosensitizers can localizes in/on cells, activates by light, to generate singlet oxygen and free radicals, that are toxic to the target cells (microorganisms). PDI has been successfully applied against gram-positive organisms, but most of photosensitizers weakly effect on gram-negative bacteria [7, 9, 10]. Among a large class of photosensitizers a cationic (porphyrins) are the most effective molecules used in photodynamic therapy (PDT) of tumors and photodynamic inactivation (FCI) of microorganisms [2, 6, 7, 14].

In the present study we investigated efficiency of 6 different cationic porphyrins and metalloporphyrins with various peripheral groups against of Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) and Gram-negative (*E.coli*, *Salmonella sp.*) bacteria interesting from a clinical point of view. The purpose of this study was to evaluate the most effective cationic porphyrins with high photosensitizing activity against Gram-positive and Gram-negative microorganisms.

Materials and methods. Microorganisms. Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) were kindly supplied by the A. Alexanyan Institute of Epidemiology, Virology and Medical Parasitology (Yerevan, Armenia). Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* K-12 strain and *Salmonella sp.*) were used from the collection of microorganisms of Science and Production Center "Armbiotechnology" of NAS of Armenia. Microorganisms were grown in accordance with the procedure of the work [4].

The optical density (OD) of cell suspension was measured with a spectrophotometer Shimadzu UV-VISIBLE Recording Spectrophotometer UV-2100 (Japan) at a wavelength $\lambda = 420$ and 670 nm.

Photosensitizers. In this work we used the following porphyrins and metalloporphyrins: meso-tetra-[4-N-(2'-oxyethyl) pyridyl] porphyrin (TOE4PyP), Zn-TOE4PyP; meso-tetra-[4-N-(2'-butyl) pyridyl] porphyrin (TBut4PyP), Zn-TBut4PyP; meso-tetra-[4-N-(2'-allyl) pyridyl] porphyrin (TAlI4PyP), Zn-TAlI4PyP, which were synthesized in the Yerevan State Medical University [1, 13] and kindly provided for use in the study.

Cytotoxicity and phototoxicity of porphyrins. Porphyrins and metalloporphyrins cytotoxicity was assessed by determining of their minimum cytotoxic and minimum inhibitory concentration for all four microorganisms. Cytotoxicity and phototoxicity of porphyrins was determined according to the methods of work [4].

Statistical analysis. The statistical parameters (average values, standard deviation) used in the experiments were calculated using the program Excel.

Results and Discussion. Cytotoxicity of photosensitizers. At the first stage of experiments were obtained minimal cytotoxicity and minimal inhibitory concentrations (MIC) of new cationic porphyrins and their Zn-complexes against Gram-negative bacteria *E. coli* K-12 in the absence of light. This microorganism is a convenient model for studying the efficiency of cationic porphyrins causing considerable resistance of bacteria toward many neutral and anionic photosensitizers [11]. Among the investigated compounds Zn-TAlI4PyP and Zn-TBut4PyP metalloporphyrins have the highest cytotoxicity. The minimum cytotoxic concentration was equal to 1 $\mu\text{g/ml}$ for Zn-metalloporphyrins and 10 $\mu\text{g/ml}$ for metal-free porphyrins. The minimum inhibitory concentration for Zn-TAlI4PyP and Zn-TBut4PyP was about 200 $\mu\text{g/ml}$, for the remaining four compounds it was much higher. High efficiency of allyl and butyl substituted porphyrin derivatives may be attributed, possibly, to their higher lipophilicity, ability to easily penetrate through membrane in comparison to porphyrins with more hydrophilic oxyethyl group (with OH group). High efficiency of their Zn-complexes also probably is determined by metal-phosphate coordination [12].

Phototoxicity of cationic porphyrins. The phototoxic action against of microorganism *E. coli* has been investigated for six derivatives of porphyrin at minimal cytotoxic concentration. Percent of cell survival of *E. coli* K-12 depending of the concentration of various porphyrins represented in Figure 1.

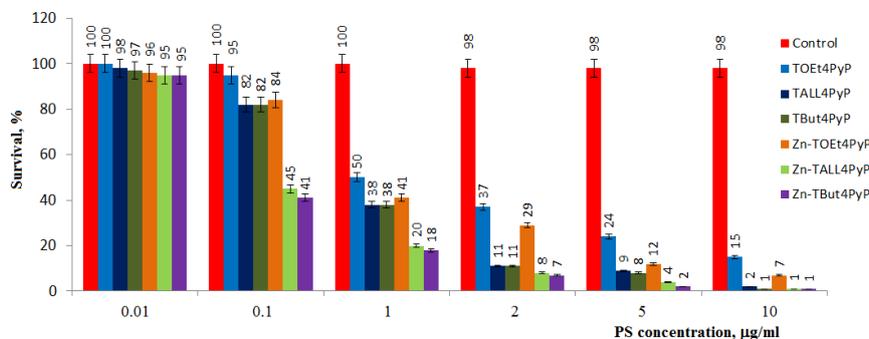


Figure 1. Phototoxic action of various cationic porphyrins against the microorganism *E. coli* K-12.

Figure 1 shows that all of the Zn-metalloporphyrins are more phototoxic in comparison with the same metal-free porphyrins. Zn-TBut4PyP and Zn-TAll4PyP metalloporphyrins possess the highest photodynamic activity among the investigated compounds. This comparison also correlated with the results of our co-workers (Institute of Physics NAS of Belarus, Minsk), from which it follows that the same Zn-metalloporphyrins have a significantly higher quantum yield of singlet oxygen ($\gamma\Delta$) compared to metal-free porphyrins ($\gamma\Delta=75\%$ for TOE4PyP, $\gamma\Delta=77\%$ for TAll4PyP and $\gamma\Delta=79\%$ for TBut4PyP, $\gamma\Delta=85\%$ for Zn-TOE4PyP, $\gamma\Delta=86\%$ for Zn-TAll4PyP and $\gamma\Delta=97\%$ for Zn-TBut4PyP) [3]. Thus, it follows that not only the structure of porphyrins, but also the generation of singlet oxygen are essential to the effectiveness of the photosensitizer.

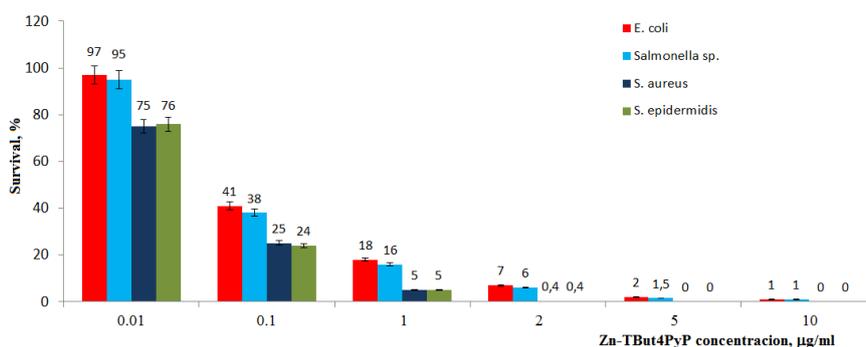


Figure 2. Photodynamic action of Zn-TBut4PyP against Gram-positive (*St. aureus* and *St. epidermidis*) and Gram-negative (*E.coli*, strain K -12, and *Salmonella sp.*) microorganisms.

In further experiments Zn-TBut4PyP photosensitizer was selected to determine photodynamic inactivation of Gram-positive and Gram-negative microorganisms. Experiments results are given in Figure 2. Gram-positive microorganisms are 3-5 times more susceptible to the PDI by Zn-TBut4PyP than Gram-negative microorganisms as expected. Thus, Zn-containing new cationic metalloporphyrins have a high photodynamic activity against both Gram-positive and Gram-negative microorganisms compared with the same metal-free porphyrins.

Acknowledgements. The author thanks R.K. Ghazaryan for kindly providing of porphyrins and G.V. Gyulkhandanyan for a discussion of the results of experiments.

REFERENCES

1. Мадакян В.Н., Казарян Р.К., Хачатрян М.А., Степанян А.С., Куртикян Т.С., Ордян М.Б. Новые производные мезо-тетра(4-пиридил)порфина и некоторые их превращения. Химия гетероциклических соединений, 2, 212-216, 1986.
2. Demidova T.N., Hamblin R.M. Effect of cell-photosensitizer binding and cell density on microbial photoinactivation. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 49, 6, 2329-2335, 2005.
3. Gyulkhandanyan G.V., Ghazaryan R.K., Paronyan M.H., Gyulkhandanyan A.G., Sheyryan M.A., Dzhagarov B.M., Tuchina E.S., Korchenova M.A., Tuchin V.V. Photophysical properties and photodynamic efficiency of cationic porphyrins. Proc. of SPIE, 8942, 894212-1 - 894212-9, 2014.

4. *Gyulkhandanyan G.V., Paronyan M.H., Hovsepyan A.S., Ghazaryan R.K., Tovmasyan A.G., Gyulkhandanyan Aram G., Gyulkhandanyan Anna G., Amelyan G.V.* Photodynamic inactivation of Gram (-) and Gram (+) microorganisms by cationic porphyrins and metalloporphyrins. *Proc. of SPIE*, 7380, 73803I-1 - 73803I-7, 2009.
5. *Hamblin M.R., Hasan T.* Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem. Photobiol. Sci.*, 3, 5, 436-450, 2004.
6. *Hamblin M.R., O'Donnell D.A., Mufthy N., Rajagopalan K., Michaud N., Sherwood M.E., Hasan T.* Polycationic photosensitizer conjugates: effect chain length and Gram classification on the photodynamic inactivation of bacteria. *J. Antimicrob. Chemotherapy*, 49, 941-951, 2002.
7. *Lambrechts S.A.G., Aalders M.C.G., Verbraak F.D., Lagerberg J.W.M., Dankert J.B., Schuitmaker J.J.* Effect of albumin on the photodynamic inactivation of microorganisms by a cationic porphyrin. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 79, 51-57, 2005.
8. *Maisch T.* Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future? *Lasers in Medical Science*, 22, 2, 83-91, 2007.
9. *Malik Z., Ladan H., Nitzan Y.* Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: problems and possible solutions. *J. Photochem. Photobiol. B.*, 14, 262-266, 1992.
10. *Minnock A., Vernon D.I., Schofield J., Griffiths J., Parish J.H., Brown S.B.* Photoinactivation of bacteria. Use of a cationic water-soluble zinc phthalocyanine to photoinactivate both Gram-negative and Gram-positive bacteria. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 32, 159-164, 1996.
11. *Nitzan Y., Malik Z., and Eherenberg B.* Photosensitization of microbial cells. In *Photobiology: the Science and its Applications*, (Riklis E., Ed.), 815-820, Plenum Press, New York, 1991.
12. *Pashkovskaya A.A., Sokolenko E.A., Sokolov V.S., Kotova E.A., Antonenko Y.N.* Photodynamic activity and binding of sulfonated metallophthalocyanines to phospholipid membranes: Contribution of metal-phosphate coordination. *Biochim. Biophys. Acta*, 1768, 2459-2465, 2007.
13. *Tovmasyan A.G., Ghazaryan R.K., Sahakyan L., Gasparyan G., Babayan N., Gyulkhandanyan G.* Synthesis and anticancer activity of new water-soluble cationic metalloporphyrins. *European Conferences on Biomedical Optics 2007*, 17-21, June, 2007, Munich, Germany, Technical Abstract Summaries, 71-72, 2007.
14. *Wainwright M.* Photoantimicrobials – so what's stopping us? *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, 6, 167-169, 2009.

Received on 27.06.2014



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(66), 2014

ՀԱՏԱՊՏՐԱՅԻՆ ԿԵՆՈՒ (TAXUS BACCATA L.) ՏԱՐԱԾՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ԳԵՆՈՏԻԿ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ՏԱՐԲԵՐ ԱՆՏԱՌԱՃՄԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ժ.Յ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ¹, Վ.Լ. ԲԱԴՅԱՆՅԱՆ², Ա.Ա. ԽԱԶԻԿՅԱՆ¹

¹ ՀՀ ԳԱԱ Բուսաբանության ինստիտուտ
² ՀՀ ԲՆ «Արգելոցապարկային համալիր» ՊՈԱԿ
botanyinst@sci.am, badalyan_yahan@yahoo.com, 888aram@bk.ru

Ուսումնասիրվել են «Դիլիջան» ազգային պարկի, «Նոյեմբերյան» և «Կապան» անտառ-տնտեսությունների ու «Շիկահող» պետական արգելոցի կենու պուրակները: Հստակացվել են Հայաստանի հատապտղային կենու (*Taxus baccata* L.) տարածման սահմանները: Հետազոտվել են դրանց ցենոտիկ առանձնահատկությունները, ինքնավերականգնման ունակությունը և կատարվել է համեմատական վերլուծություն: Որոշվել է հետազոտված համակցություններից հավաքված կենու սերմերի կենսունակությունը:

Կենի հատապտղային – ասեղնատերև – ռելիկտ –
կենու պուրակ – վերած

Исследованы тиссовые рощи на территориях “Дилижан” национального парка, “Ноямберьян” и “Капан” лесхозов, “Шикахохского” государственного заповедника. Уточнены границы распространения ягодного тисса (*Taxus baccata* L.) в Армении. Изучены его цено-тические особенности, способность самовосстановления и проведен сравнительный анализ. Определена жизнеспособность семян тисса, собранных из разных ассоциаций.

Тисс ягодный – хвойные – тиссовая роща – подрост

The yew groves of “Dilijan” national park, “Noyemberyan” and “Kapan” forest enterprises and “Shikahogh” state reserve were investigated. The distribution of berry yew (*Taxus baccata* L.) in Armenia was specified. Cenotic features and ability of self-reproduction of yew were investigated and the comparative analysis was made. Viability of collected seeds of yew was defined.

Yew berry – coniferous tree – relict – yew grove – undergrowth

Կենազգիների (*Taxaceae*) ընտանիքին պատկանող կենի (*Taxus*) ցեղն ընդգրկում է 8 տեսակ, որոնցից մեկը *Taxus baccata* L. տարածված է Եվրոպայում, 3-ը՝ *T. chinensis* Rehder, *T. cuspidata* Siebold & Zucc., *T. wallichiana* Zucc. Արևելյան Ասիայում, 4-ը՝ *T. brevifolia* Mill., *T. canadensis* Marsh, *T. floridana* Nutt., *T. globosa* Schltdt. Հյուսիսային Ամերիկայում [5]: Այս ցեղի ներկայացուցիչները մինչև 10 մ բարձրությամբ և մինչև 4 մ բնի տրամագծով դանդաղաճ ծառեր կամ թփեր են:

Հատապտղային կենին, 10-25 (30) մ բարձրությամբ մինչև 150 (250) սմ բնի տրամագծով, երկտուն, երբեմն միատուն ծառ է: Շատ երկարակյաց է՝ ապրում է 1000-3000 (4000) տարի: Պահանջկոտ չէ հողի նկատմամբ, սակայն լավագույն աճ է ունենում հումուսով հարուստ հողերում: Պտղաբերման պարբերականություն չի նկատվում, բաց տարածքներում պտղաբերում է 20-30 տարեկանից սկսած, իսկ անտառներում՝ 70-120 տարեկանից մինչև գերհասուն տարիք: Սերմերը հասունանում են օգոստոս-սեպտեմբեր ամիսներին: Սերմերի հանգստի շրջանը տևում է 20-32 ամիս: Ասեղնատերևները և բնափայտը թունավոր են, իսկ արիլուսը (սերմնակիցը) պարունակում է աննշան քանակությամբ թույն, կարմիր է, հյութալի և ուտելի [1,5,6,10]:

Հատապտղային կենին երրորդական դարաշրջանի ռելիկտային (ինագույն, մնացորդային) տեսակ է, որն, ի տարբերություն ներկայիս կտրտված արեալի, նախկին երկրաբանական ժամանակաշրջաններում ունեցել է միասնական արեալ և այժմ պահպանվել է միայն երրորդական ֆլորայի մեգոֆիլ բույսերի կենտրոնացման օջախներում [5, 7, 10]:

Տարածված է Արևմտյան Եվրոպայի գրեթե բոլոր անտառային շրջաններում, ինչպես նաև Աֆրիկայի հյուսիսային մասերում, Ղրիմում, Կովկասում և Հիմալայներում: Տարածման ամբողջ արեալում այն հանդես է գալիս պուրակների և հատուկենտ ծառերի ձևով, երբեմն առաջացնում է ոչ մեծ ծառուներ:

Նախկինում կենին Հայաստանում էլ անհամեմատ ավելի լայն տարածում է ունեցել, սակայն արժեքավոր բնափայտի պատճառով անխնա հատվել է, իսկ բնակլիմայական պայմանների փոփոխության և սերմնային վերականգնման առանձնահատկությամբ պայմանավորված արեալի զգալի կրճատում է արձանագրվել [6, 9, 12]:

Ներկայումս հատապտղային կենին հանդիպում է Հայաստանի հյուսիս-արևելյան՝ Դիլիջանի, Իջևանի, Նոյեմբերյանի, Բերդի, Ալավերդու և հարավ-արևելյան՝ Կապանի տարածաշրջաններում, ծովի մակարդակից 850-1600 մ բարձրություններում: Չբաղեցրած ընդհանուր տարածքը կազմում է շուրջ 120 հա [2-6, 8, 9, 11, 12]: Հանդիպում է համեմատաբար խոնավ կիրճերի հիմնականում հյուսիսահայաց լանջերի մինչև 150-200 (300) մ լայնությամբ ստորին և միջին հատվածներում:

Բարձր գեղազարդության շնորհիվ հեռանկարային է Հայաստանի հյուսիս-արևելյան և հարավ-արևելյան համեմատաբար խոնավ շրջանների բնակավայրերի կանաչապատման համար: Երևանի պայմաններում կարելի է օգտագործել ձմեռային այգիներում և ինտերիերների կանաչապատման և ձևավորման մեջ: Կենու պուրակների գերակշռող մասն ընդգրկված է հատուկ պահպանվող տարածքներում:

Աշխատանքի նպատակն է եղել հստակեցնել Հայաստանում հատապտղային կենու տարածման սահմանները, ուսումնասիրել դրանց ցենոտիկ առանձնահատկությունները և ինքնավերականգնման ունակությունները:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրության համար նյութ են ծառայել Հայաստանի հյուսիս-արևելյան և հարավ-արևելյան շրջանների կենու պուրակները, ծառուներն ու մենածառերը: Հոդվածում ամփոփվել են «Շիկահող» արգելոցում, «Դիլիջան» ազգային պարկում և «Նոյեմբերյան» ու «Կապան» անտառտնտեսություններում 2008-2013 թթ. կատարված ուսումնասիրությունների արդյունքները:

Հետազոտությունները կատարվել են երթուղային եղանակով, որը համադրվել է փորձահրապարակներ տեղադրելու ու մոդելային ծառերի ուսումնասիրության մեթոդներով: Անտառզնահատման համապատասխան գործիքներով որոշվել են ծառաչափական և անտառզնահատման ցուցանիշները: Կատարվել է հետազոտված բոլոր համակեցություններից կենու սերմերի և հերբարիումային նյութի (ERE 187323, 187324, 187512, 187513, 187502, 187503) հավաք: Սերմերի կենսունակությունը որոշվել է «ինդիգո կարմին» պրեպարատով մշակելու միջոցով:

Արդյունքներ և քննարկում: Ուսումնասիրություններն իրականացվել են կենու համակեցությունների ցենոտիկ առանձնահատկությունների բացահայտման ու համեմատական վերլուծության նպատակով:

Հայաստանում հատապտղային կենու ամենամեծ պուրակն առանձնացված է որպես բնության հատուկ պահպանվող տարածք, այն Դիլիջանի տարածաշրջանում գտնվող «Ախնաբաղի կենու պուրակ» արգելավայրն է: Պուրակը գտնվում է Աղավնավանք գետի ձախակողմյա մասում ծովի մակարդակից 1250-1600մ բարձրության (ծմբ.) հյուսիս-արևմտյան կողմնադրությամբ, մինչև 45° թեթևությամբ, թույլ երոզացված լանջերին: Այստեղ անտառ կազմող տեսակներն են հաճարենին (*Fagus orientalis*) և բոխին (*Carpinus betulus*), որոնց ուղեկցում են կովկասյան լորենին (*Tilia caucasica*), դաշտային ու սրատերև թխկին (*Acer campestre*, *A. platanoides*), հունական ընկուզենին (*Juglans regia*) և այլն: Ենթանտառը հանդիպում է հիմնականում բացատային հատվածներում (կտտկենի (*Sambucus nigra*), մոշենի (*Rubus caesius*), մասրենի (*Rosa canina*)), որոնց միջին բարձրությունը 1.5-2.0 մ է: Կենդանի ծածկոցի կազմում հանդիպում են մինչև 1.5 մ բարձրությամբ պտերներն ու ստվերասեր լայնատերև խոտաբույսերը:

Գետի կիրճում և պուրակի սահմանային հատվածներում կենին հանդիպում է հատուկենտ՝ մենածառերի կամ փոքրիկ խմբերի տեսքով, որոնց ծառաչափական ցուցանիշներն առավելապես կախված են տեղանքից: Ծառերի բարձրությունը տատանվում է 12-15 մ, տրամագիծը՝ 32-40 սմ, իսկ տարիքը 350-400 տարի սահմաններում:

Կիրճի ստորին հյուսիսահայաց հատվածը ներկայացված է 4հ2կենի2ընկ1թխ1թղ (հ-հաճարենի, ընկ-ընկուզենի, թխ-թխկի, թղ-թեղի) խառը կազմով ծառուտով, որն ունի բարձր լրիվություն (0.7), սաղարթի կցվածություն (0.8) ու բուխտետ (II): Այստեղ ծառերի միջին բարձրությունը 28 մ է, տրամագիծը՝ 50 սմ, տարիքը՝ 200 տարի: Լանջն ի վեր կենու հանդիպելիությունն ավելի է մեծանում և այն հանդես է գալիս խմբերով ու նույնիսկ առաջացնում մաքուր ծառուտներ: Պուրակի կենտրոնական հատվածի կազմը 6կենի3հ1թ + 1, թխ, թղ, ընկ (թ-բոխի, Լ-լորենի) է, լրիվությունը 0.8, բուխտետային դասը II: Կենու միջին ծառաչափական տվյալներն են. բարձրությունը 18 մ (առավ. 22 մ), տրամագիծը 44 սմ (առավ. 90 սմ), տարիքը 350 տարի (առավ. շուրջ 1000), իսկ լայնատերև սաղարթավոր տեսակներն ունեն հետևյալ միջին ցուցանիշները. բարձրություն 23 մ, տրամագիծ 40 սմ, տարիք 160 տարի (սկ. 1):



Սկ. 1. Ախնաբաղի կենու պուրակ

Կենիների գերակշռող մասն ունեն բազմազագաթություն և վարակված էին *Polyporus sulphureus* սնկով, որն առաջացնում է բնափայտի փտում:

Պուրակում կենու բնական վերականգնումն ընթանում է շատ վատ: Որոշ բացատային և միջին կցվածությամբ հատվածներում նկատվում է 1-2 տարեկան սերմնաբուսակների բավական մեծ քանակ, սակայն ավելի բարձր՝ 3-5 տարեկան սերմնաբուսակների թիվն անհամեմատ քիչ է՝ 1 հա 10-ից ոչ ավելի (սկ. 2): Հազվադեպ հանդիպում են նաև 10 տարեկանից բարձր առանձնյակներ [3]:



Սկ. 2. Կենու վերածն Ախնաբաղի կենու պուրակում

Ընդհանուր առմամբ հատապտղային կենին Դիլիջանի տարածաշրջանում հանդիպում է հինգ տարբեր հատվածներում շուրջ 50.0 հա վար, որից 48.0 հա «Դիլիջան» ազգային պարկի Գոշի տեղամասի չորս հատվածներում, մյուսը շուրջ 2.0 հա մակերեսով գտնվում է Աղստև գետի աջակողմյա հյուսիսային կողմնադրության լանջին՝ Դիլիջան քաղաքից դեպի Մարգահովիտ 6-7-րդ կմ, «Ֆրոլովա բալկա» կոչվող հատվածում և տարածվում գետի հունով դեպի «Աբիկի ձոր» կոչվող հատված:

«Ֆրոլովա բալկա» կոչվող հատվածում կենու սերմնային ծագմամբ ծառեր առկա են միայն մի փոքր հատվածում: Այստեղ առկա է կենու շուրջ 20 ծառ, որից 5-ը 1-1.5 մ բարձրությամբ, իսկ մնացած ծառերի միջին բարձրությունը 5-6 մ է, միջին տրամագիծը՝ 20-25 սմ, տարիքը՝ 100-120 տարի: Ամենամեծ ծառն ունի 10 մ բարձրություն և 30 սմ բնի տրամագիծ: Անտառի մնացած հատվածում կենու ծառերը հանդիպում են շատ հազվադեպ և միայն կոճղաշվային ծագման (սկ.3):



Նկ. 3 Կոճղաշվային ծագմամբ կենի «Ֆրոլովա բալկա» հատվածում

Հայաստանի հյուսիս-արևելյան շրջանների համար ուշագրավ է Նոյեմբերյանի տարածաշրջանի Ոսկեպար գյուղի մերձակա կենու պուրակը՝ համեմատաբար փոքր՝ շուրջ 3.0 հա մակերեսով: Գտնվում է գյուղից արևմուտք շուրջ 4 կմ հեռավորությամբ, Նույնանուն գետի ձախ կողմում, ծովի մակարդակից 900-1000 մ բարձրության, հյուսիսային, հյուսիս-արևելյան կողմնադրության 25-40⁰ թեքության լանջերի, հիմնականում թույլ երոզացված, ստորին հատվածում: Կենու գերակշռությամբ ծառուտը զբաղեցնում է 0.8-1 հա, որտեղ ծառերի մեծ մասն ունեն 40-50 սմ բնի տրամագիծ և 13-15 մ բարձրություն: Ամենախոշոր ծառն ունի 19 մ բարձրություն և 71 սմ բնի տրամագիծ, տարիքը՝ ավելի քան 500 տարի, ամենափոքր ծառը՝ 11.5 մ բարձրություն և բնի 31 սմ տրամագիծ: Կենու մատղաշը գործնականում բացակայում է: Շատ հազվադեպ հանդիպում են միայն 1 տարեկան սերմնաբուսակներ: Անտառի մնացած հատվածում կենու մասնակցությունն ավելի քիչ է՝ բաշխված է հավասարաչափ, բացառությամբ որոշ հատվածների, որտեղ հանդես է գալիս 3-4 ծառերից կազմված պուրակներով: Ամենախոշոր ծառն ունի 21 մ բարձրություն և 34 սմ տրամագիծ, տարիքը՝ 210 տարեկան: Ծառերի մեծ մասի բարձրությունը 15-18 մ է, բնի տրամագիծը՝ 25-30 սմ: Առկա է 20 սմ մինչև 1 մ բարձրությամբ մատղաշ 1 հա հաշվով 70 հատ: Հանդիպում են նաև 1-2.5 մ բարձրությամբ 1 հա հաշվով կենու 25 ծառեր (նկ.4):



Նկ. 4. Կենու բնական վերածը Ոսկեպարի պուրակում

Ուսումնասիրված տարածքում չի նկատվում բազմազագաթության և կայծակի կողմից զագաթների կոտորվածության երևույթ: Առատ պտղաբերում է: Վեգետատիվ եղանակով չի բազմանում: Փոքրիկ կղզյակներով և հատուկենտ ծառերով հանդիպում է Կիրանցի կիրճում՝ Աճարկուտ բանավանի մերձակա անտառներում, Իջևան չխասած 12 կմ, Ալավերդի՝ Դեբեդ գետի հովտում (Հաղպատի վտակ) և Բերդում՝ Այգեճոր գյուղի մերձակա անտառներում: Երբեմն նկատվում է բնի փտախտ: Ծառերը հիմնականում ցածրաբուն են և ուղեկցում են գլխավոր տեսակներին կամ հանդես են գալիս ենթանտառում [6, 9]:

Հայաստանի հարավ-արևելյան շրջաններում կենին հանդիպում է «Շիկահող» պետական արգելոցի և «Կապան» անտառտնտեսության անտառներում («Կրնաս» և «Մխոտի ձոր» կոչվող տեղամասեր, Քաջարան, Ծավ, Սրաշեն և Վաչագան համայնքների շրջակայք): «Կրնաս»-ում կենին տարածվում է նույնանուն գետի աջակողմյա հյուսիս-սահայաց մինչև 50° թեթևությամբ տարբեր աստիճանի էրոզացվածությամբ լանջերին: Տարածվում է ձորակով շուրջ 850 մ երկարությամբ և մինչև 200 մ լանջն ի վեր, ընդգրկելով լանջի ստորին և միջին հատվածները: Մակերեսը շուրջ 13.5 հա է, 1180-1320 մ ծմբ սահմաններում: Անտառի կազմում գերակշռում է բոխին (*Carpinus betulus*), որին ուղեկցում են սովորական հացենի (*Fraxinus excelsior*), էլիպսատերև թեղին (*Ulmus elliptica*), դաշտային թխկին (*Acer campestre*) և այլն: Ենթաստառում հանդիպում են մոշենի (*Rubus caesius*), իլենի (*Euonymus sp.*):

Կենու տարածման մասում առկա են անտառզնահատման հետևյալ միջին ցուցանիշները. լրիվությունը՝ 0.5 (երբեմն 0.8), բոնիտետը՝ III, սաղարթների միակցվածությունը՝ 0.6 (երբեմն 0.9): Ընդհանուր պաշարում բոխին ունի 80-90 % մասնակցություն, իսկ կենու բնափայտինը հասնում է մինչև 5 %: Բոխին միջինն ունի 18 մ բարձրություն, 32 սմ տրամագիծ և 80 տարի հասակ: Այստեղ կենու 200 տարեկանից բարձր ծառեր հանդիպում են հազվադեպ: Կենու միջին բարձրությունը 8 մ է, իսկ բնի տրամագիծը՝ 22 սմ: Դրա ամենամեծ կենսունակ ծառն ունի 12 մ բարձրություն, 38 սմ բնի տրամագիծ և 120 տարեկան է: Այդ ծառը գտնվում է գետի ափից ընդամենը 10-15 մ հեռավորության վրա, հարթ տարածքում: Բնափայտի փորձանմուշում տարեկան օղակները բավականին լայն են համեմատած նույն համակեցության, և այլ համակեցությունների ծառերից վերցված բնափայտի փորձանմուշների: Կարելի է եզրակացնել, որ կենին գերիտնավ պայմաններում ունենում է տեսակին բնորոշ աճը գերազանցող ցուցանիշներ: Կենու ծառերը հիմնականում բաշխված են հավասարաչափ: Հազվադեպ հանդիպում են 2-3 ծառերի խմբերով: Պուրակների փոխարեն հաճախ առաջացնում են թփային մացառուտներ, գետնատարած գորգեր (նկ. 5):



Նկ. 5. Կենու թփային մացառուտներ «Շիկահող» պետական արգելոցում

1 հա հաշվով առկա են 1-3 մ բարձրությամբ կենու 1000 հատ գետնատարած և մացառային ծառեր: Սակայն գերակշռող մասն անհուսալի է: Թփային մացառուտներն ունեն արմատամացառային և տաշտաթաղային ծագում, հանդիպում են նաև հատումից կամ արածեցումից ձևախախտված թփային դրսևորումներ (նկ. 6): Խոտածածկը լավ է զարգացած, կազմված է պտերներից և հացազգի խոտաբույսերից, սակայն բացակայում է ճմապատվածությունը:

«Մխոտի ձոր» տեղամասում կենու պուրակը ձգվում է գետի աջ կողմի երկայնքով: Տարածվում է ձորակով շուրջ 650 մ երկարությամբ և մինչև 200 մ լանջն ի վեր, ընդգրկելով լանջի ստորին և միջին հատվածները: Շուրջ 10.0 հա զբաղեցնող տարածքը գտնվում է հյուսիսային կողմնադրության մինչև 50° թեթևությամբ, միջին էրոզացվածությամբ լանջերին, ծովի մակարդակից 1160-1280 մ բարձրության սահմաններում: Խոտածածկն ու ենթաստառը շատ թույլ է զարգացած: Անտառկազմող «տեսակը» կրկին բոխին է, որն այստեղ հասնում է մինչև 25 մ բարձրության և մինչև 56 սմ բնի տրամագիծ: Ծառուտի լրիվությունը 0.6, բոնիտետը III, սաղարթների միակցվածությունը 0.8: Ծառատեսակներից հանդիպում են վրացական կաղնի (*Quercus iberica*), սովորական հացենի (*Fraxinus excelsior*), էլիպսատերև թեղի (*Ulmus elliptica*), արոսենի (*Sorbus sp.*), կեռասենի (*Cerasus avium*) և այլն:

Թփատեսակներից հանդիպում են մոշենի (*Rubus caesius*), գլեռենի (*Mespilus germanica*): Խոտածածկը կազմված է հիմնականում պտերներից, հանդիպում են նաև աստղախոտ, շյուղախոտ: Անտառային թաղիքը թույլ է: Կենու պուրակը հանդես է գալիս կղզյակներով և ընդարձակ տարածքների վրա չի հանդիպում: Այս հատվածում կենին ավելի մեծ մարդահատույց ազդեցություն է կրել: Այստեղ կենու խոշոր ծառերն ավելի քիչ են: Լանջի ստորին հատվածում առաջացնում են բավական խիտ գորգեր և առավելապես հանդես են գալիս 1-3 մ բարձրությամբ մացառուտների տեսքով: Մեզ հանդիպած ամենախոշոր ծառն ունի 16 մ բարձրություն, 66 սմ բնի տրամագիծ, որի տարիքը բնափայտի փտած լինելու պատճառով հնարավոր չէ որոշել: Հազվադեպ նկատվում է հիվանդություն, որն արտահայտվում է տերևների մուգ գորշ գունափոխմամբ: Կենու սերմնային վերածը գրեթե բացակայում է: Ինչպես նախորդ համակեցությունում, այստեղ նույնպես ծառերը շատ թույլ են պտղաբերում:



Նկ. 6. Կենու վեգետատիվ բազմացում «Շիկահող» պետական արգելոցում

Որպես կանոն, վեգետատիվ եղանակով բազմացման ունակությունը բույսի մոտ ավելի վառ է արտահայտվում վերջինիս աճի և զարգացման համար ոչ նպաստավոր պայմանների դեպքում: Հետևաբար, Հայաստանի հարավ-արևելյան մասում կենու մոտ տաշտաթաղի և արմատային մացառներ առատորեն առաջացնելու հատկությունը վկայում է այն մասին, որ այստեղ կենու աճման համար պայմաններն այնքան էլ նպաստավոր չեն, քան երկրի հյուսիս-արևելյան մասում: Հայաստանի հարավ-արևելյան մասում կենու աճման և զարգացման համար անբարենպաստ պայմանների մասին է վկայում նաև այն, որ 200-ից բարձր տարեկան ծառերը հազվադեպ են, վարակված բնափայտի փտախոտով, գագաթները չորացած են: Մինչդեռ Հայաստանի հյուսիս-արևելյան շրջանների կենու պուրակներում ամկա են առողջ և հասուն առանձնյակներ: Շիկահողի կենու երկու պուրակներում էլ պտղաբերությունը թույլ է, ինչը ևս վկայում է կենու աճման համար անբարենպաստ պայմանների մասին:

Կենու ծառերը հիմնականում հանդիպում են հյուսիսահայաց լանջերին, իսկ հարավահայաց լանջերում հանդիպում են հիմնականում լանջի ստորին հատվածներում, որտեղ ծառերի աճն ավելի ընկճված է:

Շուրի մակարդակից 1100-1300 մ բարձրության միջին թեքությամբ և հումուսով հարուստ հատվածները կենու աճման առավել բարենպաստ պայմաններն են: Լանջի կիրճային մասում հասուն ծառերն ավելի հազվադեպ են և ունեն ավելի թույլ աճ, քան I-ին և II դարավանդներում, որտեղ հողերն ավելի հարուստ են: Կիրճերում նկատվում է վերածի ավելի մեծ քանակ, ինչը պայմանավորված է սաղարթի ցածր միակցվածությամբ, գետի կողմից ընկնող կողային ցրված լույսով, հողի և օդի հարաբերական խոնավությամբ:

Սերմնային վերականգնման անբավարար քանակը, իսկ որոշ դեպքերում նույնիսկ բացակայությունը, պայմանավորված է մի շարք հանգամանքներով: Սերմերի հանգստի տևողությամբ (մինչև 36 ամիս), ցածր ծլունակությամբ, սաղարթի բարձր միակցվածությամբ (նպաստավոր է 0.5-0.7-ը), խաշամի հաստ շերտով, ինչպես նաև հողի թթվային ռեակցիայով, արածեցմամբ, ամառային խորշակներով, որն առաջացնում է հողի մակերեսային չորացում և այլն:

Սերմերի ծլունակությանը նպաստում են թռչունները, որոնց ստամոքսաղիքային տրակտի միջով սերմերն անցնելով ու ենթարկվելով աղաթթվի ազդեցությանն ավելի շուտ են ծլում: «Ինդիգո կարմին» պատրաստուկի միջոցով մշակման արդյունքում սերմերի կենսունակությունը կազմում է 50-60 %:

Կարելի է ենթադրել, որ Նախկին երկրաբանական ժամանակաշրջաններում՝ մեր-
ձարևադարձային կլիմայական պայմաններում, կենին դրսևորել է իրեն որպես միջին
աճեցողություն ունեցող ծառ: Հետագա կլիմայական փոփոխությունների հետևանքով
կենու համակեցությունների տարածքները զգալի կրճատվել են, պահպանվելով
մնացորդային անտառների ձևով:

Հաշվի առնելով հանրապետության տարածքում հատապտղային կենու (*Taxus
baccata* L.) ներկայիս տարածվածությունը, որակական և քանակական ցուցանիշները
կարելի է ենթադրել, որ Հայաստանում չնայած դժվար ընթացող ինքնավերականգնմանը
և բնակլիմայական պայմանների հնարավոր փոփոխություններին, տեսակին վերացման
վտանգ չի սպառնում: Կլիմայի գլոբալ տաքացման արդյունքում կենու պուրակները
հնարավոր է ենթարկվեն տարածական փոփոխության. տարածման սահմանները
կիջնեն լանջն ի վար դեպի կիրճը և կբարձրանան գետի հունով դեպի վեր, որի
արդյունքում պուրակները կստանան ավելի նեղ ժապավենի տեսք, ինչպես նաև կենու
աճման համար նպաստավոր պայմաններն ըստ ծովի մակարդակի բարձրության
կբարձրանան, որի արդյունքում դրա տարածումը հնարավոր կլինի ավելի բարձր
գոտիներում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Քաղայան Վ.Լ.* Հատապտղային կենու սերմերի ֆիզիկատեխնոլոգիական հատկությունները
Հայաստանի տարբեր անտառային շրջաններում, Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 62, 4, էջ 94-96,
2010:
2. *Չաբարյան Ա.Ա.* Հատապտղային կենին (*Taxus baccata* L.) Չանգեզուրում, Գիտություն և տեխ-
նիկա, Երևան, 485, 1, էջ 15-20, 2004:
3. *Խաչիկյան Ա.Ա.* Կենու ռեչիկտային օջախները Հայաստանում և պահպանության խնդիրները,
Կենսաբազմազանություն ու վայրի բնության պահպանության էկոլոգիական հիմնախնդիրներ,
Երևան, էջ 123-127, 2013:
4. *Մուլբիջանյան Յա.Ի., Ասլանյան Շ.Գ., Գրիգորյան Շ.Ս.* Չանգեզուրի անտառների հազվագյուտ
ծառատեսակները, Հայաստանի բնություն, Երևան, 1, էջ 5-6, 1960:
5. *Վարդանյան Շ.Յ.* Ծառագիտություն, Ե., 372 էջ, 2005:
6. *Վարդանյան Շ.Յ., Քաղայան Վ.Լ., Հովսեփյան Ռ.Ա.* Հատապտղային կենին Դեբեդ գետի ավա-
զանում, Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 62, 1, էջ 93-97, 2010:
7. *Վարդանյան Շ.Յ., Խաչիկյան Ա.Ա.* Ռեչիկտային ծառերն ու թփերը և դրանց դերը Հայաստանի
դենդրոֆլորայի ձևավորման ու զարգացման գործընթացում, Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 64,
4, էջ 16-21, 2012:
8. *Абрамян Р.А.* Древостой тисса в Зангезуре. Лесное хозяйство, Ереван, 12, стр. 67-68,
1963.
9. *Бадалян В.Л.* Древостой тисса ягодного (*Taxus baccata* L.) в Айгедзоре (Армения),
Известия аграрной науки, Тбилиси, 9, 4, стр. 126-128, 2011.
10. *Варданян Ж.А.* Деревья и кустарники Армении в природе и культуре. Ереван, 368 с.,
2003.
11. *Махатадзе Л.Б.* Заповедная тиссовая роща в Тарсачайском ущелье Армянской ССР.
Лесное хозяйство, Ереван, 8, стр. 28-30, 1939.
12. *Троицкий Н.А.* Тисс в Дилижанском районе Арм.ССР. Сб. науч. тр. бот. общ, Ереван, 2,
стр. 33-42, 1939.

Ստացվել է 30.04.2014



Biol. Journal of Armenia, 3 (66), 2014

THE INFLUENCE OF DIFFERENT NUTRIENT SOLUTIONS ON THE PRODUCTIVITY OF *CALLISIA FRAGRANS* IN OPEN-AIR HYDROPONIC CONDITIONS

S.KH. MAIRAPETYAN, A.S. KARAPETYAN, J.S. ALEXANYAN,
H.M. GALSTYAN, B.T. STEPANYAN

G.S. Davtyan Institute of Hydroponics Problems NAS RA
hydrop@netsys.am

The cultivation results of valuable medicinal plant *Callisia fragrans* in open-air hydroponic conditions have shown that the tested nutrient solutions didn't have a significant influence on the productivity of the raw medicinal material. In case of using different nutrient solutions (Davtyan's, Steiner's, Chesnokov-Bazirina's and Knop's) the raw medicinal material exceeded the soil control with fresh (2.3-3.1 times) and dry weight (2.2-3.2 times), as well as with output of sum flavonoids (2.3-3.3 times), extractives (2.6-4.0 times) and tannins (1.2-2.5 times) obtained from one plant.

Callisia fragrans – hydroponics – nutrient solution – productivity – secondary origin substances

Բացօթյա հիդրոպոնիկայի պայմաններում արժեքավոր դեղաբույս *Callisia fragrans*-ի աճեցման արդյունքները ցույց են տվել, որ փորձարկված սննդալուծույթները էական ազդեցություն չեն ունեցել դեղահումքի արդյունավետության վրա: Տարբեր սննդալուծույթների (Դավթյան, Ստեյներ, Չեսնոկով-Բազիրինա, Կնոպ) կիրառման դեպքում դեղահումքը թարմ (2,3-3,1 անգամ) և չոր (2,2-3,2 անգամ) քաշով, մեկ բույսից ստացված գումարային ֆլավոնոիդների (2,3-3,3 անգամ), էքստրակտիվ կյութերի (2,6-4,0 անգամ) և դաբաղանյութերի (1,2-2,5 անգամ) ելքով գերազանցել է հողային ստուգիչին:

Callisia fragrans – հիդրոպոնիկա – սննդալուծույթ – արդյունավետություն – երկրորդային ծագման կյութեր

Результаты культивирования ценного лекарственного растения *Callisia fragrans* в условиях открытой гидропоники показали, что испытанные питательные растворы не оказали существенного влияния на продуктивность лекарственного сырья. При использовании различных питательных растворов (Давтян, Стейнер, Чесноков-Базырина, Кноп) лекарственное сырье по свежей (2,3-3,1 раза) и сухой (2,2-3,2 раза) массе, по выходу суммарных флавоноидов (2,3-3,3 раза), экстрактивных (2,6-4,0 раза) и дубильных веществ (1,2-2,5 раза), полученных от одного растения, превышали почвенный контроль.

Callisia fragrans – гидропоника – питательный раствор – продуктивность – вещества вторичного происхождения

Plant productivity increase and intensification of biosynthesis of valuable substances is particularly due to the optimization of mineral nutrition, which being one of the main and decisive factors in the environment, somewhat directs the biosynthes processes in plants [1, 11]. The composition of the nutrient solution is very important for normal plant growth and development. Among nutrient solutions used in industrial hydroponics Davtyan's, Knop's,

Helrigel's, Pryanishnikov's, Chesnokov and Bazirina's, Steiner's, Bentley's and other nutrient solutions are most famous [7, 9, 17, 15].

The aim of the work is to study the influence of different nutrient solutions on the productivity and biosynthesis of secondary origin substances of valuable medicinal plant *Callisia fragrans*, first introduced into the open-air hydroponic conditions of the Ararat Valley.

Callisia fragrans (Lindl.) Woodson is a perennial, succulent plant of the Commelinaceae family (fig.1). It is common in Central and South America and Mexico. It is quite a big plant with two types sprouts: vertical and horizontal, which are made up of joints. It mostly propagates with cuttings. The flowers are small, gathered in the glow inflorescences with hyacinth odor [12, 2].



Figure 1. *Callisia fragrans* in open-air hydroponic conditions

As a result of study, the chemical composition of the plant juice, it has been found out that it contains carbohydrates, ascorbic acids, amino acids, phenol acids, flavonoids, coumarins, anthraquinones, triterpene compounds, alkaloids and choline [13]. The plant is also rich in mineral elements. Ca, Mg, Si, P, Ba, Fe, Na, Mn, Cu, Zn and Al are found in the juice obtained from the plant sprouts [18].

Due to biologically active substances it also has antioxidant, anti-hypoxic, anti-mutagenic and other healing properties [13, 14, 16]. In the result of phytochemical analysis of the sprouts it has been revealed that the plant also has temperature reducing and anti-inflammatory properties [8].

It is widely used in folk medicine for treating a number of diseases such as cancer, joints and spinal diseases (rheumatism, arthritis, arthrosis, radiculitis, osteochondrosis), liver and pancreas, gastrointestinal tract, skin diseases, bronchial asthma, etc.

Materials and methods. Different nutrient solutions have been tested: Davtyan's, Steiner's, Chesnokov-Bazirina's and Knop's [7, 15, 17, 9]. Plant cuttings obtained by hydroponics method were the planting material. The experiments were carried out in hydroponics vegetation pots with 0.16m² nutrient surface (1m²/12plant), the mixture of gravel and red volcanic slag (particle diameter 3-15mm) with 1:1 ratio were used as a substrate which was disinfected with KMnO₄ 0.05 % solution. Every 8-10 days the plants were rinsed with artesian water. In the experiments soil culture was the control variant where all the accepted agrotechnical rules were observed. The number of replications was 5-6. During the research physiologo-pharmachemical analyses were carried out: water forms in the leaves, osmotic pressure of cellular fluid according to Gusev [6], the content of photosynthetic pigments according to Wettstein [19], and the content of extractives, sum flavonoids, tannins and humidity in dry raw medicinal material according to Grinkevich, Georgievskiy and SP XI [5, 3, 4]. The obtained results were submitted to mathematical elaboration with computer system GraphPad Prism 6.

Results and Discussion. In the result of experiments (tab. 1) it has been revealed that the tested variants of nutrient solutions didn't differ significantly both with fresh and dry weight of all the sprouts (including the ones that were still in the formation stage) and the sprouts which are raw medicinal material. And in case of green mass the difference between Steiner's and Knop's solutions was considerable.

Table 1. The influence of different nutrient solutions on the productivity of *Callisia fragrans*, g/plant

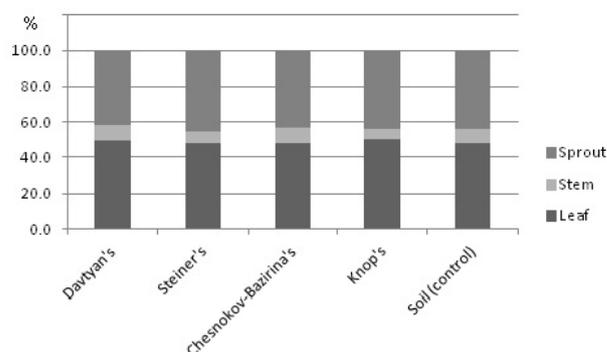
Variant	Leaf		Sprout (raw medicinal material)*		Sprout (total)	
	Fresh	Dry	Fresh	Dry	Fresh	Dry
Davtyan's	890.3 ^{ab}	57.2 ^{ab}	487.5 ^a	27.7 ^a	935.8 ^a	48.9 ^a
Steiner's	691.8 ^b	44.7 ^b	490.3 ^a	30.4 ^a	731.3 ^a	42.7 ^a
Chesnokov- Bazirina's	806.7 ^{ab}	50.4 ^{ab}	462.9 ^a	29.6 ^a	782.9 ^a	45.3 ^a
Knop's	1047 ^a	67.9 ^a	636.6 ^a	40.9 ^a	994.9 ^a	59.9 ^a
Soil (control)	294.4 ^c	21.1 ^c	205.4 ^b	12.6 ^b	326.4 ^b	19.1 ^b

^{abc} Tukey's Multiple Comparison Test (P<0.05)

* Brownish-purple sprouts of the plant with 9 and more joints are considered to be raw medicinal material [12]

At the same time the same plant grown in hydroponics and soil conditions was compared. In open-air hydroponics the plants nourished with different nutrient solutions exceeded the soil culture with leaf (fresh: 2.3-3.6 times and dry: 2.1-3.2 times) and sprout (fresh: 2.3-3.1 times and dry: 2.2-3.2 times) weight, which are considered raw medicinal material. This can be explained by the fact that in hydroponics the best air-water-mineral nutrition conditions are provided for the root system of the plant, while in soil culture the plants can use the above mentioned factors only for a short period [7, 9].

The same regularity has been maintained in leaf-stem-sprout ratio of all variants; at the same time regardless of cultivation methods a great accumulation of leaves (48-50%) and sprouts (42-46%) has been observed (Figure 2).

**Figure 2.** The influence of different nutrient solutions on leaf-stem-sprout ratio of *Callisia fragrans*

The physiological analyses were carried out in the leaves: an average sample was taken from the main plant and from lateral sprouts starting from it. It turned out that the content of total water has undergone very few changes in all variants. It is known that for normal growth and development of plants not only the content of total water is important but also the degree of its mobility, the greater the shares of removable water in the plants, the higher the physiological activity of leaves [9, 10]. A high content of free water (by 5.3-11.1%) was observed in the leaves of the hydroponics plants, compared to the soil ones, as well as small values of bound water (by 7.6-13.1%) and osmotic pressure of cellular fluid (by 3.9-23.7%).

To some extent, cultivation conditions had an influence on biosynthesis of photosynthetic pigments in leaves. The content of chlorophyll (a+b) in the leaves of the plants obtained with different nutrient solutions exceeded the soil culture by 27.7-60.1% (tab. 2).

Table 2. The influence of different nutrient solutions on physiological indices of *Callisia fragrans*

Indices	Davtyan's	Steiner's	Chesnokov-Bazirina's	Knop's	Soil (control)
Total content of water, %	94.2	93.1	93.7	93.3	93.1
Content of free water, %	61.1	57.9	59.8	58.7	55.0
Content of bound water, %	33.1	35.2	33.9	34.6	38.1
Free water/bound water	1.8	1.6	1.8	1.7	1.4
Osmotic pressure of cellular fluid, atm	1.96	2.47	2.08	2.36	2.57
Chlorophyll (a+b), mg %	34.6	37.2	43.4	36.3	27.1
Carotenoids, mg %	12.4	11.5	12.8	11.3	14.0

Taking into account the fact that the plant has medicinal properties only in case of 9 and more joints on the sprouts, which obtain brownish-purple color, such sprouts were chosen for pharmacological analysis of secondary origin substances (sum flavonoids, extractives, tannins). Davtyan's solution exceeded other variants with the content of extractives (by 1.1-1.2 times) and the control (by 1.3 times). While the plants nourished with Chesnokov-Bazirina's nutrient solution compared to others had the lowest content of sum flavonoids (by 2.2-2.3 times). Analysis of pharmacological indices has shown that different nutrient solutions didn't have a significant influence on percentage content of humidity (tab.e 3).

Though a high content of sum flavonoids and tannins has been observed in the plants of the control variant, the output of the mentioned substances per plant reduces by 2.3-3.3 and 1.2-2.5 times, correspondingly, compared to other variants because of raw medicinal material low harvest (tab. 3).

Table 3. The influence of different nutrient solutions on accumulation of secondary origin substances of *Callisia fragrans*

Variant	Extractives		Sum flavonoids		Tannins		Humidity
	%	g/plant	%	g/plant	%	g/plant	
Davtyan's	39.7	11.0	0.24	0.07	0.7	0.19	9.6
Steiner's	31.8	9.7	0.24	0.07	1.3	0.40	10.3
Chesnokov-Bazirina's	33.3	9.9	0.11	0.03	1.2	0.35	9.1
Knop's	36.9	15.1	0.25	0.10	0.9	0.37	9.5
Soil (control)	30.4	3.8	0.26	0.03	1.3	0.16	9.6

Summarizing the above mentioned we have come to the following conclusions. In open-air hydroponic conditions different nutrient solutions mostly didn't have a significant influence on the productivity of *Callisia fragrans*. Considerable increase of harvest (2.2-3.6 times) has been noticed in soilless culture conditions compared to soil. This can be explained by the fact that the best air-water-nutrition conditions were provided in hydroponics. In soilless conditions activation of important physiological processes has been observed which determines the high productivity of hydroponics plants. Due to raw medicinal material productivity high output of secondary origin substances: flavonoids (2.3-3.3 times), extractives (2.6-4.0 times), tannins (1.2-2.5 times) was also registered in soilless culture conditions.

REFERENCES

1. Մայրապետյան Ա.Խ., Ալեքսանյան Ջ.Ս., Թադևոսյան Ա.Հ., Ստեփանյան Բ.Թ., Գալստյան Հ.Մ., Թովմասյան Ա.Հ., Հովհաննիսյան Ա.Մ. Հաղորդումներ, 30, էջ 64-67, 2005.
2. Большая энциклопедия. Лекарственные растения в народной медицине. М., "Издательский дом АНС", 2007.
3. Георгиевский В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск, "Наука", 1990.

4. Государственная фармакопея СССР, XI изд., вып. 2. М., Медицина, www.fito.nnov.ru/pharmacoepa, 1990.
5. *Гринкевич Н.И., Сафронич Л.Н.* Химический анализ лекарственных растений. М., “Высшая школа”, 1983.
6. *Гусев Н.А.* Методы исследования водообмена растений. Казань, изд-во Казанского ун-та, 1989.
7. *Давтян Г.С.* Гидропоника. В кн.: Справочная книга по химизации сельского хозяйства. М., Колос, 1980.
8. *Коренская И.М., Бузлама А.В., Куликова Т.Ю., Колосова О.А.* Материалы 4-й Всероссийской конференции “Фармообразование 2010”. Часть II. “Научные основы создания новых лекарственных средств”. Воронеж, с.201-204, 2010.
9. *Майрапетян С.Х.* Культура эфиромасличных растений в условиях открытой гидропонии. АН Армении, Ереван, 1989.
10. *Майрапетян С.Х., Алексанян Д.С.* Водный режим растений в условиях открытой гидропонии. АН Армении, Ереван, 1991.
11. *Майрапетян С.Х., Татевосян А.О.* Оптимизация минерального питания растений в условиях гидропонии. Ереван: изд. Гитутюн НАН РА, 1999.
12. *Огарков В.* Все о золотом усе. М., ООО “АСС-Центр”, 2004.
13. *Оленников Д.Н., Зилфикаров И.И., Торопова А.А. Торопова, Ибрагимов Т.А.* Химия растительного сырья, 4, с.95-100, 2008.
14. *Раднаева Д.Б.* “Состояние и перспективы развития специализированной медицинской помощи в условиях модернизации здравоохранения Республики Бурятия”, Улан-Уде, с.155, 2007.
15. *Стейнер А.* Сообщения ИАПиг, 26, Изд-во НАН РА, Ереван, с.3-19, 1995.
16. *Фатыхова Д.Г., Хилинская Я.В., Карамова Н.С., Абдрахимова Й.Р., Ильинская О.Н.* Труды Томского государственного университета, 275, с.325-326, 2010.
17. *Чесноков В.А., Базырина Е.Н., Бушуева Т.М., Ильинская Н.Л.* Выращивание растений без почвы, Л.: ЛГУ, 1960.
18. *Nikolaeva I.G., Nikolaeva G.G.* Chemistry of Natural Compounds, 45, 6, p.939-940, 2009.
19. *Wettstein D.* Chlorophyll lefle und der submicrobische formishce der Plastiden. Exp. cell Research, 12, 1957.

Received on 09.04.2014



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3(66), 2014

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆԻ ԶԱՐԱՔՈՍԵՐԻ ՀԵՐԲԱՐԻՈՒՄԻ ՏՎՅԱԼՆԵՐԻ ԲԱԶԱ

Ս.Գ. ՆԱՆԱԳՅՈՒՆՅԱՆ, Ի.Վ.ՇԱՀԱԶԻԶՅԱՆ, Ա.Ս. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ

Երևանի պետական համալսարան, կենսաբանության ֆակուլտետ,
բուսաբանության և սնկաբանության ամբիոն
snanagulyan@ysu.am

Ստեղծվել է ԵՊՀ-ի բուսաբանության և սնկաբանության ամբիոնի հերբարիումում պահպանվող քարաքոսերի համակարգչային տվյալների բազա, որը ներառում է քարաքոսերի 416 նմուշ: Թվային հերբարիումը թույլ է տալիս ներմուծել, փոփոխել և կատարել հարցումներ ինֆորմացիայի ցանկացած դաշտում, հեշտացնելով հավաքածուի վերլուծությունը:

Քարաքոսեր – թվային հերբարիում – տեղեկատվական դաշտ – հարցումներ

Создана компьютеризированная база данных лишайников, хранящихся в гербарии кафедры ботаники и микологии факультета биологии ЕГУ, которая включает 416 образцов лишайников. Цифровой гербарий позволяет пополнять, изменять и делать запросы в любом информационном поле, упрощая обработку коллекции.

Лишайники – цифровой гербарий – информационное поле – запросы

The computerized database of lichens which were registered in herbarium of the Department of botany and mycology of YSU was created. The digital herbarium included 416 specimen of lichens. The data base allows to fill, change and make inquiries in any information field, simplifying the processing of collection.

Lichens – digital herbarium – information field – queries

Երևանի պետական համալսարանի կենսաբանության ֆակուլտետի բուսաբանության և սնկաբանության ամբիոնն ունի գիտական և ուսումնական հերբարիումներ: Գիտական հերբարիումն ընդգրկված է հերբարիումների համաշխարհային կադաստրում, բարձրակարգ բույսերը՝ ERCB, սնկերը և ստորակարգ բույսերը՝ ERHM հապավումներով:

Սնկերի գիտական հերբարիումը հիմնադրվել է 1945 թ. Դ.Ն. Տետերևնիկովա-Բաբայանի կողմից, ով հանդիսանում է Հայաստանում սնկաբանության և ֆիտոպաթոլոգիայի հիմնադիրներից մեկը: Հերբարիումում պահպանվում է սնկերի, ջրիմուռների և քարաքոսերի շուրջ 4000 տեսակ [2]: Այստեղ ներկայացված են նմուշներ, որոնք հավաքված են Վ.Ա. Տրանչելի, Ն.Ն. Վորոնիխինի, Ա.Բ. Շելկովնիկովի, Դ.Ն. Տետերևնիկովա-Բաբայանի, Լ.Լ. Օսիպյանի, Ջ.Յ. Մելիք-Խաչատրյանի, Ս.Գ. Նանագյուլյանի, Ջ.Յ. Աբրահամյանի, Մ.Գ. Թասլախյանի, Ի.Յ. Մարտիրոսյանի և այլոց կողմից:

Բարձրակարգ բույսերի գիտական հերբարիումի պատմությունը սկսվում է 1923 թ.-ից, բուսաբանության ամբիոնի հիմնադրման ժամանակաշրջանից: Արժեքավոր են Ն.Ա. Տրոիցկու, Ա.Ա. Գրոսհեյմի, Ե.Ն. Կարա-Մուրզայի, Դ.Ի. Սոսնովսկու, Ն.Ա. Բուշի, Ա.Բ. Շելկովնիկովի, Ա.Լ. Թախտաջյանի և ուրիշների կողմից հավաքված նմուշները: Հերբարիումային ֆոնդում պահպանվում են ավելի քան 2700 տեսակ բարձրակարգ բույսեր [1]:

Հաշվի առնելով գիտության ժամանակակից պահանջները, ինչպես նաև հերբարիումային նմուշների գիտական նշանակությունը, քարաքոսերի հերբարիումի տվյալների-

բազայի ստեղծումը հնարավորություն կտա էլ ավելի հասանելի դարձնել հավաքածուների օգտագործումը, քանի որ թվային հերբարիումը թույլ է տալիս ներմուծել, փոփոխել և կատարել հարցումներ տեղեկատվության ցանկացած դաշտում:

Կյուբ և մեթոդ: Հերբարիումի տվյալների բազայի ստեղծման համար կյուբ են հանդիսացել ԵՊՀ բուսաբանության և սնկաբանության ամբիոնի (ERHM) հերբարիումում պահվող քարաքոստերի նմուշները: Կատարվել է հերբարիումի գույքագրում, ժամանակակից կարգաբանական պահանջներին համապատասխան, ճշտվել են տեսակների անվանումները: Վերանայման է ենթարկվել նաև հերբարիումի կատալոգը, որը համապատասխանեցվել է հերբարիումային նմուշներին: Տվյալների բազան կազմվել է Access 2007 ծրագրի շրջանակներում, Microsoft Windows տիրույթում: Այն ընդգրկում է հետևյալ տեղեկությունները. նմուշի ընտանիքը, ցեղը, տեսակը, սուբստրատը, հավաքման վայրը, բարձրությունը, ամսաթիվը, հավաքողի և որոշողի տվյալները, նմուշի հերբարիումային համարը:

Արդյունքներ և քննարկում: Մեր կողմից ստեղծվել է ԵՊՀ-ի կենսաբանության ֆակուլտետի բուսաբանության և սնկաբանության ամբիոնի քարաքոստերի հերբարիումի թվային բազան՝ կատարելով հերբարիումային նմուշների գույքագրում:

Քարաքոստերը ստորակարգ ավտո-հետերոտրոֆ, բազմամյա օրգանիզմների յուրահատուկ խումբ է: Քարաքոստերի թայումը բաղկացած է ավտոտրոֆ ջրիմուռից՝ ֆիկոբիոնտից և հետերոտրոֆ սնկից՝ միկոբիոնտից: Այս երկու տարբեր օրգանիզմների փոխշահավետ համակեցությունից՝ սիմբիոզից (symbiosis - համատեղ կյանք) առաջանում է որակապես նոր օրգանիզմ: Բնության մեջ քարաքոստերը կարևոր տեղ են զբաղեցնում և դրանց պահպանությունն ունի կիրառական և տեսական նշանակություն:

Գույքագրման տվյալները ցույց են տվել, որ բուսաբանության և սնկաբանության ամբիոնի հերբարիումն ընդգրկում է քարաքոստերի 416 հերբարիումային նմուշ, որոնք ներկայացված են 150 տեսակով՝ ընդգրկված 44 ցեղերի և 22 ընտանիքների մեջ [4]:

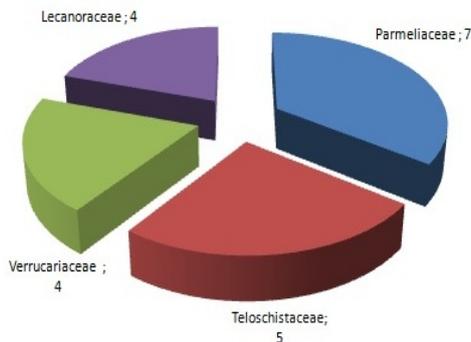
Քարաքոստերի թվային հերբարիումը կազմված է 416 մուտքի տողերից, ինչը համապատասխանում է հերբարիումում պահպանվող 416 նմուշ – թերթի (Նկ. 1):

Family	Species	Genus	
Monoblastiaceae	Acarospora fuscata	Acarospora	Апаранский район
Monoblastiaceae	Acarospora sp.	Acarospora	Арктический район
Monoblastiaceae	Acrocordia alba	Acrocordia	Алавердский район, село Игатак
Physciaceae	Anaptychia ciliaris	Anaptychia	Алавердский район, Игатакский
Physciaceae	Anaptychia ciliaris (L.) Koerb.	Anaptychia	Дилижан
Physciaceae	Anaptychia ciliaris (L.) Koerb.	Anaptychia	Иджеванский район, село Лали
Physciaceae	Anaptychia ciliaris (L.) Koerb.	Anaptychia	Тифлиская область
Megasporaceae	Aspicilia bohemica	Aspicilia	на южном макр. скл. г. Арагац
Megasporaceae	Aspicilia caesiocinerea (Nyl. In Malbr.) Arnold	Aspicilia	на южном макр. скл. г. Арагац
Megasporaceae	Aspicilia calcarea (L.) Mudd.	Aspicilia	гора Арагац
Megasporaceae	Aspicilia cinerea	Aspicilia	гора Арагац, Манташское ущелье
Megasporaceae	Aspicilia cupreoatra (El.)	Aspicilia	гора Арагац, Амбердское ущелье
Megasporaceae	Aspicilia cupreoatra (Nyl.) Arnold	Aspicilia	гора Арагац, восточный склон, сс
Megasporaceae	Aspicilia cupreoatra (Nyl.) Arnold.	Aspicilia	гора Арагац, Амбердское ущелье
Megasporaceae	Aspicilia cupreoatra El.	Aspicilia	гора Арагац, Амбердское ущелье

Նկ. 1. Թվային հերբարիումի նմուշ

Հերբարիումի տվյալների բազայի վերլուծությունը ցույց է տվել, որ ներկայացված ընտանիքներից առաջատար են Parmeliaceae ընտանիքը 7, Teloschistaceae 5, Verrucariaceae և Lecanoraceae ընտանիքները 4-ական ցեղերով (Նկ. 2):

Հայտնի է, որ Հայաստանի քարաքոստերը ներկայացված են 117 ցեղերով [3], որոնցից տվյալների բազայում առկա են 44-ը: Թվային հերբարիումում տեսակների ներկայացվածությամբ ամենամեծ ցեղերն են՝ *Parmelia* (21 տեսակ), *Placodium* (10 տեսակ), *Caloplaca* (9 տեսակ), *Aspicilia* և *Ramalina* (8-ական տեսակ), *Usnea*, *Cladonia* և *Peltigera* (7-ական տեսակ) և *Xanthoria* (6 տեսակ): Մյուս ցեղերը ներկայացված են քիչ տեսակներով (աղ. 1):

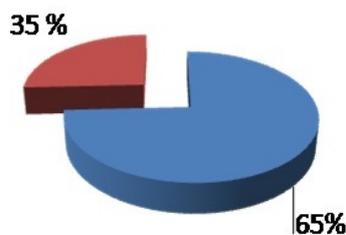


Նկ. 2. Թվային հերբարիումում առկա առաջատար ընտանիքներն ըստ ցեղերի քանակի

Աղյուսակ 1. Հերբարիումում պահպանվող առաջատար ցեղերն ըստ տեսակների քանակի

N	Առաջատար ցեղեր	Տեսակների քանակ
1.	<i>Parmelia</i>	21
2.	<i>Placodium</i>	10
3.	<i>Caloplaca</i>	9
4.	<i>Aspicilia</i>	8
5.	<i>Ramalina</i>	8
6.	<i>Usnea</i>	7
7.	<i>Cladonia</i>	7
8.	<i>Peltigera</i>	7
9.	<i>Xanthoria</i>	6

Հայաստանի քարաքոսերի 433 տեսակներից [3], բազայում ներկայացված են 150 տեսակ, որը կազմում է ամբողջ տեսակների մոտ 35%-ը (Նկ.3):

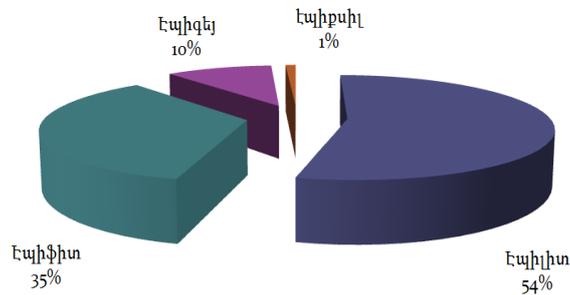


Նկ. 3. Հայաստանի քարաքոսերի տեսակների և հերբարիումում պահպանվող տեսակների տոկոսային հարաբերությունը

Կատարվել է նաև քարաքոսերի վերլուծություն ըստ տարածվածության: Պարզվել է, որ քարաքոսերի հիմնական հավաքները կատարվել են Արագածոտնի մարզում, հիմնականում Արագած լեռից: Հերբարիումում պահպանվում է այդ տարածքից հավաքված 159 նմուշ: Լոռու մարզից հավաքվել է 153 նմուշ: Սրանք կազմում են հավաքածուի հիմնական մասը, հերբարիումի քարաքոսերի ընդհանուր թվի համապատասխանաբար 38% և 37%-ը:

Վերլուծությունն ըստ Էկոլոգիական խմբերի ցույց տվեց, որ հերբարիումում պահպանվող քարաքոսերի մեծ մասը հանդիսանում են էպիլիտներ, որոնք ներկայացված են 225 նմուշով, էպիֆիտներ՝ 145, էպիգեյներ՝ 42 և էպիթսիլներ՝ 4 նմուշներով (Նկ. 4):

Access ծրագրի հարցումների դաշտը (queries) հնարավորություն է տալիս կատարել ԵՊՀ-ի հերբարիումում պահպանվող քարաքոսերի տվյալների վերլուծություն:



Նկ. 4. Զարաքոստերի բաշխվածությունն ըստ էկոլոգիական խմբերի

Օրինակ, հաշվել, թե քանի տեսակ է հավաքվել կամ որոշվել Մ.Մելիքսեթյանի կողմից: Հարցումները ցույց տվեցին, որ տվյալների բազայում առկա է զարաքոստերի 242 նմուշ, որոնք որոշել է Մ.Մելիքսեթյանը, իսկ 232-ը և՛ հավաքվել, և՛ որոշվել է նրա կողմից (նկ.5):

Family	Genus	Species	Collector
Parmeliaceae	Hypogymnia	Hypogymnia encausta (Sm.) Walt. Wats.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Hypogymnia	Hypogymnia physodes (L.) Nyl.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia physodes (L.) Ach.	Меликсетян М.
Peltigeraceae	Peltigera	Peltigera polydactyla (Neck.) Hoffm.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Hypogymnia	Hypogymnia physodes (L.) Nyl.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Usnea	Usnea glabrescens (Nyl.) Ras.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia boreri (Sm.) Turn	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia caperata (L.) Ach.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia caperata (L.) Ach.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia caperata (L.) Ach.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia caperata (L.) Ach.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia caperata (L.) Ach.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Everina	Everina prunastri (L.) Ach.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia caperata (L.) Ach.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia caperata (L.) Ach.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia caperata (L.) Ach.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia caperata (L.) Ach.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia conspersa (Ehrh.) Zyng	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia conspersa (Ehrh.) Zyng	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia acetabulum	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia conspersa (Zhrh.) Ach.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia elegantula	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia flaventior Strit.	Меликсетян М.
Parmeliaceae	Parmelia	Parmelia flaventior Strit.	Меликсетян М.

Նկ.5. Մ.Մելիքսեթյանի կողմից հավաքված և որոշված զարաքոստերի նմուշները



Նկ.6. Ա. Ելենկինայի կողմից 1900 թ. հավաքված նմուշը

Նման հարցումներ կարելի է կատարել ցանկացած հատկանիշներով (տարեթիվ, տարածք, աճման տիպ, էկոլոգիական խումբ և այլն): Օրինակ, հարցումների շնորհիվ պարզվել է, որ հերբարիումում պահպանվող ամենահին նմուշը հավաքվել է 1900 թ.-ին Ա. Ելենկինայի կողմից (սկ. 6):

Այսպիսով, քարաքոսերի տվյալների բազան հնարավորություն է տալիս հեշտությամբ կատարել քարաքոսերի հերբարիումի վերլուծություն և հարցումներ կատարել տեղեկատվության ցանկացած դաշտում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Нанагюлян С.Г., Погосян А.В., Закарян Н.А., Шахазизян И.В., Маркарян Л.В.* Гербарии кафедры ботаники Ереванского государственного университета. Вопросы общей ботаники – традиции и перспективы II Международная интернет-конференция. с. 99-100, 2011.
2. *Осипян Л.Л., Нанагюлян С.Г., Согоян Е.Ю., Шахазизян И.В.* Микологический гербарий кафедры ботаники Ереванского государственного университета. Ботаника (исследования). Сб. научных трудов. Минск: ИООО "Право и экономика", вып. 35. с. 261-265, 2008.
3. *Gasparyan A.H., Ghaltaghchyan T.K.* Proposed standard designations in Armenia for lichens occurring in Republic of Armenia. Fl. Medit., 23, p.105-116, 2013.
4. *Nanagulyan S., Shahazizyan I., Gasparyan A., Stepanyan A.* Herbarium of Yerevan State University: Lichens collection. Book of abstracts. The 7 Symposium of the International Association for Lichenology. Thailand, p. 89, 2012.

Ստացվել է 11.06.2014



Биол. журн. Армении, 3 (66), 2014

ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ ЦИТИДИНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТКАХ

С.В. МАРУТЯН, А.Л. НАВАСАРДЯН, Л.Р. АРАКЕЛЯН, Л.А. НАВАСАРДЯН

Ереванский госуниверситет, кафедра биохимии
marsed@ysu.am

Определена активность ферментов, дезаминирующих цитидин, цитозин и цитозино-вые нуклеотиды в экстрактах необлученных, облученных рентгеновскими лучами и репари-рованных дрожжей *Candida guilliermondii*. Было показано, что при облучении резко падает уровень дезаминирования цитидиндезаминазы (ЦДФ), а уровень дезаминирования цитозина возрастает. После пострadiационной репарации клеток наблюдался рост активности де-заминирования у всех исследованных субстратов, кроме цитидина.

*Цитидиндезаминаза – цитозин – ЦМФ – ЦДФ – ЦТФ – дрожжи –
рентгеновское облучение – репарация*

Ուսումնասիրվել է ցիտիդինի, ցիտոզինի և ցիտիդինային նուկլեոտիդների դեզամինացումը ճնշազայթված, ռենտգենյան ճառագայթահարման ենթարկված, այնուհետև՝ ռեպարացված *Candida guilliermondii* խմորասնկային բջիջների էքստրակտներում: Ցույց է տրվել, որ ճնշազայթման դեպքում կտրուկ ընկնում է (ՑԴՖ)-ի դեզամինացման մակարդակը, իսկ ցիտոզինի դեզամինացման մա-կարդակն աճում է: Բջիջների հետճնազայթային ռեպարացիայից հետո դիտվում է դեզամինացման մակարդակի աճ բոլոր հետազոտված սուբստրատների համար, բացի ցիտիդինից:

*Ցիտիդինդեզամինազ – ցիտոզին – ՑՄՖ, ՑԿՖ, ՑԵՖ – խմորասնկեր –
ռենտգենյան ճառագայթում – ռեպարացիա*

The investigation of deamination of citidine, cytosine, and citidine nucleotides (CMP, CDP and CTP) was carried out on yeast *Candida guilliermondii*. It has been shown, that after exposure to X-ray the value of deamination of (CTD) was decreased, and the value of deamination of cytosine was increased. The increase of deamination level was detected in presence of all substrates besides citidine after the post radiation repair of cells.

Citidinedeaminase – cytosine – CMP – CDP – CTP – yeasts – X-rays – repair

Живая клетка наделена сложными, и в тоже время очень тонкими метаболи-ческими механизмами и не может продолжать свою деятельность в случае даже небольшого повреждения. Любой вид ионизирующего излучения приводит к ши-рокому спектру биологических изменений в организме. Хотя организм проявляет различные защитные реакции и сильно выраженную устойчивость к ионизиру-ющему излучению, однако известно, что ионизирующие лучи оказывают негативное влияние на живые организмы. В литературе имеются данные, посвященные меха-низмам радиорезистентности [3, 4], жизнеспособности [6] и способности колониеоб-разования [1] у дрожжей.

С другой стороны, в литературе сравнительно мало данных, посвященных исследованию дезаминирования пуриновых [8] и пиримидиновых [7] соединений под воздействием ионизирующего излучения.

В процессе ресинтеза нуклеиновых кислот пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды и их производные под влиянием дезаминирующих ферментов преобразуются в соединения, которые легко включаются в механизмы "спасения" нуклеотидов [5, 8].

Целью настоящей работы было исследование дезаминирования цитидиновых соединений у необлученных, подвергнутых рентгеновскому облучению, а также репарированных дрожжевых клеток *Candida guilliermondii* НП-4.

Материал и методика. В качестве объекта исследований использовались кормовые дрожжи *C. guilliermondii* НП-4, выращенные в жидкой питательной среде [8].

Рентгеновское облучение дрожжевых клеток было проведено на рентгеновской установке Дрон-3. Напряжение на рентгеновской трубке составляло 27 кВ, анодный ток -17 \AA , время экспозиции 30 мин. Источником облучения служил анод *Сu*, длина волны рентгеновского облучения составляла $1,54 \times 10^{-8}$ см, общая доза облучения – 27 кР.

Пострадиационное восстановление (репарация) дрожжевых клеток. Часть облученных дрожжей была подвергнута дальнейшей инкубации в условиях, способствующих репарации (температура 30°C, среда с 100 мМ глюкозы), в том же составе жидкой синтетической питательной среды, в тех же условиях, при которых инкубировались клетки до облучения [2].

Получение дрожжевого экстракта. Дрожжевая биомасса была заморожена до температуры -10°C . Затем клетки гомогенизировались заранее замороженным прессом. Полученный гомогенат перемешивали в калий-фосфатном буфере на магнитной мешалке в течение 20 мин, после чего центрифугировали при 15000 g, в течение 20 мин. Супернатант декантировали и определяли его объем.

Определение активности ферментов, дезаминирующих нуклеотиды и нуклеозиды. Активность ферментов, дезаминирующих цитидиновые соединения, определялась в супернатанте экстракта методом инкубации с субстратом в течение 1,5 ч, при температуре 37°C. Затем реакция была остановлена добавлением к инкубационной смеси 1 мл 20%-ного ТХУ и определялось количество выделенного NH_3 . Ферментативную активность выражали в мкМ выделенного NH_3 в 1 г свежей дрожжевой биомассы.

Определение аммиака. Количество аммиака определяли микродиффузионным методом Зелингсона [9].

Результаты и обсуждение. Определялся уровень дезаминирования цитидиновых нуклеотидов ЦТФ(цитидин-три фосфат), ЦДФ(цитидин-два фосфат), ЦМФ(цитидин-монофосфат), цитидина и цитозина в экстрактах необлученных, облученных рентгеновскими лучами и репарированных дрожжей *C. guilliermondii*. Полученные данные представлены в табл. 1. Согласно приведенным данным, в необлученных дрожжевых клетках не наблюдается дезаминирования ЦМФ. Из приведенных данных видно, что уровень дезаминирования цитидина превышает уровень дезаминирования цитозина приблизительно 2,3 раза.

В следующем этапе исследований определялся уровень дезаминирования цитидиновых соединений в экстракте дрожжей, подвергнутых рентгеновскому облучению. Было показано, что в этом случае наблюдается дезаминирование ЦТФ и ЦДФ, но в отличие от необлученных дрожжевых клеток, уровень дезаминирования у обоих субстратов падает, в частности, для ЦДФ интенсивность дезаминирования уменьшается почти в 3 раза. Однако и в условиях облучения, и в необлученных клетках не наблюдается дезаминирования ЦМФ.

Полученные нами результаты показывают, что в условиях рентгеновского облучения уровень дезаминирования ЦДФ, по сравнению с ЦТФ, повышается приблизительно в 1,18 раз. Уровень дезаминирования цитозина, по сравнению с нативными клетками, выше почти в 2 раза, а по сравнению с цитидином – почти в 4,5 раза. Впоследствии, у облученных дрожжей параллельно с уменьшением уровня

дезаминирования цитидина, ЦДФ и ЦТФ, повышается уровень дезаминирования цитозина почти в 2 раза.

Таблица 1. Уровень дезаминирования цитидиновых соединений в экстрактах дрожжей *C. guilliermondii* НП-4 (мкМ NH₃ в 1г свежей биомассы, n=5, p<0,05)

Субстрат	Уровень дезаминирования		
	Клетки		
	Необлученные	Облученные	Репарированные
ЦТФ	5,1±0.4	3,2±0.2	4,8±0.31
ЦДФ	9,87±0.84	3,8±0.23	8,6±0.73
ЦМФ	-	-	5,25±0.41
Цитозин	2,2±0.2	4,52±0.3	8,2±0.7
Цитидин	5,2±0.4	0,99±0.07	-

После пострadiационной инкубации облученных дрожжей наблюдается сравнительно высокий уровень дезаминирования у всех исследованных субстратов, кроме цитидина: уровень дезаминирования цитозина, по сравнению с облученными дрожжевыми клетками, повышается почти в 1,8 раза, а по сравнению с необлученными дрожжевыми клетками – почти в 3, 7 раза. Повышается также уровень дезаминирования ЦТФ почти в 1,5 раза, ЦДФ – в 2,2 раза. После репарации, по сравнению с нативными и облученными клетками, уровень дезаминирования ЦМФ составляет 5,25 мкмол NH₃.

Обобщая полученные результаты, следует отметить, что при облучении дрожжевых клеток рентгеновскими лучами уровень дезаминирования у всех цитидиновых соединений, кроме цитозина, понижается, а после пострadiационной инкубации, наоборот, несколько повышается. Что же касается ЦТФ, то процесс дезаминирования происходит как при нативном состоянии дрожжей, так и после рентгеновского облучения и пострadiационной репарации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Մարության Ս.Վ. Ռենտգենյան ճառագայթման ազդեցությունը *Candida guilliermondii* НП-4 խմորասնկերի կենսոնակության և ԴՆԹ-ի որոշ ֆիզիկաքիմիական ցուցանիշների վրա, Երևան, 1999:
2. Մավաադյան Լ.Յ., Մարության Ս.Վ. Խմորասնկային բջիջներից հիստոնային սպիտակուցների և ԴՆԹ-ի անջատումը և ֆլյուորեսցենտային ցուցանիշների համեմատական ուսումնասիրումը (ուսումնամեթոդական ձեռնարկ), ԵՊՀ հրատարակչություն, 40 էջ, 2006:
3. Гусаревич Н.Б., Богдан А.Ц. Биологические эффекты малых доз и радиоактивное загрязнение среды (радиоэкологические и медикобиологические последствия). Минск, 62 с., 1998.
4. Навасардьян Л.А. Влияние различных стрессовых факторов на белковые фракции дрожжей и на ДНК. Докт. дисс., 2003.
5. Angsstat C.N. Purine and Pirimidine Metabolizm. Ph. D., 1997.
6. Kuřec M., et al. Yeast vitality determination based on intercellular NAD(P)H fluorescence measurement during Aerobic-Anarobic transition. Fol. Microb., 5, 1, p. 25-29, 2009.
7. Lada A.G., Krick C.Frahm, Kozmin S.G., Mayorov V.I., Karpova T.S., Rogozin I.B., and Pavlov Y.I. Mutator effects and mutation Signatures of editing deaminases produces in Bacteria and yeast. ISSN 0006-2979, Biochemistry (Moscow), 76, 1, pp.131-146, 2011.
8. Navasardyan A.L. The changes of vitality, deamination of the nucleotides and their derivatives and the quantitative changes of the polyphosphates in yeasts *Candida guilliermondii* during X-radiation and repair.
9. Zelingson D., Zelingson H. J. Microdiffusion method for determination nitrogen liberated as ammonia. Lab. Clin. Med. 38, 1951.

Поступила 27.03.2014



Biolog. Journal of Armenia, 3 (66), 2014

STUDY OF MOLECULAR DYNAMICS OF LAMELLAR PHASE OF AMPHIPHILE/WATER SYSTEMS

A.H. POGHOSYAN

*The International Scientific-Educational Center of NAS of Armenia,
poghosyan@gmail.com*

The lamellar phase of amphiphile/water system was investigated by using atomic scale simulation. A 300 ns parallel molecular dynamics (MD) simulation was carried out for amphiphile/water system consisting of 128 sodium pentadecyl sulfonate (SPDS) and 2251 water molecules using GROMACS software package. At T=323K temperature we got both tilted fully interdigitated and liquid crystalline like disordered hydrocarbon chains, i.e. we observe a gel phase that coexists with a lamellar L_{α} phase.

Molecular dynamics (MD) simulations – alkyl sulfonates

Ուսումնասիրվել է երկուսը կոլոիդալ լամելար փուլը օգտագործելով ատոմական մակարդակի համակարգչային մոդելավորում: Իրականացվել է 300 նվ գուգահեռ մոլեկուլային դինամիկ ուսումնասիրություն որպես համակարգ վերցնելով՝ երկուսը կոլոիդալ համակարգը, բաղկացած 128 նատրիումի պենտադեցիլ սուլֆոնատի և 2251 ջրի մոլեկուլներից օգտագործելով GROMACS ծրագրային փաթեթը: T=323K ջերմաստիճանի դեպքում, ստացվել են պոչերի իրար մեջ լրիվ ներթափանցում, ինչպես նաև հեղուկ բյուրեղական չկարգավորված պոչեր, այսինքն դիտվել է «գել» փուլ, որը համագոյակցում է լամելար L_{α} փուլի հետ:»

Մոլեկուլային դինամիկ (ՄԴ) ուսումնասիրություն – ալկիլ սուլֆոնատ

При помощи компьютерного моделирования на атомарном уровне была исследована ламелярная фаза системы амфифильное вещество/вода. Была проведена параллельная молекулярно-динамическая (МД) симуляция длительностью 300 нс для системы, состоящей из 128 молекул пентадецил сульфоната натрия (ПДСН) и 2251 молекулы воды, с использованием программного пакета GROMACS. При температуре T=323K мы получили как наклоненные полностью взаимопроницающие, так и жидко-кристаллические неупорядоченные углеводородные цепи, то есть наблюдалось сосуществование геля и ламелярной L_{α} фаз.

Молекулярно-динамическая (МД) симуляция – алкил сульфонат

Amphiphilic molecules, which consist of a polar headgroups and alkyl tails, in water solution, can generate self-organized lyotropic liquid crystalline structures composed of bimolecular layers of fluid amphiphile molecules separated by water layers. This kind of bilayers has been studied for many years as simplified models for phospholipid membranes [1-2], as well as they have been widely intensively used in drug delivery [3-5]. Experimental methods, such as X-ray diffraction and neutron scattering have been mainly used to reveal the structures and features of bilayers [1, 6].

Recently, with the increase of hardware power, the atomic-level computer simulations have been used as an additional method to study such systems [7].

The aim of this paper was the detailed study of the lamellar phase of ionic sodium pentadecyl sulfonate (SPDS)/water systems by means of molecular dynamics simulation. The determination of structural parameters (interlayer spacing and area per molecule) has been also done with comparison to experimental findings.

Materials and methods. A sodium pentadecyl sulfonate ($C_{15}H_{31}SO_3Na$) molecule was used, which was extracted from our previous simulation [8]. We build a system with 128 SPDS and 2251 water molecules using our own code and GROMACS [9] modules. After final construction, the energy of the system was minimized using steepest descent method (5000 steps). The force field parameters for SPDS molecule were in detail discussed in [8]. The SPC models were used [10] for water molecules and the chemical bonds were maintained using with LINCS constrain algorithm [11]. The temperature was set to 323 K and was maintained using V-rescale algorithm. An isotropic normal pressure (1 atm) was maintained by the Berendsen coupling algorithm [12]. The PME [13] was used for long-range electrostatic interactions, and the van der Waals interactions were truncated at 1.2 nm. The equations of motion are integrated using leapfrog Verlet integrator with timestep of 2 fs.

The 128SPDS/2251 water system was subjected to a 300 ns simulation in NPT ensemble using GROMACS software package. The parallel MD simulation was performed on ArmGrid sites (<http://www.grid.am>).

Results and Discussion. The important characteristics of the system, such as the interlayer spacing and the area per molecule are determined and are shown in fig. 1 and 2.

As one can see from both curves, at the beginning of simulation run, we track the variation of interlayer spacing and area per molecules, which is probably due to the reorientation of disordered hydrocarbon chains. However, at the end of simulation, we track an equilibrium of system and as a result we receive $\sim 6,3 \pm 0,2$ nm and ~ 0.32 nm² for interlayer spacing and area per molecule, respectively.

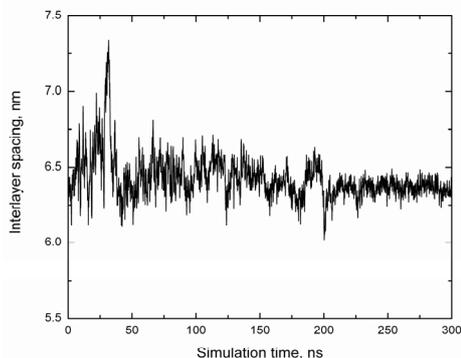


Figure 1. The interlayer spacing depending on simulation time.

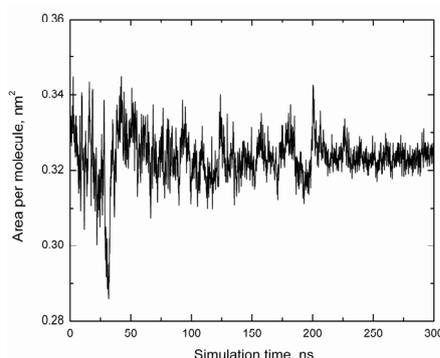


Figure 2. The area per molecule depending on simulation time.

Note that the obtained finding on interlayer spacing and area per molecule are in agreement with our X-ray diffraction data [14].

To visualize the structural changes in detail, we also provide the snapshot of SPDS/water systems at the end of simulation run. In Figure 3 the cross-sectional view perpendicular to the bilayer plane is shown at 300 ns point.

We see that the packing is an interdigitated gel phase, i.e. an ordered state with a tilt angle, as clearly seen by the snapshots. This phase is generally known as gel phase. Thus, the inspection of trajectories and snapshots reveals the fully interpenetration of the SPDS alkyl chains located on opposite sides of the bilayer (fully interdigitated gel state), however, together with ordering, the disordered domains called “clusterized regions” [15] are also found.

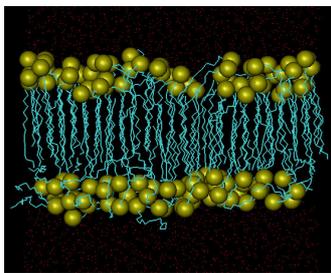


Figure 3. The cross-sectional view perpendicular to the bilayer plane. The counterions and water hydrogens have been omitted for clarity.

Hence, we assume the formation of the gel phase, which coexists with a lamellar L_{α} phase. This kind of phases, on the other hand can be treated as a metastable gel phase with some fraction of disordered domains, which are also observed in phospholipid membranes [16]. Thus, the analysis of parameters and the snapshots implies either the formation of a coexistence between fully interdigitated and randomly phases or the presence of metastable gel phases.

REFERENCES

1. *Tanford C.*, The Hydrophobic Effect, 2nd ed., Wiley, New York, 1980.
2. *Larson R.G.* The Structure and Rheology of Complex Fluids (Oxford University Press, 1999).
3. *Schramm L.L., E.N. Stasiuk, D.G. Marangoni.* Surfactants and their applications. Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. C, Phys. Chem., 99, 3-48, 2003.
4. *Lacks S.A. Springhorn S.S., Rosenthal A.L.* Effect of the composition of sodium dodecyl sulfate preparations on the renaturation of enzymes after polyacrylamide gel electrophoresis. Anal. Biochem. 100, 2, 357-363, 1979.
5. *Tanford C., Reynolds J.A.* Characterization of membrane proteins in detergent solutions. Biochim Biophys Acta. 457, 2, 133-170, 1976.
6. *Minasyanc M.K., Zakaryan V.A. Shahinyan A.A., Chistyakov I.G.* X-ray analysis of Na-dodecylsulfate-water system. Kristallografiya (in Russian), 24, 2, 319-323, 1979.
7. *Poghosyan A.A., Yeghiazaryan G. A., Gharabekyan H.H., Koetz J., Shahinyan A.A.* A molecular dynamics study of Na-dodecylsulfate/water liquid crystalline phase. Molecular Simulation, 33, 14, 1155-1163, 2007.
8. *Poghosyan A.H., Arsenyan L.H., Shahinyan A.A.* Molecular Dynamics Study of Intermediate Phase of Long Chain Alkyl Sulfonate/Water Systems. Langmuir. 29, 1, 29-37, 2013.
9. *Berendsen H.J.C., D. van der Spoel, R. van Drunen.* GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation, Comp Phys Comm. 91, 43-56, 1995.
10. *Berendsen H.J.C., Postma, J. P.M., van Gunsteren, W.F., Hermans, J.* Intermolecular Forces Dordrecht, Reidel 331-342 1981.
11. *Hess B., Bekker H., Berendsen H.J.C., Fraaije J.*, LINCS: A Linear Constraint Solver for Molecular Simulations. Journal of Computational Chemistry, 18, 1463-1472, 1997.
12. *Berendsen H.J.C., Postma J.P.M., van Gunsteren W.F., DiNola A., Haak J.R.* Molecular dynamics with coupling to an external bath, J. Chem. Phys., 81, 3684-3690, 1984.
13. *Darden T, York D., Pedersen L.*, Particle mesh Ewald: An N log (N) method for Ewald sums in large systems, J. Chem. Phys., 98, 10089-10092, 1993.
14. *Shahinyan A.A.*. The role of structural organization of ionic micelles at the mechanism of forming macromolecules in emulsions, NAS RA, pp. 181, Yerevan, 1985. (in Russian).
15. *Poghosyan A.H., Gharabekyan H.H., Shahinyan A.A.*. Molecular Dynamics Simulations of DMPC/DPPC Mixed Bilayers, IJMP C, 18, 73-89, 2007.
16. *Tenchov B., Koynova R., Rapp G.* New ordered metastable phases between the gel and subgel phases in hydrated phospholipids, Biophys. J., 80, 1873-1890, 2001.

Received on 26.06.2014



Биолог. журн. Армении, 3 (66), 2014

НОВЫЕ ДАННЫЕ К ФАУНЕ ЩЕЛКУНОВ (*COLEOPTERA*, *ELATERIDAE*) ПРОВИНЦИИ МАЗАНДАРАН (ИРАН)

М.А. МАРДЖАНЫАН¹, Х. БАРИМАНИ ВАРАНДИ²

¹Научный центр зоологии и гидроэкологии НАН РА, Институт зоологии, Армения,

²Отдел защиты растений Университетского колледжа сельского хозяйства и природных ресурсов Тегеранского университета. PO Box 4111, Карадже, Иран.

mmarjanyan@yahoo.com

В статье приводятся результаты обработки небольших по объему сборов за полевой сезон 2007-2009 гг. в провинции Мазандаран. Жуки – щелкуны собраны разными методами в разных экосистемах. Обнаружен 21 вид щелкунов, из коих 6 видов впервые указаны для фауны Ирана.

Жуки-щелкуны (Coleoptera, Elateridae) – Иран – провинция Мазандаран – фауна

Ներկայացված են 2007-2009 թ. Իրանի Մազանդարան մարզում տարբեր եղանակներով հավաքված կլիկների ուսումնասիրության արդյունքները: Հայտնաբերված է չիխլան բզեզների 21 տեսակ՝ հավաքված մարզի տարբեր էկոհամակարգերում, որոնցից 6 առաջին անգամ են կշվում Իրանի ֆաունայի համար:

Չիխլան բզեզներ (Coleoptera, Elateridae) – Իրան – Մազանդարան մարզ – ֆաունա

The results of studies of the materials collected in Mazendaran province of Iran in 2007-2009 are presented. Species of click beetles (Coleoptera, Elateridae) were collected by diverse methods in different ecosystems. In general 21 species are reported, 6 of them are new for the fauna of Iran.

Click beetles (Coleoptera, Elateridae) – Iran – Mazandaran province – fauna

Статья является продолжением серии работ по изучению фауны щелкунов Ирана [4, 5, 6], которая изучена недостаточно в целом для Ирана, в частности изучение фауны отдельно для провинции проводится впервые. Результаты обработки небольших по объему сборов за полевой сезон 2007-2009 гг. в провинции Мазандаран дополняют ранее приведенные нами сведения по фауне щелкунов этой провинции новыми данными по 21 виду щелкунов, из коих 6 видов впервые указаны для фауны Ирана.

Материал и методика. Жуки собраны в разных биотопах ряда пунктов провинции Мазандаран Северного Ирана в полевой сезон 2007-2009гг. одним из авторов – Х.Баримани (H.Varimani Varandi). Сведения об общем распространении даны согласно Каталогу жесткокрылых Палеарктики [7], первоописаний и ревизий [1-4, 8-14].

Результаты и обсуждение. Ниже приводятся сведения об отдельных видах; приведены оригинальные этикетки, включая также данные о способах сбора; сведения об общем распространении могут быть найдены в [7]. Виды, впервые указываемые для фауны Ирана, отмечены знаком “*”:

1. *Agrypnus murinus* (Linnaeus, 1758) - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Alikola, 22.05.2009.
2. **Lacon punctatus* (Herbst, 1779) – Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Alamdardeh, 05.05.2009 – new to Iran.
3. *Aeoloides atricapillus* (Germar, 1824) - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov.: Panchkola 01.04.2009, males trap; Alikola, 08.08.2009, yellow trap; Haftkal, 21.04.2009, yellow trap.
4. *Anostirus lederi* (Heyden, 1878) - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov.: Alamdardeh, 03.04.2008, yellow trap; Neka, Kursandageh, 23.09.2008, light trap.
5. *Ampedus rufipennis* (Stephens, 1830) - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Sari - Sangdeh, 08.04.2007.
6. ?**Ampedus cretensis* Platia, 2004 - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Haftkal, 21.04.2009(4) – new to Iran.
7. *Ampedus cinnaberimus* (Eschscholtz, 1829) - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov.: Haftkal, 21.04.2009; Alamdardeh, 03.04.2008; Sari – Sangdeh, 21.04.2009; Alikola, 05.05.2009, males trap.
8. **Ampedus reitteri* (Semenow, 1891)- Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Alamdardeh, 21.05.2009. - new to Iran
9. **Ampedus pomorum* (Herbst, 1784) - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Sari - Sangdeh, 08.04.2007.
10. *Ampedus praeustus* (Fabricius, 1792) - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Haftkal, 21.04.2009.
11. **Ampedus rubellus* Gurjeva, 1977 - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Haftkal, 21.04.2009, yellow trap.
12. *Agriotes lineatus* (Linnaeus, 1758) - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Alikola, 22.06.2008, males trap.
13. *Agriotes brevis* Candèze, 1863 - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Neka, Kursandageh, 23.09.2008; Dashte-Naz, 36°41'36" N 53°12'36" E 20m, 21.06.2009.
14. *Agriotes infuscatus* Debrochers des Loges, 1870 - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Savadkoh Sorkh – Abad, 35°N 53°00'29"E, 1128m, 11.05.2008.
15. *Limonius minutus* (Linnaeus, 1758) - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Dashte-Naz, 36°41'36" N 53°12'36" E 20m, 21.06.2009, window trap.
16. *Megapenthes rutilipennis* Candèze, 1859 - IRAN, Mazandaran prov., Sangdeh, 08.04.2007.
17. *Procræus stepanovi* Khnzorian, 1959 - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Alamdardeh, 05.05.2009.
18. **Adrastus longicornis* Gurjeva, 1976 - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov.: Alamdardeh, 05.06.2009, window trap; Alamdardeh, 05.05.2009, males trap – new to Iran.
19. *Melanotus villosus* (Geoffroy, 1785) - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Alamdardeh, 24.05.2009, males trap.
20. *Cardiophorus syriacoides* Platia & Cate, 2001 - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov., Posht Koh, 15.06.2008.
21. *Cardiophorus vestigialis* Erichson, 1840 - Cate, 2007; IRAN, Mazandaran prov.: Posht Koh, 15.06.2008, yellow trap; env. Behsher, Zaghmu, 22.04.2007; Sari Dido, 04.05.2007; Posht Koh, 15.06.2008.

Из собранных в полевой сезон с апреля по сентябрь месяц 2007-2009 гг. в провинции Мазандаран обнаружен еще 21 вид, из них 6 впервые указаны для фауны Ирана.

В итоге изучения фауна шелконов провинции Мазандаран с учетом ранее приведенных данных [4, 5] насчитывает по собранному материалу за указанный полевой сезон 42 вида, из коих 10 видов нами впервые указаны для фауны Ирана, 4 вида пока известны лишь из Ирана. Ниже приводится список ранее изученных нами видов шелконов фауны провинции Мазандаран (Ирана). Согласно каталогу жесткокрылых Палеарктики в список включен *Drapetes mordelloides* Host, 1759 (Lissominae).

Список ранее изученных видов шелконов провинции Мазандаран (Иран)

1. *Drasterius bimaculatus* (Rossi, 1790)
2. **Hemicrepidius niger* (Linnaeus, 1758)
3. *Hemicrepidius nigrifolius* Reitter, 1890
4. *Athous haemorrhoidalis* (Fabricius, 1801)

5. *Athous vittatus* (Fabricius, 1792)
6. *Athous circassicus* Reitter, 1888
7. **Athous dilaticornis* Reitter, 1905
8. *Synaptus filiformis* Fabricius, 1781
9. *Ampedus pomonae* (Stephens, 1830)
10. *Ampedus sinuatus* Germar 1844
11. *Adrastus rachifer* (Fourcroy, 1785)
12. *Melanotus villosus* (Geoffroy, 1785)
13. *Quasimus minutissimus* (Germar, 1817)
14. *Cardiophorus rufipes* (Goeze, 1777)
15. *Cardiophorus khnzoriani* Mardjanyan & Barimani, 2011
16. *Cardiophorus terminasiani* Mardjanyan & Barimani, 2011
17. *Cardiophorus kalashiani* Mardjanyan & Barimani, 2011
18. *Cardiophorus varandi* Mardjanyan & Barimani, 2011
19. *Dicronychus equiseti* (Herbst, 1784)
20. *Dichronychus rubripes* (Germar, 1824)
21. **Drapetes mordelloides* Host, 1759 (Lissominae)

ЛИТЕРАТУРА

1. Гурьева Е.Л. Фауна СССР. Жуки-щелкуны (Elateridae). Подсемейство Elaterinae. Трибы Megarepenthini, Physorhinini, Ampedini, Elaterini, Pomachiliini. Л. Наука, 1979.
2. Долин В.Г., Атамуратов Х.И. Жуки-щелкуны (Elateridae) Туркменистана. Киев. Ин-т зоологии НАН Украины, 1994.
3. Марджанян М.А. Фауна Армянской ССР. Щелкуны (Elateridae). Ереван, Изд.АН Арм ССР, 1987.
4. Марджанян М.А., Баримани Х. Варанди, Калашян М.Ю. Материалы к фауне жуков-щелкунов (Coleoptera, Elateridae) Ирана, Биолог. журн. Армении, 60, 3, 68-70, 2008.
5. Марджанян М.А., Баримани Х. Варанди Новые виды щелкунов рода *Cardiophorus eschscholtz*, 1829 (Coleoptera, Elateridae, Cardiophorinae) из Мазандарана (Иран), Доклады НАН РА, 111, 4, 396-403, 2011.
6. Марджанян М.А., Гобари Х., Нозари Дж., Хайе Г. Материалы к фауне жуков-щелкунов (Coleoptera, Elateridae) провинции Голестан (Иран), Биолог. журн. Армении, 65, 4, 130-132, 2013.
7. Cate P.C. Family Elateridae. In: Loeb I. & Smetana A. (eds.). Catalogue of Palearctic Coleoptera, 4, Elateroidea – Derodontoidea – Bostrichoidea – Lymexyloidea – Cleroidea-Cucujidae. Apollo Books Stenstrup. 2007.
8. Platia G. Descrizione di nuove specie di Elateridi della Grecia e della Turchia (Coleoptera, Elateridae). Lavori – Societa Veneziana di Scienze Naturali, 14, 1, 79-86, 1989.
9. Platia G. New species and chorological notes of click beetles from the Palaearctic Region, especially from the Middle East (Coleoptera, Elateridae). Boln. S.E.A., n.48, 23-49, 2010.
10. Platia G. Click – beetles collected in Iran by the expeditions of the Naturkundemuseum Erfurt with description of two new species (Insecta: Coleoptera: Elateridae). Vernate, 32, 391-402, 2013.
11. Platia G. & Cate P. Description of a new species of the *C. syriacus* group of *Cardiophorus eschscholtz*, 1829 (Coleoptera: Elateridae). Zeitschrift der Arbeitsgemeinschaft Osterreichischer Entomologen, 53:117-120. 2001
12. Platia G., Furlan L., Gudenzi I. Descrizione di sei nuove specie di Elateridi dell' Iran (Insecta, Coleoptera, Elateridae). Naturalista Valtellinese – Atti Mus. civ. Stor. nat. Morbegno, 13, 65-77, 2002.
13. Platia G. & Gudenzi I. Descrizione di sei nuove specie di Elateridi della regione paleartica con note geonemiche e sinonimiche (Insecta, Coleoptera, Elateridae). Quaderno St. Not. Stor. Nat. Romagna, 11, suppl., 17-31, 1999.
14. Platia G. & Nemeth T. On some Palearctic click beetles deposited in the Hungarian Natural History Museum (Coleoptera, Elateridae). Ann. Hist.- Nat. Mus. Nat. Hung., 103, 65-106, 2011.

Поступила 28.02.2014



Biolog. Journal of Armenia, 3 (66), 2014

THE ROLE OF THYROID GLAND ACTIVITY MARKERS UNDER SUBCLINICAL HYPOTHYREOIDISM IN RATS

T.S. KHACHATRYAN

*Institute of the Applied Problems of Physics of NAS RA, Laboratory of Sensory Systems
pharmatica@mail.ru*

The aim of this study was to investigate the features of thyroid stimulating hormone and thyroid hormones concentrations in the blood serum of the rats with subclinical hypothyroidism before and after injection of ultra-low dose of choline ether N-(2-methoxybenzoyl)-O-isopropyl- α , β -dehydrothyrozone. The studies have shown that a sharp increase of thyroid stimulating hormone level and a drop of thyroid hormones level in the blood serum occur at 10 month-old rats with subclinical hypothyroidism. The action of ultra-low dose of choline ether N-(2-methoxybenzoyl)-O-isopropyl- α , β -dehydrothyrozone in the blood serum of hypothyroid rats brings to a decrease in the concentration of thyroid stimulating hormone, thyroid hormones level rises and reaches their values at intact animals.

*Thyroid hormones – subclinical hypothyroidism – choline ether – thyroid gland –
thyroid stimulating hormone*

Չետագոտել հիփոֆիզի թիրեոիդ հորմոնի և վահանագեղձի հորմոնների բաղադրության աստիճանը տաս ամսական առնետների արյան մեջ, ենթակլինիկական հիպոթիրեոզի պայմաններում, քոլինի էսթեր N-(2-մեթօքսիբենզոյլ)-O-իզոպրոպիլ- α , β -դեհիդրոթիրոզինի գերցածր չափաբաժնի օգտագործելուց առաջ և հետո: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ տաս ամսական առնետների մոտ ենթակլինիկական հիպոթիրեոզի պայմաններում արյան մեջ տեղի էր ունենում հիփոֆիզի թիրեոիդ հորմոնի բաղադրության կտրուկ աճ և վահանագեղձի հորմոնների բաղադրության նվազում: Քոլինի էսթեր N-(2-մեթօքսիբենզոյլ)-O-իզոպրոպիլ- α , β -դեհիդրոթիրոզինի գերցածր չափաբաժնի ազդեցությունից հետո հիպոթիրեոզի առնետների արյան մեջ դիտարկվում է հիփոֆիզի թիրեոիդ հորմոնի բաղադրության կտրուկ նվազումը և վահանագեղձի հորմոնների աճը, որը բնորոշ է նորմալ կենդանիներին:

*Վահանագեղձի հորմոններ – ենթակլինիկական հիպոթիրեոզ – քոլինի էսթեր –
Վահանագեղձ – հիփոֆիզի թիրեոիդ հորմոն*

Изучались особенности изменения концентрации тиреотропного гормона гипофиза и тиреоидных гормонов в сыворотке крови у крыс с субклиническим гипотиреозом до и после воздействия инъекций сверхмалой дозы холинового эфира N-(2- метоксibenzoил)-O-изопропил- α , β -дегидротирозина. Исследования показали, что у десятимесячных крыс при субклиническом гипотиреозе наблюдалось резкое повышение уровня тиреотропного гормона гипофиза и понижение уровня тиреоидных гормонов в сыворотке крови. После действия сверхмалой дозы холинового эфира N-(2-метоксibenzoил)-O-изопропил- α , β -дегидротирозина наблюдалось уменьшение уровня тиреотропного гормона гипофиза и возрастание уровня тиреоидных гормонов в сыворотке крови у крыс с субклиническим гипотиреозом с достижением их значений у интактных животных.

*Тиреоидные гормоны – субклинический гипотиреоз – холиновый эфир –
щитовидная железа – тиреотропный гормон гипофиза*

It is known that one of the most wide-spread pathology of the thyroid gland (TG) of mammals is its dysfunction – hypothyroidism (HPT) – a clinical syndrome, caused long, steadfast deficit of thyroid hormones (TH) in organism [1]. Particularly it often meets sub-clinical hypothyroidism (SHPT) – a border condition between norm and clinical evident form primary HPT, characterized by normal level of general and free thyroxin (T4) and triiodothyronine (T3) and raised level of thyroid stimulating hormone (TSH) in blood serum of mammals. One of the modern directions of organic chemistry is developing methods of the syntheses and study characteristics of physiological active substances [2]. Selection of amino acids, including unsaturated or α , β -dehydro amino acids, as basis for obtaining biological active substances (BAS) done by nature itself [7]. Amino acids are BAS, being included in proteins and playing the most important role in biochemical processes. Recently a new interest raised to chemical modification of known medicinal preparation and newly synthesized natural amino acids [3]. Coming from the system of cell neuroendocrine regulation, it is known, that the given system consists of neurotransmitters (NT), TH and steroid hormones. One of NT is acetylcholine, one of the choline ethers (CE) [5]. The studies [6] indicate that in the correction of somatic and neurogenic traumas the role of CE and choline amides (CA) is important from the standpoint of the particularities of their syntheses and biological activity. In the same time the information about the effect of CE and CA on the changes of the factors of TSH, total T3 and T4 in blood serum of rats at pathology of TG type SHPT is absent. Considering the above-mentioned, study of the action of choline ether N-(2-methoxybenzoyl)-O-isopropyl- α , β - dehydrothyrozine (CED) on the change of the factors of TSH, the total T3 and T4 in rats' blood serum under SHPT was conducted.

Materials and methods. The studies are organized on 50 10 months-old male rats. SHPT was caused by the way of using thyroidectomy (TEC). TEC was realized on the following algorithm. For the operations rats under ethereal anesthesia were fixed in the position on back. The access to TG was realized through the cut of the skin of necks by length of 1,5-2 cm. Then TG were denuded, and its 2/3 were cut with sharp scissors, whereupon under each of them were put ligatures. Then they layer by layer were mended. Animals carried the operation well and in 0,5-1 hour after operation approached to provender and water. TEC in the present series of experiments was organized at 40 rats. The animals were divided into 3 experimental groups: 1) intact animals – 10 copies; 2) animals with SHPT, not got daily injections of CED – 10 copies; 3) animals with SHPT, got CED in ultra-low dose 10-16 M for 14 days – 30 copies. After TEC and completing of CED injections in all 50 rats were organized decapitation and collection of blood. In whay by means of immunoenzymatic method the concentration of TSH, the total T3 and T4 was determined. The data received were subjected to statistical processing using the *t*-criterion by Student.

Results and Discussion. TEC in rats of the second experimental groups brought to typical shift in contents of TSH and TH in blood serum, which reflected the appearing of SHPT. TEC brought about five fold increasing of the contents TSH (on 480 %) in hypothyroid rats blood serum; the contents of total T3 lowered on 84, 6 % in contrast with intact animals; the contents of total T4 lowered on 90, 6 %, respectively. After entering CED in ultra-low dose 10-16 M for 14 days in rats of the third experimental group there were noted the following factors: contents of TSH in rats blood serum has formed 171, 4 % in contrast with norm accepted for 100 %; the contents of total T3 has formed 107, 6 %; the contents of total T4 has formed 86, 0 %. The data received indicate that using CED in given ultra-low dose vastly reduced the contents of TSH, T3 and T4 at 10 months-old rats with SHPT, however, probably, it is reasonable to study the lower doses of CED in given age group. In the case of TSH after using the given dose of CED factors exceed the rate on 71, 4 %; in the case of T3 the excess of the factors was on 7, 6 %; in the case of T4 a factor practically approached to the norm.

Literature data are indicative of protector action of small and ultra-low doses of CE and CA at spinal cord lesions [8] and as well as results on study of the influence of CE at pathology of TG type hyperthyroidism [9]. Coming from afore-mentioned data, we, consider expedient using an ultra-low doses of CE type CED at SHPT.

REFERENCES

1. *Aksoy D.Y., Cinar N., Harmanci A., Karakaya J., Yildiz B. O., Usman A., Bayraktar M.* Serum resistin and high sensitive CRP levels in patients with subclinical hypothyroidism before and after L-thyroxine therapy. *J. Med. Sci. Monit.*, 19, 22, pp. 210-215, 2013.
2. *Andra S.S., Makris K.C.* Thyroid disrupting chemicals in plastic additives and thyroid health. *J. Environ. Sci. Health*, 2, 30, pp. 107-151, 2012.
3. *Bashir H., Bhat M. H., Farooq R., Majid S., Shoib S., Hamid R., Mattoo A. A., Rashid T., Bhat A. A., Wani H.A., Masood A.* Comparison of hematological parameters in untreated and treated subclinical hypothyroidism and primary hypothyroidism patients. *Med J. Islam Repub. Iran*, 4, 26, pp. 172-178, 2012.
4. *Charushin V.N., Krasnov V.P., Levit G.L., Korolyova M.A., Kodess M.I., Chupakhin O.N., Kim M.H., Lee H.S., Park Y.J., Kim K.Ch.* Kinetic resolution of (\pm)-2, 3dihydro3-methyl-4H-1,4-benzoxazines with (S)-naproxen. *J. Tetrahedron Asymmetry*, 10, 14, pp. 2691-2702, 1999.
5. *Киприян Т.К., Топузьян В.О., Карапетян И.Р., Арутюнян Э.Ю., Хачатрян Т.С.* Влияние йодметилата 2 – (диметиламино) этилового эфира – N – (п – метоксибензоил) – DL – фенилаланина на фоновую и вызванную активность одиночных пирамидных нейронов IV слоя коры больших полушарий головного мозга крыс при латеральной гемисекции спинного мозга. *Мед. наука Армении, XLIX*, 2, с. 31-34, 2009.
6. *Матинян Л.А., Нагапетян Х.О., Хачатрян Т.С.* Протекция сочетанным комплексом тироксина и йодметилата 2 – (диметиламино) этилового эфира – N – (п – метоксибензоил) – DL – фенилаланина вызванной активности одиночных мотонейронов спинного мозга крыс при экспериментальном гипотиреозе. В сб. *Международная научная конференция “Актуальные проблемы интегративной деятельности и пластичности нервной системы”*, посвящ. 80-летию со дня рождения академика НАН РА и чл.-корр. РАН В.В. Фанарджяна, Ереван, Изд.- во “Гитутюн” НАН РА, с. 175-178, 2009.
7. *Топузьян В.О.* Синтез физиологически активных соединений на основе α,β -дегидро-аминокислот и пептидов. *Химический журнал Армении*, 60, 4, с. 731-748, 2007.
8. *Хачатрян Т.С., Авакян А.Э., Топузьян В.О.* Особенности действия сверхмалых доз некоторых эфиров и амидов холина на внеклеточную электрическую активность одиночных мотонейронов спинного мозга крыс в условиях экспериментального гипертиреоза. *Современные научные исследования и инновации. Август*, [Электронный ресурс]. URL: <http://web.snauka.ru/issues/2012/08/16439>, 2012.
9. *Хачатрян Т.С., Топузьян В.О., Карапетян И.Р., Арутюнян Э.Ю., Киприян Т.К.* Эффекты малых доз йодметилата 2 – (диметиламино) этилового эфира – N – (п – метоксибензоил) – DL – фенилаланина на вызванную электрическую активность одиночных мотонейронов спинного мозга крыс при латеральной гемисекции спинного мозга. *Биолог. журн. Армении*, 61, 2, с. 53-56, 2009.

Received on 15.04.2013