



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

2019



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

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆՐԵՍ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

ՀԱՏՈՐ **LXXI, 1, 2019**

ՀՀ ԳԱԱ «Գիտություն» հրատարակչություն

Լույս է տեսնում 1948 թվականից, հոդվածները հրատարակվում են հայերեն,
ռուսերեն կամ անգլերեն լեզուներով

Выходит с 1948 года, статьи публикуются на армянском, русском
или английском языках

Journal is published since 1948, the articles are published in Armenian,
Russian or English

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԿՈԼԵԳԻԱ

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

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԽՈՐՀՈՒՐԴ

Յու.Թ. Ալեքսանյան, Ժ.Ի. Հակոբյան, Վ.Պ. Հակոբյան,
Ս.Հ. Մովսիսյան, Գ.Հ. Փանոսյան, Լ.Լ. Օսիպյան

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Ю.Т. Алексанян, Ж.И. Акобян, В.П. Акобян,
С.О. Мовсисян, Г.А. Паносян, Л.Л. Осипян

THE EDITORIAL BOARD

Editor in chief: E.S. Gevorgyan, *Vice-editor:* R.M. Aroutiunian,
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

Yu.T. Aleksanyan, Zh.I. Hakobyan, V.P. Hakobyan,
S.H. Movsesyan, G.H. Panosyan, L.L. Osipyanyan

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

• Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •

Մաթևոսյան Լ.Ա. Ca և Mg իոնների ազդեցությունը <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> RIN-2003-LS շտամի աճի և հակաբակտերիական ակտիվության վրա.....	6
Մելքոնյան Ի.Է. Գետնախնձորի պալարներից կիտրոնաթթվի ստացումը <i>Aspergillus niger</i> տեսակին պատկանող բորբոսասնկի կենսագործունեության ընթացքում.....	12
Պարոնյան Մ.Յ., Զոյրյան Յ.Օ., Ավետիսյան Ս.Ո., Ազանյան Յ.Ա., Հովսեփյան Ա.Ս. Ֆոտոդիմամիկ ապակտիվացման նկատմամբ բակտերիալ կայունության հնարավոր զարգացման ուսումնասիրությունը.....	17
Իրադյան Մ.Ա., Իրադյան Ն.Ս., Մկրտչյան Լ.Ա., Մուրադյան Ռ.Ե., Բունիպայան Ժ.Մ., Պարոնիկյան Ռ.Վ., Ստեփանյան Գ.Մ. 4-Ալիլ- և 4-Ֆենիլ-3-[2-(4-ալկոքսիֆենիլ)սինտիլ-4-իլ]-4,5-դիհիդրո-1H-1,2,4-տրիազոլ-5-թիոնների 4-հիդրոքսի-3-նիտրոբենզիլ ածանցյալների հակաուռուցքային, հակաօքսիդանական և հակաբակտերիալ հատկությունները.....	23
Բունդարև Ա.Ի., Սայադյան Յ.Յ. Հայաստանի անտառների գույքագրման խնդիրները և զարգացման հեռանկարները.....	28
Յավրոյան Ժ.Վ., Հակոբյան Ն.Ռ., Հովհաննիսյան Ա.Գ., Ավագյան Գ.Ա., Սարգսյան Է.Գ., Գևորգյան Է.Ս. Ցիսալատինի և էստրադիոլի առանձին և համատեղ <i>in vivo</i> ազդեցությունը առնետի լյարդի բջիջների կորիզային ֆոսֆոլիպիդների պարունակության վրա.....	39
Կարապետյան Յ.Մ., Բարսեղյան Է.Խ., Թադևոսյան Ա.Յ. Ճագարի որոշ օրգանների D-ամինաթթվային օքսիդազի ելանյութային յուրահատկությունը.....	45
Բադալյան Մ.Վ., Մարմարյան Գ.Յու. Հայկական մուֆլոնի և հիբրիդների (մուֆլոն x ընտանի ոչխար) արյան որոշ սպիտակուցների բազմաձևությունը և կապը դաբաղի հետ.....	51
Մուրադյան Ն.Ն. Ասպիրակի (<i>Spiraea</i> L.) ներմուծված տեսակների բազմացման առանձնահատկությունները Երևանի բուսաբանական այգու պայմաններում.....	56
Գաբրիելյան Լ.Ս. Fe(II) և Mg(II) իոնների համակցումը որպես <i>Rhodobacter sphaeroides</i> -ում կենսաջրածնի էլքը խթանող միջոց.....	60
Գևորգյան Է.Ս., Աղամյան Ճ.Ի., Մինասյան Ս.Մ., Ղուկասյան Լ.Է. Ուսանողների սրտի ռիթմի ցուցանիշների փոփոխությունների վերլուծությունն օրական ուսումնական ծանրաբեռնվածության և արմաշտկման պայմաններում.....	67
Քամալյան Ռ.Գ., Խաչատրյան Յ.Ս., Խաչատրյան Ն.Խ. Փորձարարական շաբարախտի ստրեպտոգոնոցինային կանխարգելման փորձ.....	73
Վարդանյան Ժ.Յ., Կտրակյան Ս.Ա., Չարոյան Գ.Մ. Կանաչ տնկարկների բաշխվածությունը Երևանի տարբեր վարչական շրջաններում և միկրոկլիմայական գոտիներում.....	79

• Համառոտ հաղորդումներ •

Սարգսյան Յ.Մ. Հայաստանի քնամկների ընտանիքի (<i>Myoxidae</i>) տեսակային կազմի որոշումը գենետիկական հետազոտության եղանակով.....	85
Հրաչյալի գիտնականի հիշատակին.....	88

СОДЕРЖАНИЕ

•Экспериментальные и теоретические статьи•

Матевосян Л.А. Влияние ионов Са и Mg на рост и антибактериальную активность штамма <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> RIN-2003-LS.....	6
Мелкумян И.Э. Получение лимонной кислоты из клубней топинамбура в процессе жизнедеятельности плесневого гриба вида <i>Aspergillus niger</i>	12
Паронян М.Г., Колоян А.О., Аветисян С.В., Аганянц О.А., Овсепян А.С. Изучение возможности появления бактериальной устойчивости к фотодинамической инактивации.....	17
Ирадян М.А., Ирадян Н.С., Мкртчян Л.А., Мурадян Р.Е., Буниятян Ж.М., Пароникян Р.В., Степанян Г.М. Противоопухолевые, антиоксидантные и антибактериальные свойства 4-гидроксигидрокси-3-нитробензиловых производных 4-аллил- и 4-фенил-3-[2-(4-алкоксифенил)хинолин-4-ил]-4,5-дигидро-4H-1,2,4-триазол-5-тионов.....	23
Бондарев А.И., Саядян О.Я. Задачи и перспективы развития инвентаризации лесов Армении.....	28
Явроян Ж.В., Акопян Н.Р., Оганесян А.Г., Авагян Г.А., Саргсян Э.Г., Геворгян Э.С. Отдельное и совместное <i>in vivo</i> воздействие цисплатина и эстрадиола на содержание ядерных фосфолипидов клеток печени крыс.....	39
Карапетян А.М., Барсегян Э.Х., Трчуян А.А. Субстратная специфичность D-аминокислотной оксидазы некоторых органов кролика.....	45
Бадалян М.В., Мармарян Г.Ю. Полиморфизм некоторых белков крови армянского муфлона и его гибрида (муфлон х домашняя овца) и связь с ящуром.....	51
Мурадян Н.Н. Особенности размножения интродуцированных видов таволги (<i>Spiraea</i> L.) в условиях Ереванского ботанического сада.....	56
Габриелян Л.С. Комбинирование ионов Mg(II) и Fe(II) как подход к повышению выхода водорода в <i>Rhodobacter sphaeroides</i>	60
Геворгян Э.С., Адамян Ц.И., Минасян С.М., Гукасян Л.Э. Анализ изменения показателей ритма сердца студентов в условиях однодневной учебной нагрузки и ароматокоррекции.....	67
Камалян Р.Г., Хачатрян Р.С., Хачатрян Н.Х. Попытка предупреждения экспериментального стрептозотоцинового диабета.....	73
Вардадян Ж.А., Ктракян С.А., Зароян Г.М. Распределение зеленых насаждений в разных административных районах и микроклиматических зонах г. Еревана.....	79

•Краткие сообщения•

Саргсян А.М. Определение видового состава семейства соневых (Myoxidae) Армении методом генетического анализа.....	85
В память о замечательном ученом.....	88

CONTENTS

•Experimental and theoretical articles•

Matevosyan L.A. Effect of Ca and Mg ions on the growth and antibacterial activity of <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> RIN-2003-LS.....	6
Melkumyan I. E. Obtaining citric acid from the tubers of topinambur in the process of life activity of mold fungus of the species <i>Aspergillus niger</i>	12
Paronyan M.H., Koloyan H.O., Avetisyan S.V., Aganyants H.A., Hovsepyan A.S. Study of the possible development of bacterial resistance to photodynamic inactivation.....	17
<u>Iradyan M.A.</u> , Iradyan N.S., Mkrtchyan L.A., Buniatyan J.M., Muradyan R.E., Paronikyan R.V., Stepanyan H.M. Antitumor, antioxidant and antibacterial properties of 4-hydroxy-3-nitrobenzyl- derivatives of 4-allyl- and 4-phenyl-3-[2-(4-alkoxyphenyl)quinolin-4-yl]-4,5-dihydro-4H-1,2,4-triazole-5-thions.....	23
Bondarev A.I., Sayadyan H.Y. Forests inventory in Armenia: challenges and prospects.....	28
Yavroyan Zh.V., Hakobyan N.R., Hovhannisyan, A.G., Avagyan G.A., Sargsyan E.G., Gevorgyan E.S. Cisplatin and estradiol separate and joint <i>in vivo</i> action on rat liver nuclear phospholipids content.....	39
Karapetyan H.M., Barseghyan E.Kh., Trchounian A.H. Substrate specificity of D-amino acid oxidase of some rabbit organs.....	45
Badalyan M.V., Marmaryan G.Yu. Polymorphism of some proteins of blood of Armenian mouflon and hybrids (mouflon x domestic sheep) and relation with murrain.....	51
Muradyan N.N. Breeding features of introduced species of <i>Spiraea</i> L. in the conditions of the Yerevan botanical garden.....	56
Gabrielyan L.S. Fe(II) and Mg(II) ions combination as an approach for increasing yield of biohydrogen in <i>Rhodobacter sphaeroides</i>	60
Gevorkyan E.S., Adamyan Ts.I., Minasyan S.M., Ghukasyan L.E. Analysis of changes in the rhythm of the students heart under a one-day learning load and aromatic correction.....	67
Kamalyan R.G., Khachatryan H.S., Khachatryan N.Kh. Attempt of prevent the experimental streptozotocin diabetes.....	73
Vardanyan Zh.H., Ktrakyan S.A., Zaroyan G.M. Green stand distribution in different administrative districts and microclimatic zones of Yerevan.....	79

• Short communication •

Sargsyan H.M. Determination of the species composition of the dormouse family (Myoxidae) of Armenia through genetic analysis.....	85
In memory of a wonderful scientist.....	88



Biol. Journal of Armenia, 1 (71), 2019

EFFECT OF Ca AND Mg IONS ON THE GROWTH AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* SUBSP. *BULGARICUS* RIN-2003-LS

L.A. MATEVOSYAN

Yerevan State University, Department of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology,
lusine.matevosyan@inbox.ru

The effect of Ca and Mg ions on the growth and antibacterial activity of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RIN-2003-LS was studied. Stimulation of RIN-2003-LS growth and antibacterial activity was confirmed. The strongest antibacterial activity of RIN-2003-LS was revealed after addition to the medium 15 mM Ca^{2+} or 5 mM Mg^{2+} . However, simultaneous addition of Ca^{2+} and Mg^{2+} to growth medium didn't cause any change of antibacterial activity. So, the strong antibacterial activity of studied strain can serve as a basis for its application as a starter in production of dairy products and as a probiotic in production of antimicrobial drugs.

Lactic acid bacteria – Ca and Mg ions – antibacterial activity – probiotic

Ուսումնասիրվել է Ca և Mg իոնների ազդեցությունը *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RIN-2003-LS շտամի աճի և հակաբակտերիական ակտիվության վրա: Հաստատվել է RIN-2003-LS-ի աճի և հակաբակտերիական ակտիվության խթանումը: RIN-2003-LS-ի ամենաբարձր հակաբակտերիական ակտիվությունը դրսևորվել է սննդամիջավայրին 15 մՄ Ca կամ 5 մՄ Mg իոններ ավելացնելուց հետո: Սակայն Ca և Mg իոնների համատեղ ավելացումը աճման սննդամիջավայրին հակաբակտերիական ակտիվության եական փոփոխություն չի առաջացրել: Այսպիսով, ուսումնասիրված շտամի դրսևորած բարձր հակաբակտերիական ակտիվությունը կարող է հիմք հանդիսանալ այս շտամի օգտագործման համար կաթնամթերքի արտադրության մեջ որպես մերան և հակամանրէային դեղամիջոցների արտադրության մեջ որպես պրոբիոտիկ:

Կաթնաթթվային բակտերիաներ – Ca և Mg իոններ – հակաբակտերիական ակտիվություն – պրոբիոտիկ

Изучалось влияние ионов Ca и Mg на рост и антибактериальную активность *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RIN-2003-LS. Подтверждена стимуляция роста и антибактериальной активности RIN-2003-LS. Самая высокая антибактериальная активность RIN-2003-LS была выявлена после добавления в питательную среду ионов Ca (15 mM) или Mg (5 mM). Однако совместное добавление в среду ионов Ca и Mg не выявило никаких изменений антибактериальной активности. Таким образом, высокая антибактериальная активность изученного штамма может стать основанием для его применения в качестве стартовой культуры в производстве молочных продуктов, а также как пробиотик для возможного применения в производстве антимикробных препаратов.

Молочнокислые бактерии – ионы Ca и Mg – антибактериальная активность – пробиотик

Antibiotic resistance of pathogenic bacteria is the most important reason for search and screening of new bacteria with high biological activity. The best candidates fulfilling these requirements are lactic acid bacteria (LAB).

The great diversity of ecological-geographic conditions of Armenia with its exactly determined vertical zoning contributes the development of unique associations of LAB in traditional dairy products. During centuries Armenians have prepared traditional protein-enriched dairy products such as matsoun, sour cream and different types of cheeses, having substantial physiological, antagonistic, antioxidant and antiallergenic activity [2, 7]. Antibacterial activity is connected to synthesis of special substances-bacteriocins [9]. Bacteriocin producing LAB can be applied as a starter cultures in food fermentation or added to fresh food as bio-preservatives.

Environmental pollution by different metal ions is due to technical development. By accumulating in soil, they cause poisoning of plants, animals and people organism. That is why study of possible ways to reduce the amount of metals is actual and prospective. Due to ability to synthesize lactic acid, LAB acidify environment by causing accumulation of different metal salts in soil and their chelation. Chelated metals don't penetrate into the cells and don't cause toxic effect. But it is significant to differentiate the metals that are essential for cell activity and included in composition of enzymes by ensuring their functionality [10]. Such metals are calcium (Ca^{2+}) and magnesium (Mg^{2+}).

Therefore, the aim of this work was to investigate the effect of Ca^{2+} and Mg^{2+} on LAB growth, acid formation and antimicrobial activity which will allow regulating bacteria growth conditions for maximal production of antimicrobial substances and defining the mechanisms of LAB metallotolerance.

Materials and methods. Objects of investigation

The object of investigation was *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RIN-2003-LS strain isolated from salinized Armenian cheese "Lori", village Gladzor, Vayots Dzor province, Armenia, and stored in the Department of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology.

Investigation of effects of different metal ions on biological properties of lactic acid bacteria

To determine the stimulating effect of different metal ions (Ca^{2+} , Co^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ba^{2+} and Zn^{2+}) on LAB antibacterial activity the primary screening was carried out. As a source of ions the following salts were used – CaCl_2 , CoSO_4 , MgCl_2 , MnSO_4 , $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, FeSO_4 , BaCl_2 , ZnS . For study of metal ions effect on LAB biological properties MRS medium was prepared containing 5, 10, 15 mM Ca and Mg ions. The optimal concentration of metal ions was determined. Simultaneous effect of two ions on LAB growth, acid formation and antibacterial activity was studied, too.

Growth curve construction and pH measurement

For construction of growth curve, optical density was measured by spectrophotometric method, the wavelength was 595 nm (KФK-3 -"3OM3", Russia). Each measurement was carried out every 3 h. pH measurement was carried out by potentiometric method using pH-meter (Knick K-766, Germany).

Determination of antibacterial activity

Determination of LAB antibacterial activity was carried out by agar well-diffusion method [8]. The following test-organisms were used: *Pseudomonas aeruginosa* 272786 (isolated from clinical material and provided by "Prom-test" diagnostic center), *Salmonella enterica* K3 (isolated from pig feces and provided by Institute of Molecular Biology, NAS RA), *Staphylococcus aureus* MDC 5233, *Escherichia coli* VKPM M17, *Bacillus subtilis* WT-A1 (isolated from a soil sample). 0.1 mL of overnight culture was added to wells and tested for antibacterial activity. Then Petri dishes were placed in fridge for 2 h for diffusion of antibacterial substances. After 24 h of incubation at the optimum temperature required for the test-culture growth, diameters of growth inhibition zones were measured. A clear zone of inhibition of at least 2 mm in diameter was recorded as positive.

Results and Discussion. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RIN-2003-LS strain was revealed high antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative microorganisms, as shown before [3]. To study the effect of different metal ions on antibacterial activity of this strain 5 mM metal salts were used. The results are shown in fig. 1.

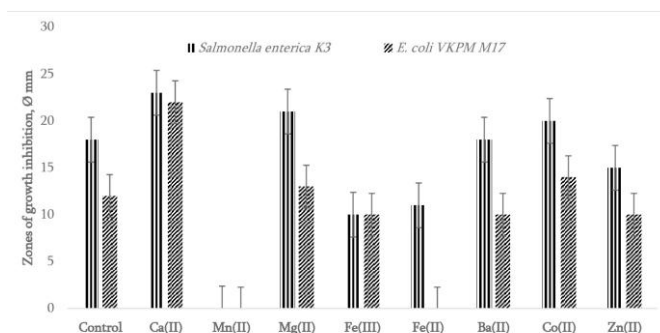


Fig. 1. Dependence of antibacterial activity of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RIN-2003-LS on presence of metal ions.

Ca^{2+} and Mg^{2+} induced antibacterial activity of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RIN-2003-LS, vice-versa Mn^{2+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} and Zn^{2+} inhibited its activity, and Ba ions didn't show any effect. That is why for further investigation Ca^{2+} and Mg^{2+} were selected (5, 10 and 15 mM). The results are shown in fig. 2.

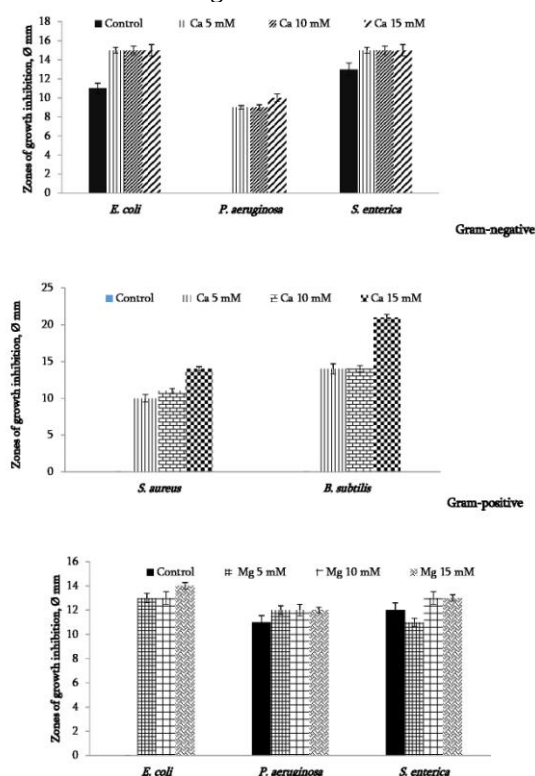


Fig. 2. The effect of different concentrations of Ca and Mg ions on antibacterial activity of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RIN-2003-LS

It was shown before that in case of incubation in milk antibacterial activity of some LAB strains against *S. aureus* MDC 5233 was lower than in case of incubation in MRS [3]. As a rule, concentration of calcium in milk is approximately 15 mM [4]. The results showed that high concentrations of Ca^{2+} induced the antibacterial activity of RIN-2003-LS, especially against Gram-positive test-organisms. It is interesting to note that residual concentration of Ca^{2+} in intestine is 5 mM [1]. Consequently, this allows concluding for strong antibacterial activity of RIN-2003-LS in intestine additional source of calcium is required. The kinetics of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RIN-2003-LS growth, acid formation and antibacterial activity in different Ca^{2+} and Mg^{2+} concentrations had been studied, too. The results are presented in figs. 3 and 4.

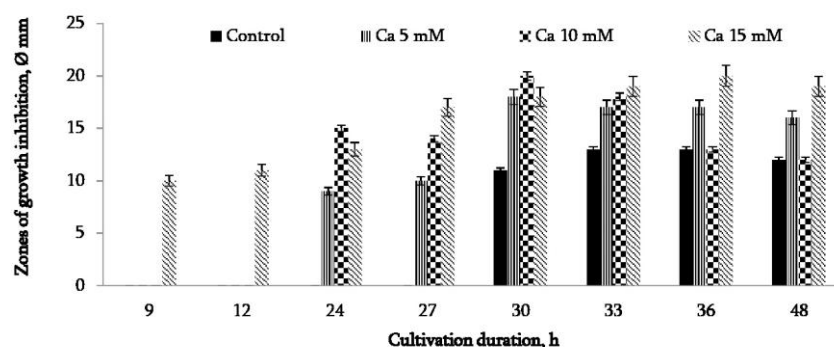


Fig. 3. The effect of different concentrations of Ca^{2+} on kinetics of growth, acid formation and antibacterial activity of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RIN-2003-LS

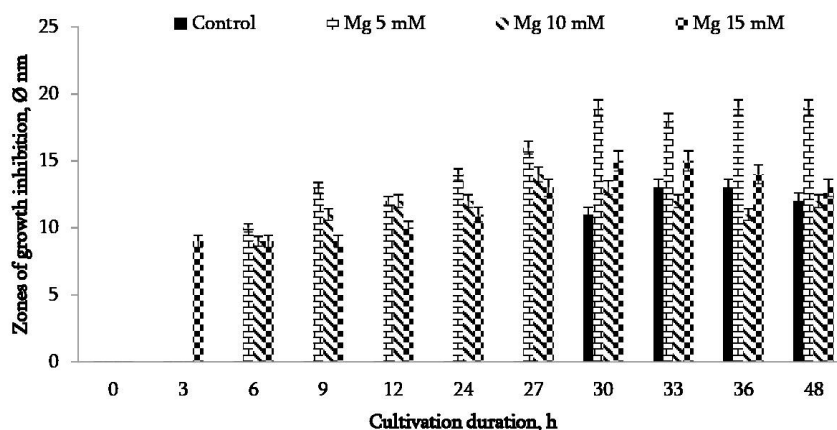


Fig. 4. The effect of different concentrations of Mg^{2+} on kinetics of growth, acid formation and antibacterial activity of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RIN-2003-LS

It is shown from fig. 3 that Ca^{2+} 15 mM in MRS has the strongest effect on these 3 properties. Interestingly, such concentration increases the synthesis of antibacterial substances since 9th hour. However, the stimulating effect of Mg^{2+} was observed in 5 mM concentration (fig. 4). Keryan and coauthors studied the effect of Ca and Co ions on growth, acid formation and antibacterial activity of *L. delbrueckii* subsp. *lactis* INRA-2010-4.2 and *L. crispatus* INRA-2010-5.2 strains and showed that for both strains even 5 mM concentration of Ca^{2+} caused inhibition of growth [6].

For determination of combined effect of Ca and Mg ions 15 mM concentration of Ca^{2+} and 5 mM concentration of Mg^{2+} were added to MRS medium but no significant effect was revealed on antibacterial activity. The similar results were shown by Keryan and coauthors in case of simultaneous addition of Ca and Co ions [6].

Interesting results about antibacterial properties of magnesium were obtained by Duane and coauthors [11]. Particularly, they investigated antibacterial properties of magnesium against Gram-positive (*S. aureus*) and Gram-negative (*E. coli* and *P. aeruginosa*) bacteria. As a source of Mg ions MgCl_2 salt was used which was added to the growth medium of test-organisms. The pH of cultures growth medium was increased by 1.0 N NaOH. Authors indicated that Mg metal has a significant effect on CFUs of both Gram-positive and Gram-negative bacteria. Added to the growth media Mg corrosion products would inhibit the growth of *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. aureus* but this is only a hypothesis which needs confirmation.

Ca and Mg ions have other amazing properties. Particularly, it was shown that Ca^{2+} and Mg^{2+} can influence on bacterial biofilm formation [5, 13]. In other work was observed the role of Mg ions in the growth of *Salmonella* Phage Anti-R [14]. Interestingly, Ca^{2+} and Mg^{2+} can also interact with antibiotics and protect the bacterial outer membrane from damage [12].

However, these are not all properties of Ca^{2+} and Mg^{2+} investigated by researchers. Undoubtedly, these metals have many other properties which are not detected yet, and the further works will be devoted to discovery of them.

The obtained results showed that Ca and Mg ions stimulated the antibacterial activity of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RIN-2003-LS. The stimulating effects of Ca^{2+} and Mg^{2+} were depended on their concentrations. Particularly, the best concentration for Ca^{2+} was 15 mM and for Mg^{2+} – 5 mM. However, the simultaneous addition of these ions to growth medium didn't show any crucial effect on antibacterial activity of studied strain. So, it can be considered that in case of presence of two ions competition for entrance to cell or chelation of metal ions occurs which can influence on metal access.

Acknowledgement

The author wants to thank Institute of Molecular Biology, NAS RA, and “Prom-test” diagnostic center for providing test-organisms. Many thanks to Dr. Inga Bazukyan (IB) and Prof. Armen Trchounian (Department of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology, Yerevan State University, Armenia) for advice and comments.

The work was supported by Basic support from State Committee of Science, Ministry of Education and Science of Armenia and by Research grant from the Armenian National Science and Education Fund (ANSEF) based in New York, USA, to IB (#Biotech-4431).

REFERENCES

1. Barrett K.E., Barman S.M., Boitano S., Brooks H. Ganong's Review of Medical Physiology, 24 ed, McGraw Hill Professional, New York City, New York, USA, 2012.
2. Bazukyan I., Ahabekyan N., Madoyan R., Dalgalarrrondo M., Chobert J.M., Popov Yu., Haertlé T. Study of cell envelope proteinase systems of natural isolated thermophilic lactobacilli. In: BioMicroWorld book Microorganisms in Industry and Environment. From scientific and industrial research to consumer products. 446-450, 2010.

3. Bazukyan I., Babayan A., Trchounian A. Some properties of antibacterial component of lactic acid bacteria isolated from Armenian dairy products. *Electronic Journal of Natural Sciences*, 21, 2, 38-43, 2013.
4. Boyaval P. Lactic acid bacteria and metal ions. *Lait*, 69, 87-113, 1989.
5. Guvensen N.C., Demir S., Ozdemir G. Effects of magnesium and calcium cations on biofilm formation by *Sphingomonas paucimobilis* from an industrial environment. *Fresenius Environmental Bulletin PSP*, 12, 21, 2012.
6. Keryan A., Simonyan Y., Bazukyan I., Haertle T., Trchounian A. Effects of Ca (II) and Co (II) ions on proteolytic activity of lactobacilli strains isolated from Armenian traditional dairy product matsoun. *FoodMicro2014 - Session 3 - Fermented foods and beverages*, Nantes, France, 138, 2014.
7. Movsesyan I., Ahabekyan N., Bazukyan I., Madoyan R., Dalgalarrrondo M., Chobert J.M., Popov Yu., Haertlé T. Properties and survival under simulated gastrointestinal conditions of lactic acid bacteria isolated from Armenian cheeses and matsuns. *Biotech Biotech Equip.*, 24, 444-449, 2010.
8. Ndagano D., Lamoureux T., Dortu C., Vandermoten S., Thonart P. (Antifungal activity of 2 lactic acid bacteria of the *Weissella* genus isolated from food. *J Food Sci.*, 76, 305-311, 2011.
9. Nes I.F., Kjos M., Diep D.B. Antimicrobial components of Lactic Acid Bacteria. In: Lahtinen S, Salminen S, Ouwehand AC, von Wright A (Eds.) *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, Taylor & Francis, Abingdon, UK. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 4th ed:285-329, 2012.
10. Riordan J.F. The Role of Metals in Enzyme Activity. *Annals of clinical and laboratory science*, 7, 2, 1977.
11. Robinson D.A., Griffith R.W., Shechtman D., Evans R.B., Conzemijs M.G. In vitro antibacterial properties of magnesium metal against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Acta Biomaterialia*, 6, 1869-1877, 2010.
12. Sahalan A.Z., Aziz H.A.A., Lian H.H., Ghani M.K.A. Divalent Cations (Mg^{2+} , Ca^{2+}) Protect Bacterial Outer Membrane Damage by Polymyxin B. *Sains Malaysiana*, 42, 3, 301-306, 2013.
13. Song B., Leff L.G. Influence of magnesium ions on biofilm formation by *Pseudomonas fluorescens*. *Microbiological Research*, 161, 4, 355-361, 2006.
14. Tucker R.G. The Role of magnesium ions in the growth of *Salmonella* Phage Anti-R. *J. gen. Microbiol.*, 26, 313-323, 1961.

Received on 13.09.2018



Biol. Journal of Armenia, 1 (71), 2019

ПОЛУЧЕНИЕ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ ИЗ КЛУБНЕЙ ТОПИНАМБУРА В ПРОЦЕССЕ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПЛЕСНЕВОГО ГРИБА ВИДА *ASPERGILLUS NIGER*

И.Э.МЕЛКУМЯН

НПЦ “Армбиотехнология” НАН РА
melk.77@mail

Настоящее исследование посвящено разработке технологии выделения лимонной кислоты из инулинсодержащего экстракта клубней топинамбура (*Helianthus tuberosus*) с применением плесневых грибов *Aspergillus niger*. Показано, что микробиологическое получение лимонной кислоты из топинамбура экономически выгодно, поскольку его клубни содержат около 20% инулина.

Топинамбур – инулин – плесневый гриб – лимонная кислота

Տվյալ ուսումնասիրությունը նվիրված է գետնախնձորի (*Helianthus tuberosus*) պալարների ինուլին պարունակող լուծամզվածքից կիտրոնաթթվի անջատման տեխնոլոգիայի մշակմանը: Այս նպատակով օգտագործվում է *Aspergillus niger* տեսակին պատկանող բորբոսասունկը: Գետնախնձորից կիտրոնաթթվի մանրէաբանական ստացումը տնտեսապես ձեռնտու է, քանի որ նրա պալարներում պարունակվում է մոտ 20 % ինուլին:

Գետնախնձոր – ինուլին – բորբոսասունկ – կիտրոնաթթու

This study is devoted to the development of technology for the isolation of citric acid using mold fungi of the species *Aspergillus niger* from inulin-containing extract of Jerusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus*). It has been shown that microbiological synthesis of citric acid from Jerusalem artichoke is economically beneficial, because tubers contain about 20% inulin.

Jerusalem artichoke- inulin-mold fungus-citric acid

Органические кислоты находят широкое применение в фармацевтической, химической, пищевой, текстильной и других отраслях промышленности. Пищевая промышленность традиционно является основным потребителем лимонной, уксусной и молочной кислот [2, 4, 9]. К органическим кислотам относятся преимущественно карбоновые, молекулы которых содержат одну или несколько карбоксильных групп COOH. В зависимости от наличия карбоксильных групп различают одноосновные, двухосновные и трехосновные карбоновые кислоты.

Лимонная кислота является трехосновной оксикислотой [2, 8]. Это кристаллическое вещество белого цвета, хорошо растворимо в воде и этиловом спирте. В наибольшей концентрации она содержится в ряде растений: в плодах цитрусовых,

в ягодах, стеблях и листьях табака. Сама лимонная кислота, как и её соли – цитраты, широко используется во многих отраслях: в пищевой промышленности как вкусовая добавка, регулятор кислотности и консервант (пищевые добавки Е330—Е333), для производства плавленых сыров, напитков, сухих шипучих напитков, в медицине в качестве консерванта при переливании крови, в том числе в составе средств, улучшающих энергетический обмен, активирует цикл Кребса, способствуя ускорению метаболизма. Широко используется в бытовой химии в качестве очистительного средства [4,8].

Около 60 лет назад лимонную кислоту выделяли преимущественно из плодов цитрусовых растений. Несмотря на значительный прогресс в области органического синтеза, в настоящее время многие органические кислоты – лимонная, молочная, уксусная получают микробиологическим синтезом. Основой микробиологического производства в биотехнологии является использование штаммов-продуцентов для получения того или иного продукта в процессе метаболизма. В частности, лимонную кислоту получают путем микробиологического синтеза с использованием плесневого гриба *Aspergillus niger* из сахаристых веществ [10]. *Aspergillus niger* относится к классу сумчатых грибов (*Ascomycetes*), семейству аспергилловых (*Aspergillaceae*), роду *Aspergillus*, который насчитывает свыше 120 видов [3]. Как правило, грибы растут на богатых углеродом субстратах. В настоящее время лимонная кислота производится с помощью микробиологического синтеза, в качестве основного сырья используется меласса, являющаяся отходом сахарного производства из сахарной свеклы, которая содержит 40–46% сахарозы. [8,9]. Однако она не является единственным источником сырья для получения лимонной кислоты. В течение многих десятилетий проводились исследования по микробиологическому синтезу лимонной кислоты из различных субстратов: фруктозы, глюкозы, сахарозы, крахмала, целлюлозы, углеводов. Возможность использования клубней топинамбура для получения лимонной кислоты на момент начала работы не была изучена.

Топинамбур (*Helianthus tuberosus*) – это травянистое растение, которое не требует особого ухода. Это неприхотливое, засухоустойчивое, морозостойкое и урожайное растение. Клубни топинамбура содержат около 15–20% инулина. Инулин – высокомолекулярный углевод, полисахарид (полимер) растительного происхождения, мономерами которого являются фруктоза (97%) и глюкоза (3%). Подобно крахмалу, инулин служит запасным веществом, встречается главным образом во многих растениях семейства сложноцветных: в корнях топинамбура содержание инулина доходит до 20%, в цикории и клубнях георгины до 15%, репчатом луке до 2–5% [6]. Учитывая неприхотливость топинамбура и высокое содержание инулина в его корнях, нами впервые был предложен способ получения лимонной кислоты путем культивирования штаммов плесневого гриба *Aspergillus niger* на экстракте, полученном из инулинсодержащего сырья клубней топинамбура.

Материал и методика. В качестве объекта исследования использовали штамм плесневого гриба *Aspergillus niger*, полученный из коллекции культур микроорганизмов Центра депонирования микробов ННЦ Армбиотехнология НАН РА.

Для получения лимонной кислоты штамм культивировали на водном экстракте измельченных клубней топинамбура.

Штамм культивировался на синтетической среде Чапека следующего состава (г/л): NaNO_3 -2.0, KH_2PO_4 -1.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0.5, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0.01, KCl -0.5 [5].

Кислотность определяли индикатором метиловым красным (метилрот) [1].

Количественное содержание лимонной кислоты определяли методом титрования 0,5N раствором гидроксида натрия по следующей формуле:

$$X = \frac{N_s * V * E_x}{q * 10} * 100\%,$$

где x – процентное содержание лимонной кислоты (%), N_s – нормальность титруемого раствора, V – объем титруемого вещества, E_x – эквивалентное количество исследуемого раствора, q – проба анализируемого вещества [1].

Содержание органических кислот в культуральной жидкости определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе "Water Separations Modul 2695", США.

Результаты и обсуждение. С целью выяснения возможности биоконверсии инулина в лимонную кислоту и получения ее из клубней топинамбура нами проводились микробиологические и биохимические исследования. Для эффективного осуществления экстракции на 1 кг измельченных клубней добавляли 2 л дистиллированной воды и при постоянном перемешивании выдерживали в течение 30 мин при температуре 70-75⁰С. Согласно литературным данным, выход инулина значительно увеличивается при pH 6,0-6,5 [7]. Далее проводили центрифугирование экстракта, надосадочную жидкость с инулином отделяли от фугата, обесцвечивали активированным углем. Культивирование плесневого гриба *Aspergillus niger* на экстракте осуществляли в термостате при температуре 25⁰С. Уже на 2-3 сут наблюдалось подкисление среды. В культуральную жидкость добавлялся краситель метиленовый красный: на 100 мл питательной среды 1 мл 0,1 %-ного спиртового раствора. При образовании кислоты в процессе роста штамма культуральная жидкость окрашивалась в красный цвет. Максимальное кислотообразование происходит на 4-5 сут. Значение pH снижается от 6.5 до 3.5-3.0.

В результате данных, полученных на ВЭЖХ, в сброженном растворе была обнаружена смесь органических кислот – лимонной и яблочной. Кроме упомянутых органических кислот, в растворе содержались также другие органические кислоты, которые не идентифицировались (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1. Содержание органических кислот в культуральной жидкости *Aspergillus niger*

Название кислот	Время выхода	Площадь выхода	Количество, %
Лимонная кислота	8,049	3247150,56	5,8409
Неидентифицированная кислота	9,412	64512031	–
Неидентифицированная кислота	11,221	7413,12	–
Яблочная кислота	12,667	114321,12	1,2407
Неидентифицированная кислота	14,312	788096,21	–
Неидентифицированная кислота	15,478	1024541,69	–

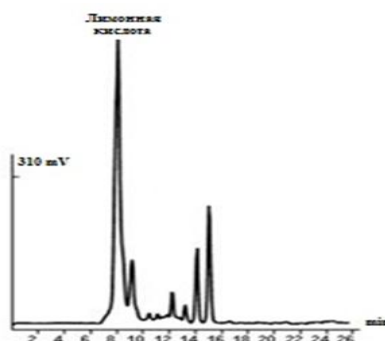


Рис 1. Хроматограмма культуральной жидкости *Aspergillus niger*

В лабораторных условиях лимонную кислоту получали путем культивирования плесневого гриба *Aspergillus niger* на синтетической среде Чапека с добавлением различных источников углерода, таких как сахароза, фруктоза и инулин. Результаты свидетельствуют о весьма близких выходах лимонной кислоты из указанных субстратов (рис. 2), но наилучшим исходным веществом для образования лимонной кислоты является сахароза. Однако, учитывая доступность инулинсодержащего сырья из корней топинамбура, дальнейшие наши исследования по подбору источника углерода были продолжены именно с использованием этого сырья.

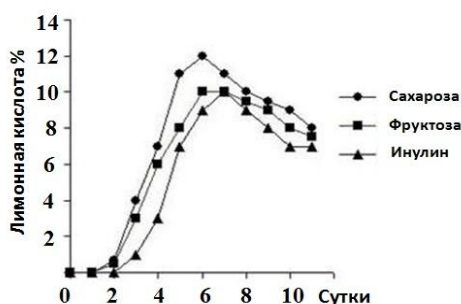


Рис 2. Синтез лимонной кислоты на различных источниках углерода с использованием штамма *Aspergillus niger*.1

При обобщении полученных результатов выявилась возможность биоконверсии инулина и простых сахаров, содержащихся в экстракте клубней топинамбура, в лимонную кислоту в процессе поверхностных и глубинных ферментаций штамма *A.niger*. Необходимо отметить, что производство лимонной кислоты из экстракта топинамбура является рентабельным, т.к. топинамбур неприхотливое, урожайное растение, способное расти в разных условиях. Средняя урожайность сахарной свеклы – 22 т/га, выход сахара составляет 10 % от массы сырья. Средняя урожайность клубней топинамбура – 40 т/га, выход сахара (по минимуму) – 12 % от массы сырья. Исходя из этого, с 1 га сахарной свеклы можно получить 2,2 т сахара (сахарозы), а с 1 га топинамбура – 4,8 т фруктозного сахара, который слаще обычного сахара в 1,7-2 раза.

Таким образом, впервые было установлено, что инулинсодержащий экстракт клубней топинамбура является перспективным источником для микробиологического производства лимонной кислоты с использованием штамма *Aspergillus niger*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коренман Я.И., Лисицкая Р.П. Практикум по аналитической химии. Анализ пищевых продуктов. Учеб. пособие. Воронеж, с.32-52, 2002.
2. Муратова Е.И., Зюзина О.В., Шуляева О.Б. Биотехнология органических кислот и белковых препаратов. Издательство ТГТУ. Тамбов, с.3-7, 2007.
3. Нетрусов А.И., Котова И.Б. Микробиология, с. 116-120, изд. Академия, М., 2006.
4. Нечаев А.П., Траубенберг С.Е. Кочеткова А.А., Пищевая химия. Санкт-Петербург. ГИОРД. 6-е изд., с.292-304, 2015.

5. *Поликсенова В.Д., Храмцов А.К., Пискун С.Г.*, МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ к занятиям спецпрактикума по разделу “Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов” “G 31 01 01 – Биология”. Минск, с.7-20, 2004.
6. *Сумин Ю.А.* Программа “Топинамбур” – стратегический ресурс России. Наша власть. 61, 3, 42-43, 2006.
7. *Шаззо Р.И., Екутеч Р.И., Кондратенко В.В., Кулин Г.А.*, Способ получения инулин-содержащего раствора из топинамбура. Патент РФ №2493171, с.4, 2012.
8. *Berovich M., Legia M.*, Citric acid production, *Biotechnology Annual Review*, 13, pp. 303-343, 2007
9. *Mattey M.* The production of organic acids. *Crit Rev Biotechnol.*, 12, p.87-132, 1992.
10. *Papagianni M.* Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: Biochemical aspects, membrane transport and modeling, *Biotechnology Advances*, 25, pp 244-263, 2007.

Поступила 12.11.2018



Biol. Journal of Armenia, 1 (71), 2019

STUDY OF THE POSSIBLE DEVELOPMENT OF BACTERIAL RESISTANCE TO PHOTODYNAMIC INACTIVATION

M.H. PARONYAN, H.O. KOLOYAN, S.V. AVETISYAN,
H.A. AGANYANTS, A.S. HOVSEPYAN

SPC "Armbiotechnology" SNPO NAS RA
paronyan.marina@mail.ru

The increasing number of pathogens resistant to antibiotics requires the development of alternative antibacterial strategies. One of the most promising and innovative approaches for the destruction of pathogens is the photodynamic inactivation (PDI) of microorganisms. In order to identify the ability of bacteria to develop resistance to PDI, studies have been conducted on strains of *Staphylococcus aureus* 62-A and *Escherichia coli* K-12. Tetracationic Zn-mesotetra-[4-N-(2'-butyl) pyridyl]porphyrin (Zn-TBut4PyP) was used as a photosensitizer (PS). After activation by visible light the ability of Zn-TBut4PyP to develop resistance in these strains was investigated. It was shown that no resistant mutants were detected after successive 10-fold repetition of the PDI procedures of microorganisms with Zn-TBut4PyP.

*Photodynamic inactivation – porphyrin derivative – pathogens –
Staphylococcus aureus – Escherichia coli*

Հակաբիոտիկների նկատմամբ կայուն պաթոգեն մանրէների թվի աճը պահանջում է հակաբակտերիալ այլընտրանքային մոտեցումների մշակում: Պաթոգենների ոչնչացման համար առավել խոստումնալից և տրարարական մոտեցումներից մեկը համարվում է միկրոօրգանիզմների ֆոտոդինամիկ ապաակտիվացումը (ՖԴԻ): ՖԴԻ-ի նկատմամբ բակտերիաների կայունություն զարգացնելու ունակությունը ստուգելու նպատակով իրականացվել են հետազոտություններ *Staphylococcus aureus* 62-A և *Escherichia coli* K12 շտամների վրա: Որպես ֆոտոսենսիբիլիզատոր օգտագործվել է տետրակատիոնային Zn-մեզո-տետրա[4-N-(2'-բուտիլ) պիրիդիլ]պորփիրինը (Zn-TBut4PyP): Ուսումնասիրվել է Zn-TBut4PyP-ով (տեսանելի լույսով ակտիվացումից հետո) այդ շտամների մոտ կայունություն առաջացնելու ունակությունը: Ցույց է տրվել, որ Zn-TBut4PyP-ով ՖԴԻ-ի գործընթացի հաջորդական 10 անգամ կրկնությունից հետո կայուն մուտանտներ չեն հայտնաբերվել:

*Ֆոտոդինամիկ ապաակտիվացում – պորփիրինի ածանցյալ – պաթոգեններ –
Staphylococcus aureus – Escherichia coli*

Возрастающее число патогенов, устойчивых к антибиотикам, требует разработок альтернативных антибактериальных стратегий. Одним из наиболее перспективных и инновационных подходов для уничтожения патогенов является фотодинамическая инактивация (ФДИ) микроорганизмов. С целью выявления способности бактерий вызывать устойчивость к ФДИ микроорганизмов, исследования были проведены на штаммах *Staphylococcus aureus* 62-A и *Escherichia coli* K12. Тетракатинный Zn-мезотетра-[4-N-(2'-бутил) пиридил]порфирин (Zn-TBut4PyP) был использован в качестве фотосенсибилизатора (ФС). Была исследована способность Zn-TBut4PyP (после активации видимым светом) вызвать устойчивость у этих штаммов. Показано, что после последовательного 10-кратного повторения процедур ФДИ с Zn-TBut4PyP устойчивых мутантов не обнаружено.

*Фотодинамическая инактивация – производный порфирина – патогенны –
Staphylococcus aureus – Escherichia coli*

The widespread and increasing antibiotic resistance among pathogenic bacteria has forced researchers to find efficient alternative therapeutic methods against which the bacteria are not able to easily develop resistance [4]. Photodynamic therapy could be one of such alternative strategies, which is expected to be useful in the treatment of localized infections [10, 15, 21]. The mechanism of PDI action is a multi-target damaging process in contrast to those of antibiotics, which act very specifically on a definite target. PDI of microorganisms is based on the concept that positively charged PSs can attach and/or accumulate in or at the pathogen to induce irreversible damage upon light activation of the PS [12]. This process of PDI involves the delivering light of the appropriate wavelength to the PS molecule in order to bring it to an excited singlet state, which subsequently crosses to a more stable triplet state with lower energy via intersystem crossing. The interaction between the PS excited states and endogenous oxygen in the immediate vicinity of the target cell provides cytotoxic effects due to the production of highly toxic reactive oxygen species (ROS) such as singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) and free radicals like hydrogen peroxide (H_2O_2), superoxide radical anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$) and hydroxyl radical ($\text{OH}^{\cdot}$), able to irreversibly alter vital components of cells resulting in oxidative lethal damage [1, 8, 10, 11]. It should be mentioned that traditional antibiotics can also use ROS to create lethality to bacteria [6], although such ROS are generated endogenously, in contrast to PDI where the ROS are generated by PS. Another major feature of PDI as compared to typical antibiotics is that PSs can attack bacteria at multiple sites through binding to targets of extracellular or intracellular localization [12, 15]. Until now it has been questionable if bacteria can develop resistance to this peculiar kind of stress [7, 15]. In order to dispel these doubts, it is necessary to conduct multistage studies to investigate the ability of pathogenic strains to develop resistance when exposed to PDI with tetracationic Zn-TBut4PyP. For this *in vitro* study the gram-positive *S. aureus* 62-A and the gram-negative *E. coli* K-12 strains were selected. Studies of bacterial resistance to PDI are generally based on sub-lethal treatments followed by the growth of surviving colonies in repeated cycles under the same conditions [1].

Materials and methods. Bacterial strains and growth procedures. In this study the bacterial strains *E. coli* K-12 (from the collection of microorganisms of the Scientific and Production Center "Armibiotechnology" of NAS of Armenia) and *S. aureus* 62-A (from the collection of microorganisms of the A. Aleksanyan Research Institute of Epidemiology, Virology and Medical Parasitology, RA Ministry of Health) were used. Luria-Bertani (LB) medium was used as a complete liquid and solid medium [16]. Bacterial strains were grown in LB medium, at 37 °C with orbital shaking overnight. Cells were harvested by centrifugation (13,000 rpm for 10 min) and washed twice in phosphate-buffered saline (PBS), pH 7.4. The cells were then resuspended in the same buffer to a final concentration of 10^8 CFU mL⁻¹. The optical density (OD) of cell suspension was measured with a spectrophotometer Shimadzu UV-Recording Spectrophotometer UV-2100 (Japan) at a wavelength 540 nm.

Photosensitizer. The tetracationic Zn-TBut4PyP used as a PS was synthesized at the Department of Chemistry, Pharmaceutical Faculty, Yerevan State Medical University and kindly provided by Ph.D., associate professor R.K. Kazaryan [13]. The original solution of Zn-TBut4PyP was prepared in sterile distilled water and stored at room temperature in the dark until use.

Light source. Irradiation was carried out using a 50 W tungsten lamp with an irradiation range of 320-780 nm and an irradiation power density of 30 mW cm⁻² for 30 min.

Phototoxicity assay. Samples for the study contained 0.1 ml of the PS solution of the appropriate concentration (final concentrations of 0.5, 1, 0.2, 5, 10 and 20 µg mL⁻¹) and 0.9 ml of suspension of microorganisms. Samples were incubated in the dark with appropriate concentrations of Zn-TBut4PyP at room temperature for 10 minutes, and then all samples were irradiated for 30 minutes with an irradiation power density of 30 mW cm⁻². Samples without exposure and with/without Zn-TBut4PyP, as well as without Zn-TBut4PyP and with irradiation served as controls.

The sensitivity of each strain was determined *in vitro* by the method of serial dilutions [18]. All experiments were performed in triplicate. After 24 h incubation at 37 °C, the number of colony forming units (CFU) of strains was counted and the minimum bactericidal concentration (MBC) was determined as the minimum concentration of Zn-TBut4PyP leading to more than 99.9 % cell killing ($\sim 3 \log \text{CFU mL}^{-1}$).

Multistep selection of PDI-resistant microorganisms. For each strain, single colonies that survived PDI in the presence of Zn-TBut4PyP in the concentration corresponding to the MBC was selected from the plate, inoculated in 5 ml of appropriate medium, and grown at 37 °C. After 24 h, the cells were harvested by centrifugation (13,000 rpm for 10 min) and washed twice in PBS, pH 7.4. Then the cells were suspended in the same buffer to a final concentration of 10^8CFU mL^{-1} and the Zn-TBut4PyP in corresponding concentrations was added. Photodynamic inactivation was repeated as described above. Following this protocol, 10 PDI procedures were performed for each strain. Resistance selection was studied by determining the MBC every day.

Statistical analysis. The statistical parameters (average values, standard deviation) used in the experiments were calculated using the MS Excel. Each experiment was conducted in triplicate. The calculation was referred to untreated controls, which were neither incubated with photosensitizer nor irradiated.

Results and Discussion. The effectiveness of PDI of microorganisms with tetracationic Zn-TBut4PyP was tested against two bacteria: the gram-positive *S. aureus* 62-A and the gram-negative *E. coli* K-12 strains. The effectiveness of Zn-TBut4PyP was evaluated on the basis of determining the number of visible CFU mL^{-1} after photoinactivation and the minimum MBC was determined as the minimum concentration of Zn-TBut4PyP leading to more than 99.9 % cell killing ($\sim 3 \log \text{CFU mL}^{-1}$).

Photoinactivation of the *S. aureus* 62-A strain by Zn-TBut4PyP led to a decrease in viability upon irradiation for 30 min (fluence rate of 30 mW cm^{-2}) depending on the PS concentration. Zn-TBut4PyP at a concentration of $0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ resulted in 99.9 % (MBC) cell death of the *S. aureus* strain (fig. 1).

The growth of the tested *S. aureus* 62-A strain without PS was not affected with irradiation (light control), demonstrating that the light dose of 30 mW cm^{-2} used during the experiments does not have an antibacterial effect itself (fig. 1). At the same time, the *S. aureus* samples incubated with Zn-TBut4PyP but not irradiated (dark control) were not affected, showing that Zn-TBut4PyP in the dark does not have antibacterial effect at the concentrations used (fig. 1).

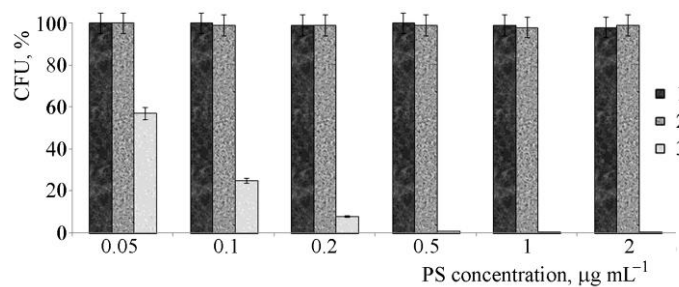


Fig. 1. Effectiveness of photoinactivation of *S. aureus* 62-A with Zn-TBut4PyP
1 – light control; 2 – dark control; 3 – photoinactivation of *S. aureus* 62-A

Irradiation of *E. coli* K-12 strain after incubation with Zn-TBut4PyP at a concentration of $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ revealed a reduction in the number of viable colonies by more than 99.9 % (MBC) (fig. 2). As in the previous case with *S. aureus* 62-A strain, the light and dark controls showing that the viability of *E. coli* K-12 strain was neither

affected by light alone nor by the Zn-TBut4PyP in the dark with the tested concentrations (fig. 2).

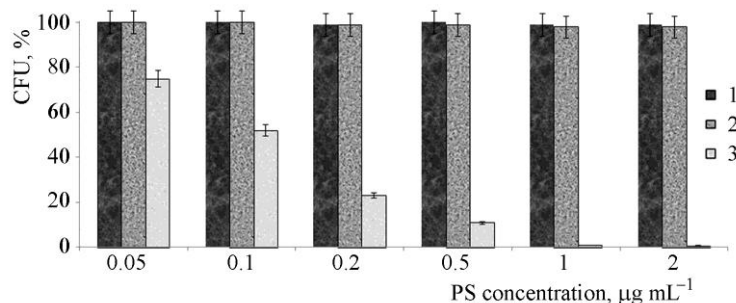


Fig. 2. Effectiveness of photoinactivation of *E. coli* K-12 with Zn-TBut4PyP
1 – light control; 2 – dark control; 3 – photoinactivation of *E. coli* K-12

In agreement with the data reported in the literature for other cationic PSs [2, 17], *S. aureus* 62-A showed high susceptibility to PDI with Zn-TBut4PyP compared to *E. coli* K-12.

To determine development of resistance to Zn-TBut4PyP with irradiation in the experimental strains used, the variation of MBCs during 10 successive PDI procedures was monitored. Data of the MBCs after PDI at days 5 and 10 are presented in tab. 1. No significant variations in MBCs values were observed for the tested strains.

Table 1. Multistep selection of PDI-resistant microorganisms with Zn-TBut4PyP

Strain	Initial MBC for Zn-TBut4PyP ($\mu\text{g/ml}$)	Resistance selection	
		Day	MBC ($\mu\text{g/ml}$)
<i>S. aureus</i> 62-A	0,5	5	0.5
		10	0.5
<i>E. coli</i> K-12	1	5	1
		10	1

Data are results of multistep resistance selection studies using Zn-TBut4PyP as photosensitizer in the presence of light activation and repeated MBC determination after days 5 and 10.

Many traditional antimicrobial agents act by inhibiting metabolic processes and therefore they need to be introduced and accumulated inside the cell to exert their action within the cytoplasm. This process often requires transport mechanisms, such as porins, which allow the influx of low molecular weight compounds (<700 Da) and exclude compounds above this molecular weight [19]. For PDI cationic drugs with high molecular weight, such as Zn-TBut4PyP ($>1,000$ Da), it is not necessary to penetrate the microbial cell [5, 17]. Specific adhesion of PS to these structures is usually considered enough for light-activated destruction of the target cells. Thus, target cells do not have a chance to develop resistance by stopping uptake, increasing metabolic detoxification or increasing active release (efflux) of the drugs [21]. The presence of multiple positive charges enables the PS agent to interact with the negatively charged outer cell wall areas of bacteria, in particular with the negatively charged lipopolysaccharides of Gram-negative bacteria, increasing the efficiency of the photoinactivation processes [1].

In addition, none of the capabilities of resistant microorganisms listed above protects against oxidative destruction of cell wall by singlet oxygen. Antioxidant enzymes such as peroxide dismutase, catalase and peroxidase give protection against some ROS, but not against the cytotoxic effect of singlet oxygen. Indeed, singlet oxygen has been shown to inactivate these enzymes [14]. At present it is generally accepted that the production of

singlet oxygen plays the key role in photosensitization, because a specific defense system against singlet oxygen itself is not present in bacteria [15]. Therefore, one of the most important features of the PS is to have a high $^1\text{O}_2$ quantum yield. In previous studies Gyulkhandanyan et al. showed that Zn-TBut4PyP had a rather high quantum yield of singlet oxygen (97%) and appeared as a promising PS for PDI of microorganisms [9].

Our experiments showed that the *S. aureus* 62-A and *E. coli* K-12 strains photosensitized with this PS (Zn-TBut4PyP), after 10 successive photodynamic procedures, did not develop resistance against the PDI. Despite the limited number of strains used in this experiment, we did not find a trend towards the development of resistance mechanisms after light activation with Zn-TBut4PyP. Few studies that tested the possible development of microbial resistance to PDI also proved that, microorganisms are not able to develop resistance [3, 20]. This suggests that PDI of microorganisms can be considered as a convenient innovative strategy for the treatment of localized infections.

In conclusion, we will say that further research is needed with a large number of microorganisms, as well as resistant strains in order to confirm these preliminary, but encouraging results.

REFERENCES

1. Alves E., Faustino M.A., Neves M.G., Cunha A., Tome J., Almeida A. An insight on bacterial cellular targets of photodynamic inactivation. *Future Med Chem*, 6, 2, 141-64, 2014.
2. Banfi S., Caruso E., Buccafurni L., Battini V., Zazzaron S., Barbieri P., Orlandi V. Antibacterial activity of tetraaryl-porphyrin photosensitizers: an in-vitro study on Gram-negative and Gram-positive bacteria. *J Photochem Photobiol*, 85, 1, 28-38, 2006.
3. Costa L., Tomé J.P., Neves M.G., Tomé A.C., Cavaleiro J.A., Faustino M.A., Cunha A., Gomes N.C., Almeida A. Study of viral resistance following repeated exposure to aPDT and of viability recovery. *Antiviral Res*, 91, 3, 278-282, 2011.
4. Czaplewski L., Bax R., Clokie M., Dawson M., Fairhead H., Fischetti V.A., Foster S., Gilmore B.F., Hancock R.E., Harper D., Henderson I.R., Hilpert K., Jones B.V., Kadiolu A., Knowles D., Ólafsdóttir S., Payne D., Projan S., Shaunak S., Silverman J., Thomas C.M., Trust T.J., Warn P., Rex J.H. Alternatives to antibiotics – a pipeline portfolio review. *Lancet Infect Dis*, 16, 2, 239-251, 2016.
5. Demidova T.N., Hamblin M.R. Effect of Cell-Photosensitizer Binding and Cell Density on Microbial Photoinactivation. *Antimicrob. Agents Chemother*, 49, 6, 2329-2335, 2005.
6. Dwyer D.J., Belenky P.A., Yang J.H., MacDonald I.C., Martell J.D., Takahashi N., Chan C.T., Lobritz M.A., Braff D., Schwarzw E.G., Ye J.D., Pati M., Vercruyse M., Ralifo P.S., Allison K.R., Khalil A.S., Ting A.Y., Walker G.C., Collins J.J. Antibiotics induce redox-related physiological alterations as part of their lethality. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111, 20, E2100-109, 2014.
7. Eichner A., Gonzales F.P., Felgenträger A., Regensburger J., Holzmann T., Schneider-Brachert W., Bäumler W., Maish T. Dirty hands: photodynamic killing of human pathogens like EHEC, MRSA and Candida within seconds. *Photochem Photobiol Sci*, 12, 1, 135-147, 2013.
8. Ergaieg K., Chevanne M., Cillard J., Seux R. Involvement of both type I and type II mechanisms in Gram-positive and Gram-negative bacteria photosensitization by a mesosubstituted cationic porphyrin. *Sol Energy*, 82, 12, 1107-1117, 2008.
9. Gyulkhandanyan G.V., Ghazaryan R.K., Paronyan M.H., Gyulkhandanyan A.G., Sheyranyan M.A., Dzharagov B.M., Tuchina E.S., Korchenova M.A., Tulin V.V. Photophysical properties and photodynamic efficiency of cationic porphyrins. *Proc of SPIE*, 8942, 894212-1–894212-9, 2014.
10. Hamblin M.R. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. *Curr Opin Microbiol*, 33, 67-73, 2016.
11. Jiang L., Gan C.R., Gao J., Loh X.J. A Perspective on the Trends and Challenges Facing Porphyrin-Based Anti-Microbial Materials. *Small*, 12, 27, 3609-3644, 2016.

12. Jori G., Fabris C., Soncin M., Ferro S., Coppellotti O., Dei D., Fantetti L., Chiti G., Roncucci G. Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: basic principles and perspective applications. *Lasers Surg Med*, 38, 5, 468-481, 2006.
13. Kazaryan R.K., Sahakyan L.A., Tovmasyan A.G., Movsisyan L.D., Hambardzumyan A.G. New antimicrobial agents based on natural and synthetic metalloporphyrins. *New Armenian Medical Journal*, 2, 4, 40-48, 2008.
14. Kim S.Y., Kwon O.J., Park J.W. Inactivation of catalase and superoxide dismutase by singlet oxygen derived from photoactivated dye. *Biochimie*, 83, 5, 437-444, 2001.
15. Maisch T. Resistance in antimicrobial photodynamic inactivation of bacteria. *Photochem Photobiol Sci*, 14, 18, 1518-1526, 2015.
16. Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 545 p., 1982.
17. Mantareva V., Kussovski V., Angelov I., Borisova E., Avramov L., Schnurpfeil G., Wöhrle D. Photodynamic activity of water-soluble phthalocyanine zinc(II) complexes against pathogenic microorganisms. *Bioorg Med Chem*, 15, 14, 4829-4835, 2007.
18. Miller J. Experiments in molecular genetics. Moscow: Mir, 436 p., 1976.
19. Nikaido H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and efflux. *Science*, 264, 5157, 382-388, 1994.
20. Tavares A., Carvalho C.M., Faustino M.A., Neves M.G., Tomé J.P., Tomé A.C., Cavaleiro J.A., Cunha A., Gomes N.C., Alves E., Almeida A. Antimicrobial photodynamic therapy: study of bacterial recovery viability and potential development of resistance after treatment. *Mar Drugs*, 8, 1, 91-105, 2010.
21. Winckler K.D. Special section: focus on anti-microbial photodynamic therapy (PDT). *J Photochem Photobiol B*, 86, 1, 43-44, 2007.

Received on 12.11.2018



Биолог. журн. Армении, 1 (71), 2019

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ, АНТИОКСИДАНТНЫЕ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА 4-ГИДРОКСИ-3-НИТРОБЕНЗИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 4-АЛЛИЛ- И 4-ФЕНИЛ-3-[2-(4-АЛКОКСИФЕНИЛ)ХИНОЛИН-4-ИЛ]-4,5-ДИГИДРО-1H-1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ТИОНОВ

**М.А. ИРАДЯН, Н.С. ИРАДЯН, Л.А. МКРТЧЯН, Р.Е. МУРАДЯН,
Ж.М. БУНИАТЯН, Р.В. ПАРОНИКЯН, Г.М. СТЕПАНИАН**

Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА,
Институт тонкой органической химии им. А.Л.Мнджояна НАН РА
info.iradyan@gmail.com

Исследованы противоопухолевая активность на саркоме 180, антиоксидантные свойства и антибактериальная активность по отношению к грамположительным и грамотрицательным бактериям 4-гидрокси-3-нитробензильных производных 4-аллил- и 4-фенил-3-[2-(4-алкоксифенил)хинолин-4-ил]-4,5-дигидро-1H-1,2,4-триазол-5-тионов. В химиотерапевтических опытах выявлено, что некоторые соединения угнетают рост саркомы 180 на 41-47 %, ингибируют процесс окисления в пределах 30-35 % и проявляют слабую антибактериальную активность в отношении грамотрицательных бактерий (*Shigella flexneri* 6858, *Escherichia coli* 0-55).

4-Гидрокси-3-нитробензильные производные – саркома 180 – антиоксидантные свойства – антибактериальная активность

Զեռագրուովել է 4-ալիլ- և 4-ֆենիլ-3-[2-(4-ալկօքսիֆենիլ)խինոլին-4-իլ]-4,5-դիհիդրո-1H-1,2,4-տրիազոլ-5-թիոնների 4-հիդրօքսի-3-նիտրոբենզիլ ածանցյալների հակաօւռուցքային ակտիվությունը in vivo պայմաններում, հակաօքսիդանական հատկությունները ինչպես նաև հակաբակտերիալ ակտիվությունը գրամդրական և գրամբացասական բակտերիաների հանդեպ: Զիմիոթերապիական փորձերում բացահայտվել է, որ որոշ միացություններ ճնշում են սարկոմա 180-ի աճը 41-47 % սահմաններում, խթանում են օքսիդացման գործընթացը 30-35%-ով և ցուցաբերում են թույլ հակաբակտերիալ ակտիվություն գրամբացասական բակտերիաների նկատմամբ (*Shigella flexneri* 6858, *Escherichia coli* 0-55):

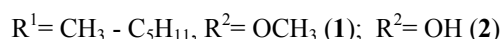
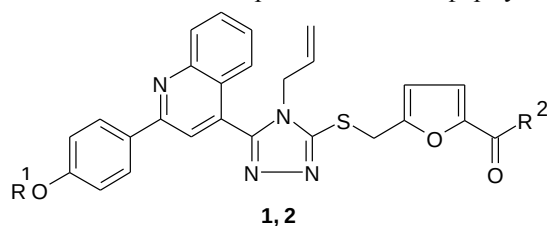
4-հիդրօքսի-3-նիտրոբենզիլ ածանցյալներ – սարկոմա 180 – հակաբակտերիալ ակտիվություն – հակաօքսիդիչ հատկություն

The antitumor activity of sarcoma 180, antioxidant properties and antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria 4-hydroxy-3-nitrobenzyl derivatives of 4-allyl- and 4-phenyl-3-[2-(4-alkoxyphenyl)quinoline-4-yl]-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazole-5-thiones has been studied. In chemotherapeutic experiments, it was found that some compounds inhibit the growth of sarcoma 180 by 41–47%, enhance the oxidation process within 30–35% and showed an even antibacterial activity to gram-negative bacteria (*Shigella flexneri* 6858, *Escherichia coli* 0-55).

4-Hydroxy-3-nitrobenzyl derivatives – sarcoma 180 – antioxidant properties – antibacterial activity

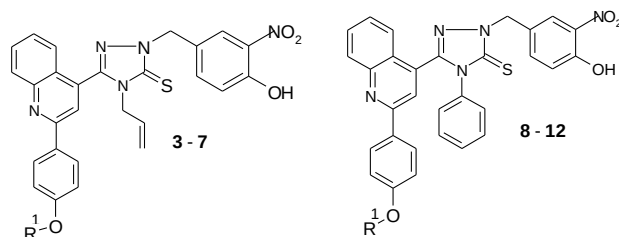
Ранее были изучены противоопухолевые свойства фулфурильных производных 4-аллил-5-[2-(4-алкоксифенил)хинолин-4-ил]-4*H*-1,2,4-триазол-3-тиолов (соединения **1,2**) и установлено, что они обладают определенным уровнем сродства к EGFR рецептору тирозинкиназы, подавляя аутофосфорилирование рецептора в раковых клетках через нижерасположенные протеинкиназы. Установлено, что пентилоксипроизводное в ряду фуранкарбонновых кислот (соединение **2**, R=C₅H₁₁) – наиболее сильный ингибитор EGFR [7]. Обнаружено также, что это соединение вызывает значительные структурные изменения в цитоплазматическом домене EGFR, нарушающие не только его каталитическую активность, но и взаимодействие с белком Hsp90α. Изучение коиммунопреципитации подтверждает, что с удлинением гидрофобной цепочки (CH₂)_n содержание комплекса EGFR-Hsp90α в клетках уменьшается, что в конечном итоге приводит к деградации рецептора EGFR в раковых клетках [7].

Исследовано цитотоксическое действие соединений **1** и **2** на клеточных линиях рака молочной железы MDA MB468 и немелкоклеточного рака легкого (NSCLC) A549 и противоопухолевая активность на мышинных моделях саркомы C-180 in vivo [3,7]. Изучено также влияние **1,2** на уровень метилирования опухолевой ДНК на модели C-180 in vitro и выявлена некоторая корреляция между противоопухолевой активностью и деметилированием опухолевой ткани ДНК [3]. Проведен докинг анализ соединений **1,2** и показано, что результаты виртуального анализа совпадают с экспериментальными данными взаимодействия соединений с активными центрами EGFR [3]. Ниже приведена общая формула соединений **1,2**.



Интересные биологические результаты, полученные для соединений **1,2** позволили расширить круг исследований в этой области, и в представленной работе приведены биологические свойства 4-аллил-1-(4-гидрокси-3-нитробензил)-3-[2-(4-алкоксифенил)-хинолин-4-ил]-4,5-дигидро-4*H*-1,2,4-триазол-5-тионов (соединения **3-7**) и соответствующих 4-фенильных производных (соединения **8-12**). Из приведенных ниже формул видно, что в соединениях **3-12** вместо фулфурильного введен 4-гидрокси-3-нитробензильный радикал. Их синтез, докинг анализ и некоторые биологические свойства описаны в работах [4,5]. Установлено, что аллильные производные **4** (R¹=C₂H₅) и **7** (R¹=C₅H₁₁) в экспериментах показали умеренную токсичность к опухолевым клеткам молочной железы (штамм МДА МВ 468) и немелкоклеточного рака легкого (штамм A549) [5].

Докинг анализ соединений **3-12** с применением компьютерной программы AutoDock Vina указал на сильное взаимодействие молекул с активными центрами онкогенного рецептора EGFR [4,5], что предполагает возможность проявления противоопухолевых свойств у этих соединений.



$R^1 = \text{CH}_3$ (**3,8**), C_2H_5 (**4,9**), C_3H_7 (**5,10**), C_4H_9 (**6,11**), C_5H_{11} (**7,12**).

Исследованы также антиоксидантные свойства 4-фенильных производных (соединения **8-12**) и установлено, что наиболее выраженное антиоксидантное действие в концентрации 10^{-3} М проявляют соединения **11,12**, соответственно 36 и 19 % ($p < 0.05$) [4].

Продолжая изучение биологических свойств, в работе приведены данные о противоопухолевой активности на мышцах с имплантированной С-180, антиоксидантных свойствах аллильных производных **3-7** и антибактериальной активности соединений **3-12**.

Материал и методика. Противоопухолевые свойства соединений **3-12** изучали на мышцах с перевиваемой саркомой С-180 по методике [8]. Ввиду плохой растворимости соединения животным вводили внутривенно в виде суспензии, приготовленной ex tempore в 0,5 %-ном растворе карбоксиметилцеллюлозы, ежедневно в течение 6 дней в дозах 1/10-1/15 от ЛД₁₀₀. Контрольная группа животных получала растворитель в том же объеме. В конце опыта всех животных умертвляли передозировкой эфирного наркоза, определяли массу животного и опухоли. Критерием терапевтического эффекта служил процент торможения роста опухоли (Т %) по сравнению с контролем.

Антиоксидантная активность соединений определена по величине ингибирования скорости аскорбатзависимого перекисного окисления эндогенных липидов в гомогенатах мозговой ткани крыс in vitro по методикам [1,2]. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) оценивалось по выходу одного из конечных продуктов – малонового диальдегида (МДА), которое определялось отношением показателя плотности исследуемых веществ к контролю, выраженному в процентах. В качестве контроля использована проба с индуцированным ПОЛ.

Антибактериальную активность соединений **3-12** изучали методом "диффузии в агаре" [6] при бактериальной нагрузке 20 млн микробных тел на 1 мл среды. В экспериментах использовали эталонные штаммы микроорганизмов (Государственный контрольный институт им Л.А.Тарасевича, Москва), отличающиеся по чувствительности к антибактериальным препаратам два штамма грамположительных стафилококков (*Staphylococcus aureus* 209p и *S. aureus* 1) и грамотрицательные палочки (*Shigella flexneri* 6858, *Escherichia coli* 0-55). Растворы соединений и контрольного препарата готовили в ДМСО в разведении 1:20. В чашках Петри с посевами вышеуказанных штаммов микроорганизмов наносили испытуемые вещества по 0,1 мл. Учет результатов проводили по диаметру (d, мм) зон отсутствия роста микробов на месте нанесения вещества после суточного выращивания тест-культур в термостате при 37 °С. В качестве положительного контроля использован лекарственный препарат фуразолидон.

Результаты и обсуждение. Исследована противоопухолевая активность соединений **3-12** на саркоме С-180. При изучении острой токсичности установлено, что соединения **3-12** сравнительно малотоксичны. ЛД₁₀₀ колеблется в пределах 2000-2200 мг/кг. В химиотерапевтических опытах выявлено, что большинство испытуемых веществ в дозе 150-200 мг/кг проявляет достоверную противоопухолевую активность на саркоме С-180, угнетая рост опухоли в пределах 38-45 % и только этоксипроизводные **4,9** оказались неактивными (табл.1).

Таблица 1. Токсичность и противоопухолевая активность соединений 3-12

№ соединения	Острая токсичность		Противоопухолевая активность на саркоме 180		Р
	ЛД ₁₀₀	МПД	Доза, мг/кг	Т %	
3	2050	900	150	41,0	= 0,05
4	2050	900	150	29,0	> 0,05
5	2100	1000	150	45,0	= 0,05
6	2100	1050	150	45,7	= 0,05
7	2200	1050	150	47,0	= 0,05
8	2000	900	150	38,4	= 0,05
9	2050	900	200	20,3	> 0,05
10	2100	950	200	37,5	= 0,05
11	2200	1000	200	45,3	< 0,05
12	2200	1000	200	44,4	< 0,05

Изучение антиоксидантной активности в ряду 4-аллильных производных 3-7 показало, что наиболее выраженное ингибирование процесса окисления в концентрации 10^{-3} М на 35% наблюдается у пропокси- и бутоксипроизводных (соединения 5,6) ($P < 0,05$), для остальных производных (3,4,7) - в пределах 16-18 %. Исследование антибактериальной активности соединений 3-12 показало, что они неактивны на штамме *Staphylococcus aureus* и проявляют слабую активность в отношении *Sh.flexneri* 6858 и *E.coli* 0-55, подавляя рост микроорганизмов в зоне диаметром 10-14 мм, существенно уступая контрольному препарату фуразолидону ($d=24-25$ мм. Нужно отметить, что фенильные производные 8-12 оказались на использованных штаммах полностью неактивными.

На основании полученных результатов экспериментов можно заключить, что длина алкоксильного заместителя в бензольном кольце в значительной степени предопределяет ингибирующий эффект соединения. Среди исследуемых структур относительно большей противоопухолевой и антиоксидантной активностью обладают бутокси- и пентилоксипроизводные. Выявленная закономерность в плане структурно-функциональной взаимосвязи может представлять интерес в дальнейших исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление в биологических мембранах. М., Наука, 1972, с. 38.
2. Владимиров Ю.А., Азизова А.И., Даев А.И., Козлов А.В. Свободные радикалы в живых системах. Институт науки и техники ВИНТИ, 29, с. 126, 1991.
3. Ирадян М.А., Ирадян Н.С., Амбарцумян А.А., Нерсисян Л.Э., Агаронян А.С., Даниелян И.С., Мурадян Р.Е., Пароникян Р.В., Степанян Г.М. Докинг анализ и некоторые биологические свойства фурфурильных производных 4-аллил-5-[2-алкоксифенил]ил]-4Н-1,2,4-триазол-3-тиолов. Биолог. журн. Армении, 70, 2, с. 100-107, 2018.
4. Ирадян М.А., Ирадян Н.С., Амбарцумян А.А., Паносян Г.А., Оганесян Г.Ш., Бунятян Ж.М. Избирательное N-, S-алкилирование 3-[2-(4-алкоксифенил)хинолин-4-ил]-4-фенил-4,5-дигидро-1Н-1,2,4-триазол-5-тионов, замещенными бензилхлоридами. Синтез, докинг анализ и антиоксидантная активность. Хим. ж. Армении, 71, 1-2, с. 181-195, 2018.

5. *Ирадян М.А., Ирадян Н.С., Амбарцумян А.А., Паносян Г.А., Тамазян Р.А., Айвазян А.Г., Оганесян Г.Ш., Алвес де Суса Р., Саканян В.А.* Избирательное N-, S-алкилирование 4-аллил-3-[2-(4-алкоксифенил)хинолин-4-ил]-4,5-дигидро-1H-1,2,4-триазол-5-тионов замещенными бензилхлоридами. Синтез, докинг анализ и противоопухолевая активность. Хим. ж. Армении, 71, 3, с. 389, 2018.
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. Миронова А.Н. М., Медицина, с. 509, 2012.
7. *Саканян В.А., Алвес де Суса Р., Боллот Р., Бовес К., Амбарцумян А.А., Гяльхандянян А., Степанян Г.М., Ирадян М.А., Ирадян Н.С.* Направленная терапия рака: фурурильные производные 4-аллил-5-[2-(4-алкоксифенил)хинолин-4-ил]-4H-1,2,4-триазол-3-тиолов с тройным действием на рецептор эпидермального фактора роста (EGFR). Научная конференция Армянского химического общества "Актуальные задачи фундаментальной и прикладной химии", Ереван, с. 41, 2017.
8. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. Под ред. Софиной С.П., Сыркина А.П., Голдина А., Кляйна А.М., М., Медицина, 1980.

Поступила 19.10.2018



Биол. журн. Армении, 1 (71), 2019

ЗАДАЧИ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ИНВЕНТАРИЗАЦИИ ЛЕСОВ АРМЕНИИ

А.И. БОНДАРЕВ¹, О.Я. САЯДЯН²

¹ Институт леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН,
abondarev@ksc.krasn.ru

² Программа Развития ООН в Армении,
hovik.sayadyan@undp.org

Обобщен опыт инвентаризации лесов в Армении и рассмотрены перспективы создания комплексной системы лесоучетных работ, отвечающей лучшим мировым практикам. Предлагаются следующие элементы системы: а) национальная система инвентаризации лесов, б) национальная система лесоустройства, в) национальная система государственного учета и кадастра лесов, г) национальная система мониторинга лесов, д) автоматизированная национальная система управления лесами – СУБД “Лесные ресурсы Армении”.

Статья имеет важное методологическое значение для развития национальной системы лесоучетных работ в Армении.

Национальная система инвентаризации лесов – непрерывное лесоустройство – лесные страты – учет и кадастр лесного фонда – мониторинг лесов

Ամփոփվում է անտառային գույքագրման Հայաստանի փորձը և դիտարկվում են միջազգային լավագույն փորձը բավարարող անտառային հաշվառման համալիր համակարգերի ստեղծման հեռանկարները: Առաջարկվում են համակարգի հետևյալ տարրերը՝ ա) ազգային անտառային գույքագրման համակարգ, բ) անտառաշինության ազգային համակարգ, գ) անտառային ֆոնդի հաշվառման և կադաստրի ազգային համակարգ, դ) անտառային մշտադիտարկման ազգային համակարգ, ե) ազգային անտառային ռեսուրսների կառավարման ավտոմատ համակարգ՝ «Հայաստանի անտառային ռեսուրսներ» տեղեկատվական բազա:

Հոդվածն ունի կարևոր մեթոդաբանական նշանակություն Հայաստանի անտառների հաշվառման ազգային համակարգի զարգացման համար:

Անտառների ազգային գույքագրման համակարգ – շարունակական անտառաշինություն – անտառների ստրատիֆիկացիա – անտառային ֆոնդի հաշվառում և կադաստր – անտառային մոնիթորինգ

The article summarizes the experience of forest inventory in Armenia and looks at the prospects to build an integrated system of forest register that meets the best world practices. Five key integrated elements will combine the system are: (a) the national system of statistical forest inventory, (b) the system to stand forest inventory, (c) the national system of state registration and the forest cadastre, (d) the national forest monitoring system, (e) the automated national forest management system – the DBMS “Forest Resources of Armenia”.

The article has an important methodological implication for the development of the national forest inventory system in Armenia.

National system of forest inventory – continuous forest inventory – forest strata allocation - accounting and cadaster of forest estate – forest monitoring

Леса Армении, несмотря на их относительно небольшие площади (11,2 % территории страны), играют исключительно важную роль в сохранении и поддержании водного баланса окружающих территорий. Неоценимы их противоэрозионная, почвозащитная и климаторегулирующая роль, а также углерод-депонирующее значение и вклад в сохранение и поддержание естественного биоразнообразия. Согласно второму национальному докладу Армении [4] по изменению климата, 150-200 м полосы лесов на контакте с альпийскими и особенно горно-степными экосистемами испытывают сильное влияние климатических изменений. В частности, в центральных и южных регионах Армении участились такие явления, как массовое размножение лесных вредителей, болезни, а также лесные пожары. В стране ведутся работы по разработке мер адаптации лесных экосистем к воздействию изменения климата, но, к сожалению, они пока фрагментарны и в основном проводятся в рамках международных проектов. Леса являются восполняемым источником разнообразных лесных продуктов, включая древесину, которая до сих пор играет важную роль для сельского населения как источник топливной и деловой древесины. Все вышесказанное предопределяет исключительную важность получения актуальной и достоверной информации о лесах для формирования национальной лесной политики, планов использования лесов на государственном и региональном уровне.

Материал и методика. В основу разработки перспектив развития лесохозяйственных работ в Армении положен анализ правовых и нормативных аспектов функционирования систем учета лесов в Армении, странах бывшего Советского Союза и за пределами постсоветского пространства. На основании проведенного анализа и с учетом многолетнего опыта авторов статьи в области учета лесов и составления планов управления разработана детальная дорожная карта по созданию в Армении современной системы учета лесов.

Результаты и обсуждение. А) Обзор существующей практики учета лесов в Республике Армения.

По данным государственного учета лесов 1993 г. площадь лесного фонда Республики Армения составляла 460 тыс. га [7], при этом на долю покрытых лесом земель приходилось 334,1 тыс. га (рис.1). Согласно оценке, проведенной в рамках международного проекта по интегрированному управлению биоразнообразием в Армении, финансируемого Программой международного сотрудничества Германии (GIZ), площадь лесов в 2011 г. составила 332 тыс. га. Эта же площадь отражена и в национальном докладе ФАО в 2015 по оценке лесов [5, 6]. В соответствии с Национальной лесной программой Республики Армения [2] оптимальная площадь лесов должна быть увеличена на 266.5 тыс. га, в результате чего доля лесов в стране возрастет до 20.1%.

В Республике Армения существует юридически закреплённая система лесохозяйственных работ, включающая следующие элементы: а) лесохозяйственное, б) государственный учет лесов и лесных земель, в) государственный лесной кадастр и г) государственный лесной мониторинг. Как отмечалось ранее [1], полноценная система лесохозяйственного в соответствии с требованиями лесного кодекса в стране отсутствует. Основной проблемой при этом является отсутствие местных квалифицированных специалистов, способных проводить полноценные лесохозяйственные работы, включая установление и отграничение границ лесных массивов, таксацию лесов и назначение хозяйственных мероприятий.

Последний учет лесного фонда был проведен в 1993 году, после чего данные в масштабах республики не обновлялись.

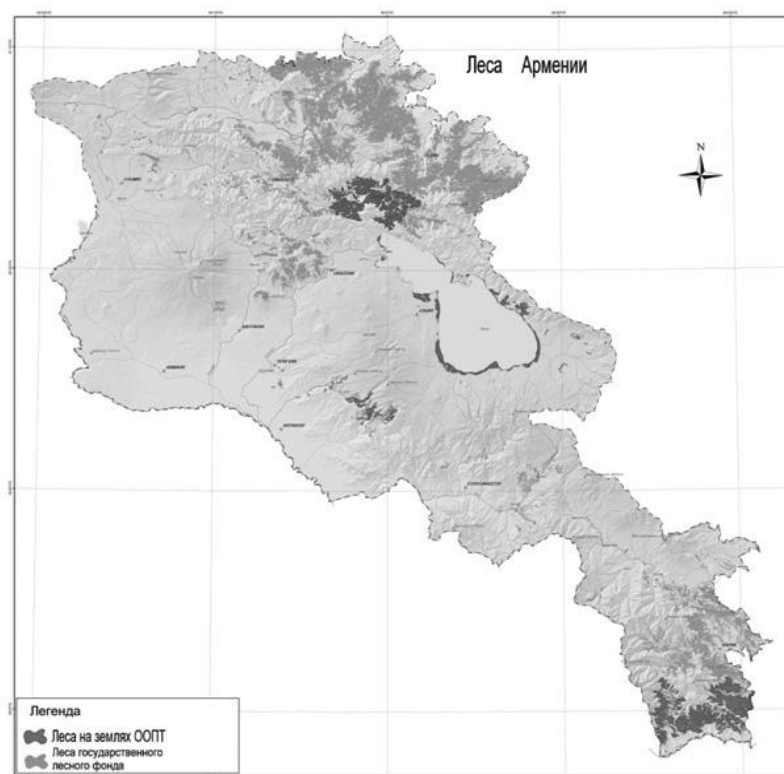


Рис 1. Карта лесов Армении

Еще одной важной проблемой является отграничение границ лесных массивов, которые имеют различные виды наложений с землями общин и даже с государственной границей страны (рис.2). Процесс уточнения границ имеет место в процессе составления планов управления. При этом границы согласовываются представителями общин и лесхозов с составлением соответствующих актов, однако этот процесс далек от завершения.

В соответствии с Земельным кодексом Республики Армения [8] все субъекты земельных отношений должны быть поставлены на кадастровый учет и зарегистрированы в Едином государственном кадастре недвижимого имущества. Однако точность определения границ в процессе лесоустройства не позволяет провести регистрацию лесов республики, из-за чего их границы не являются юридически оформленными.

В законодательном поле и на практике отсутствует такой важный элемент как система национальной инвентаризации лесов, основанная на сети постоянных наблюдательных пунктов и позволяющая на периодической основе отслеживать изменения в лесном фонде на государственном уровне. Вместе с тем, попытки ее создания предпринимались. В этом отношении стоит упомянуть проект, реализованный в 1998-1999 гг. по оценке лесных ресурсов Армении (Armenia Forest Resources Assessment) на основе выборочной статистической оценки на площади 215 тыс. га. Проект реализовывался при поддержке шведского агентства по международному сотрудничеству (Swedish International Development cooperation Agency (SIDA)).

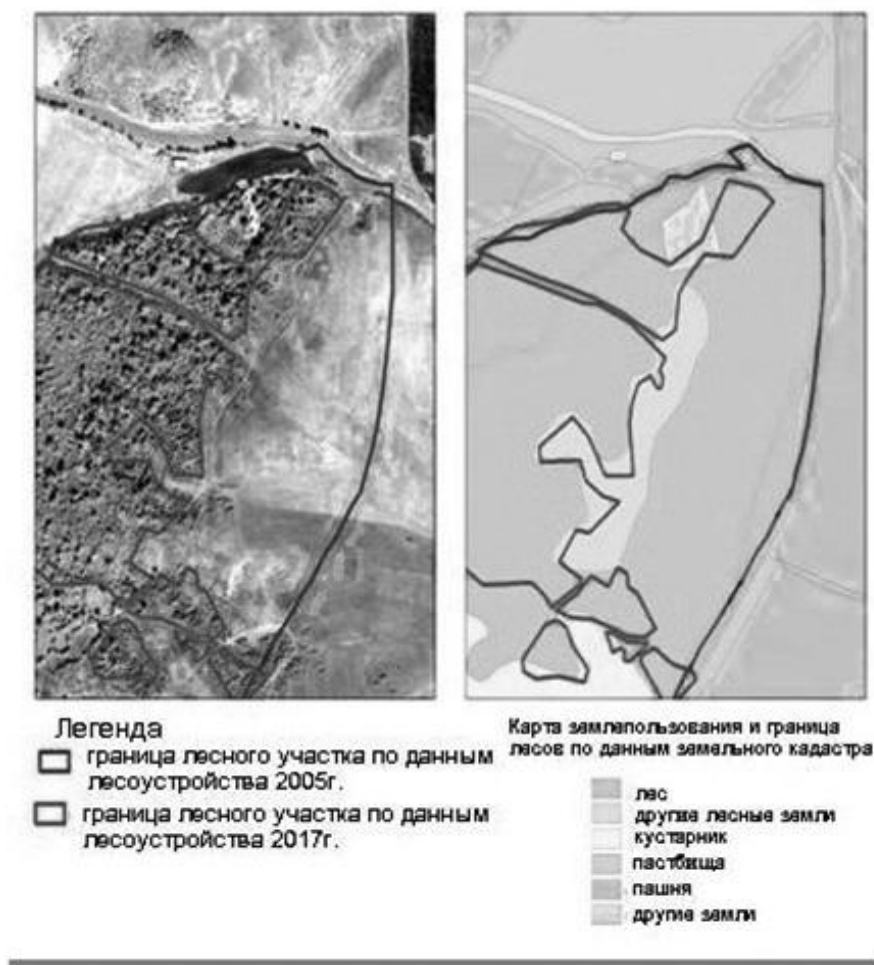


Рис 2. Образец наложений лесоустойств от 2005 и от 2017 гг. в Ноемберянском лесхозе “Армлес” ГКАО (с левой стороны) и их наложение с действующими кадастровыми картами (с правой стороны):

Оценка проводилась методом двухступенчатой стратифицированной выборки. Все леса были разделены на 9 страт по возрастным группам, в которых закладывалось определенное количество круговых площадок. Всего было заложено 249 площадок. Представленность одной площадки в зависимости от конкретной страты составила от 414 до 1552 га. Важным результатом проекта явилась разработка подробной методики проведения инвентаризации применительно к условиям республики, разработка базы данных для накопления результатов измерений, а также тренинг местных специалистов по закладке учетных площадок.

В результате была получена сводная характеристика обследованной территории по породному составу лесов, запасу древесины, возрастному распределению, оценка прироста и ряд других показателей.

В Республике Армения создана комплексная система лесного мониторинга, который проводится ГНКО “Центр лесного государственного мониторинга”. Функционал Центра и позволяет отслеживать весь спектр изменений в лесах рес-

публики. При этом используются как методы анализа данных ДЗЗ (дистанционно-го зондирования Земли), так и натурные обследования участков, где такие изменения выявлены. Вместе с тем, данные, полученные в результате проведения мониторинга, пока никак не используются при ведении государственного учета лесов и лесного кадастра, а также при актуализации материалов лесоустройства.

Б) Рекомендации по созданию национальной стратегии инвентаризации лесов в Республике Армения

Рекомендации по созданию Национальной системы инвентаризации лесов Армении составлены с учетом максимальной преемственности имеющихся в стране элементов лесочетных работ, сложившейся практике управления лесами, но вместе с тем отвечают современным требованиям и лучшим мировым практикам инвентаризации лесов. В основу предлагаемой системы заложен принцип минимизации затрат и исключения дублирования работ при реализации различных элементов системы.

К основным элементам предлагаемой системы относятся: а) национальная система инвентаризации лесов, б) национальная система лесоустройства, в) национальная система государственного учета и кадастра лесов, г) национальная система мониторинга лесов, д) автоматизированная национальная система управления лесами – СУБД “Лесные ресурсы Армении”.

Предусловием создания системы является регистрация всех лесов страны в Едином государственном кадастре недвижимого имущества в соответствии с действующим земельным законодательством.

Национальная система инвентаризации лесов.

Задачей создания национальной системы инвентаризации лесов является получение на периодической основе статистически достоверной качественной и количественной информации о лесах страны, включая инвентаризацию углеродных пулов и парниковых газов в лесных экосистемах в целях формирования лесной политики и стратегии развития лесного комплекса в различных его аспектах.

С учетом мирового опыта практики использования лесов в стране и минимизации затрат сплошную инвентаризацию целесообразно проводить не реже одного раза в 10 лет. При реализации концепции создания системы национальной инвентаризации лесов возможны два подхода. Первый заключается в разбивке территории страны сеткой квадратов определенной размерности, например, 2х2 км, при попадании узлов которой на территорию лесных массивов в них закладывается одна или несколько (кластерный подход) круговых площадок постоянного радиуса, на которых в свою очередь происходит замер ряда параметров, позволяющих составить характеристику лесов. При таком подходе обеспечивается равномерность покрытия пробными площадями территории лесных массивов.

Метод достаточно хорош в случае значительных по площади гомогенных лесных массивов, покрывающих существенную территорию страны. В случае Армении, когда леса занимают лишь 11% территории страны, высокой фрагментарности лесных контуров, сложного возрастного и породного состава, вдобавок осложненных горным рельефом, формирующим специфические закономерности в распределении древесной растительности, применение этого метода может привести к тому, что значительные по площади, но фрагментированные участки лесов не будут иметь соответствующей своей площади представленности в произведенной выборке. Избежать этого возможно сгущением сетки квадратов и пропорциональным увеличением количества пробных площадей, что чревато значительным увеличением объема работ и соответственно их стоимости. Вдобавок, горный рельеф существенно увеличивает трудоемкость работ. Наконец, подобный

подход не позволит оценивать площадные изменения, происходящие в лесах страны.

С учетом вышесказанного оптимальным представляется подход, когда учетные площадки закладываются с соблюдением принципа равномерности, но уже в пределах предварительно стратифицированных по определенным признакам (стратифицированная выборка) лесных массивов. В отличие от метода выделения страт по возрастным группам при инвентаризации 1998-1999 гг., предлагается использовать классификацию лесов по породам с учетом их естественной приуроченности к тем или иным условиям произрастания. В то же время классификация должна максимально корреспондировать подразделению лесов при ведении государственного учета лесов. Например, первым классификационным уровнем могут быть группы пород: хвойные, твердолиственные, мягколиственные и кустарники, которые, в свою очередь, будут подразделяться на более мелкие страты. В хвойных это могут быть сосновые и можжевеловые леса.

Стратификации должен предшествовать тщательный анализ фондовых материалов для определения оптимального количества страт, описывающих разнообразие лесов страны. В качестве принципов выделения страт можно отметить следующие: относительная гомогенность; приуроченность страты к определенному типу условий местопроизрастания (биотопический принцип) и надежную идентификацию страт на кососнимках среднего разрешения (2.5-10 м).

Полученные результаты должны отвечать международным системам учета лесов, в частности, рекомендациям ФАО по национальной оценке лесов [9]. Вместе с тем, исключительно важна комплементарность получаемых в результате инвентаризации лесов показателей с таковыми, получаемыми в результате лесоустройства.

Для обработки данных инвентаризации необходима разработка структуры базы данных хранения собранных показателей и программного обеспечения для их обработки.

Повторная инвентаризация включает дешифрирование космоснимков с максимально возможным сохранением границ ранее выделенных страт, анализ площадных изменений, повторные замеры на учетных площадках, обновление базы данных измеренных показателей, их обработку, получение результатов и выявление динамики показателей за прошедший период.

В качестве исполнительного агентства, осуществляющего национальную инвентаризацию лесов, в настоящее время можно рассматривать существующий Центр лесного государственного мониторинга с соответствующим укреплением его кадрового и технического потенциала. При этом следует помнить, что национальная инвентаризация лесов является функцией государства и передавать ее на конкурсной основе коммерческим организациям нецелесообразно, во всяком случае, на начальном этапе.

В плане нормативного регулирования потребуются разработка и утверждение Методики национальной инвентаризации лесов Армении.

Национальная система лесоустройства.

В отличие от национальной инвентаризации лесов, которая в стране в настоящее время не существует, лесоустроительные работы в стране проводятся в целях обновления планов управления лесхозами и тематических лесных карт.

Поскольку государственная собственность на леса в стране сохранится, очевидно, еще достаточно долгое время, то основным объектом планирования использования лесов останется лесхоз, а в случае особо охраняемых природных территорий (ООПТ) – заповедник или национальный парк. Первоочередной задачей представляется установление/закрепление границ лесов в соответствии с дейст-

ющим законодательством страны путем регистрации лесхозов и ООПТ в Едином государственном кадастре недвижимого имущества.

Условием для регистрации является проведение работ по межеванию границ с требуемой точностью, которая в стране составляет 40 см для фиксации поворотных пунктов и границ между субъектами кадастрового учета. К сожалению, современные космоснимки даже высокого разрешения не позволяют достичь подобной точности, поэтому рекомендуется проведение цифровой аэрофотосъемки (АФС) лесов, позволяющей обеспечить требуемую точность. Дополнительным преимуществом таких материалов является возможность построения цифровой модели рельефа (ЦМР) с шагом до 1 м, которая будет использована для последующей идентификации/корректировки выделов путем дешифрирования материалов АФС. Кроме того, стоимость материалов аэрофотосъемки на современном этапе существенно ниже стоимости лидарной (лазерной) съемки.

Анализ практики проведения лесоустроительных работ в республике показал, что основным методом является анализ данных лесоустройства советского периода и внесение изменений в таксационные характеристики, при этом контуры выделов далеко не всегда изменяются.

Вместе с тем есть и положительные примеры. В частности, при обновлении планов управления Иджеванского и Ноемберянского лесхозов на основе использования космических снимков высокого разрешения и маршрутных полевых изысканий были выявлены дополнительные лесные контуры и проведено более точное выделение границ таксационных выделов, в результате чего, например в Ноемберянском лесхозе, количество выделов по сравнению с материалами лесоустройства 2005 г. увеличилось в 1,5 раза (рис.3).

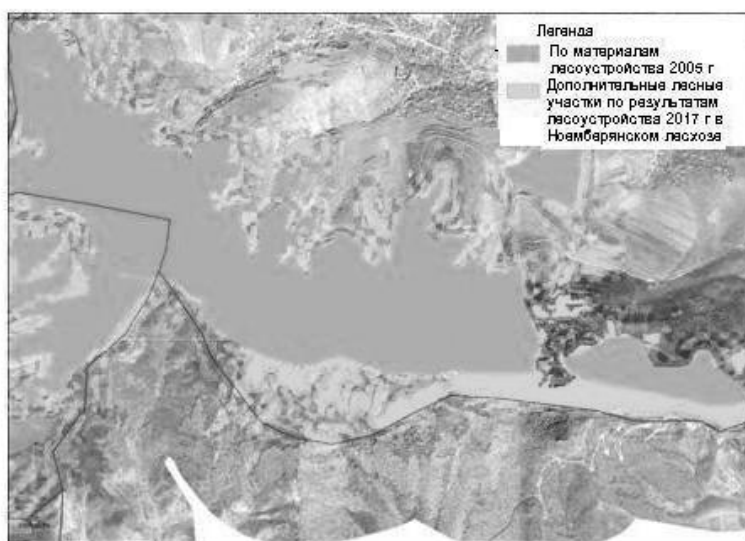


Рис 3. Увеличение площади и количества лесных участков по данным лесоустройства 2017г. по сравнению с материалами 2005 г.

Для расширения этой практики требуется проведение качественного базового дешифрирования лесов страны. В этих целях целесообразно использовать ЦМР и АФС высокого разрешения, полученные при постановке лесхозов и ООПТ на кадастровый учет. При дешифрировании важно соблюдение двух условий.

Первым условием является перенос и уточнение границ страт, выделенных на среднемасштабных КФС при проведении инвентаризации лесов. Идеальным вариантом является совпадение этих границ, что позволит в дальнейшем при проведении таксации лесов в процессе лесоустройства получать уточненную характеристику выделенных страт.

Вторым важным условием является дешифрирование с учетом почвенно-типологических условий и рельефа местности, что позволит в качестве лесотаксационных выделов сформировать хозяйственные участки, характеризующиеся единым генезисом насаждения и комплексом необходимых лесохозяйственных мероприятий. В плане управления следует стремиться к тому, чтобы в лесохозяйственные мероприятия по возможности вовлекался весь выдел, а не его часть. Соответственно средний размер выдела не должен быть большим (3-5 га). Это позволит избежать изменения контуров выделов в среднесрочной перспективе. Позитивным фактором для этого является законодательное запрещение в стране сплошных рубок, в значительной степени фрагментирующих лесные массивы. Конечно, это идеальный вариант, но к нему надо стремиться.

Актуальной задачей является достаточно быстрое обновление таксационных характеристик отдельных лесхозов и ООПТ. Традиционно эта задача решается постепенным проведением лесоустройства в отдельных объектах таким образом, чтобы за 10-летний период был закончен цикл лесоустройства лесов страны. Для Армении, где имеется 19 лесхозов и 5 государственных ООПТ, это означает, что ежегодно должно проводиться лесоустройство 2-3 объектов. При этом основной объем составляют полевые, достаточно трудоемкие работы, проведение которых вдобавок сопряжено с достаточно значительными финансовыми затратами и ограничено по времени бесснежным периодом.

Наличие качественных материалов АФС с использованием ЦМР позволит в значительной степени ускорить проведение этих работ и сократить трудоемкость за счет компьютерной обработки изображений, типизации выделов, построения матрицы диагностических признаков в зависимости от почвенно-типологических условий и приуроченности древостоев к определенным элементам рельефа.

Поэтому сплошную наземную таксацию лесов можно будет заменить выборочной таксацией типичных выделов, подкрепленную результатами обработки фотопроб, для закладки которых целесообразно использование беспилотных летательных аппаратов (БПЛА). В пределах 2-3 лет с использованием инструментальных методов обработки материалов ДЗЗ и выборочной верификации таксационных характеристик на фотопробах можно обновить всю информацию о лесах страны на по-выдельном уровне.

Проведение базового лесоустройства по описанной выше схеме потребует внесения корректив в уже разработанные планы управления для отдельных лесхозов и ООПТ, а также обновления тематических лесных карт.

В дальнейшем можно рекомендовать технологию непрерывного лесоустройства.

Непрерывное лесоустройство заключается в ежегодном обследовании участков, вовлеченных в хозяйственный оборот, в которых произошли те или иные природные или антропогенные нарушения. Фактически эта работа не является новой для республики, ею достаточно успешно занимается Центр лесного государственного мониторинга. Однако принципиальным моментом является доведение результатов обследования до логического завершения, а именно, отражение их в картографической и атрибутивной базах данных. При этом функцию предварительного накопления изменений по результатам хозяйственной деятель-

ности следует делегировать лесхозам и ООПТ, а за Центром оставить функцию верификации результатов и внесения изменений в упомянутые базы данных. Здесь можно использовать опыт Украины, где подобная система внедрена и раз в 10 лет производится обновление лесных карт и планов управления.

Для ведения работ по непрерывному лесоустройству предполагается использование Информационной системы управления лесами (FMIS), которая в настоящее время тестируется в стране. Вне зависимости от результатов тестирования необходим анализ ее функционала и возможностей в сравнении с уже давно функционирующими аналогичными системами в России или/и Беларуси, имеющих аналогичную методологию лесоустроительных работ, и внесение изменений в случае необходимости, поскольку доведение системы до рабочего состояния обычно занимает значительно большее время, чем ее разработка. Это позволит существенно сэкономить время для введения в действие создаваемой системы.

В большинстве стран бывшего СССР лесоустроительные работы государственных лесов проводятся государственными некоммерческими предприятиями на конкурсной основе или в рамках государственного задания (заказа). Такая практика сохранилась даже в Литве [9]. Коммерческие компании выполняют работы по лесоустройству чаще для частных лесовладельцев (страны Балтии) или арендаторов (Россия).

Для Армении можно рекомендовать аналогичный вариант – лесоустройство государственных предприятий проводится государственной некоммерческой организацией. В этом случае требуется создание независимой от управления лесами структуры по проведению лесоустройства. Наиболее подходящими для этой цели организациями, обладающими необходимой технической базой и современными навыками обработки материалов ДЗЗ, создания и поддержания пространственных и атрибутивных баз данных являются Центр лесного государственного мониторинга и Институт геодезии и землеустройства (ИГИЗ) при Государственном Комитете Кадастра. При одной из этих структур можно создать лесоустроительную группу, которая будет заниматься лесоустроительными работами, а также ведением лесного реестра и учета лесов. В плане нормативного регулирования проведения лесоустройства, возможно, потребуется дополнительно к существующему законодательству разработка и утверждение методики лесоустройства на основе обработки материалов ДЗЗ и непрерывного лесоустройства.

Национальная система государственного учета и кадастра лесов

В предлагаемой схеме организации лесоучетных работ в Армении государственный кадастр и учет лесов по существу являются функциями описанных выше систем национальной инвентаризации лесов и лесоустройства. Изначально данные о кадастре лесов формируются в процессе регистрации лесхозов и ООПТ в Едином государственном кадастре недвижимого имущества, а данные по учету лесного фонда в процессе проведения базового лесоустройства и создания национальной системы инвентаризации лесов.

Принципиальным моментом является формирование двух различных, хотя и комплементарных друг другу уровней кадастра и учета лесов. Один формируется на национальном уровне по результатам национальной инвентаризации лесов и обновляется раз в 10 лет, другой формируется на уровне отдельного лесхоза или ООПТ и обновляется ежегодно в процессе проведения непрерывного лесоустройства.

Для организации работ по лесному кадастру и учету лесов требуется нормативный акт, определяющий порядок ведения этих работ на обоих уровнях с приложением форм, которые должны заполняться в зависимости от уровня их ведения. Для национального уровня формы должны содержать перечень показателей, соответствующих международным стандартам учета лесов. Для уровня лесхоза это могут быть традиционные формы учета лесного фонда, например, распределение лесов по категориям земель, распределение покрытых лесом земель и запасов по возрастным группам и пр.

Национальная система мониторинга лесов

В стране существует единая система мониторинга лесов, функционирование которой обеспечивает Центр лесного государственного мониторинга. В качестве предложений по ее совершенствованию можно предложить более плотную ее интеграцию в систему непрерывного лесоустройства, которой она в настоящее время практически полностью соответствует, и в систему лесного кадастра и учета лесов с выделением описанных выше уровней – национального и локального. Достаточно критичным фактором для обеспечения функционирования системы мониторинга является разработка соответствующего модуля в FMIS или ее аналоге.

Автоматизированная национальная система управления лесами – СУБД “Лесные ресурсы Армении”

Логическим итогом создаваемой системы лесосчетных работ в Армении, интегрирующим все описанные выше элементы, является создание специализированной системы управления базами данных (СУБД) “Лесные ресурсы Армении”. При этом можно использовать опыт уже созданных подобных систем, например в Беларуси, и последующую их адаптацию к условиям страны. Оптимальным при создании национальной СУБД является выделение двух уровней анализа информации и принятия управленческих решений. Первый – стратегический, базирующийся на данных национальной инвентаризации лесов, и второй – оперативный, основу которого составляют данные лесоустройства и мониторинга лесов. Предлагаемая система организации лесосчетных работ в РА характеризуется высокой преемственностью к сложившейся практике, интегрирует современный опыт развитых стран и является наименее затратной.

Таким образом, реализация предложенного подхода позволит получить и поддерживать в актуальном состоянии информацию о всех лесах Армении, включая не учтенные в настоящее время леса на землях общин за пределами государственного лесного фонда Республики. Также будут установлены и юридически оформлены в соответствии с действующим законодательством границы лесхозов, национальных парков и заповедников, что позволит избежать деградации и уничтожения лесов в результате коммерческой деятельности. Результаты создания национальной системы инвентаризации лесов лягут в основу формирования долгосрочной лесной политики и стратегии развития всего лесного комплекса страны. Национальная система инвентаризации лесов создаст инструмент для долгосрочного мониторинга лесов на национальном уровне, включая ресурсы древесины, недревесные ресурсы, динамику депонирования углерода различными компонентами лесных экосистем и биоразнообразия. Будут получены реальные данные для определения возможного объема использования лесов на национальном уровне, что в свою очередь создаст условия для устойчивого рационального использования их. Инвентаризация лесов на землях общин позволит создать реальную возможность появления общинных лесов в соответствии с Лесным кодексом Республики Армения и, как следствие, необходимость управления ими на уровне общин, что представляет собой возможность вовлече-

ние в управление лесами широкого круга местных заинтересованных лиц. Результаты инвентаризации позволят выявить потенциальные территории для лесовосстановления и лесоразведения, тем самым создавая условия для реализации поставленной в Национальной лесной программе республики Армения задачи увеличения площади лесов до 20.1 % территории страны. Впервые будет получена цифровая карта лесов республики.

Современная система лесоустройства обеспечит на современной технологической и технической базе проведение работ по таксации лесов, составлению планов управления лесхозами и ООПТ, обновлению тематических лесных карт. Исключительно важным результатом проекта станет создание Национального учебного центра по подготовке собственных специалистов в области инвентаризации лесов, обучения сотрудников лесного сектора использованию современных технических средств при организации хозяйственной деятельности. Тем самым будет существенно сокращена необходимость привлечения иностранных специалистов и экспертов для инвентаризации лесов.

Исследование подготовлено на основе данных, собранных в рамках предоставления консультационных услуг для проекта “Управление знаниями и развитие потенциала в рамках партнерства России и Программы развития ООН”, проект финансируется Правительством Российской Федерации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарев А.И., Саядян О.Я. Современные тенденции развития учета лесов на постсоветском пространстве. Биолог. журн. Армении, 70, 4, стр. 12-24, 2018.
2. Решение 1232-Ն правительства Армении от 21-ого июля 2005 г. по утверждению “Национальной лесной программы Армении”.
<http://www.arlis.am/DocumentView.aspx?DocID=14277>.
3. Тебера А., Севрук П.В., Минкевич С.И. Лесное хозяйство и лесоустройство в Литовской республике. ISSN 1683-0377. Труды БГТУ, 1. Лесное хозяйство, с. 46-49, 2015.
4. Հայաստան-կիմալի փոփոխության հիմնահարցերը: Հողվածների ժողովածու: ՀՀ բնապահպանության նախարարություն, II թողարկում, Երևան, 353 էջ, 2003:
5. Global Forest Resources Assessment Country Report. Armenia, Rome, 2014, 70 p., 2015.
6. Global Forest Resources Assessment 2015 (How are the world's forests changing?). Second edition. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2016, 54 p.
7. Moreno-Sanchez, R., Sayadyan, H.Y. Evolution of the forest cover in Armenia. Int. For. Rev. 7, 113–127. doi:10.1505/ifor.2005.7.2.113, 2005.
8. <http://www.parliament.am/legislation.php?sel=show&ID=1361&lang=rus>
9. <http://www.fao.org/docrep/017/ap862e/ap862e00.pdf>

Поступила 15.11.2018



Biolog. Journal of Armenia, 1 (71), 2019

CISPLATIN AND ESTRADIOL SEPARATE AND JOINT *IN VIVO* ACTION ON RAT LIVER NUCLEAR PHOSPHOLIPIDS CONTENT

**ZH.V. YAVROYAN, N.R. HAKOBYAN, A.G. HOVHANNISYAN,
G.A. AVAGYAN, E.G. SARGSYAN, E.S. GEVORGYAN**

*Yerevan State University, Department of Biophysics,
gevorgyan_emil@yahoo.com*

The alterations in quantities of total phospholipids and changes in their individual fractions content in nuclear preparations from rat liver cells after the estradiol separate and combined with cisplatin *in vivo* action were investigated. It was shown that in contrast to cisplatin separate action, which leads to decrease the total amount of rat liver cells nuclear phospholipids, estradiol separate treatment increased phospholipids absolute quantity by 62 %. In the case of combined use of cisplatin and estradiol, the total quantity of nuclear phospholipids increased by about 13 %. These changes had different impact on the content of individual fractions of phospholipids. Among these changes the alterations obtained in case of cisplatin and estradiol combined treatment deserved greater attention since they most likely have a positive effect and may be helpful for reducing the cisplatin toxicity and eliminating its undesirable spillovers.

Cisplatin – estradiol – rat liver – phospholipids

Չեփագոտվել են առնետի լյարդի կորիզային ֆոսֆոլիպիդների ընդհանուր պարունակությունը և դրանց առանձին ֆրակցիաների բացարձակ քանակական փոփոխությունները էստրադիոլի առանձին և ցիսպլատինի հետ համատեղ *in vivo* ազդեցությունից հետո: Պարզվել է, որ ի տարբերություն ցիսպլատինի ազդեցության, որը հանգեցնում էր առնետի լյարդի կորիզային ֆոսֆոլիպիդների ընդհանուր քանակի կրճատմանը, էստրադիոլի առանձին ազդեցության արդյունքում գրանցվում է ֆոսֆոլիպիդների բացարձակ պարունակության աճ 62 %-ով: Ցիսպլատինի և էստրադիոլի համատեղ կիրառման դեպքում ֆոսֆոլիպիդների ընդհանուր քանակն աճում է ընդամենը 13 %-ով: Գրանցված փոփոխությունները տարբեր կերպ են անդրադառնում առանձին ֆրակցիաների բացարձակ քանակների վրա: Առավել մեծ ուշադրության են արժանի ցիսպլատինի և էստրադիոլի համատեղ ազդեցության ժամանակ ստացված փոփոխությունները, որոնք, ամենայն հավանականությամբ, կարող են կարևոր լինել ցիսպլատինի տոքսիկության և անցանկալի կողմնային ազդեցությունների նվազեցման առումով:

Ցիսպլատին – էստրադիոլ – առնետի լյարդ – ֆոսֆոլիպիդներ

Исследовалось содержание общих фосфолипидов и их индивидуальных фракций в препаратах ядер клеток печени крыс при *in vivo* отдельном воздействии эстрадиола и при комбинированном с цисплатином его применении. Показано, что в отличие от воздействия цисплатина, которое приводит к сокращению тотального содержания ядерных липидов, в результате отдельного применения эстрадиола регистрируется повышение общего количества ядерных фосфолипидов на 62 %. При совместном применении эстрадиола и цисплатина общее количество ядерных фосфолипидов повышается всего на 13 %. Эти изменения по-разному влияют на содержание индивидуальных фракций ядерных фосфолипидов. Среди выявленных изменений большего внимания заслуживают сдвиги, обнаруживаемые при сов-

местном воздействии цисплатина и эстрадиола, поскольку они, по всей вероятности, могут быть связаны со снижением токсичности цисплатина и смягчением нежелательных побочных эффектов, вызванных им.

Цисплатин – эстрадиол – печень крысы – фосфолипиды

It is well known that the platinum drug cisplatin (*cis*-diaminedichloroplatinum (II)) is widely used for the treatment of many malignancies. Cisplatin is clinically used as adjuvant therapy of cancers aiming to induce tumor cells death [6, 7]. However, it should be noted that cisplatin damages tumor cells and normal ones. Cisplatin induces cytotoxicity by alterations of transcription, DNA replication processes, via induction of all pathways of apoptosis [6, 7]. The effectiveness of cisplatin is dose-dependent, although its use in higher concentrations is limited by several side effects, such as nephrotoxicity, neurotoxicity, ototoxicity and others. These side effects might lead to intoxication of the whole body [11, 14, 16]. It was revealed that the joint use of steroid hormone (estradiol/progesterone) and cisplatin resulted to reduced cisplatin-induced toxicities [5, 9, 10, 15].

At present it is well known that nuclear lipids are major regulators of many essential cellular processes such as DNA replication, transcription and gene expression [1, 2, 17]. Recent advances demonstrated the involvement of nuclear lipids in remodeling of chromatin and epigenetic regulation of gene expression [12, 13]. It seems impossible to exclude the significance of nuclear lipids quantitative alterations for cisplatin antitumor effects [8].

Our previous results showed the reliable changes in total quantities of nuclear phospholipids and in content of their individual fractions of rat liver cells after the cisplatin *in vivo* action [8]. Regulatory role of nuclear phospholipids via their implications in DNA replication, transcription, chromatin assembly, acetylation and methylation of histones, and in other distinct nuclear processes is well-known. Taking into consideration the cisplatin-depended nuclear phospholipid alterations, it is assumed that the implementation of cisplatin antitumor effects through these changes could not be excluded. On the other hand, it has already shown, that estradiol and progesterone showed a beneficial effect in elimination of cisplatin-induced nephrotoxicity [10]. In view of the above developments it seems interesting to explore the cisplatin and estradiol separate and joint *in vivo* action on rat liver nuclear phospholipids content.

In this paper the alterations of quantities of total phospholipids as well as changes in their individual fractions content in nuclear preparations from rat liver cells after estradiol separate and its joint *in vivo* action with cisplatin were investigated.

Materials and methods. The investigation was performed on adult female albino rats (120-150 g weight). The animals were divided into 4 groups. Group 1 is a control group of animals without treatment. Animals of groups 2 and 4 received single dose of cisplatin (8 mg/kg). Cisplatin was injected peritoneal. Exposition time for cisplatin was 24 hours. Group 3 was treated with estradiol (200 mcg/kg, injected peritoneal). Exposition time for estradiol was 4 hours. Animals from Group 4 within 20 hours after the cisplatin injection (4 hours before decapitation) received the same single dose of estradiol. All animals were killed by decapitation through corresponding time. Before extraction of the liver, perfusion through the portal vein with ice-cold saline was done in order to remove the remaining blood. Rat liver nuclei were isolated by the method of Blobel and Potter [4]. Phospholipid extraction was carried out by Bligh and Dayer [3]. The fractionation of phospholipids was performed by micro thin layer chromatography (micro TLC) using 6x9 cm² plates with L silicagel and chloroform-methanol-water in ratio 65:25:4 as a dividing mixture. After the chromatography the plates were dried up at 20°C and were treated by 15.6% CuSO₄ in 8% phosphoric acid. Then the elaborated plates were heated at 180°C for 15 minutes. The quantitative estimation of

separated and specific died phospholipids was carried out by special computer software FUGIFILM Science Lab 2001 Image Gauge V 4.0, which was destined for densitometry. Obtained results were treated by statistics.

Results and Discussion. The total quantities of rat liver cells nuclear phospholipids in baseline and after the cisplatin and estradiol separate and joint *in vivo* action are provided in tab. 1 (tab.1). The total amount of rat liver cells nuclear phospholipids after treatment with the antitumor drug cisplatin decreased by 10% [8]. On the contrary, estrogen treatment leads to increase of phospholipids content by 62% in rat liver nuclear fraction (tab.1). The combined injection of cisplatin and estradiol increased the quantity of nuclear total phospholipids by 13.5% in comparison to baseline, although in comparison with estradiol received group of animals, it was reduced by 48.5 % (tab.1 and fig.1). The results confirm that cisplatin and estradiol were demonstrated opposite effects on total quantity of nuclear phospholipids. However, in the case of joint action these effects were summed up (tab. 1 and fig.1).

Table 1. Total phospholipids content (in mcg/g of tissue) in nuclear preparations of rat liver cells in baseline and after the cisplatin and estradiol separate and joint *in vivo* action

Variants	Baseline	Cisplatin	Estradiol	Cisplatin+ Estradiol
mcg/g tissue	3700,00±61,50	*3337,00±51,30 ¹	*6000,00 ±172,57	*4200 ±145,00

1-our previous results* – $p < 0,05$

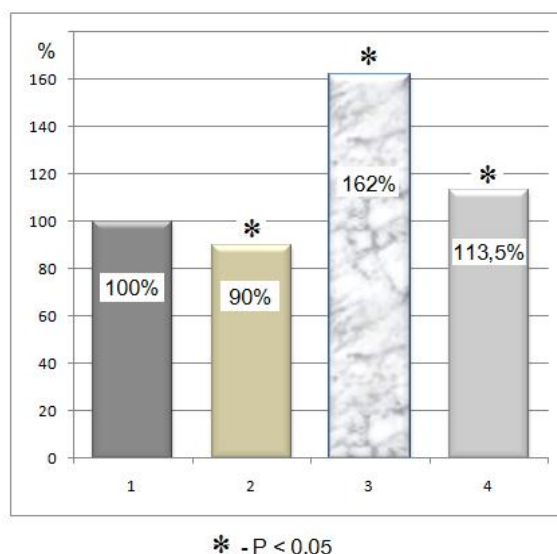


Fig. 1. Changes in total phospholipids content in nuclear preparation of rat liver cells in baseline and after the cisplatin and estradiol separate and joint treatment.
1 – baseline, 2 – after the cisplatin action, 3 – after estradiol action,
4 – after joint action of cisplatin and estradiol

The fractionation of nuclear phospholipids by the microTLC method revealed seven individual phospholipids in baseline and in the case of cisplatin and estradiol separate and joint action. This means that neither cisplatin and estradiol separate nor

combined action cause qualitative changes. Phosphatidylserine, sphingomyelin, phosphatidylinositol, phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, cardiolipin and phosphatidic acid were obtained among the phospholipids of rat liver cells nuclei preparations. Phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine were the major components to form more than 65% of total phospholipids amount in baseline, while the percentage of the other five fractions varied within the range of 4-10%. (tab. 2).

Table 2. The relative content (in percentage) of individual fractions of phospholipids in nuclear preparations of rat liver cells in baseline and after the cisplatin and estradiol separate and joint action.

N	Phospholipids	Baseline	Cisplatin	Estradiol	Cisplatin+ Estradiol
1	Phosphatidylserine	5.80±0.34	3.90±0.28	3.32±0.22	5.35±0.23
2	Sphingomyelin	7.60±0.33	5.60±0.22	4.58±0.24	7.40±0.1
3	Phosphatidylinositol	10.40±0.24	11.10±0.25	5.40±0.42	9.04±0.21
4	Phosphatidylcholine	39.70±0.40	45.80±0.42	51.24±1.07	40.20±1.23
5	Phosphatidylethanolamine	26.10±0.28	26.00±0.39	26.30±0.43	23.60±0.87
6	Cardiolipin	4.80±0.21	3.90±0.23	3.63±0.27	5.2±0.33
7	Phosphatidic acid	5.60±0.20	3.70±0.15	5.53±0.26	9.17±0.45
Total content		100	100	100	100

It is characteristic that the relative content of these individual fractions was not exposed to considerable alterations after the cisplatin and estradiol separate action as well as in case of its combined treatment. It must be mentioned that more significant changes undergo the relative content of phosphatidylcholine, which increased under the separate action of cisplatin and estradiol. On the other hand, after the joint action of cisplatin and estradiol, the baseline level of phosphatidylcholine relative content was restored (tab. 2).

Taking into consideration the significant changes in total nuclear phospholipids content after the cisplatin and estradiol separate and joint *in vivo* action the necessity arises to determine the changes in absolute quantities of individual fraction of lipids in all variants. Calculation results are presented in tab. 3. Individual fractions of phospholipids of rat nuclei exhibit different sensitivity to cisplatin treatment. The absolute content of phosphatidylinositol and phosphatidylcholine remained unchanged after the cisplatin action, while the quantities of all the other decreased reliably. Absolute content of phosphatidylserine, sphingomyelin, phosphatidylethanolamine, cardiolipin and phosphatidic acid reduced by 41.4%, 35.5%, 15.2%, 33.3% and 41.3% respectively. These obtained alterations in lipid quantity of rat liver nuclei cells are consequences of deep and multiform transformation of nuclear lipids metabolism caused by antitumor drug cisplatin [8]. After the estradiol alone action as well as in case of cisplatin and estradiol joint treatment the absolute quantity of phosphatidylserine and sphingomyelin remained unchanged. Changes were not found in quantity of phosphatidylinositol after the joint action of cisplatin and estradiol, while estradiol alone action decreased the content of this phospholipid by 15%. Among the nuclear phospholipids, the phosphatidylcholine exhibits the greatest susceptibility to estradiol alone action. The absolute quantity of this phospholipid increased by 110% in comparison with baseline as well as with cisplatin separate action. However, it should be noted that cisplatin and estradiol joint action lead to increased quantity of phosphatidylcholine only about 18 % (tab.3 and fig.2).

Table 3. The absolute quantities (in micrograms per gram of tissue) of individual phospholipid fractions in nuclear preparations of rat liver cells in baseline and after the cisplatin and estradiol separate and joint action

hospholipids	Baseline	Cisplatin	Estradiol	Cisplatin+Estradiol
Phosphatidylserine	215.00±16.00	*126.00±14.00	199.00±13.16	222.00±9.66
Sphingomyelin	290.00±20.00	*187.00±20.00	275.00±14.4	307.00 ±8.83
Phosphatidylinositol	382.00±22.00	374.00±33.00	**324.00±25.2	391.00 ±8.80
Phosphatidylcholine	1465.00±53.00	1592.00±16.00	*3074.00±62.20	*1726.00 ±51.65
Phosphatidylethanolamine	962.00±28.00	*816.00±38.00	*1578.00±25.80	950.00 ±36.53
Cardiolipin	180.00±15.00	*120.00±18.50	*218.00±16.21	*220.00 ±16.00
Phosphatidic acid	208.00±13.00	*122.00±10.00	*332.00±15.60	*384.00 ±19.00

*- $p < 0.05$; **- $p < 0.1$;

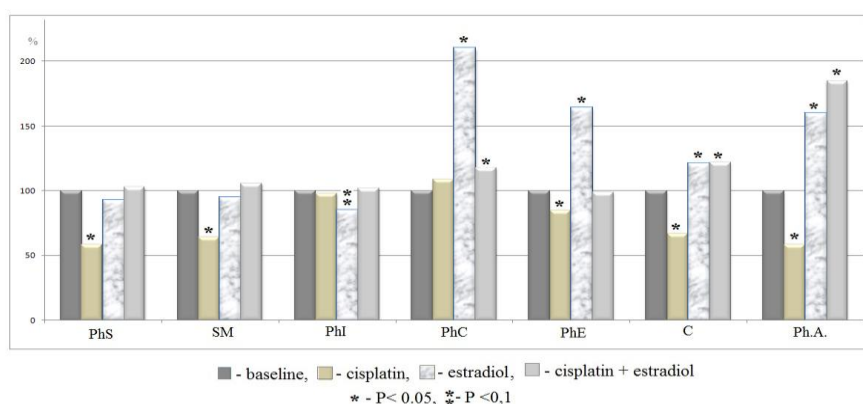


Fig.2. Changes (in %) of absolute quantity of rat liver nuclear phospholipids individual fractions after the cisplatin and estradiol separate and joint action

PhS – phosphatidylserine, SM – sphingomyelin, PhI – phosphatidylinositol,
PhC – phosphatidylcholine, PhE – phosphatidylethanolamine,
C – cardiolipin, Ph.A. – phosphatidic acid

The absolute content of another nuclear phospholipid phosphatidylethanolamine has also been significantly increased by about 64 % after estradiol separate action, whereas the joint action of cisplatin and estradiol lead to recovery reference level. Cardiolipin and phosphatidic acid absolute content has been increased by 21 % and 60 % respectively after the estradiol separate action (tab. 3 and fig. 2). Estradiol and cisplatin combined treatment revealed increase of cardiolipin quantity as well as phosphatidic acid absolute content by 22 % and about 85 % respectively (tab.3 and fig.2).

It is well known, that nuclear lipids are components of the intranuclear structures, such as nuclear membrane, nuclear matrix, nucleolus and chromatin. These lipids are involved in numerous biological processes, including signal transduction and a variety of metabolic pathways [2, 17]. It is worthy to mention that metabolism of nuclear lipids is regulated independently of that of cytoplasm. Furthermore, the modification of lipid metabolism is involved in cell proliferation or apoptotic processes induced by different stimuli, including hormones and drug action. As result of lipids metabolism secondary messengers are produced in the cell nucleus, which play a pivotal role in multiple signaling networks as well as in chromatin organization and transcription control [2, 12, 13, 17].

The quantitative changes in nuclear phospholipids in case of cisplatin alone action should be considered negative side effects. However, the changes obtained in case of cisplatin and estradiol joint treatment most likely have a positive effect and may be helpful for reducing the cisplatin toxicity and eliminating its undesirable spillovers. Thus, it can be concluded that nuclear lipids are key elements for the correct functioning of all nuclear processes. The quantitative changes, that were identified, have served to elucidate how cisplatin and estradiol are show their impact in case of separate and joint action.

REFERENCES

1. Albi E., Villani M. Nuclear lipid microdomains regulate cell function. *Communicative and Integrative Biology*, 2, 1, 23-24, 2009.
2. Albi E. Role of intranuclear lipids in health and disease. *Clinical Lipidology*, 6, 1, 59-69, 2011.
3. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Biochem. Physiol.*, 37, 911-917, 1959.
4. Blobel G., Potter V.R. Nuclei from rat liver: Isolation method that combines purity with high yield. *Science*, 154, 76-79, 1966.
5. Crona D.J., Faso A., Nishijima T.F., McGraw K.A., Galsky M.D., Milowsky M.I. A Systematic review of strategies to prevent cisplatin-induced nephrotoxicity. *Oncologist*, 22, 5, 609-619, 2017.
6. Dasari Sh., Tchounwou P.B. Cisplatin in Cancer Therapy: Molecular Mechanisms of Action. *Eur. J. Pharmacol.*, 740, 364-378, 2014.
7. Florea A.M., Busselberg D. Cisplatin as an Antitumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity, Drug Resistance and Induced Side Effects. *Cancers*, 3, 1351-1371, 2011.
8. Gevorgyan E.S., Yavroyan Zh.V., Hakobyan N.R., Hovhannisyan A.G. Cisplatin action on phospholipid composition in nuclear fraction of rat liver cells. *Biolog. Journal of Armenia*, 61, 4, 20-24, 2009.
9. Ghasemi M., Nematbakhsh M., Pezeshki Z., Soltani N., Moeini M., Talebi A. Nephroprotective effect of estrogen and progesterone combination on cisplatin-induced nephrotoxicity in ovariectomized female rats. *Indian J. Nephrol.*, 26, 3, 167-175, 2016.
10. Grott M., Karakaya S., Mayer F., Baertling F., Beyer C., Kipp M., Kopp H.G. Progesterone and estrogen prevent cisplatin-induced apoptosis of lung cancer cells. *Anticancer Res.*, 33, 3, 791-800, 2013.
11. Hanigan M.H., Devarajan P. Cisplatin nephrotoxicity: molecular mechanisms. *Cancer Therapy*, 1, 47-61, 2003.
12. Kuvichkin V.V. DNA-Lipids-Me²⁺ complexes structure and their possible functions in a cell. *Journal of Chem. Biology & Therapeutics*, 1, 1, 1-6, 2016.
13. Kuvichkin V.V. DNA-Lipids Interactions in Nuclear Pore Assembly and Hormone Actions *Ann Endocrinol Metab.*, 1, 1, 1-7, 2017.
14. Miller R.P., Tadagavadi R. K., Ramesh G., Reeves W.B. Mechanisms of cisplatin Nephrotoxicity. *Toxins*, 2, 2490-2518, 2010.
15. Nematbakhsh M.I., Pezeshki Z., Eshraghi Jazi F., Mazaheri B., Moeini M., Safari T., Azarkish F., Moslemi F., Maleki M., Rezaei A., Saberi Sh., Dehghani A., Malek M., Mansouri A., Ghasemi M., Zeinali F., Zamani Z., Navidi M., Jilanchi S., Shirdavani S., Ashrafi F.. Cisplatin-Induced Nephrotoxicity; Protective Supplements and Gender Differences. *Asian Pac J Cancer Prev.*, 18, 2, 295-314, 2017.
16. Silconi Ž.B., Benazic S., Milovanovic J., Arsenijevic A., Stojanovic B., Milovanovic M., Miller R.P., Tadagavadi R.K., Ramesh G., Reeves W.B., Mechanisms of cisplatin Nephrotoxicity. *Toxins*, 2, 2490-2518, 2010.
17. Viola-Magni M., Gahanin P.B. Possible Roles of Nuclear Lipids in Liver Regeneration. Chapter 4 of Book "Liver Regeneration" edited by Baptista P. M., 987, 2012.

Received on 15.11.2018



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 1 (71), 2019

ՃԱԳԱՐԻ ՈՐՈՇ ՕՐԳԱՆՆԵՐԻ D-ԱՄԻՆԱԹՅԱՅԻՆ ՕՔՍԻԴԱԶԻ ԵԼԱՆՅՈՒԹՅՈՒՆ ՅՈՒՐԱՅԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆԸ

Յ.Ս. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Է.Խ. ԲԱՐՍԵՂՅԱՆ, Ա.Յ. ԹՈՉՈՒՆՅԱՆ

ԵՊՀ, կենսաքիմիայի, մանրէաբանության և կենսատեխնոլոգիայի ամբիոն
hkarapetyan@ysu.am

Ցույց է տրված, որ D-ամինաթթվային օքսիդազը ճագարի տարբեր օրգաններում ունի լայն ելակայնային յուրահատկություն: Հետազոտված 7 D-ամինաթթուներից արտահայտված ուժգնությամբ դեզամինացվել են D-ալանինը, D-թիրոզինը և D-արգինինը: Ուսումնասիրվել է ծանր մետաղների իոնների (Ni^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+}) ազդեցությունը D-ամինաթթվային օքսիդազի ակտիվության վրա ճագարի ուղեղում, լյարդում և երիկամներում:

D-ամինաթթվային օքսիդազ – D-ամինաթթու – ծանր մետաղների իոններ

В некоторых органах кролика выявлена D-аминокислотная оксидаза. Показано, что фермент имеет широкую субстратную специфичность. Из исследованных 7-ми D-аминокислот более интенсивно дезаминировались D-аланин, D-тирозин и D-аргинин. Изучено влияние ряда ионов тяжелых металлов (Ni^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+}) на активность D-аминокислотной оксидазы печени, почек и мозга.

D-аминокислотная оксидаза – D-аминокислота – ионы тяжелых металлов

The D-amino acid oxidase was detected in a number of rabbit organs. It has been shown that the enzyme has broad substrate specificity. Out of 7 D-amino acids studied, the D-alanine, D-tyrosine and D-arginine amino acids were more intensively deaminated. The effects of a number of heavy metal ions (Ni^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+}) on the D-amino acid oxidase activity of the liver, kidneys and brain were studied.

D-amino acid oxidase – D-amino acid – heavy metal ions

Ամինաթթուների փոխանակության ընդհանուր օրինաչափություններից է նրանց օքսիդային դեզամինացումը՝ L- և D-ամինաթթվային օքսիդազների մասնակցությամբ: D-ամինաթթվային օքսիդազը լայնորեն տարածված է բնության մեջ՝ միկրոօրգանիզմներից մինչև կաթնասուններ, սակայն նրանց ֆիզիոլոգիական դերը դեռևս ամբողջությամբ պարզաբանված չէ:

Հայտնի է D-ամինաթթվային օքսիդազի անմիջական մասնակցությունը միկրոօրգանիզմների նյութափոխանակության, ինչպես նաև կաթնասունների էնդոգեն D-ամինաթթուների կուտակման, նյարդային համակարգի աշխատանքի կարգավորման և ծերացման գործընթացներում [3,4,7]: Մի շարք հիվանդությունների դեպքում նյարդային հյուսվածքում, արյան շիճուկում, ողնուղեղային հեղուկում նկարագրված են ինչպես D-ամինաթթուների քանակության, այնպես էլ նրանց օքսիդազների ակտիվության փոփոխություններ: Ցույց է տրվել, որ նյարդային համակարգի նյարդակարգավորիչ D-սերինի քանակի կարգավորումը D-ամինաթթվային օքսիդազի մասնակցությամբ կարևոր նշանակություն ունի շիզոֆրենիայի, Պարկինսոնի, Ալցհեյմերի և այլ հիվանդությունների բուժման համար [4,7,9]:

Ցույց է տրվել նաև D-ամինաթթվային օքսիդազի կարևոր դերը աղիքային միկրոբիոտայի հոմեոստազի կարգավորման գործում [10]:

Վերջին տարիներին ֆերմենտի նկատմամբ հետաքրքրությունը մեծացել է կապված այն փաստի հետ, որ *Rhodotorula gracilis* *Trigonopsis variabilis* խմորասնկերում հայտնաբերված D-ամինաթթվային օքսիդազը կատալիզում է ցեֆալոսպորին C-ից 7-ամինացեֆալոսպորինաթթվի առաջացման երկֆերմենտային գործընթացի առաջին փուլը: Վերջինս համարվում է բազմաթիվ կիսասինթետիկ հակաբիոտիկների աղբյուր [2,13]:

Մեծ թվով հետազոտություններ են իրականացվում հատկապես մարդու D-ամինաթթվային օքսիդազի կենսասինթեզի էպիգենետիկական կարգավորման և բջջային մակարդակով հետտրանսլյացիոն ձևափոխումների դերի պարզաբանման ուղղությամբ [9]: Կենսաբանական նմուշներում D-ամինաթթուների և նրանց օքսիդազների ակտիվության որոշման զգայուն մեթոդների կիրառումը հիմք է կարող հանդիսանալ որոշ հիվանդությունների վաղ ախտորոշման և մոնիթորինգի համար [12]:

Ուստի արդիական են այն հետազոտությունները, որոնք ուղղված են տարբեր օրգանիզմներում D-ամինաթթվային օքսիդազների էլանյութային յուրահատկության բացահայտմանը [1]:

Մեր նպատակն է եղել ուսումնասիրել ճագարի որոշ օրգաններում (երիկամներ, լյարդ, ուղեղ) D-ամինաթթվային օքսիդազի էլանյութային յուրահատկությունը տարբեր D-ամինաթթուների նկատմամբ, ինչպես նաև հետազոտել որոշ ծանր մետաղների իոնների ազդեցությունը ֆերմենտի ակտիվության վրա:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտություններն իրականացվել են սմման և խնամքի միևնույն պայմաններում գտնվող 2-2.5 կգ զանգված ունեցող *Oreictologus cuniculus domesticus* ճագարների վրա: Կենդանիների գլխատումից հետո արագ անջատվել են լյարդը, երիկամները և ուղեղը, պատրաստվել է 10%-անոց հոմոգենատ 0,1 Մ Na-ֆոսֆատային բուֆերում (pH 8,3): Կորիզային ֆրակցիան և հյուսվածքային մագնորդները հեռացնելու նպատակով հոմոգենատը ցենտրիֆուգվել է 4000 g արագությամբ 15 րոպե:

D-ամինաթթվային օքսիդազի ակտիվությունը որոշելու նպատակով 1 մլ ֆերմենտային պատրաստուկը ինկուբացվել է 37°C-ում, 60 րոպեների ընթացքում, 1.5 մլ Na-ֆոսֆատային բուֆերում (pH 8,3) համապատասխան 50 մկմոլ էլանյութերի (D-ալանին, D-վալին, D-իզոլեյցին, D-թիրոզին, D-արգինին, D-լիզին, D-ասպարազին) առկայությամբ: 60 րոպե անց ռեակցիան կանգնեցվել է 1 մլ 20%-ոց եթԷ-ով, առաջացած ամոնիակի քանակությունը որոշվել է միկրոդիֆուզիոն մեթոդով: Ֆերմենտի ակտիվությունը ներկայացվել է առաջացած NH_3 -ի քանակով՝ 1 գ սպիտակուցի համար: D-ամինաթթվային օքսիդազի վրա ծանր մետաղների իոնների (Ni^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+}) ազդեցությունը հետազոտելու նպատակով ինկուբացվող խառնուրդին ավելացվել է մետաղի իոն (25 մկմոլ /մլ նմուշում):

Ստացված տվյալները ելթարկվել են վիճակագրական մշակման “BIOSTAT” համակարգչային ծրագրով: Հավաստիությունը որոշվել է ըստ Ստյուդենտի t չափանիշի:

Արդյունքներ և քննարկում: D-ամինաթթվային օքսիդազը ՖԱԴ-կախյալ օքսիդազների գործունեության մեխանիզմների հիմնական օրինաչափությունների հետազոտման մարկերային ֆերմենտ է: Համաձայն գրականության տվյալների [9], մարդու D-ամինաթթվային օքսիդազի համար լավագույն էլանյութեր են հիդրոֆոբ և ծավալուն ամինաթթուները, իսկ գլիցինը և գլուտամինաթթուն ֆերմենտի կողմից չեն ենթարկվում դեզամինացման:

Մեր կողմից ուսումնասիրվել է ճագարի լյարդի, երիկամի և ուղեղի D-ամինաթթվային օքսիդազի էլանյութային յուրահատկությունը: Համաձայն ստացված տվյալների (աղ. 1), D-ամինաթթվային օքսիդազի ակտիվությունը հայտնաբերվել է բոլոր հետազոտված օրգաններում, որտեղ էլանյութերը տարբերվել են իրենց դեզամինացման աստիճանով: Հետազոտված 7 ամինաթթուներից D-ալանինի, D-թիրոզինի և D-արգինինի դեպքում ֆերմենտը դրսևորել է բավականին բարձր ակտիվություն: Նշված ամինաթթուներն առավել ուժգին դեզամինացվել են ուղեղում, ընդ որում D-թիրոզինի դեպքում ֆերմենտի ակտիվությունը կազմել է 43.05, D-ալանինի դեպքում՝ 24.35, իսկ D-արգինինի դեպքում՝ 34 մկմոլ NH_3 1 գ սպիտակուցի հաշվարկով:

Բոլոր հետազոտված ամինաթթուներից ամենացածր ակտիվությամբ դեզամինացվել են ուղեղում՝ D-վալին, երիկամում՝ D-լիզին, լյարդում՝ D-իզոլեյցին ամինաթթուները (աղ. 1): Լյարդում ըստ դեզամինացման աստիճանի հետազոտված ամինաթթուների հերթականությունն եղել է՝ D-արգինին > D-լիզին > D-ասպարազինաթթու > D-ալանին > D-վալին > D-թիրոզին > D-իզոլեյցին: D-իզոլեյցին ամինաթթվի տարբերակում ֆերմենտի ակտիվությունը D-արգինինի համեմատությամբ եղել է 4.2 անգամ ավելի ցածր (աղ. 1):

Աղյուսակ 1. D-ամինաթթվային օքսիդազի ակտիվությունը ճագարի տարբեր օրգաններում (n=5, p<0,05)

Ելանյութ / օրգան	Ֆերմենտի ակտիվություն /մկմոլ NH ₃ l գ սպիտակուցում/		
	լյարդ	երիկամ	ուղեղ
D-ալանին	11.29 ± 0.33	22.82 ± 0.68	24.35±0.73
D-վալին	8.23 ± 0.24	21.16 ± 0.63	0.94 ± 0.02
D-իզոլեյցին	7.05 ±0.21	15.05 ± 0.45	4.94 ± 0.14
D-թիրոզին	10.35 ± 0.31	17.64±0.52	43.05 ± 1.29
D-արգինին	29.48±0.88	15.52±0.46	34 ±1.02
D-լիզին	24.7±0.74	5.88±0.17	11.76 ±0.35
D-ասպարազինաթթու	18.35 ± 0.55	8.94 ± 0.26	36.7 ±1.10

Երիկամում դեգամինացման ամենաբարձր ցուցանիշ է գրանցվել D-ալանինի տարբերակում՝ 22.82 մկմոլ NH₃, ինչը 3.9 անգամ ավելի բարձր է D-լիզինի համեմատ: Ֆերմենտի ակտիվությունը ելանյութի նկատմամբ երիկամում ներկայացված է հետևյալ շարքով՝ D-լիզին >D-ասպարազինաթթու > D-իզոլեյցին >D-արգինին> D-թիրոզին > D-վալին> D-ալանին:

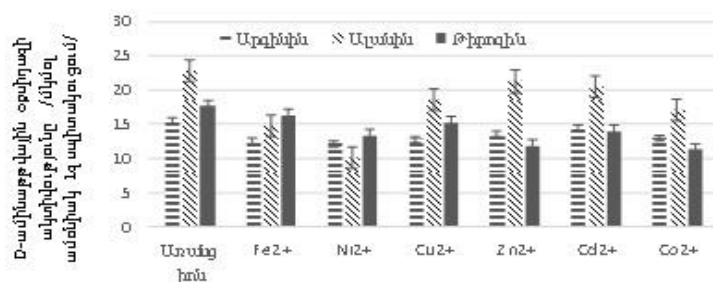
Այսպիսով, պարզվել է, որ ճագարի լյարդի, երիկամի և ուղեղի D-ամինաթթվային օքսիդազն օժտված է լայն ելանյութային յուրահատկությամբ: Համաձայն գրականության տվյալների, տարբեր աղբյուրներից անջատված D-ամինաթթվային օքսիդազների ամինաթթվային հաջորդականության մեջ հայտնաբերված են պահպանողական հատվածներ (189–202, 299–312 և 326–341), որոնք ձևավորում են ակտիվ կենտրոնի կատալիտիկ հատվածը, որտեղ տեղավորված են կատալիզի համար պատասխանատու Ասն192, Արգ302 և Թիր326 ամինաթթուները [1]: Առանձնահատուկ է այն փաստը, որ Արգ302 ամինաթթվի -C-ատոմի շարժունակությունը բավականին սահմանափակ է կից գտնվող Պրո303 և Թիր326 ամինաթթվային մնացորդներով, որոնք ապահովում են ելանյութի մուտքը ակտիվ կենտրոն: Այս գործընթացում մասնակցում է նաև Գլի327-ը: Ֆերմենտի ելանյութ կապող դոմենում արտահայտված հոմոլոգիա չի հայտնաբերված, ինչով պայմանավորված է տարբեր աղբյուրներից անջատված ֆերմենտների լայն ելանյութային յուրահատկությունը, որը տատանվում է բավականին լայն տիրույթում [1]:

Շրջակա միջավայրը աղտոտող նյութերի շարքում հատուկ տեղ են զբաղեցնում ծանր մետաղները, քանի որ ի տարբերություն անկայուն և արագ վերափոխվող աղտոտող այլ նյութերի ծանր մետաղների միացությունները երկարատև ժամանակի ընթացքում պահպանում են իրենց թունավոր ազդեցությունը: Ծանր մետաղների հավելյալ բանականության վնասող ազդեցությունը կենդանի օրգանիզմներում կարող է առաջ բերել հանքային նյութերի մուտքի և տեղաբաշխման խանգարումներ, ֆերմենտների ակտիվության արգելակում:

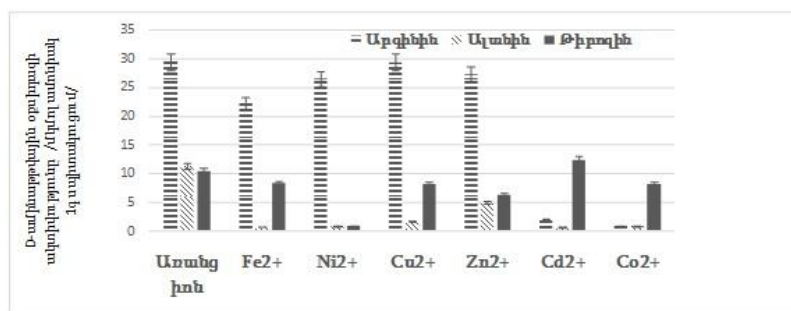
Մեր կողմից ուսումնասիրվել է որոշ ծանր մետաղների (Ni²⁺, Fe²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, Co²⁺) ազդեցությունը D-ամինաթթվային օքսիդազի ակտիվության վրա: Որպես ելանյութեր ընտրվել են D-ալանին, D-թիրոզին և D-արգինին ամինաթթուները: Հետազոտությունների արդյունքները ներկայացված են գծապատկեր 1, 2 և 3-ում:

Ինչպես երևում է նկ. 1-ից, երիկամում D-ալանինի դեգամինացման ակտիվության վրա ամենաբարձր արգելակող ազդեցություն դրսևորել է Ni²⁺-ը՝ 55.7% -ով, իսկ Fe²⁺-ի դեպքում այդ ցուցանիշը կազմել է 35.1%, մնացած իոնների արգելակող ազդեցությունը եղել է ցածր: D-արգինինի դեպքում իոնների ընկճող ազդեցություն ֆերմենտի ակտիվության վրա դիտվել է ըստ հետևյալ հաջորդականության՝ Ni²⁺ > Fe²⁺ > Co²⁺ > Cu²⁺ > Zn²⁺ > Cd²⁺: D-թիրոզինի դեգամինացման ակտիվության վրա ամենաբարձր արգելակող ազդեցություն ունեցել են Co²⁺ և Zn²⁺ իոնները՝ համապատասխանաբար 35.94% և 33.10%-ով:

Լյարդում Ni²⁺, Cd²⁺, Co²⁺ և Fe²⁺ իոնները գրեթե ամբողջությամբ արգելակել են D-ալանինը դեգամինացնող ֆերմենտի ակտիվությունը, բացի Zn²⁺ իոններից, որոնք ֆերմենտը ընկճել են միայն 56.5%-ով:



Նկ.1. Ծանր մետաղների իոնների ազդեցությունը D-ամինաթթվային օքսիդացի ակտիվության վրա (ճագարի երիկամ, n=5, p<0,05):



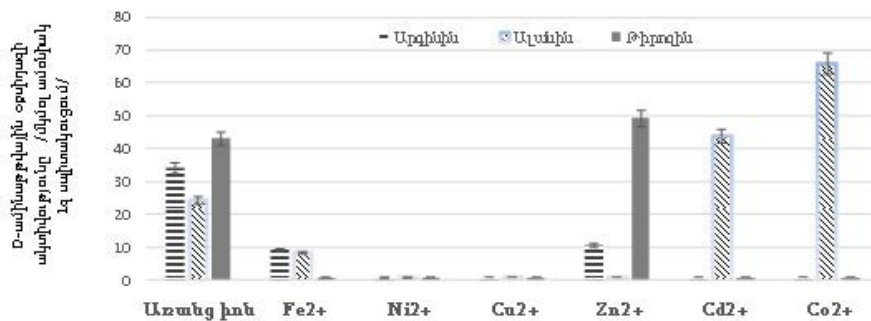
Նկ. 2. Ծանր մետաղների իոնների ազդեցությունը D-ամինաթթվային օքսիդացի ակտիվության վրա (ճագարի լյարդ, n=5, p<0,05)

Փորձարկված իոններից D-արգինինը դեգամինացնող ֆերմենտի ակտիվության վրա ընկճող ազդեցություն ցուցաբերել են Cd^{2+} և Co^{2+} իոնները, մնացած իոնները աննշան ազդեցություն են թողել ֆերմենտի ակտիվության վրա: Cd^{2+} իոնները 16.3 %-ով խթանել են D-թիրոզին ամինաթթվի դեգամինացումը, իսկ մյուս փորձարկված իոնների արգելակման աստիճանը ներկայացվում է հետևյալ շարքով $\text{Ni}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$ (Նկ. 2):

Ինչպես երևում է գծապատկեր 3-ից, Ni^{2+} և Cu^{2+} իոնները բոլոր ամինաթթուների տարբերակներում ցուցաբերել են ընկճող ազդեցություն ֆերմենտի ակտիվության վրա: Zn^{2+} -ը խթանել են (12.5 %) D-թիրոզին ամինաթթվի, Cd^{2+} -ը (44.5%) և Co^{2+} (63.1 %) D-ալանինի դեգամինացման գործընթացները:

Ուսումնասիրված գրականության մեջ D-ամինաթթվային օքսիդացի ակտիվության վրա ծանր մետաղների ազդեցության վերաբերյալ հետազոտությունները բացակայում են: Այլ ֆերմենտներին նվիրված աշխատանքներում ցույց է տրված, որ ակտիվ կենտրոնում գտնվող SH-խմբերը ծանր մետաղների իոնների համար կարող են կատարել յուրահատուկ լիգանդների դեր [5]: Հայտնի է նաև, որ ծանր մետաղների իոնները կարող են ամուր համալիրներ առաջացնել թիո խմբեր պարունակող կենսամոլեկուլների հետ: Այդպիսի համալիրները կայուն են և ֆերմենտի արգելակումը ձեռք է բերում ոչ դարձելի բնույթ [14]:

Մեր հետազոտությունների արդյունքների վերլուծությունը հանգեցնում է նրան, որ ծանր մետաղների իոնների արգելակող ազդեցությունը D-ամինաթթվային օքսիդացի ակտիվության վրա հնարավոր է պայմանավորված է ֆերմենտային սպիտակուցի տարածական կառուցվածքի փոփոխություններով և առանձին թիոլային խմբերի վրա ունեցած ազդեցությամբ:



Նկ. 3. Ճանր մետաղների իոնների ազդեցությունը D-ամինաթթվային օքսիդազի ակտիվության վրա ճագարի ուղեղում (n=5, p<0,05)

Հետազոտությունների արդյունքները վկայում են այն մասին, որ D-ամինաթթվային օքսիդազի ակտիվությունը ճագարի տարբեր օրգաններում կախված է ինչպես երկվալենտ մետաղի իոնի, այնպես էլ հյուսվածքի տեսակից:

D-ամինաթթվային օքսիդազների լայն ելանյութային յուրահատկությունը առաջարկվում է կիրառել կենսասեստորների ստեղծման համար սննդամթերքներում և խմիչքներում համակարգային ձևով ամինաթթուների D-իզոմերների պարունակությունը որոշելու նպատակով, քանի որ D-ամինաթթուները (առաջին հերթին D-ալանինը) բակտերիաների բջջապատի բաղադրիչներ են, ուստի նրանց առկայությունը սննդամթերքներում հանդիսանում է բակտերիային վարակման ցուցանիշ [11]:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Ball J, Gannavaram S, Gadda G. Structural determinants for substrate specificity of flavoenzymes oxidizing d-amino acids. Arch Biochem Biophys., 660, 87-96, 2018.
2. Bolivar J.M., Nidetzky B. Oriented and selective enzyme immobilization on functionalized silica carrier using the cationic binding module Z basic2: design of a heterogeneous D-amino acid oxidase catalyst on porous glass. Biotechnol Bioeng. 109, 6, 1490-1498, 2012.
3. Errico F., Di Maio A., Marsili V., Squillace M., Vitucci D., Napolitano F., Usiello A., Bimodal effect of D-aspartate on brain aging processes: insights from animal models. J Biol Regul Homeost Agents, 27, 49-59, 2013.
4. Ferraris D.V., Tsukamoto T. Recent advances in the discovery of D-amino acid oxidase inhibitors and their therapeutic utility in schizophrenia. Curr Pharm Des. 17, 2, 103-11, 2011.
5. Khan .. Cao. Q. Latif. H. Vue X, zheng. H .." oil enzymatic actiItles and microbial community tructure with di fferent application rates of Cd and Pb'. 1. mironmentalcience19, 834-840, 2007.
6. Lin T.S., Tsai H.J., Lee C.H., Song Y.Q., Huang R.S., Hsieh-Li H.M. An improved drugs screening system reveals that baicalein ameliorates the Aβ/AMPA/NMDA-induced depolarization of neurons. J. Alzheimers Dis., 56, 959-976, 2017.
7. Madeira C., Lourenco M.V., Vargas-Lopes C., Suemoto C.K., Brandão C.O., Reis T.. D-Serine levels in Alzheimer's disease: implications for novel biomarker development. Transl. Psychiatry. 5, 561, 2015.
8. Murtas G., Sacchi S., Valentino M., Pollegioni L. Biochemical properties of human D-amino acid oxidase. Front. Mol. Biosci. 4, 88, 10.3389, 2017b.
9. Pollegioni L., Sacchi S., Murtas G. Human D-Amino Acid Oxidase: Structure, Function, and Regulation. Front Mol Biosci., 28, 107, 2018.
10. Sasabe J., Miyoshi Y., Rakoff-Nahoum S., Zhang T., Mita M., Davis B.M. Interplay between microbial D-amino acids and host D-amino acid oxidase modifies murine mucosal defence and gut microbiota. Nat. Microbiol. 1, 16125, 2016.

11. *Shoja Y., Rafati A.A.* “Enzymatic biosensor based on entrapment of d-amino acid oxidase on gold nanofilm/MWCNTs nanocompositemodified glassy carbon electrode by sol-gel network: Analytical applications for d-alanine in human serum”, *Enzyme Microb Technol.*,100, 20-27, 2017.
12. *Szilágyi B., Ferenczy G.G., Keserű G.M.* Drug discovery strategies and the preclinical development of D-amino-acid oxidase inhibitors as antipsychotic therapies. *Expert Opin Drug Discov.*, 13, 973-982,2018.
13. *Tan Q., Qiu J., Luo X., Zhang Y., Liu Y., Chen Y., Yuan J., Liao W.* Progress in One-pot Bioconversion of Cephalosporin C to 7-Aminocephalosporanic Acid. *Curr Pharm Biotechnol.*, 19, 30-42,2018.
14. *Yang Z.,Zheng.D.* "Effect of cadmium, Zinc and lead on soil enz) m activiti ". *J. Environmentcience*,18, 1135- 1141, 2006.

Ստացվել է 15.11.2018



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 1 (71), 2019

ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՄՈՒՖԼՈՆԻ ԵՎ ՀԻԲՐԻԴՆԵՐԻ (ՄՈՒՖԼՈՆ X ԸՆՏԱՆԻ ՈՉԽԱՐ) ԱՐՅԱՆ ՈՐՈՇ ՍԴԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ԲԱԶՄԱԶԵԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ԿԱՊԸ ԴԱԲԱՐԻ ՀԵՏ

Մ.Վ. ԲԱԴՅԱՆՅԱՆ, Գ.ՅՈՒ. ՄԱՐՄԱՐՅԱՆ

Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարան

badalyan.manvel@mail.ru

Ուսումնասիրվել է հայկական մուֆլոնի և մուֆլոն x ընտանի ոչխար տրամախաչումից ստացված հիբրիդների ալելոտիպերն ու գենոտիպերն ըստ տրանսֆերինի (Tf), ցերուլոպլազմինի (Cp), հեմոգլոբինի (Hb) լոկուսների և ոչխարների բնական դիմադրողականությունը դաբաղի նկատմամբ: Ցույց է տրվել, որ վիբրուսի տիտրը ամենացածրն է Tf-CC, Cp-AA և Hb-BC գենոտիպերով հիբրիդների մոտ, որոնք ցուցաբերում են բնական բարձր դիմադրողականություն դաբաղի նկատմամբ:

Արյան սպիտակուցներ – ալել – լոկուս – սպիտակուցների բազմաձևություն –
մուֆլոն – դաբաղ

Изучены аллелотипы и генотипы армянских муфлонов и гибридов (муфлон x домашняя овца) по локусам трансферрина (Tf), церулоплазмину (Cp), гемоглобина (Hb) и естественная устойчивость овец к ящуру. Было показано, что титр вируса самый низкий у гибридов с генотипами Tf-CC, Cp-AA и Hb-BC, которые проявляют естественную высокую устойчивость к ящуру.

Белки крови – аллель – локус – полиморфизм белков – Муфлон – ящур

Study of allelotypes and genotypes of armenian mouflon and hybrids (Mouflon X Domestic Sheep) according to Transferrin (Tf), Ceruloplasmin (Cp) and Hemoglobin (Hb) loci and relation with natural immunity to murrain were carried out. It was shown that the virus titer is the lowest in hybrids with Tf-CC, Cp-AA and Hb-BC genotypes, which produce a natural high resistance to murrain.

Blood proteins – allele – locus – polymorphism of proteins – mouflon – murrain

Գյուղատնտեսական կենդանիների գենետիկորեն պայմանավորված խմունիտետը ներկայումս համընդհանուր հիմնահարց է, իսկ բազմագենային պայմանավորվածություն ունեցող հատկանիշի համար գենետիկական մարկերների բացահայտումը խիստ այժմեական է և դեռ երկար ժամանակ կմնա ակտուալ [4, 6]:

Հետազոտությունները վկայում են [3], որ գոյություն ունի դրական կոռելյատիվ կապ սպիտակուցի տարբեր լոկուսների, ալելների հաճախականության, հոմոզիգոտ և հետերոզիգոտ վիճակների ու տնտեսական օգտակար հատկանիշների միջև: Ըստ մեզ հասած տվյալների տրանսֆերինի և ցերուլոպլազմինի լոկուսների առումով նման ուսումնասիրություններ քիչ են կատարվել, սակայն գոյություն ունեցողներից ուշադրության են արժանի Սադիկյուլովի և Կիմի հետազոտությունները: Նրանց ուսումնասիրության արդյունքում պարզվել է, որ TfCC-CpBB, TfAC-CpAB գենոտիպով կենդանիների համեմատությամբ ոչխարների դեգերյան ցեղի Tf AC-CpBB,

Tf CC-CpAB գենոտիպով կենդանիներն ունեցել են բարձր սպանդային ելք և 1-ին տեսակի մսեղիք: Առողջ սերնդի ստացումը և մատղաշի պահպանումը անասնաբուծության կարևոր կենսատնտեսական և տեխնոլոգիական հատկանիշներ են: Ոչխարի ֆինանսական լանդրաս ցեղի Tf AB գենոտիպով կենդանիները նշված ցուցանիշներով գերազանցում են մնացած բոլոր գենոտիպերով կենդանիներին [3]: Պրեկոս ցեղի ոչխարների Tf BC գենոտիպով մաքիները աչքի են ընկնում բազմապտղությամբ և մատղաշի պահպանությամբ [1]:

Ակնհայտ է, որ անասնաբուծության տարբեր ճյուղերի ինտենսիվացումը ուղղակի կապ ունի տարբեր հիվանդությունների կանխարգելման և բուժման հետ, քանի որ վերևիներս կենդանիների մոտ առաջ են բերում զգալի տնտեսական վնասներ, որոնք պայմանավորված են նրանց մթերատվության և պտղատվության անկմամբ, ստացվող մթերքների որակի և քանակի նվազմամբ, տոհմային աշխատանքի համար նրանց ոչ պիտանելիությամբ և այլն: Սովորաբար միկրոբային հիվանդությունները տեսակարար կշռով մեծ տեղ են գրավում այն դեպքում, երբ ներկայումս առավել պատշաճ տեղ է հատկացվում կենդանիների գենետիկական դիմադրողականության բարձրացման հիմնահարցերին: Այս ուղղությամբ մեր կողմից կատարված ուսումնասիրությունները վկայում են, որ միայն նպատակամետ ընտրասերմամբ և առանց լրացուցիչ ծախսերի հնարավոր է կենդանիներին զերծ պահել բազմաթիվ հիվանդություններից:

Նյութ և մեթոդ: Հայկական վայրի մուֆլոնից արյան նմուշառումը կատարվել է Երևանի կենդանաբանական այգում 4 տարեկան 3 արու մուֆլոններից, իսկ մուֆլոնի և ընտանի ոչխարի հիբրիդից արյան նմուշը հել ակտիվատոր պարունակող վակուումային փորձանոթների միջոցով վերցվել է ՀՀ ԳԱԱ Կենդանաբանության և հիդրոէկոլոգիայի գիտական կենտրոնի փորձարարական բազայում բուծվող 1.5-2 տարեկան 17 գլուխ կենդանիների լծային երակից: Արյան շիճուկը և հոմոլիզատը ստացվել է հայտնի մեթոդների շնորհիվ:

Էլեկտրոֆորեզի միջոցով ուսումնասիրվել է ոչխարների արյան Tf, Cp և Hb սպիտակուցների բազմաձևությունը:

Էլեկտրոֆորեզը իրականացվել է Դեյվիսի մեթոդով [5] 10 %-անոց պոլիակրիլամիդային ժելի վրա, Biometra ֆորմայի “Multigel-long” ֆորեզի ապարատով (աղ. 1):

Աղյուսակ 1. Արյան շիճուկի Tf, Cp և Hb սպիտակուցների էլեկտրոֆորեզի անհրաժեշտ պայմանները

Սպիտակուցը	Ժելը, %	Ժելիերկարությունը	Նմուշի տիպը	Բուժերը		Հոսանքի արումը, V	Ֆորեզի տևողությունը, ժամ
				Ժելային	Էլեկտրոդային		
Tf	10	12	1:2	0,05M տրիսHCL pH 8,8	0,016 M տրիսգլիցին pH 8,7	280	3
Cp	10	12	1:1	0,18 M տրիսHCL pH 8,8	0,016 M տրիսբորատ 9,0	290	2,5
Hb	10	12	1:1	0,2M տրիս-ցիտրատ pH 8,85	0,06 տրիս-բորատ pH 8,75	250	3,5

Ֆորեզի ավարտից հետո ժելը 60 րոպե տևողությամբ ֆիքսվել է էթանոլ, քացախաթթու, թորած ջուր (40:10:60) լուծույթում, որից հետո 30-60 րոպե ներկվել է կոմասի G-250 ներկով, այնուհետև 3 անգամ լվացվել լվացող բուժերով (քացախաթթվի 10%-անոց լուծույթ):

Ֆորեզարմի արդյունքները վերլուծվել են համապատասխան բանաձևերի միջոցով: Գենոտիպերի և ալելների հաճախականությունը որոշվել է հետևյալ բանաձևով՝

$$P_i = \frac{n_i}{N}$$

որտեղ՝ P_i -ն i ալելի հաճախականությունն է,
 n_i – ը՝ տվյալ ալելը կրող կենդանիների թիվը,
 N – ը՝ հետազոտվող կենդանիների ընդհանուր թիվը:

Առանձին լոկուսների համար գենոտիպերի հոմոզիգոտության բաժինը որոշվել է հետազոտվող կենդանիների ընդհանուր թվի սովորական համամասնության սկզբունքով:

Սպիտակուցների բազմաձևության ցուցանիշներով հոմոզիգոտության աստիճանը որոշվել է Յելդերմանի բանաձևով՝

$$SH = \sqrt{\frac{\sum (H_i - H)^2}{n}}$$

որտեղ՝ SH –ը մի քանի լոկուսներով հոմոզիգոտության միջին ցուցանիշն է,

H –ը ուսումնասիրվող հոմոզիգոտության միջին ցուցանիշն է,

n –ը ուսումնասիրվող լոկուսների քանակն է:

Մեր կողմից առաջին անգամ խնդիր է դրվել ուսումնասիրել հայկական մուֆլոնի և Նրա հիբրիդների տարբեր գենոտիպերով (ըստ Tf, Cp, Al լոկուսների) ոչխարների, պոլիմորֆ սպիտակուցների և արյան շիճուկում կառուցվածքային և ոչ կառուցվածքային սպիտակուցների առկայությունը, որը իրականացվել է իմունոֆերմենտային անալիզի (ELISA-At) միջոցով: Նման տեստերը հնարավորություն են ընձեռում բացահայտել դաբաղի վիրուսի շրջապտույտը զգայունակ կենդանիների օրգանիզմում:

Արդյունքներ և քննարկում: Հետազոտությունների վերլուծությունից (աղ. 2) ակնհայտ է դառնում, որ տրանսֆերինի լոկուսը հիբրիդների մոտ պոլիմորֆ է՝ կազմված A, C և D ալելներից, որոնց հաճախականությունը համապատասխանաբար հավասար է 0.42; 0.52 և 0.05: Ընդ որում, A ալելը հանդես է գալիս 2՝ AA (0.12) և AB (0.2) գենոտիպով: C ալելը նույնպես ձևավորում է 2 գենոտիպ՝ CC (0.2) և CD (0.23): Ինչ վերաբերում է D ալելին, ապա պետք է նշել, որ այն հանդես է գալիս մեկ գենոտիպով՝ DD: Լոկուսի հոմոզիգոտությունը կազմում է 47%:

Աղյուսակ 2. Հիբրիդների (Մուֆլոն x ընտանի ոչխար) գենետիկական կառուցվածքն ըստ Tf, Cp և Hb լոկուսների

Լոկուսը	n	Հաճախականությունը, P _i											Հոմոզիգոտության աստիճանը, %	
		Գենոտիպերը, %							Ալելները				ըստ առանձին լոկուսների	ըստ Tf, Cp, Hb լոկուսների
		AA	AB	BB	BC	CC	CD	DD	A	B	C	D		
Tf /տրանսֆերին/	17	0,12	0,2	-	-	0,2	0,23	0,05	0,42		0,52	0,05	47	29,5
Cp /ցերուլոպլազմին/	17	0,17	0,41	0,17	0,23	-	-	-	0,58	0,42	-	-	35,3	
Hb /հեմոգլոբին/	17	0,55	0,64	0	0,30	-	-	-	0,70	0,30	-	-	5,9	

Ցերուլոպլազմինի լոկուսը նույնպես պոլիմորֆ է՝ կազմված A (0.58) և B (0.42) ալելներից: A ալելը հանդես է գալիս մեկ հոմոզիգոտ՝ AA (0.17) և մեկ հետերոզիգոտ՝ AB (0.41) գենոտիպով:

Ցերուլոպլազմինի լոկուսի հոմոզիգոտության աստիճանը հավասար է 35.3 %: Հեմոգլոբինի 0 լոկուսի առումով պետք է նշել, որ այն նույնպես պոլիմորֆ է՝ կազմված A(0.70) և B (0.30) ալելներից: Հիբրիդների մոտ հեմոգլոբինի A ալելը ձևավորում է երկու գենոտիպ՝ AA (0.55) և AB (0.64), իսկ B ալելը՝ ընդամենը մեկ գենոտիպ՝ BC, որի հաճախականությունը հավասար է նույն ալելի հաճախականությանը (0.30): Լոկուսի հոմոզիգոտության աստիճանը հավասար է 5.9 %:

Ուսումնասիրվող երեք լոկուսների հիբրիդների հոմոզիգոտության աստիճանը հավասար է 29.5%:

Ինչ վերաբերվում է Հայկական մուֆլոնի ուսումնասիրված լոկուսներին (աղ. 3), պետք է նշել, որ ինչպես տրանսֆերինը, այնպես էլ ցերուլոպլազմինն ու հեմոգլոբինը մոնոմորֆ են՝ կազմված համապատասխանաբար TfA, CpA և HbA ալելներից, որոնց հաճախականությունը հավասար է 1-ի: Յուրաքանչյուր ալել դրսևորվում է 1 գենոտիպի տեսքով՝ TfAB, CpAB և HbAB, որոնց հաճախականությունը նույնպես հավասար է 1-ի:

Աղյուսակ 3. Վայրի մուֆլոնի գենետիկական կառուցվածքն ըստ Tf, Cp և Hb լոկուսների

Լոկուսը	n	Գենոտիպերը, %	Ալելները	Հոմոզիգոտությունն ըստ առանձին լոկուսների, %
Tf /տրանսֆերին/	3	AB	A	0
Cp /ցերուկալավին/	3	BC	B	0
Hb /հեմոգլոբին/	3	AB	A	0

Նման աղբատ ալելոֆոնդ և գենոտիպ ունենալը ըստ երևույթին պայմանավորված է երկարաժամկետ ինբրիդինգով, ինչն առկա է կենդանաբանական այգում: Հայկական մուֆլոնի ուսումնասիրված լոկուսների հոմոզիգոտությունը հավասար է 0%-ի:

Աղյուսակ 4. Հիբրիդների (մուֆլոն X ընտանի ոչխար) գենետիկական կառուցվածքն ըստ Tf, Cp և Hb լոկուսների և կապը կառուցվածքային և ոչ կառուցվածքային սպիտակուցների հետ

Լոկուսը/հակամարմինները		n	Գենոտիպերը, %						
			AA	AB	BB	BC	CC	CD	DD
Tf	կառուցվածքային	3	0	0	-	-	0	0	0
	ոչ կառուցվածքային	3	9.8	10.2	-	-	7.5	12.2	11.8
Cp	կառուցվածքային	3	0	0	0	0	-	-	-
	ոչ կառուցվածքային	3	8.7	11.3	13.6	11.4	-	-	-
Hb	կառուցվածքային	3	0	0	0	0	-	-	-
	ոչ կառուցվածքային	3	12.5	21.2	17.5	9.4	-	-	-

Աղ. 4-ի տվյալների վերլուծությունից ակնհայտ է դառնում, որ փորձնական կենդանիներից արյան նմուշառում կատարելու վեց ամիսների ընթացքում հակադաբաղային պատվաստում չի իրականացվել, քանի որ բոլոր գենոտիպերով կենդանիների մոտ կառուցվածքային սպիտակուցների (առաջանում են դաբաղի նկատմամբ զգայունակ կենդանիներին դաբաղի դեմ պատվաստելուց հետո) տիտրը բացակայել է:

Ինչ վերաբերվում է ոչ կառուցվածքային սպիտակուցներին (3ABC – հայտնաբերվում են կենդանու արյան շիճուկում դաբաղի վիրուսով վարակվելուց 2 շաբաթ անց), որոնք առաջանում են օրգանիզմում վիրուսի առկայության դեպքում՝ պետք է նշել, որ վիրուսի տիտրը ամենացածրն է Tf-CC (7.5), Cp-AA (8.7) և Hb -BC (9.4) գենոտիպերով հիբրիդների մոտ: Վերջինս վկայում է այն մասին, որ դաբաղի վիրուսի շրջապատույտի առկայության դեպքում՝ առանց բնորոշ կլինիկայի վերոնշյալ գենոտիպով կենդանիները ցուցաբերում են բնական բարձր դիմադրողականություն նշված հիվանդության նկատմամբ:

Միևնույն ժամանակ պետք է նշել, որ միևնույն պայմաններում բարձր դիմադրողականություն ունեցող կենդանիների ոչ կառուցվածքային սպիտակուցների տիտրը լինում է շատ ցածր կամ բացակայում է [7]:

Հայկական մուֆլոնի ուսումնասիրված լոկուսները մոնոմորֆ են, որտեղ հոմոզիգոտության աստիճանը հավասար է 0 %-ի, իսկ հիբրիդների մոտ հոմոզիգոտությունը կազմում է 29.5 %:

Դաբաղի նկատմամբ բնական բարձր դիմադրողականություն են ցուցաբերում Tf-CC (7.5), Cp-AA (8.7) և Hb -BC (9.4) գենոտիպերով հիբրիդները:

Ստացված արդյունքները, որպես գենետիկական մարկերներ, կարելի է օգտագործել ոչխարների ընտրասերման գործընթացում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Лазовский А.А.* Воспроизводительная способность овцематок в зависимости от разных типов уровня калия, гемоглобина и трансферрина. Научные основы развития животноводства в БССР, 5, с. 90-92, 1975.
2. *Садыкулов Т.С., Ким Г.Л.* Возможность использования некоторых полиморфных систем крови в селекции дегерских овец. Вест. с.-х. науки Казахстана, 8, с. 52-54, 1985.
3. *Atroshi F., Osterberg S.* Blood biochemical polymorphic trait sin relation to reproductive e performance in Finns-sheep. 30th Annual Meeting EAAP, p. 1-4, 1979.
4. *Badalyan M., Marmaryan G., Marmaryan Yu.* Polymorphism of Blood Serum Protein-Transferrin, Ceruloplasmin, Albumin – in Sheep of Karabakh Breed and the Relationship with the Natural Resistance Towards Epizootic Apathae. Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies, 51, 1, p. 92-96, 2018.
5. *Davis B.J.* Disc electrophoresis to human serum protein. Ann. N.-Y. Acad. Sci., 121, p. 404-427, 1964.
6. *Marmaryan G., Badalyan M., Kamalyan R.* Blood Protein Polymorphism of Small Cattle Bred in Armenia. Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies, 50, 1, p. 140-146, 2017.
7. *Pepoyan A.Z., Balayan M.A., Bezhanyan T., Badalyan M., Tsaturyan V., Melnikov V., Kamiya S., Natrebov and Chikindas M.* 5-Methylcytosine DNA Methylation Patterns among Gut Predominate Commensal Escherichia coli and Lactobacilli from the Balbas and Mazekh Domestic Sheep Breeds. Res Med Eng Sci., 3, 1, RMES.000513, p. 1-3, 2017.

Ստացվել է 17.12.2018



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 1(71), 2019

ԱՍՊԻՐԱԿԻ (*SPIRAEA* L.) ՆԵՐՄՈՒԾՎԱԾ ՏԵՍԱԿՆԵՐԻ ԲԱԶՄԱՑՄԱՆ ԱՌԱՋՆԱԴՏԱԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԵՐԵՎԱՆԻ ԲՈՒՄԱԲԱՆԱԿԱՆ ԱՅԳՈՒ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ն.Ն. ՄՈՒՐԱԴՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Ա. Թախտաջյանի անվ. Բուսաբանության ինստիտուտ
muradyann@list.ru

Ուսումնասիրվել են ասպիրակ ցեղի (*Spiraea* L.) բազմացման տեսակների հնարավորությունները Երևանի բուսաբանական այգու պայմաններում: Ասպիրակի տնկանյութի ստացման ամենաարդյունավետ եղանակներից են կտրոնավորումը և սերմերով բազմացումը: Բազմացման առանձնահատկությունների ուսումնասիրությունները կատարվել են Երևանի բուսաբանական այգում ներմուծված գեղազարդ ասպիրակների կտրոններով և տարբեր բուսաաշխարհագրական մարզերից ստացված սերմերով:

Սահմանվել է ուսումնասիրվող տեսակների սերմերով բազմացման և կտրոնավորման արդյունավետ ժամկետները:

Ներմուծում – բազմացում – հարմարողականություն – կտրոնավորում – արմատակալում

Изучались особенности размножения видов рода таволги (*Spiraea* L.) в условиях Ереванского ботанического сада. Наиболее эффективными способами получения посадочного материала являются черенкование и семенное размножение. Исследования проводились на декоративных видах таволги, интродуцированных в Ереванский ботанический сад ранее. Семена для интродукции были получены из различных ботанико-географических регионов мира.

Установлены эффективные сроки черенкования и семенного размножения изученных видов.

Интродукция – размножение – адаптация – черенкование – укоренение

Possibilities of reproduction of the species of genus *Spiraea* L. in the conditions of the Yerevan Botanical Garden were studied. The most effective methods to obtain planting material are propagation by cutting and seed breeding. The peculiarities of reproduction were investigated on the slips of decorative *Spiraea* species introduced in the Yerevan Botanical Garden earlier and on seeds obtained from different phyto-geographic regions. Effective periods for propagation by cutting and seed breeding of these species were found.

Introduction – breeding – adaptation – propagation by cutting – implanting

Բույսերի ներմուծման աշխատանքներում կարևորագույն խնդիր է ծառաբույսերի հարմարողականության ուսումնասիրումը գոյության նոր պայմաններում, տվյալ դեպքում Հայաստանի բուսաբանական այգիներում: Գեղազարդ թփերի ներմուծման և ներդնման հաջողությունը կանաչապատման պրակտիկայում մեծ չափով պայմանավորված է բազմացման արդյունավետ եղանակների կիրառմամբ:

Հայաստանի հանրապետության բաղաբների և բնակավայրերի կանաչապատման տեսակաշարում կարևոր տեղ է զբաղեցնում ասպիրակը, որի բարձր գեղազարդու-

թյունը և հարմարողականությունը տարբեր հողա-կլիմայական պայմաններին հնարավորություն են տալիս ավելի շատ տեսակներ ընդգրկել բուսաբանական այգիներում և տարբեր տիպի կանաչ տնկարկներում [1,2]:

Spiraea ցեղի ներկայացուցիչների մեծ մասն ունեն գեղեցիկ և ինքնատիպ սաղարթ, հեշտությամբ բազմանում են և առանձնապես պահանջկոտ չեն աճման պայմանների նկատմամբ:

Բազմացման առաջին փորձերը մշակության մեջ կատարվել են XVI դարում (*Spiraea flexuosa* Fisch.), 200 տարի անց մշակության մեջ են մտցվել *S. media* Fr. Schmidt, *S. chamaedryfolia* L. և *S. betulifolia* Pall. տեսակները [5]:

Բազմացման եղանակների մշակումը նպաստում է բարձր որակի և անհրաժեշտ բանակի տնկանյութի ստացմանը: Ասպիրանները բազմանում են սերմերով, կտրոններով, արմատային մացառներով և թփի կիսմամբ: Սերմերով կարելի է բազմացնել ասպիրակի բոլոր տեսակները, բացառությամբ հիբրիդային ծագման բույսերի: Վերջիններիս մոտ որպես կանոն սերմեր չեն ձևավորվում կամ ծլունակ չեն լինում, իսկ ծլունակ լինելու դեպքում պահպանվում են միայն մեկ ծնողական ձևի հատկանիշները: Այդ պատճառով էլ հիբրիդային տեսակները բազմանում են միայն վեգետատիվ ճանապարհով՝ կտրոններով և արմատային մացառներով:

Նյութ և մեթոդ: Ասպիրակ ցեղի բազմացման և տնկանյութի ստացման ամենաարդյունավետ եղանակներից են կտրոնավորումը և սերմերով բազմացումը: Փորձերը կատարել ենք վերջին 2-3 տարիների ընթացքում:

Վեգետատիվ բազմացման եղանակներից մեր կողմից կիրառվել է կտրոնավորումը: Կտրոններով բազմացման համար ելանյութ են ծառայել Երևանի բուսաբանական այգու տարբեր էկոլոգոաշխարհագրական հողամասերում աճող ասպիրակների տեսակները (*Spiraea japonica* L. f., *S. douglasii* Hook., *S. chamaedryfolia*, *S. x vanhouttei* (Briot) Zbl., *S. trilobata* L.):

Սերմերով բազմացման փորձերը կատարվել է հետևյալ տեսակների մոտ՝ *Spiraea alpina* Pall., *S. tomentosa* L., *S. decumbens* W. Koch, *S. betulifolia*, *S. sargentiana* Rehd., *S. media*, *S. mongolica* Maxim., *S. rosthornii* Pritz., *S. alba* Du Roi, *S. trichocarpa* Nakai, *S. fritschiana* C. K. Schneid, *S. blumei* G. Don, *S. salicifolia* L., *S. pubescens* Turcz., *S. douglasii* v *menziesii* (Hook.) Presl. և այլն: Նշված տեսակների սերմերը ստացել ենք սերմերի փոխանակման ցուցակների շնորհիվ (աշխարհի տարբեր ֆլորիստիկ մարզերից):

Արդյունքներ և քննարկում: Սերմերով բազմացումն ամենապարզ և ամենաարդյունավետ եղանակն է, որի ժամանակ բույսերի մոտ լավ ձևավորվում է արմատային համակարգը, ծաղկումն ավելի առատ է լինում: Բազմացման այս եղանակն ավելի երկարատև է, քանի որ առաջին տարում ձևավորվում է մեկ հզոր ընձյուղ, սերմնաբուսակը տարվա վերջում հասնում է ընդամենը 5-10 սմ բարձրության: Երկրորդ տարում սկսվում է արմատային համակարգի ակտիվ աճը և ձևավորվում է թուփը: Ծաղկումը տեղի է ունենում 3-4-րդ տարում: Սերմնային բազմացման թերությունն այն է, որ սերմերի մեծ մասը ծլունակ չեն լինում:

Ցանքները կատարվել են երկու ժամկետով՝ գարնանային (3-5 IV) և աշնանային (26-30 X): Ասպիրանների սերմերի ծլունակությունը պահպանվում է մինչև երկու տարի: Սերմերը ծլում են 2-4 շաբաթվա ընթացքում: Սեր պայմաններում բարձր ծլունակությամբ (80-100%) աչքի են ընկել հետևյալ տեսակները՝ *Spiraea alpina*, *S. betulifolia*, *S. media*, *S. sargentiana*, *S. mongolica*, *S. blumei*: Ծլունակության միջին ցուցանիշ (50-80%) է գրանցվել *S. fritschiana*, *S. rosthornii* տեսակների մոտ, ցածր տոկոս են կազմում (20-50%) *S. tomentosa*, *S. decumbens*, *S. trichocarpa* և այլ տեսակների սերմերը: *S. nipponica* Maxim., *S. pubescens*, *S. x cinerea* Zbl. տեսակների սերմերով բազմացման արդյունքները եղել են բացասական (ամենայն հավանականությամբ սերմերը որակյալ չեն եղել): Սերմերի որակը պայմանավորված է ինչպես տեսակին բնորոշ առանձնահատկություններով, այնպես էլ սերմերի ձևավորման տարում եղանակային պայմաններով:

Երևանի բուսաբանական այգում կատարված փորձերը ցույց են տվել, որ գարնանը կատարված ցանքերի դեպքում ավելի լավ արդյունք է գրանցվել:

Վեգետատիվ բազմացումը մեծ նշանակություն ունի բույսերի ներմուծման գործում: Ներմուծված բույսերը նոր հողա-կլիմայական պայմաններում կարող են ուշ մտնել ծաղկման և պտղաբերման շրջան, հետևաբար այդ բույսերի բազմացումը հնարավոր կլինի միայն վեգետատիվ ճանապարհով:

Աղյուսակ 1. *Spiraea* L. ցեղի ներմուծված տեսակների սերմնային բազմացման արդյունքները

Տեսակ	Բնական տարածման արեալ	Ցանքի ժամկետ	Ծլունակություն, %
<i>Spiraea alpina</i>	Արևելյան Ասիա, Սիբիր	3- 5 IV	80-100
<i>S. tomentosa</i>	Հյուս. Ամերիկա	3- 5 IV	20-50
<i>S. decumbens</i>	Եվրոպա	3- 5 IV	20-50
<i>S. betulifolia</i>	Արև. Ասիա, Հյուս. Ամերիկա	3- 5 IV	80-100
<i>S. sargentiana</i>	Արևելյան Ասիա	3- 5 IV	80-100
<i>S. media</i>	Արևելյան Ասիա, Եվրոպա	3- 5 IV	80-100
<i>S. mongolica</i>	Արևելյան Ասիա	3- 5 IV	80-100
<i>S. rosthornii</i>	Արևելյան Ասիա	26-30 X	50-80
<i>S. alba</i>	Հյուս. Ամերիկա	10-12 IV	20-50
<i>S. trichocarpa</i>	Արևելյան Ասիա	10-12 IV	20-50
<i>S. fritschiana</i>	Արևելյան Ասիա	10-12 IV	50-80
<i>S. blumei</i>	Արևելյան Ասիա	10-12 IV	80-100
<i>S. salicifolia</i>	Արև. Ասիա, Հյուս. Ամերիկա	26-30 X	20-50
<i>S. nipponica</i>	Արևելյան Ասիա	3- 5 IV	-
<i>S. pubescens</i>	Արևելյան Ասիա	26-30 X	-
<i>S. x cinerea</i>	Հիբրիդային ձև	26-30 X	-
<i>S. douglasii</i> v <i>menziesii</i>	Հյուս. Ամերիկա	3- 5 IV	20-50

Վեգետատիվ բազմացման առավելությունը կայանում է նրանում, որ պահպանվում է մայր բույսի բոլոր գեղագարդ հատկանիշները, ծաղկումը ավելի վաղ է սկսվում:

Ներկայումս կտրոնավորումը գեղագարդ թփերի բազմացման հիմնական եղանակներից է: Ընձյուղների ընտրման լավագույն ժամկետը վաղ գարունն է՝ մինչև հյուսիսային սկսվելը և բողբոջների բացվելը: Կտրոնավորման համար փայտացած ընձյուղները վերցրել ենք վաղ գարունը՝ նախորդ տարվա ընձյուղներից 8-10 սմ երկարությամբ: Հյուսվածքների առավելագույն խոնավացման համար կտրոնները 18-24 ժ տևողությամբ պահվում են ջրի մեջ, որից հետո տեղափոխվում սառը միջավայր և դրվում խոնավ ավազի մեջ: Արմատային հյուսվածքների ձևավորվելուց հետո բուսակը տեղափոխվում է հողի մեջ: Արմատային համակարգի ձևավորումը ավարտվում է երկրորդ տարում: Արմատակալման հաջողությունը կախված է կտրոնների մթերման ժամկետից, մայր բույսի տարիքից, ֆիզիոլոգիական վիճակից, ինչպես նաև՝ օդի ջերմաստիճանից և խոնավությունից [3]:

Արմատակալած կտրոններն անհրաժեշտ է տնկել բաց գրունտում, հաշվի առնելով առաջին ձմեռումից հետո պահպանված տնկանյութի տոկոսը, վեգետացիայի վերջում արմատային համակարգի վիճակը և երկրորդ տարվա աճը:

Աղյուսակ 2. *Spiraea* L. ցեղի ներմուծված տեսակների սերմնային կտրոնավորման արդյունքները

Տեսակ	Բնական տարածման արեալ	Կտրոնավորման ժամկետ	Արմատակալում, %
<i>Spiraea japonica</i>	Արև. Ասիա, Հիմալայներ	10-15 IV	70-80
<i>S. douglasii</i>	Հյուս. Ամերիկա	10-15 IV	70-80
<i>S. chamaedryfolia</i>	Արև., Կենտ. Ասիա, Եվրոպա	5-10 IV	55-70
<i>S. trilobata</i>	Արև., Կենտ. Ասիա, Սիբիր	10-15 IV	55-70
<i>S. x vanhouttei</i>	Հիբրիդային ձև	5-10 IV	70-80

Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ փորձարկված բոլոր տեսակները լավ են բազմանում կտրոնավորման եղանակով: Արմատակալման լավ ցուցանիշներ (70-80 %) են գրանցվել հատկապես հետևյալ տեսակների մոտ – *Spiraea japonica*, *S. douglasii*, *S. x vanhouttei*:

Վեգետատիվ բազմացումը հնարավորություն է տալիս կարճ ժամանակահատվածում ստանալ մեծ քանակությամբ որակյալ տնկանյութ:

Spiraea L. ցեղի ներմուծված տեսակները լավ են բազմանում նաև արմատային մացառներով: Արմատային մացառներ տալու ունակությամբ աչքի են ընկնում *Spiraea douglasii*, *S. chamaedryfolia*, *S. mongolica*, *S. japonica*, *S. x vanhouttei* և մի շարք այլ տեսակներ: Այս եղանակով բազմացման արդյունքները ցույց են տալիս, որ որքան շատ են ձևավորվում արմատային մացառները, այնքան ավելի երկարակյաց է լինում թուփը, սակայն արմատային մացառներից ձևավորված բույսի ցողունների երկարակեցությունը ավելի կարճ է լինում: Մայր բույսից առանձնացված արմատային մացառները շատ լավ աճում և արագ ձևավորվում են որպես ինքնուրույն բույս [6]:

Ասպիրակ ցեղի ներմուծված բոլոր տեսակները պահանջկոտ չեն հողի նկատմամբ, սակայն բնականաբար ավելի լավ աճում, բազմանում և առատ ծաղկում են սննդանյութերով հարուստ հողերում: Արմատային համակարգը մակերեսային է, այդ պատճառով չոր եղանակային պայմաններում անհրաժեշտ է կանոնավոր ջրել, հակառակ դեպքում՝ ծաղկումը թույլ կլինի, իսկ ծաղիկների գույնը խամրած [4]:

Ստացված արդյունքները թույլ են տալիս գնահատել ուսումնասիրվող տեսակների գեղազարդ հատկանիշները, հարմարողականությունը տարբեր հողա-կլիմայական պայմանների նկատմամբ:

Կատարված փորձերի և ստացված արդյունքների հիման վրա կարելի է եզրակացնել, որ գեղազարդ ասպիրակների արդյունավետ բազմացման համար պետք է հաշվի առնել կտրոնավորման և ցանքսի ժամկետները, սերմերի որակական հատկանիշները, կտրոնավորման համար մայր բույսի տարիքը, ֆիզիոլոգիական վիճակը: Ըստ փորձերի արդյունքների կտրոնների արմատակալումը տատանվում է 55-80 %-ի սահմաններում, սերմերի ծլունակությունը՝ 20-100%:

Spiraea L. ցեղի գեղազարդ նոր տեսակների ներմուծման, բազմացման աշխատանքները շարունակվում են և ստացված նոր տվյալները կիրառարարվեն մեր հետագա աշխատանքներում:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Аннотированный каталог деревьев и кустарников ботанических садов и дендропарков Армянской ССР. Бюлл. Бот. Сада АН АрмССР, 27, 164 с., 1985.
2. Вардадян Ж.А. Научные основы интродукции древесных растений в Армении. Ереван, 400 с., 2012.
3. Вардадян Ж.А., Манасян Г.Г., Гатрчян Г.М., Григорян Г.А. Особенности размножения некоторых декоративных древесных растений. Изв. Гос. Аграрн. Унив. Армении, 1, с. 20-25, 2011.
4. Мурадян Н.Н. Эколого-биологические аспекты интродукции представителей рода *Spiraea* L. в ботанических садах Армении. Тахтаджяния, 4, с. 113-117, 2018.
5. Плотникова Л.С. Размножение редких видов древесных растений СССР черенками. Бюлл. ГБС, 21, с. 13-21, 1981б.
6. Славкина Т.И. Дендрология Узбекистана т. 4. Ташкент, 368 с, 1972.

Ստացվել է 24.12.2018



Биол. журн. Армении, 1 (71), 2019

КОМБИНИРОВАНИЕ ИОНОВ Mg(II) И Fe(II) КАК ПОДХОД К ПОВЫШЕНИЮ ВЫХОДА ВОДОРОДА В *RHODOBACTER SPHAEROIDES*

Л.С. ГАБРИЕЛЯН

Ереванский госуниверситет, кафедра биохимии, микробиологии и биотехнологии
lgabrielyan@ysu.am

Исследовано влияние ионов металлов (Mg и Fe) в различных концентрациях и сочетаниях на фотоферментативное выделение водорода (H_2) пурпурной бактерией *Rhodobacter sphaeroides* MDC6522. Железо и магний относятся к микроэлементам, необходимым для роста и метаболизма пурпурных бактерий. Комбинированное действие 5 мМ Mg(II) и 80 мкМ Fe(II) повышало рост бактерии в 1.5 раза по сравнению с контрольным образцом. При этом, выход H_2 в *Rh. sphaeroides* возрастал в 2.3 раза, вероятно, за счет активации соответствующего фермента – нитрогеназы. Для определения роли протонной АТФазы в этом процессе было исследовано комбинированное действие данных ионов на АТФазную активность мембранных везикул *Rh. sphaeroides*. В присутствии 5 мМ Mg(II) и 80 мкМ Fe(II) АТФазная активность возрастала на 67 %, свидетельствуя о взаимосвязи между выходом H_2 и АТФазной активностью. Таким образом, комбинирование ионов железа и магния способствует фотовыделению H_2 *Rh. sphaeroides*. Полученные результаты важны для выявления регуляторных путей метаболизма H_2 в пурпурных бактериях.

Ионы металлов – фотовыделение водорода – параметры роста –
Rhodobacter sphaeroides

Ուսումնասիրվել է մետաղների (Mg և Fe) իոնների տարբեր կոնցենտրացիաների համակցված ազդեցությունը *Rhodobacter sphaeroides* MDC6522 ծիրանագույն բակտերիաներում ֆոտոֆերմենտատիվ ջրածնի (H_2) արտադրության վրա: Երկաթը և մագնեզիումը միկրոտարրեր են, որոնք անհրաժեշտ են ծիրանագույն բակտերիաների աճի և կյանքափոխանակության համար: 5 մՄ Mg(II) և 80 մկՄ Fe(II) համակցումը խթանում էր բակտերիայի աճման արագությունը 1.5 անգամ ստուգիչի համեմատությամբ: Ավելին, H_2 -ի ելքը *Rh. sphaeroides*-ում աճել է 2.3 անգամ, ինչը կարող է պայմանավորված լինել համապատասխան ֆերմենտի՝ նիտրոգենազի ակտիվացման հետ: Այս գործընթացում պրոտոնային ԱԵՖազի դերի պարզաբանման համար ուսումնասիրվել է տվյալ իոնների համակցված ազդեցությունը *Rh. sphaeroides*-ի թաղանթային բշտիկների ԱԵՖազային ակտիվության վրա: 5 մՄ Mg(II) և 80 մկՄ Fe(II) առկայությամբ ԱԵՖազային ակտիվությունը աճել է 67 %-ով, վկայելով H_2 -ի ելքի և ԱԵՖազային ակտիվության փոխկապակցվածության մասին: Այսպիսով, երկաթի և մագնեզիումի իոնների համակցումը խթանում է *Rh. sphaeroides*-ում H_2 -ի ֆոտոարտադրությունը: Ստացված տվյալները կարևոր են ծիրանագույն բակտերիաներում H_2 -ի կյանքափոխանակության կարգավորման ուղիների պարզաբանման համար:

Մետաղների իոններ – ջրածնի ֆոտոարտադրություն – աճման չափանիշներ –
Rhodobacter sphaeroides

The effect of metal (Mg and Fe) ions in different concentrations and combinations on photo-fermentative H_2 production by purple bacteria *Rhodobacter sphaeroides* MDC6522 has been determined. Iron and magnesium are microelements, which are necessary for the growth and metabolism of purple bacteria. The simultaneous addition of 5 mM Mg(II) and 80 μ M Fe(II)

enhanced bacterial growth rate by ~1.5-fold, in comparison to control sample. Moreover, the H₂ yield in *Rh. sphaeroides* was enhanced by ~2.3-fold, which can be connected with activation of the corresponding enzyme, nitrogenase. For revealing the role of proton ATPase the effect of these metal ions combination on ATPase activity of *Rh. sphaeroides* membrane vesicles has been studied. In the presence of 5 mM Mg(II) and 80 μM Fe(II) stimulation of ATPase activity by 67 % was observed, testifying a relationship between the yield of H₂ and ATPase activity. Thus, the combination of iron and magnesium ions stimulates the H₂ photoproduction by *Rh. sphaeroides*. The obtained results are significant for revealing the regulatory pathways of H₂ metabolism in purple bacteria.

Metal ions – hydrogen photoproduction – growth properties – Rhodobacter sphaeroides

Молекулярный водород (H₂) является перспективным источником экологически чистой энергии и может сыграть важную роль в энерготехнологиях будущего. Первые работы о биологическом выделении молекулярного водорода (H₂) посвящены пурпурным бактериям, представители которых способны выделять H₂ в фотогетеротрофных условиях, а также при азотфиксации [1,2,10,14]. Впервые Гест и Камен описали процесс светозависимого выделения H₂ пурпурной бактерией *Rhodospirillum rubrum*, получивший название “фотовыделения водорода” [1]. В процессе бескислородного фотосинтеза, осуществляемого пурпурными бактериями, различные органические кислоты (янтарная, яблочная и др.) могут расщепляться до протонов, CO₂ и H₂ [2,5,14]. После поглощения кванта света светособирающим комплексом энергия возбуждения достигает реакционного центра и электрон переносится к убихинону и комплексу цитохром *bc*₁. Циклический перенос электрона завершается восстановлением фотоокисленного РЦ цитохромом *c*₂ и генерацией протонного градиента, который используется для переноса электронов к ферредоксину, а также для синтеза АТФ протонной АТФазой. Затем ферредоксин и АТФ участвуют в производстве H₂ при участии нитрогеназы. Это так называемый “фотоферментативный” путь выделения водорода [5,10,14].

Ионы металлов, таких как железо (Fe), магний (Mg), молибден (Mo) и другие, необходимы для роста и метаболизма большинства микроорганизмов [3, 4, 7, 13, 15]. Fe и Mg являются компонентами питательной среды пурпурных бактерий [3, 6, 8, 9]. Fe входит в состав ферментов, участвующих в метаболизме H₂ в пурпурных бактериях, нитрогеназы и мембраносвязанной гидрогеназы, а также в состав переносчиков фотосинтетической электронтранспортной цепи – ферредоксина и цитохромов [2, 3, 8, 9]. Ион магния является активатором разных ферментов, а также входит в состав клеточных стенок, плазматических мембран и фотосинтетических пигментов – хлорофиллов и бактериохлорофиллов [6,9].

В ряде работ исследовано действие ионов разных металлов на параметры роста и жизнедеятельность различных бактерий [7-9,14]. Трчуняном и соавторами [12] показано стимулирующее действие ионов разных металлов и их сочетаний на процессы темнового выделения H₂ *Escherichia coli*. Однако данные о комбинированном действии ионов металлов на фотоферментативное выделение H₂ отсутствуют.

Целью настоящей работы является изучение влияния Mg(II) и Fe(II) в различных концентрациях и сочетаниях на фотоферментативное выделение H₂ *Rhodobacter sphaeroides* MDC6522, выделенной из минеральных источников Армении. Данное исследование поможет найти оптимальные комбинации ионов железа и магния для увеличения эффективности производства H₂. Полученные результаты важны для выявления регуляторных путей метаболизма H₂ в пурпурных бактериях.

Материал и методика. В работе использовалась пурпурная несерная бактерия *Rh. sphaeroides*, шт. MDC6522 (Центр депонирования микроорганизмов НАН Армении, Ереван, Армения, WDCM803). *Rh. sphaeroides* выращивались в анаэробных условиях на питательной среде Ормерода, содержащей сукцинат (30 мМ) в качестве источника углерода и дрожжевый экстракт (2 г/л) в качестве источника азота и витаминов, в термостате типа ТПС-3 при pH 7.5±0.2, температуре 30±0.2 °C и освещении 2000 люкс [4,5]. Удельную скорость роста (μ) определяли как частное от деления $0.693 (\ln 2)$ на время удвоения ОП в интервале, когда изменение ОП во времени носило линейный характер: $\mu = 0.693/\tau$, где τ – время удвоения ОП суспензии бактерий [4,5]. Для освещения использовали галогеновые лампы (мощность – 60 Вт). Интенсивность света измеряли люксметром LM37 (Carl Roth, Germany). Рост *Rh. sphaeroides* контролировали путем измерения оптической плотности (ОП) суспензии на спектрофотометре Spectro UV-Vis Auto (Labomed, США) при длине волны 660 [4,5]. Ионы металлов добавляли непосредственно в питательную среду в виде солей ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$): Mg(II) в концентрации 1, 5 и 10 мМ; Fe(II) – 40 и 80 мкМ.

Для определения величины окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) использовали цифровые иономеры И-160 МП (Гомельский завод измерительных приборов, г. Гомель, Беларусь) с платиновым (ЭПВ-01) и титан-силикатным (ЭО-21) электродами, как описано ранее [4,5]. Выход H_2 рассчитывали по изменению величины ОВП и выражали в ммоль H_2 /л культуры [4,6]. АТФазную активность определяли по высвобождению неорганического фосфора ($\text{P}_\text{н}$) после реакции суспензии мембранных везикул с АТФ и выражали в количестве $\text{P}_\text{н}$, высвобождаемого в единицу времени на мг белка. Количество $\text{P}_\text{н}$ определяли колориметрически по методу Тауски и Шора [4, 5].

В работе использовали реактивы аналитической чистоты (Carl Roth GmbH, Германия, Sigma Aldrich, США). Приводятся средние данные из 3-5 независимых экспериментов со стандартной ошибкой [4].

Результаты и обсуждение. В данной работе исследовали комбинированное действие различных концентраций ионов Mg(II) и Fe(II) на параметры роста (оптическая плотность, удельная скорость роста и ОВП среды) пурпурной бактерии *Rh. sphaeroides* MDC6522. Fe(II) и Mg(II) являются компонентами питательной среды Ормерод пурпурных бактерий (в концентрации 1 мМ Mg(II) и 40 мкМ Fe(II)).

Все комбинации ионов стимулировали рост *Rh. sphaeroides*, что указывает на то, что Mg(II) и Fe(II) способствуют росту фототрофных бактерий (рис. 1А). Интересным является тот факт, что данный штамм *Rh. sphaeroides* не способен к росту в отсутствие ионов Mg(II) , подтверждая необходимость данного иона для фотосинтезирующих бактерий [6]. Как известно, магний входит в состав основного фотосинтетического пигмента пурпурных бактерий – бактериохлорофилла.

Также было исследовано действие ионов металлов на удельную скорость роста *Rh. sphaeroides*. В присутствии 80 мкМ Fe(II) и разных концентраций Mg(II) удельная скорость роста была выше, чем у контрольного образца (40 мкМ Fe(II) и 1 мМ Mg(II)) (рис. 1Б). Наиболее интенсивный рост наблюдался в присутствии 80 мкМ Fe(II) и 5 мМ Mg(II) : удельная скорость роста превышала скорость роста контроля в ~1.5 раза (рис. 1Б). В *E. coli* Fe(II) может переноситься неспецифической системой переноса магния *CorA* наряду с Mg(II) [11]. Наличие таких систем важно для бактерий, живущих в анаэробных условиях [11].

Как известно, в процессе фототрофного роста *Rh. sphaeroides* наблюдается синтез фотосинтетического аппарата, который представлен двумя светособирающими комплексами (B800-850 and B875), окружающими реакционный центр [12].

В состав светособирающих комплексов входят белки и фотосинтетические пигменты (бактериохлорофилл (Бхл) *a* и каротиноиды). Для исследования действия ионов металлов на формирование фотосинтетического аппарата были получены спектры поглощения клеток *Rh. sphaeroides*, выращенных в присутствии Fe(II) и Mg(II) .

Как показано на рис. 2, во всех спектрах поглощения в диапазоне длин волн 400–1000 нм наблюдаются несколько максимумов, типичных для пурпурных бактерий [6,12].

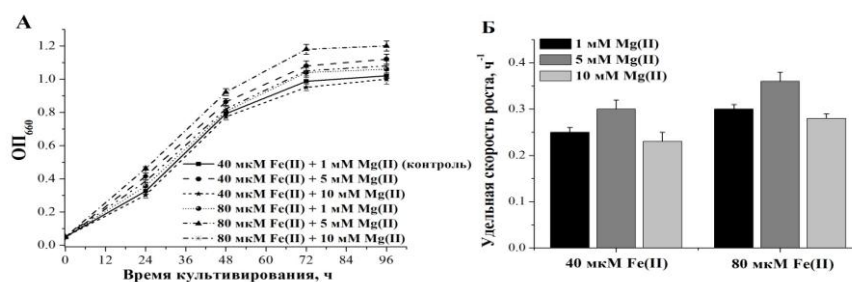


Рис. 1. Изменение оптической плотности (А) и удельной скорости роста (Б) *Rh. sphaeroides* MDC6522 при комбинированном действии Fe(II) и Mg(II)

Эти максимумы указывают на наличие каротиноидов (450, 478 и 510 нм) и Бхл *a* (590, 800, 850 и 875 нм), соответственно.

Как показано на рис. 2, разные концентрации Fe(II) и Mg(II) влияют на формирование фотосинтетических пигментов *Rh. sphaeroides*. При добавлении 80 мкМ Fe(II) и 5 мМ Mg(II) наблюдается рост максимумов поглощения, типичных для каротиноидов, и уровня комплекса В800-850 (рис. 2). Известно, что комплекс В800-850 участвует в аккумуляции и передаче световой энергии реакционному центру.

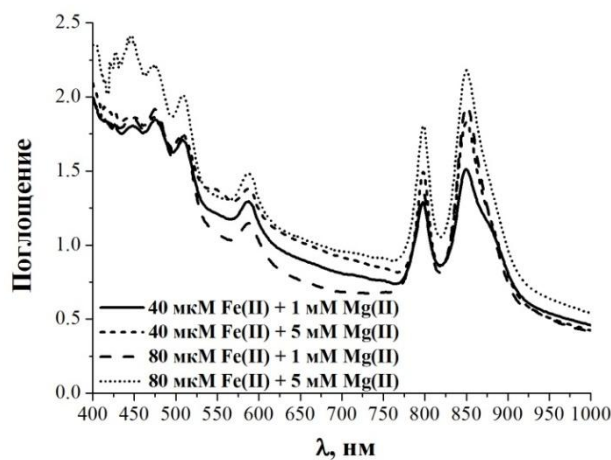


Рис. 2. Спектры поглощения суспензии *Rh. sphaeroides* MDC6522, выращенной в анаэробных условиях при освещении в присутствии Fe(II) и Mg(II)

Окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) среды – важный параметр, определяющий анаэробный рост бактерий [5,13,15]. ОВП суспензии *Rh. sphaeroides*, измеряемый платиновым электродом, постепенно снижался при наличии в среде ионов металлов. Падение ОВП было наиболее интенсивным (-725 ± 20 мВ) в присутствии 80 мкМ Fe(II) и 5 мМ Mg(II) (рис. 3А).

Падение ОВП указывает на повышение восстановительных процессов, связанных с формированием конечных продуктов брожения, а также может свидетельствовать о производстве H₂ [5, 13].

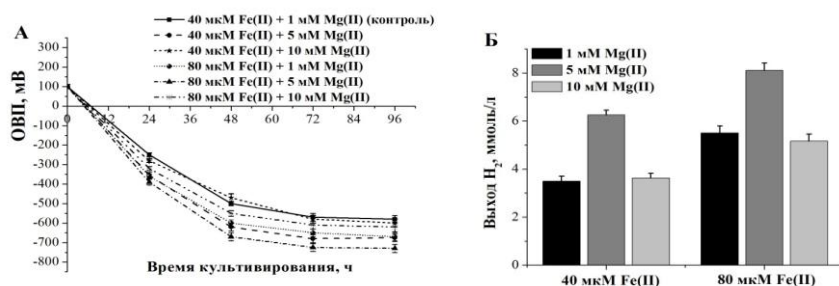


Рис. 3. Комбинированное действие Fe(II) и Mg(II) на ОВП среды и выход H_2 в *Rh. sphaeroides* MDC6522 в процессе анаэробного роста при освещении

Обнаружено, что выход H_2 в среде с 80 мкМ Fe(II) и 5 мМ Mg(II) в 2.3 раза превышает выход водорода в контрольном образце (40 мкМ Fe(II) и 1 мМ Mg(II)) (рис. 3Б). Выход H_2 в среде с 40 мкМ Fe(II) и 10 мМ Mg(II) совпал с выделением H_2 в контрольном образце (рис. 3Б). Увеличение выхода H_2 возможно за счет активации соответствующего фермента – нитрогеназы. Интересным является тот факт, что в отсутствие в среде Fe(II) выделения H_2 не происходило (не показано). Таким образом, увеличение концентрации ионов железа и магния и их комбинирование заметно повышают выход H_2 в *Rh. sphaeroides* в процессе анаэробного роста при освещении.

Для определения механизмов выделения H_2 и роли протонной F_0F_1 -АТФазы в этом процессе было исследовано комбинированное действие ионов Fe(II) и Mg(II) на N,N' -дициклогексилкарбодиимид (ДЦКД)-чувствительную АТФазную активность мембранных везикул *Rh. sphaeroides*. При добавлении 80 мкМ Fe(II) и 1-5 мМ Mg(II) АТФазная активность возрастала на 33 и 67 %, соответственно (рис. 4). Полученные данные свидетельствуют о взаимосвязи между выходом водорода и АТФазной активностью. Кроме того, отмеченные ионы металлов могут взаимодействовать непосредственно с протонной АТФазой, повышая выход H_2 .

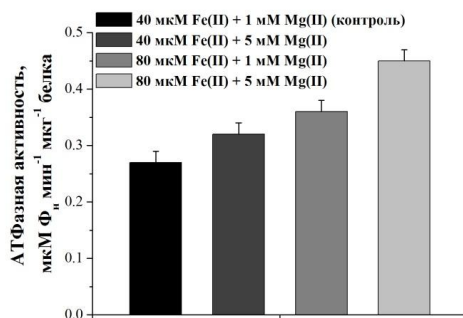


Рис 4. АТФазная активность мембранных везикул *Rh. sphaeroides* при комбинированном действии Fe(II) и Mg(II)

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что Fe(II) и Mg(II) влияют на фототрофный рост бактерии *Rh. sphaeroides*. Комбинированное действие ионов металлов выражается в повышении выделения H_2 *Rh. Sphaeroides*. В отсутствие Fe(II) выделения H_2 не происходит, что подтверждает важную роль данного иона в производстве водорода. Более того, при комбинированном действии наблюдается рост максимумов поглощения, типичных для каротиноидов, и уровня светособирающих комплексов В800-850. Эти комплексы участвуют в аккумуляции и передаче световой энергии реакционному центру, тем самым повышая выход H_2 . Кроме того, данные ионы влияют на ДЦКД-чувствительную АТФазную активность мембранных везикул *Rh. sphaeroides*, свидетельствуя о взаимосвязи между выходом водорода и мембраносвязанной протонной АТФазой.

Пути повышения выхода H_2 пурпурными бактериями включают исследования новых аспектов в метаболизме водорода путем регулирования активности мембраносвязанных ферментов. Полученные данные помогут найти новые пути регуляции фотовыделения H_2 .

ЛИТЕРАТУРА

1. Кондратьева Е.Н., Гоготов И.Н. Молекулярный водород в метаболизме микроорганизмов. М., Наука, 344 с., 1981.
2. Цыганков А.А., Хуснутдинова А.Н. Участие H_2 в метаболизме пурпурных бактерий и перспективы практического использования. Микробиол., 84, 3-26, 2015.
3. E., Gündüz U., Yücel M., Eroglu I. Effect of iron and molybdenum addition on photofermentative hydrogen production from olive mill wastewater. Int. J. Hydrogen Energy, 36, 5895-5903, 2011.
4. Gabrielyan L., Hakobyan L., Trchounian A. Comparative effects of Ni(II) and Cu(II) ions and their combinations on redox potential and hydrogen photoproduction by *Rhodobacter sphaeroides*. J. Photochem. Photobiol., 164, 271-275, 2016.
5. Gabrielyan L., Sargsyan H., Trchounian A. Novel properties of photofermentative biohydrogen production by purple bacteria *Rhodobacter sphaeroides*: effects of protonophores and inhibitors of responsible enzymes. Microb. Cell Fact., 14, 131-140, 2015.
6. Hakobyan L., Gabrielyan L., Trchounian A. Ni (II) and Mg (II) ions as factors enhancing biohydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides* from mineral springs. Int. J. Hydrogen Energy, 37, 7486-7491, 2012.
7. Gou Ch., Guo J., Lian J., Guo Y., Jiang Z., Yue L., Yang J. Characteristics and kinetics of biohydrogen production with Ni^{2+} using hydrogen-producing bacteria. Int. J. Hydrogen Energy, 40, 161-167, 2015.
8. Kars G., Gündüz U., Yücel M., Türker L., Eroglu I. Hydrogen production and transcriptional analysis of *nifD*, *nifK* and *hupS* genes in *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001 grown in media with different concentrations of molybdenum and iron. Int. J. Hydrogen Energy, 31, 1536-1544, 2006.
9. Liu B.F., Ren N.Qi., Ding J., Xie G.J., Guo W.Q. The effect of Ni^{2+} , Fe^{2+} and Mg^{2+} concentration on photo-hydrogen production by *Rhodospseudomonas faecalis* RLD-53. Int. J. Hydrogen Energy, 34, 721-726, 2009.
10. Mishra P., Krishnan S., Rana S., Singh L., Sakinah M., Ab Wahid Z. Outlook of fermentative hydrogen production techniques: An overview of dark, photo and integrated dark-photo fermentative approach to biomass. Energy Strategy Rev., 24, 27-37, 2019.
11. Nies D.H. Microbial heavy-metal resistance. Appl. Microbiol. Biotechnol., 51, 730-750, 1999.
12. Tavano C.L., Donohue T.J. Development of the bacterial photosynthetic apparatus. Curr. Opin. Microbiol., 9, 625-631, 2006.

13. Trchounian K., Poladyan A., Trchounian A. Optimizing strategy for *Escherichia coli* growth and hydrogen production during glycerol fermentation in batch culture: Effect of some heavy metals and their mixture. *Appl. Energy*, 177, 335-340, 2016.
14. Trchounian K., Sawers R.G., Trchounian A. Improving biohydrogen productivity by microbial dark-and photo-fermentations: Novel data and future approaches. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 80, 1201-1216, 2017.
15. Vardanyan Z., Trchounian A. Cu(II), Fe(III) and Mn(II) combinations as environmental stress factors have distinguishing effects on *Enterococcus hirae*. *J. Environ. Sci.*, 28, 95-100, 2015.

Поступила 24.12.2018



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

Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 1 (71), 2019

**ՈՒՍԱՆՈՂՆԵՐԻ ՍՐՏԻ ՌԻԹՄԻ ՅՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ
ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՎԵՐԼՈՒԾՈՒԹՅՈՒՆ ՕՐԱԿԱՆ
ՈՒՍՈՒՄՆԱԿԱՆ ԾԱՆՐԱԲԵՌՆՎԱԾՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԱՐՈՄԱՇՏԿԱՆ
ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ**

Է.Ս. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Ծ.Ի. ԱՂԱՄՅԱՆ, Ս.Մ. ՄԻՆԱՍՅԱՆ, Լ.Է. ՂՈՒԿԱՍՅԱՆ

ԵՊՀ, Տ. Մուշեղյանի անվան մարդու և կենդանիների ֆիզիոլոգիայի ամբիոն
emma.gevorkyan@ysu.am

Ուսումնական ծանրաբեռնվածության ընթացքում և նարդոսի եթերայուղով արոմաշտկման պայմաններում ուսումնասիրվել են ուսանողների սրտի ռիթմի կարգավորիչ մեխանիզմների ակտիվությունը բնորոշող ցուցանիշների փոփոխությունները: Ուսումնական գործընթացի մեջ օրգանիզմի գործառական համակարգերի ներգրավման ընթացքում նարդոսի եթերայուղի կիրառումն առողջ ուսանողների սրտի ռիթմի ցուցանիշների վրա թողնում է էական շտկող ազդեցություն, պահպանելով սիմպաթիկ նյարդային համակարգը գերլարվածությունից:

Սրտի ռիթմ-ուսումնական ծանրաբեռնվածություն-եթերայուղ-նարդոս

В процессе учебной нагрузки и при ароматкоррекции эфирным маслом лаванды изучены сдвиги показателей активности регуляторных механизмов ритма сердца студентов. Показано, что использование масла лаванды в период вовлечения функциональных систем организма в процесс обучения защищает симпатическую нервную систему от перенапряжения, оказывая тем самым корректирующее влияние на показатели ритма сердца здоровых студентов.

Ритм сердца – учебная нагрузка – эфирное масло – лаванда

The alterations in the activity indicators of the regulatory mechanisms of the heart rhythm of students have been studied during the cognitive load and under aromatic correction by essential oil of lavender. It is shown that the use of lavender oil during the period of involvement of the body's functional systems in the learning process protects the sympathetic nervous system from overexertion, thus providing a corrective effect on the heart rate indicators of healthy students.

heart rhythm – cognitive load – essential oil – lavender

Վերջին տարիներին ուսանողների շրջանում դիտվում է տարատեսակ հոգեմարմնական հիվանդությունների զգալի աճ: Սովորողների հոգեֆիզիոլոգիական վիճակի վրա անդրադառնում են տարատեսակ գործոններ՝ առողջական վիճակը, տարիքը, սեռը, աշխատունակությունը, օրվա ռեժիմը և այլն: Ուսանողների համար լուրջ փորձություն է հանդիսանում նաև տեղեկատվական գերբեռնվածությունը, որը հաճախ հանգեցնում է ժամանակի պակասի և որպես հետևանք՝ զարգացող հոգնածությամբ պայմանավորված աշխատունակության անկման [5, 6, 9, 11]: Ուսումնական օրվա ընթացքում աշխատունակության գործընթացը բնութագրվում է երեք փուլերով՝ ներգրավում, կայունացում և անկում: Շաբաթական ուսումնական գործընթացում մտավոր աշխատունակությունը բնութագրվում է գործառական համակարգերի ներգրավմամբ՝ ուսումնական օրվա և շաբաթվա սկզբում և հոգնածության զարգացմամբ՝ վերջում [1, 3]:

Ուսումնական ծանրաբեռնվածության բացասական ազդեցությունը շտկելու նպատակով կիրառվում են մի շարք ոչ դեղորայքային եղանակներ: Հոտավետ նյութերի կարգավորիչ ազդեցությունը պայմանավորված է օրգանիզմի հարմարողական և գործառնական հնարավորությունների կենտրոնացման հետ: Մեր նպատակն է եղել ուսումնասիրել ուսանողների սրտի ռիթմի կարգավորիչ մեխանիզմների ակտիվությունը բնորոշող ցուցանիշների փոփոխությունները օրական ուսումնական ծանրաբեռնվածության ընթացքում և նարդոսի եթերայուղով արոմաշտկման պայմաններում: Նարդոսը իջեցնում է արյան շիճուկի մեջ կորտիզոլի քանակը և բարելավում արյան հոսքը [12, 14], ունի հանգստացնող ազդեցություն և կարող է դրական անդադառնալ օրգանիզմի մի շարք գործառնությունների վրա:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտությունները կատարվել են ԵՊՀ-ի կենսաբանության ֆակուլտետների 18-19 տարեկան 20 կամավոր ուսանողների վրա: Բոլոր հետազոտվողները եղել են առողջ, սակայն դասերից առաջ ունեցել են որոշ հոգեմարմնական բողոքներ՝ տագնապայնություն, անհանգստություն, լարվածություն և այլն: Հետազոտությունն իրականացվել է երեք փուլով՝ առաջին դասից առաջ, առաջին դասից հետո, վերջին դասից հետո: Հետազոտությունները իրականացվել են նույն ուսանողների վրա երկու տարբերակով: Առաջին տարբերակում ցուցանիշները գրանցվել են առանց որևէ ներգործության և համարվել են ստուգիչ: Երկրորդ տարբերակում իրականացվել է արոմաշտկում՝ ուսանողները լսարանում առաջին դասի ընթացքում սառը ինհալացիայի միջոցով ենթարկվել են նարդոսի եթերայուղի ազդեցությանը: Օգտագործվել է նարդոսի մաքուր եթերայուղ (արտադրող՝ ԲԲԸ «Բնական յուղեր», TY 9158-004-08628011-00): Ուսումնասիրությունները իրականացվել են երկուշաբթի օրերին: Սիրտ-անոթային համակարգի գործառնական հնարավորությունների գնահատման համար իրականացվել է ԷՍԳ-ի գրանցում և վերլուծություն Բանասկու վարիացիոն պոլսագրաֆիան եղանակով: Այդ նպատակով կիրառվել է ծրագրային համալիր, որն իր մեջ միավորում է «Bio-Arm 001» մոդելի շարժական էլեկտրոսրտագրիչ և համակարգիչ՝ օժտված ԷՍԳ-ի ավտոմատ գրանցման և սրտի ռիթմի վարիացիոն պոլսագրաֆիան վերլուծության ծրագրերով: Յուրաքանչյուր հետազոտական իրավիճակում ամեն հետազոտվողի համար վերլուծվել են ԷՍԳ-ի երեքական 5 րոպեանոց հատվածներ: ԷՍԳ-ի ուսումնասիրության և վերլուծության ծրագրերը կազմվել են Սրտաբանության Եվրոպական ասոցիացիայի և էլեկտրոֆիզիոլոգիայի և առիթմոլոգիայի Հյուսիս-Ամերիկյան ասոցիացիայի չափանիշների համաձայն:

Ուսումնասիրվել են հետևյալ ցուցանիշները՝ pNN50 (%) – միմյանցից ավելի քան 50 մվ-ով տարբերվող իրար հաջորդող նորմալ R–R ինտերվալների (N–N ինտերվալներ) տոկոսը, արտացոլում է պարասիմպաթիկ նյարդային համակարգի ակտիվությանը; RMSSD (մվ) – արտացոլում է պարասիմպաթիկ նյարդային համակարգի ազդեցությունը սրտի ռիթմի վրա և շնչառական սինուսային առիթմիան; հիստոգրաֆիկ՝ Mo (վ) – մոդա, կարդիոինտերվալների առավել հաճախ հանդիպող մեծությունը; AMo (%) – մոդայի տատանասահման, մոդայի հանդիպման հաճախությունը տոկոսով; Δx(վ) – վարիացիոն թափ, կարդիոինտերվալների մաքսիմալ և մինիմալ նշանակությունների միջև տարբերությունը; ինտեգրալային L3 – լարվածության ցուցիչ, արտացոլում է սրտի ռիթմի կարգավորման կենտրոնացման աստիճանը; V3S – վեգետատիվ հավասարակշռության ցուցիչ; ԿԳԱՑ – կարգավորող գործընթացների աղեկավարության ցուցիչ; Ռ-ՎՑ – ռիթմի վեգետատիվ ցուցիչ; սպեկտրալ՝ HF (մվ² կամ %) – սպեկտրի հզորությունը բարձր հաճախության տիրույթում (0,15-0,4 Հց); LF (մվ² կամ %) – սպեկտրի հզորությունը ցածր հաճախության տիրույթում (0,04-0,15 Հց); VLF (մվ² կամ %) – սպեկտրի հզորությունը շատ ցածր տիրույթում (0,003-0,04 Հց); TP (մվ²) – սպեկտրի ընդհանուր հզորություն, բնութագրում է սրտի ռիթմի տատանողականության աստիճանը, պարասիմպաթիկ օղակի ակտիվացումը հանգեցնում է TP-ի արժեքի մեծացմանը, իսկ սիմպաթիկ նյարդային համակարգի ազդեցության դեպքում դիտվում է հակառակ արդյունք: LF/HF – սիմպաթո-պարասիմպաթիկ հավասարակշռության ցուցիչ:

Հաշվարկվել են նաև՝ SD1, SD2 – սպեկտրագրերում ավտոռեգրեսիոն ամպի չափերը; ԿՀԱՑ – կարգավորող համակարգերի ակտիվության ցուցիչը:

Ուսանողների հոգեմարմնական վիճակը գնահատվել են անհատական հարցման եղանակով: Ստաված տվյալների վիճակագրական մշակումը կատարվել է «Biostat» ծրագրով, ըստ Ստյուդենտի t չափանիշ:

Արդյունքներ և քննարկում: Հետազոտություններից առաջ հետազոտվողները ունեցել են հուզական լարվածության բարձր ցուցանիշներ: Ստուգիչ խմբում հետազոտությունների ընթացքում սրտի ռիթմի տատանողականության բնութագրերի դինամիկայի վերլուծությունը ցույց է տվել, որ մեկժամյա ուսումնական ծանրաբեռնվածությունից հետո (ներգրավման շրջան) ուսանողների մեծ մասի մոտ նկատվում է սրտի ռիթմի կարգավորիչ մեխանիզմների լարվածություն, ինչը դրսևորվել է վեգետատիվ կարգավորման գործընթացում հավասարակշռության շեղմամբ դեպի սիմպաթիկ ակտիվության գերակայություն, որի վկայությունն է հանդիսանում առաջին

դասից հետո դիտվող ՍԿՀ-ի ($90,3 \pm 3,1$ գ/ր ($p < 0,01$), աճը նորմալի համեմատ՝ 9,7%), ինչպես նաև LՑ-ի որոշակի բարձր մակարդակը ($216,2 \pm 42,4$ պ.մ. ($p < 0,001$), աճը նորմալի համեմատ՝ 19,6%):

Կարգավորման սիմպաթիկ մեխանիզմների լարվածության օգտին են վկայում նաև սիմպաթիկ կոնտուրի ակտիվությունը բնութագրող այլ մարկերների՝ ԿԳԱՑ-ի, ՎՅՑ-ի, ՌՎՑ-ի և AMo-ի աճը այդ շրջանում 12,1%-ով ($p < 0,001$), 23,3%-ով ($p < 0,001$), 32,1%-ով ($p < 0,001$) և 10,8%-ով ($p < 0,01$) համապատասխանաբար (աղ. 1): Ուսումնական գործնականի ներգրավման շրջանում մեխանիզմների լարվածության արդյունք է հանդիսանում նաև ԿՅԱՑ-ի տեղաշարժը հարմարման տիրույթից դեպի գործառական համակարգերի լարվածության տիրույթ:

Աղյուսակ 1. Ուսանողների սրտի ռիթմի ցուցանիշների փոփոխությունները ուսումնական ծանրաբեռնվածության պայմաններում

Ցուցանիշներ	Ստուգիչ խումբ			Փորձնական խումբ		
	Դասերից առաջ (նորմալ)	Առաջին դասից հետո	Վեցերորդ դասից հետո	Դասերից առաջ (նորմալ)	Առաջին դասից հետո	Վեցերորդ դասից հետո
ՍԿՀ (գ/ր)	$82,3 \pm 2,8$	$90,3 \pm 3,1$	$76,1 \pm 2,20^{**}$	$82,60 \pm 2,40$	$84,5 \pm 4,10$	$80,30 \pm 3,20^*$
LՑ (պ.մ.)	$180,7 \pm 31,4$	$216,2 \pm 42,4$	$135,2 \pm 28,1^{***}$	$181,3 \pm 42,6$	$204,3 \pm 38,2$	$156,70 \pm 24,6^{***}$
AMo (%)	$72,3 \pm 11,2$	$80,1 \pm 5,2$	$62,0 \pm 3,10^{**}$	$72,6 \pm 3,80$	$78,10 \pm 3,20$	$70,4 \pm 2,80^{**}$
Mo (վ)	$0,72 \pm 0,02$	$0,70 \pm 0,03$	$0,78 \pm 0,02^*$	$0,72 \pm 0,11$	$0,71 \pm 0,02$	$0,75 \pm 0,02^*$
Δx (վ)	$0,28 \pm 0,03$	$0,27 \pm 0,01$	$0,32 \pm 0,01^{**}$	$0,28 \pm 0,02$	$0,26 \pm 0,01$	$0,30 \pm 0,01^{**}$
ԿԳԱՑ (պ.մ.)	$100,4 \pm 6,8$	$112,5 \pm 7,1$	$79,31 \pm 3,90^{***}$	$100,8 \pm 5,90$	$108,1 \pm 2,40$	$94,0 \pm 2,80^{***}$
ՎՅՑ (պ.մ.)	$258,2 \pm 24,3$	$318,4 \pm 32,3$	$197,1 \pm 19,1^{***}$	$260,4 \pm 26,2$	$300,4 \pm 28,30$	$235,60 \pm 19,8^{**}$
ՌՎՑ (պ.մ.)	$5,24 \pm 0,50$	$6,92 \pm 0,40$	$4,12 \pm 0,90^{***}$	$5,28 \pm 0,40$	$5,80 \pm 0,20$	$4,28 \pm 0,30^{***}$
ԿՅԱՑ (պ.մ.)	$2,4 \pm 0,10$	$5,3 \pm 0,20$	$3,30 \pm 0,20^{***}$	$2,40 \pm 0,10$	$4,20 \pm 0,20$	$3,00 \pm 0,1^{***}$
TP (մվ ²)	$2100,6 \pm 148,3$	$1828,8 \pm 192,9$	$2680,0 \pm 161,2^{**}$	$2126,2 \pm 151,3$	$1980,8 \pm 182,4$	$2384,6 \pm 102,2^{**}$
LF (%)	$55,4 \pm 2,3$	$62,0 \pm 3,1$	$46,6 \pm 2,1$	$55,60 \pm 3,0$	$58,2 \pm 2,4$	$50,40 \pm 2,5$
HF (%)	$32,3 \pm 1,9$	$25,4 \pm 2,0$	$42,5 \pm 2,4$	$31,9 \pm 1,8$	$28,1 \pm 1,1$	$39,20 \pm 2,4$
VLF (%)	$12,4 \pm 0,5$	$13,3 \pm 0,8$	$11,2 \pm 0,6$	$12,5 \pm 0,5$	$12,9 \pm 0,8$	$10,50 \pm 0,6$
LF/HF	$1,70 \pm 0,02$	$2,4 \pm 0,02$	$1,20 \pm 0,01^{**}$	$1,70 \pm 0,02$	$2,1 \pm 0,01$	$1,30 \pm 0,01^{***}$
SD ₁	$40,2 \pm 1,9$	$30,4 \pm 2,3$	$46,0 \pm 2,80$	$38,6 \pm 1,80$	$34,2 \pm 1,4$	$40,6 \pm 2,0$
SD ₂	$70,5 \pm 2,2$	$60,7 \pm 3,10$	$85,8 \pm 4,80$	$69,9 \pm 2,30$	$65,3 \pm 2,1$	$76,10 \pm 3,20$
RMSSD (մվ)	$32,4 \pm 2,1$	$26,8 \pm 1,82$	$40,90 \pm 2,40^{***}$	$33,70 \pm 2,2$	$29,6 \pm 2,4$	$36,80 \pm 1,80^{***}$
pNN50 (%)	$14,3 \pm 1,4$	$12,5 \pm 1,91$	$17,90 \pm 2,60^{***}$	$14,5 \pm 1,20$	$13,1 \pm 1,3$	$15,6 \pm 1,10^{**}$

Ծանոթություն՝ * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Վերջիններս ուղեկցվել են ՎՆՀ հումորալ և պարասիմպատիկ մեխանիզմների ակտիվությունը արտացոլող հիստոգրաֆիկ ցուցանիշների մակարդակների՝ Mo-ին Δx-ի աննշան նվազմամբ համապատասխանաբար 2,8% և 3,6%: Սրտի ռիթմի ուսումնասիրման ստատիստիկ ցուցանիշների վերլուծությունը ևս ցույց է տվել պարասիմպատիկ մեխանիզմների ակտիվությունը բնութագրող՝ RMSSD և pNN50 ցուցիչների իջեցում նախնական մակարդակների համեմատ համապատասխանաբար 17,3%-ով ($p < 0,001$) և 12,6%-ով ($p < 0,01$): RMSSD և pNN50 ցուցիչների փոքրացումը վկայում է սրտի ռիթմի կարգավորման ինքնավար կոնտուրի պարասիմպաթիկ օղակի ակտիվության նվազման մասին: Սրտի ռիթմի կարգավորման սպեկտրալ ցուցանիշների վերլուծությունը ցույց է տվել, որ մեկժամյա ուսումնական ծանրաբեռնվածությունից հետո (ներգրավման շրջան) հետազոտվողների մոտ դիտվող լարվածությունը արտացոլվել է նաև վերջիններս դինամիկայում: Նկատվել է TP-ի՝ սրտի ռիթմի գումարային սպեկտրի հզորության հավաստի նվազում 13,0%-ով ($p < 0,01$): Սպեկտրի ընդհանուր կառուցվածքում դիտվել է ցածր (LF) և շատ ցածր (VLF) հաճախականության ալիքների սպեկտրի հավաստի աճ 11,9%-ով և 7,3%-ով ($p < 0,05$): Վերջինս վկայում է, որ տվյալ պարագայում սրտի ռիթմի կարգավորումը պայմանավորված է նաև այլ՝ վեգետատիվ կարգավորման պարասիմպաթիկ օղակի թուլացմամբ, ինչն էլ ապահովում է վեգետատիվ հավասարակշռության տեղաշարժ սիմպատոտոնիայի ուղղությամբ: Սրա ապացույցն է հանդիսանում ընդհանուր սպեկտրում բարձր հաճախությամբ (HF) բաղադրիչի սպեկտրի փոքրացումը 21,4%-ով ($p < 0,001$), ինչպես նաև վեգետատիվ փոխհարաբերության ցուցիչ՝ LF/HF-ի աճը 41,2%-ով ($p < 0,001$):

Սիմպաթիկ մեխանիզմների ակտիվության բարձրացման օգտին է վկայում նաև ներգրավման շրջանում ստուգիչ խմբի հետազոտվողների մոտ դիտվող ավտո-ռեգրեսային ամպի դիսպերսիայի փոքրացումը՝ (SD_1 -ի, SD_2 -ի):

Ուսումնական դասընթացին ներգրավման շրջանում փորձնական խմբի հետազոտվողների ուսումնասիրված ցուցանիշների վերլուծությունը ցույց է տվել, որ վերջիններս ստուգիչի հետ կրել են միաուղղված բնույթ, սակայն ստուգիչ խմբի ուսանողների նույն ցուցանիշների համեմատությամբ փոփոխություններն եղել են ավելի թույլ արտահայտված: Ինտեգրալային և հիստոգրաֆիկ ցուցանիշների վերլուծության արդյունքում պարզվել է, որ ԼՑ-ի աճը նորմայի համեմատ կազմել է 12,7% ($p < 0,001$), իսկ ՍԿՅ-ի աճը՝ ընդամենը 2,3% (ստուգիչ խմբում՝ 19,6% և 9,7% համապատասխանաբար): Սիմպաթիկ կոնտուրի ակտիվությունը բնութագրող այլ մարկերների՝ ԿԳԱՑ-ի, ՎՅՑ-ի, ՌՎՑ-ի, AMo-ի աճը փորձնական խմբում կազմել է ընդամենը 7,2% ($p < 0,001$), 15,4% ($p < 0,001$), 9,8% ($p < 0,001$), 7,6% ($p < 0,01$) համապատասխանաբար (աղ. 1): Վերջինս ուղեկցվել է ՎՆՅ հումորալ մեխանիզմների ակտիվությունը արտացոլող հիստոգրաֆիկ ցուցանիշի՝ Mo-ի մակարդակի աննշան նվազմամբ (1,3%) և պարասիմպաթիկ ակտիվության ցուցիչ՝ Δx-ի փոքրացմամբ 7,2%-ով ($p < 0,01$): Սրտի ռիթմի ստատիստիկ ցուցիչների՝ RMSSD և pNN50 ցուցիչների ուսումնասիրումը փորձնական խմբում բացահայտել է իջեցում նախնական մակարդակների համեմատ, համապատասխանաբար 12,2%-ով ($p < 0,001$) և 9,7%-ով ($p < 0,01$): RMSSD, pNN50 ցուցիչների և Δx-ի փոքրացումը վկայում են սրտի ռիթմի կարգավորման ինքնավար կոնտուրի պարասիմպաթիկ օղակի ակտիվության նվազման մասին: Ինչ վերաբերվում է սպեկտրալ ցուցանիշներին, ապա ընդհանուր սպեկտրի TP-ի հզորությունը նվազել է ընդհամենը 7,0%-ով ($p < 0,01$): Սպեկտրի ընդհանուր կառուցվածքում նկատվել է ցածր (LF), շատ ցածր (VLF) և բարձր (HF) հաճախականության ալիքների սպեկտրի ավելի թույլ արտահայտված շարժեր, քան ստուգիչ խմբում: ԼՑ-ի, AMo-ի, TP-ի դիտվող փոփոխությունները վկայում են, որ փորձնական խմբում ուսումնական գործընթացին ներգրավումը իրականանում է սիմպատիկ մեխանիզմների ավելի թույլ արտահայտված լարվածության հաշվին, քան ստուգիչում, ինչը կարող է պայմանավորված լինել նարդոսի էթերայուղի շտկող ազդեցությամբ, ուղղված սիմպաթիկ նյարդային համակարգի պահպանմանը գերլարվածությունից: Վերջինիս մասին է վկայում նաև սիմպաթո-պարասիմպաթիկ փոխհարաբերությունների գործակցի՝ LF/HF-ի համեմատաբար կայուն մակարդակը:

Դասերի ավարտից հետո հետազոտությունների երկու տարբերակում էլ դիտվել է սիմպաթիկ նյարդային համակարգի ակտիվությունը բնութագրող բոլոր ցուցանիշների մակարդակների նվազում: Ստուգիչ խմբում տեղի է ունեցել ԼՑ-ի, ՍԿՅ-ի և սիմպատիկ նյարդային համակարգի ակտիվությունը արտացոլող մարկերների՝ ԿԳԱՑ-ի, ՎՅՑ-ի, ՌՎՑ-ի, AMo-ի արժեքների նվազում նորմայի համեմատ 25,2%-ով ($p < 0,001$), 7,5%-ով ($p < 0,01$), 20,0%-ով ($p < 0,001$), 23,7%-ով ($p < 0,001$), 21,4%-ով ($p < 0,001$), 14,2%-ով ($p < 0,01$) համապատասխանաբար: Փորձնական խմբի հետազոտվողների մոտ այդ փոփոխությունները եղել են ավելի թույլ արտահայտված: Վերջինս ուղեկցվել է հումորալ և պարասիմպաթիկ կարգավորող մեխանիզմների ակտիվությունը արտացոլող Mo-ի, Δx-ի, RMSSD, pNN50 ցուցիչների աճով նորմայում դիտված մակարդակների համեմատ ստուգիչ խմբում՝ 8,3% ($p < 0,05$), 14,3% ($p < 0,01$), 26,2% ($p < 0,001$), 25,2% ($p < 0,001$) փորձնականում՝ 4,2% ($p < 0,05$), 7,1% ($p < 0,01$), 9,1% ($p < 0,001$), 7,6% ($p < 0,01$): Պարասիմպաթիկ նյարդային համակարգի ակտիվության բարձրացման օգտին են վկայում նաև դասերի ավարտին դիտվող սպեկտրային ցուցանիշների փոփոխությունները՝ TP-ի ու բարձր (HF) հաճախականությամբ ալիքների սպեկտրի արտահայտված աճը և ցածր (LF) ու շատ ցածր (VLF) հաճախականությամբ ալիքների սպեկտրի և սիմպաթո-պարասիմպաթիկ փոխհարաբերությունների գործակցի՝ LF/HF-ի փոքրացումը: Ինչպես երևում է ստացված տվյալներից, դասերի ավարտին ստուգիչ խմբում փորձնականի համեմատ դիտվում է սիմպաթիկ մեխանիզմների ակտիվության կրկնակի ավելի արտահայտված նվազում և պարասիմպաթիկ նյարդային համակարգի ակտիվությունը արտացոլող ցուցանիշների աճ:

Գրական տվյալների համաձայն օրգանիզմի հարմարումը ուսումնական ծանրաբեռնվածությանը իրականանում է ՎՆՅ-ի սիմպատիկ մեխանիզմների ակտիվացման հաշվին: Օրվա վերջում մեր կողմից դիտվող փոփոխությունները վկայում են ստուգիչ խմբի հետազոտվողների մոտ զարգացող հոգնածության մասին, որն բազմակի կրկնվելուց կարող է դառնալ գերհոգնածության պատճառ [2, 6, 7, 10]: Փորձնական խմբում դիտվող սիմպաթիկ և պարասիմպաթիկ մեխանիզմների ակտիվության ցուցանիշների ավելի մեղմ փոփոխությունները պայմանավորված են նարդոսի յուղի շտկող ազդեցությամբ և ուղղված են կանխարգելելու հոգնածության զարգացումը օրգանիզմում, նպաստելով ուսումնական գործընթացին ավելի հեշտ հարմարմանը:

Մեր կողմից ստացված արդյունքները համահունչ են մի շարք հեղինակների տվյալներին: Միջին դպրոցի ուսուցիչների մոտ ուսումնական ծանրաբեռնվածությունից հետո բերգամոնտի հոտի ազդեցությամբ նկատվում է զարկերակային ճնշման բաղադրիչների և ՍԿՅ-ի նվազում, բարձր (HF) հաճախականությամբ բաղադրիչի հզորության մեծացում, ցածր (LF) հաճախականությամբ բաղադրիչի հզորության նորմալացում, ինչը վկայում է վեգետատիվ գործառույթների կարգավորման սիմպաթիկ ազդեցությունների նվազման, պարասիմպաթիկ ուժեղացման և հոգեհուզական լարվածության աստիճանի թուլացման մասին: Սրտի ռիթմի կարգավորման նմանատիպ փոփոխություններ բացահայտվել են նաև այլ հեղինակների կողմից նարդոսի հոտի ներշնչման ժամանակ [8, 12, 13]: Եթերայուղը լավացնում է միոկարդի հաղորդելիության գործընթացները, հատկապես տարբեր բնույթի ծանրաբեռնվածությունների պայմաններում: Արոմաթերապիան դրական է ազդում նաև ԵՍԳ-ի ցուցանիշների վրա [4, 8]: Այնուամենայնիվ, արոմաթերապիայի ազդման մեխանիզմը մինչև այժմ վերջնականապես պարզ չէ: Հոտավետ յուղերի շտկող ազդեցությունը օրգանիզմի գործառական վիճակի վրա կարող է պայմանավորված լինել նրանով, որ հոտերի ընկալման և հոտառական տեղեկատվության մշակման մեջ մեծ դեր են կատարում գլխուղեղի ամենակարևոր հատվածներից որոշները՝ ճակատային կեղևը, հիպոթալամուսը, նշահամալիրը և այլն, որտեղ տեղակայված են նաև օրգանիզմի բարձրագույն վեգետատիվ կենտրոնները: Համաձայն Նիկոլանսկու տվյալներին [8]՝ հոտավետ միջոցներով հոտառական սենսոր համակարգի գրգռումը կարող է ուղեկցվել ՎՆՅ-ի մեղիատորային կատեխոլամին-, սերոտոնին-, Էնդորֆիներգիական օղակների ակտիվության փոփոխմամբ: Հոտավետ նյութերի մոլեկուլները ներծծվում են քթի լորձաթաղանթի մազանոթների, իսկ այնտեղից ընդհանուր արյան մեջ: Ն.Ս. Սեչենովի անվան Նյարդաբանական հիվանդանոցի գիտահետազոտական ինստիտուտի աշխատողների հետազոտությունները ցույց են տվել, որ նարդոսի և կիտրոնի եթերայուղերը բարձրացնում են ՎՆՅ-ի ակտիվությունը, հանգեցնում հիշողության ամրապնդմանը, կողմնորոշման ժամանակի նվազեցմանը [12]:

Այսպիսով, նարդոսի եթերայուղի կանխարգելիչ կիրառումը նպաստում է ուսանողների օրգանիզմի հարմարողական հնարավորությունների բարձրացմանը, կարգավորիչ մեխանիզմների գործառույթային օպտիմալացմանը, հոգեհուզական ծանրաբեռնվածությունների հանդեպ դիմադրողականության բարձրացմանը:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Аверьянова Н.В.* Особенности психофизиологической адаптации студентов в зависимости от профиля обучения в школе. Дисс. канд. биол. наук., Кемерово, 2016.
2. *Алтынова Н.В., Панихина А.В., Анисимов Н.И., Шуканов А.А.* Физиологическая адаптация студентов младших курсов к учебным нагрузкам в вузе. Вестник ЧГПУ им. И.Я. Яковлева, 65, 1, стр. 8-12, 2010.
3. *Будукоол Л.К., Ховалыг А.М.* Особенности психологического статуса студентов первокурсников в условиях обучения в вузе. Гигиена и санитария, 95, 6, стр. 568-572, 2016.
4. *Геворкян Э.С.* Коррекция ритма сердца студентов пихтовым маслом при физической нагрузке. Валеология, 2, стр. 79-87, 2014.

5. *Ермакова Н.А., Мельниченко П.И., Прохоров Н.И. и др.* Образ жизни и здоровье студентов. Гигиена и санитария, 95, 6, стр. 558-563, 2016.
6. *Кашина Ю.В.* Регуляторно-адаптивный статус у студентов в начале и в конце учебного года. Ж. Фундаментальные исследования, 7, стр. 76-78, 2011.
7. *Маринина М.Г.* Исследование вегетативного баланса организма студента в динамике учебного процесса. Электронный научно-образовательный журнал ВГСПУ “Грани познания”, 25, 5, стр. 119-121, 2013.
8. *Николаевский В.В.* Ароматерапия. М., Медицина, 240 стр., 2000.
9. *Самаров В.В., Гулин А.В., Засядько К.И.* Особенности функционального состояния сердечно-сосудистой системы организма учащихся из стран юго-восточной Азии и Африки в процессе адаптации к процессу обучения в вузе. Вестник ТГУ, 17, 4, стр. 1303-1305, 2012.
10. *Харламов Е.В., Сидоренко Ю.А., Сависько А.А.* Проблема адаптации к учебной нагрузке в системе непрерывного образования. Материалы X международного конгресса “Здоровье и образование в XXI веке” РУДН, М., 364 стр., 2011.
11. *Шведов Д.Н.* Ранние признаки психофизиологических нарушений у студентов-бакалавров в процессе учебной деятельности. Дисс. канд. биол. наук, Орел, 2015.
12. *Шутова С.В.* Немедикаментозная оптимизация функций мозга у студентов при адаптации к условиям обучения в вузе. Тамбов: ТРОО “Бизнес-Наука-Общество”, 365 стр., 2012.
13. *Quintana D.S., Heathers J.A.J.* Considerations in the assessment of heart rate variability in biobehavioral research. Frontiers in Psychology, 5, pp. 1-10, 2014.
14. *Lee M.S., Choi J., Posadzki P., Ernst E.* Aromatherapy for health care: an overview of systematic reviews. Maturitas, 71, 3, pp. 257-260, 2012.

Ստացվել է 26.12.2018



Биол. журн. Армении, 1 (71), 2019

ПОПЫТКА ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДИАБЕТА

КАМАЛЯН Р.Г., ХАЧАТРЯН Р.С., ХАЧАТРЯН Н.Х

Институт биохимии им Г. Бунятына НАН РА
kamalyan37@mail.ru

Добавление в корм в течение месяца монтморилонита и β -аланина с ингибитором ГАМК-Т этаноламин-О-сульфатом (ЭОС) с питьевой водой предотвращает гипергликемический эффект внутрибрюшинного введения химического диабетогена стрептозотцина. Последний при введении интактным крысам снижает концентрацию нейроактивных аминокислот в мозге и поджелудочной железе, чему препятствует месячная подкормка кормовой добавкой, которая нивелирует ингибирующее действие диабетогена на утилизацию глутамата гомогенатами мозга и поджелудочной железы. Полученные данные свидетельствуют о превентивном действии вышеуказанной комплексной подкормки на инициацию диабета стрептозотцином.

Стрептозотцин – диабет – монтморилонит – β -аланин – ГАМК – мозг – поджелудочная железа

Մոնտմորիլոնիտային կերակրային հավելումը և խմելու ջրի հետ β -ալանինի և ԳԱԿԹ-տրանսամինազի արգելակիչ էթանոլամին-Օ-սուլֆատի ներմուծումը 1 ամսվա ընթացքում կանխում է քիմիական շաքարախտածին ստրեպտոզոտոցինի ներորովայնային ներարկման հիպերգլիկեմիկ ազդեցությունը: Վերջինս ինտակտ առնետներին ներարկման դեպքում վիճակագրորեն հավաստի իջեցնում է նյարդաակտիվ ամինաթթուների խտությունը ուղեղում և ենթաստամոքսային գեղձում, ինչին հակազդում է վերոնշյալ համալրային հավելումով միամսյա կերակրումը: Վերջինս նաև թուլացնում է ստրեպտոզոտոցինի արգելակիչ ազդեցությունը գլխուղեղի և ենթաստամոքսային գեղձի հոմոգենատների կողմից գլյուտամինաթթվի յուրացման վրա: Ստացված տվյալները վկայում են վերոնշյալ համալրային կերակրային հավելման կանխիչ ազդեցության մասին ստրեպտոզոտոցինի կողմից փորձարարական շաքարախտ առաջացնելու ունակության վրա:

Ստրեպտոզոտոցին – դիաբետ – մոնտմորիլոնիտ – β -ալանին – ԳԱԿԹ – ուղեղ – ենթաստամոքսային գեղձ

The administration of montmorillonit with food and β -alanine and GABA-T inhibitor ethanolamine-O-sulfate (EOS) with water to rats prevents the hyperglycemic effect of chemical diabetogen streptozotocin intraperitoneal injection. Streptozotocin injection to intact rats statistically proven decreases the level of neuroactive amino acids in brain and pancreas. Referred to above food additive prevents such effect of streptozotocin and its inhibitory action on the glutamate utilization by brain and pancreas homogenates. Obtained data testify the preventive action of used food additive on the diabetes mellitus initiation by streptozotocin.

Streptozotocin – diabet – montmorilonit – β -alanine – GABA – brain – pancreas

О значении ГАМК в функциях поджелудочной железы свидетельствует ряд работ [3-5, 11, 13-15]. Подчеркивается роль этого тормозного трансммиттера как в эндокринной, так и экзокринной функциях, по-видимому, тесно взаимосвязанных [22].

Особое значение приписывается роли ГАМК в функциях продуцирующих инсулин β -клеток [4, 12-15]. Показано наличие сравнимых с мозгом концентраций ГАМК в панкреасе, сосредоточенных в основном в β -клетках, как в везикулах нервных окончаний, так и в инсулярных гранулах [13-15]. Выяснено, что ГАМК способствует синтезу и высвобождению инсулина [12-15]. Возник вопрос о возможной эффективности этой аминокислоты при диабете, тем более что продуцирующий ее фермент глутаматдекарбоксилаза является одной из мишеней аутоиммунного процесса, приводящего к гибели островковых β -клеток [55], т.е. к развитию диабета первого типа (Т1Д). Определение активности антител к ферменту используется в доклинической диагностике Т1Д [11, 16].

Ряд исследователей придерживается мнения, что идеальной иммунотерапией Т1Д является уменьшение провоспалительных аутоиммунных ответов, усиление регуляторных ответов и повышение выживаемости и репликации β -клеток [26, 27]. ГАМК вполне обосновано рассматривается в качестве эффективного претендента на эту роль [27]. Введение ГАМК NOD мышам может подавлять воспалительные и усиливать регуляторные Т-клеточные ответы, способствовать репликации β -клеток и сохранять в течение определенного времени нормогликемию. Особенно эффективна ГАМК в сочетании с посаженным на квасцы проинсулином, вызывающим системную аутоиммунную реакцию. Роль ГАМК при этом заключается в снятии провоспалительных Т-клеточных ответов с сохранением или даже усилением регуляторного компонента системного аутоиммунитета с репликацией островковых β -клеток и длительным поддержанием нормогликемии.

В прежней нашей работе мы исследовали влияние генерирующих ГАМК факторов, глутамин и этаноламин-О-сульфата (ЭОС) на содержание нейроактивных аминокислот в органах крыс в норме и при экспериментальном стрептозотоциновом диабете [3]. Поскольку в опытах *in vitro* на культуре β -клеток панкреаса в наших опытах наиболее выраженную флюоресценцию инсулина вызывало добавление ЭОС, в настоящей работе мы использовали его в качестве возможного антидиабетогенного агента на стрептозотоциновой модели крыс,

Вместе с тем, исходя из гомологии с ГАМК β -аланина, трансаминирования его ГАМК-Т [6], участия в синтезе антиоксидантов карнозина и ансерина [7,8] и ингибиторных трансмиссивных свойств мы использовали эту аминокислоту в качестве возможного заместителя ГАМК. И, наконец, учитывая значение кишечной микрофлоры в ожирении и иммунитете [9, 10], мы использовали монтморилонит в качестве подкормки подопытных животных, улучшающей пищеварение и связывающей токсины патогенной микрофлоры [1].

Материал и методика. Опыты проводили на белых крысах-самцах массой 180-200 г. Животные содержались на обычном пищевом рационе в условиях вивария Института биохимии НАН РА. Животные были разделены на три группы: I – получала обычный рацион, II и III – к обычному рациону был примешан 1 % монтморилонита. Кроме того, они получали с водой ЭОС (150 мг/л) и β -аланин (50 мг/л). Через 1 месяц крысам I и III групп внутривенно вводили 1 мл стрептозотоцина в цитратном буфере (40 мг/кг) и через три дня определяли глюкозу в крови с помощью глюкометра Accu-Chek (Germany). Затем, при выраженной гипергликемии в I группе крыс забивали под легким эфирным наркозом, удаляли органы (мозг, поджелудочная железа), гомогенизировали в 6%-ном перхлорате [23], разделяли аминокислоты экстрактов методом высоковольтного электрофореза и определяли их нингидриновым методом [2]. В отдельной серии опытов исследовали утилизацию глутамата в гомогенатах мозга и панкреаса. Результаты подвергнуты статистической обработке с помощью пакета программ GraphPad InStat.

Результаты и обсуждение. Представленные в табл. 1 результаты определения глюкозы крови подопытных животных свидетельствуют о том, что

длительная подкормка монтморилонитом, β -аланином и ЭОС почти полностью препятствует гипергликемическому действию стрептозотоцина. Так, в группе с подкормками, но без введения стрептозотоцина (группа II) концентрация глюкозы составляет 7.0 ± 0.8 мМ/л, а в III группе с введением стрептозотоцина на фоне подкормки 9.9 ± 1.6 мМ/л. Разница между группами статистически недостоверна, т.е. использованная нами подкормка предотвращает резкий гипергликемический эффект стрептозотоцина.

Таблица 1. Содержание глюкозы крови крыс

Группа	Глюкоза, мМ/л
I	28.8 ± 1.8
II	$7.0 \pm 0.8^*$
III	$9.9 \pm 1.6^*$

Поскольку подкормка предположительно должна была влиять на β -клетки, путем генерации ГАМК определялась концентрация нейроактивных аминокислот семейства глутамата в мозге и поджелудочной железе. Представленные в табл. 2 данные показывают, что внутрибрюшинное введение стрептозотоцина крысам на фоне подкормки не оказывает достоверного понижающего эффекта на уровень нейроактивных аминокислот в мозге и поджелудочной железе (ср. группы III и II), тогда как введение стрептозотоцина интактным крысам, не получавшим подкормку, в сравнении с получавшими подкормку без и с последующим введением стрептозотоцина (II и III группы), вызывает достоверное уменьшение содержания глутамата и ГАМК в мозге и поджелудочной железе. Так, концентрация глутамата в мозге интактных крыс после введения стрептозотоцина составляет 6.4 мМ/г свежей ткани, тогда как на фоне подкормки эта величина достигает 7.7 мМ. Уровень ГАМК в указанных группах составляет соответственно 1.6 и 2.9 мМ/г свежей ткани, что свидетельствует о значительном протекторном эффекте подкормки от действия стрептозотоцина. Аналогичное отмечается и в отношении поджелудочной железы, где подкормка также удерживает концентрацию указанных аминокислот и глутамата на уровне, не отличающемся статистически значимо от их содержания у крыс с подкормкой, но без введения стрептозотоцина (ср. II группу с III).

Таким образом, мы имеем сопряженный превентивный однонаправленный эффект подкормки на содержание глюкозы в крови и нейроактивных аминокислот, в частности ГАМК, в мозге и поджелудочной железе крыс, что дает основание с достаточной долей вероятности приписывать ей защитный эффект от введения стрептозотоцина. Однако в прежних наших экспериментах с кратковременным предварительным введением крысам предшественника ГАМК глутамата и ингибитора ГАМК-Т ЭОС аналогичное или даже большее повышение ГАМК в органах сопровождалось гораздо менее выраженным гипогликемическим действием [3], что свидетельствует и о других возможных факторах действия подкормки, в частности таких его компонентов как β -аланин и монтморилонит. Первый, скорее всего, подобно ГАМК, оказывает противовоспалительный эффект, а через свой метаболит карнозин и антиоксидантное действие, второй стабилизирует работу кишечника и как сорбент связывает токсины патогенной микрофлоры.

Таблица 2. Содержание аминокислот в мозге и панкреасе крыс

Группы	ГК		ГН		АК		ГАМК	
	мозг	ПЖ	мозг	ПЖ	мозг	ПЖ	мозг	ПЖ
I	6.4±0.4	2.5±0.2	2.8±0.2	3.0±0.27	1.7±0.2	1.1±0.2	1.6±0.2	1.1±0.1
II	8.2±0.2	3.6±0.35	4.2±0.37	3.7±0.3	1.9±0.2	1.3±0.06	3.2±0.25	2.8±0.14
III	7.7±0.4	3.3±0.25	3.7±0.35	3.6±0.1	2.0±0.25	1.0±0.07	2.9±0.25	2.5±0.17

Жирные цифры- $p<0.05$ по сравнению с I группой

Изучение утилизации непосредственного предшественника ГАМК глутамата в гомогенатах мозга и поджелудочной железы крыс II и III групп показало, что и АТФ и, в особенности, пиридоксальфосфат усиливают утилизацию глутамата в гомогенатах обоих органов II группы крыс. Первый при этом усиливает выход аспартата, а второй – ГАМК. Как видно из данных табл. 3 и 4, стрептозотозин значительно подавляет стимулирующие эффекты АТФ и пиридоксальфосфата, что, возможно, связано с подавлением стрептозотозинем митохондриальных ферментов, ответственных за окисление глутамата, или дефрагментацией митохондриальной ДНК.

Таблица 3. Утилизация экзогенного глутамата и образование ГАМК и аспартата в гомогенатах мозга крыс

Группы	II группа			III группа		
	ГК	ГАМК	АК	ГК	ГАМК	АК
Без инкубации	24.9±0.9	0.96±0.11	0.91±0.06	25.4±1.1	1.1±0.1	0.85±0.07
Инкубация	22.5±0.9	1.19±0.2	1.27±0.05*	24.2±0.8	1.0±0.08	0.9±0.06
АТФ	19.3± 0.5**	1.02±0.06	1.52±0.07**	23.2±0.9	0.9±0.08	1.1±0.08
ПФ	13.2± 0.9**	3.75± 0.2*	1.86±0.14**	18.6±0.7**	1.6±0.1**	1.2±0.09
АТФ+ПФ	12.0± 0.8**	4.15± 0.25*	2.1± 0.15**	19.0±1.2**	1.5±0.07**	1.2±0.1

**- $p<0.05$ в сравнении с "без инкубации"; **- $p<0.05$ в сравнении с "инкубация"*

Таблица 4. Утилизация экзогенного глутамата и образование ГАМК и аспартата в гомогенатах поджелудочной железы крыс

Группы	II группа			III группа		
	ГК	ГАМК	АК	ГК	ГАМК	АК
Без инкубации	26.2±1.7	0.78±0.09	0.83±0.08	25.8±1.5	0.9±0.1	0.9±0.1
Инкубация	23.4±1.3	0.92±0.15	1.15± 0.09*	24.4±1.2	1.2±0.1	0.95±0.08
АТФ	18.5±1.5**	1.0±0.1	1.45±0.1	21.6±1.7	0.95±0.07	1.22±0.08
ПФ	15.6±1.1**	2.95±0.2**	1.75±0.15*	17.2± 0.9**	1.4±0.1	1.2±0.1
АТФ+ПФ	14.5±0.9**	3.45± .3**	2.3±0.3**	17.0± 1.4**	1.6± 0.09**	1.3±0.1**

То же, что и в табл. 3

О нарушении стрептозотозинем процессов окисления глюкозы, глутамина и глутамата в гомогенатах и митохондриях поджелудочной железы известно давно [12, 18-20]. Досконально изучены также механизмы действия этого диабетогена, связанные с алкилированием макромолекул и генерацией активных форм кислорода, однако мало известно о защитных механизмах от действия диабетогена.

Полученные в этом направлении данные позволяют говорить об эффективности использованной нами подкормки как средства, предупреждающего гипергликемический эффект стрептозотозина. Эффект подкормки комбинированный и,

скорее всего, связан с возможными ее противовоспалительными, антиоксидантными и антиоксидантными свойствами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аракелян Ф.Р., Арутюнян Э.Я., Камалян Р.Г. К механизму действия бентонитовой глины у жвачных. Тезисы докладов научн. конфер. Ереван. зоовет. инст., с. 22-23, 1988.
2. Камалян Р.Г., Мовсесян С.Г. Некоторые стороны регуляции обмена глутамата, аспартата и ГАМК в митохондриальной фракции мозговой ткани. Вopr. биохим. мозга, Изд. АН АрмССР, 2, с. 40-48. 2, 1966.
3. Камалян Р. Г., Арутюнян А.А., Хачатрян Н.Х., Варданян А. Г., Тароян С.Г. Влияние ГАМК-генерирующих факторов на содержание нейроактивных аминокислот в органах крыс при экспериментальном стрептозотоциновом диабете. Мед. наука Армении, LV, 4, с.32-42, 3. 2015.
4. Adeghate E., Ponery A.S. GABA in the endocrine pancreas: Cellular localization and function in normal and diabetic rats. Tissue cell, 34, 1-6, 2002.
5. Baekkeskov S., Anastoot H. J., Christgaa S, Solimena M., Cascualho M. Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. Nature, 347. p. 151-156, 1990.
6. Blancquaert L, Baba Sh., Kwiarkowski S., Stautemas J., Stegen S. Carnosine and anserine homeostasis in skeletal muscle and heart is controlled by β -alanine transamination. J. Physiol., 594,17, p.4849-4863, 2016.
7. Blancquaert L, Everaert I & Derave W. Beta-alanine supplementation, muscle carnosine and exercise performance. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 18, p. 63-70, 2015.
8. Boldyrev AA, Aldini G & Derave W. Physiology and pathophysiology of carnosine. Physiol Rev., 93, p. 1803-1845, 2013.
9. Cani P.D., Bibiloni R., Knauf C., Waget A., Neiryneck A.M., Delzenne N.M., Burcelin R. Change in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. Diabetes, 57, 6, p. 1470-1481, 2008.
10. Cani P.D., Amar J., Iglesias M.A., Poggi M., Knauf C., Bastelica D. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. Diabetes. 56, 7, p. 1761-1772 2007.
11. Dong H., Kumar M., Zhang Y., Gyulkhandanyan A., Xiang Y.Y., Ye B., Perrella J., Hyder A., Zhang N., Wheeler M., Lu W.Y., Wang Q. Gamma-aminobutyric acid up- and downregulates insulin secretion from beta cells in concert with changes in glucose concentration. Diabetologia, 49, p. 697-705, 2006.
12. Fahien L.A., MacDonald M.J. The complex mechanism of glutamate dehydrogenase in insulin secretion. Diabetes, 60, 10, p. 2450-2454, 2011.
13. Franklin I., Wollheim C. GABA in the endocrine pancreas: its putative role as an islet cell paracrine-signalling molecule. J. General Physiology, 123, 3, p. 185-190. 2004.
14. Garry D.J., Sorenson R.L., Elde R.P., Maley B.E., Madsen A. Immunohistochemical co-localization of GABA and insulin in beta cells of rat islet. Diabetes, 35, p. 1090-1095, 1986.
15. Garry D.J., Coulter H.D., Mc Intee T.J., Wu J.Y., Sorenson R.L. Immunoreactive GABA-T within the pancreatic islets localized in mitochondria in the β -cell. J. Histochem. Cytochem. 35, p. 831-836, 1987.
16. Kaufman D.L., Erlander M.G., Clare-Salzler M., Atkinson M.A., Maclaren N.K., Tobin A.J. Glutamate Decarboxylase Autoimmunity in Insulin-dependent Diabetes Mellitus J. Clin. Invest., 89, 1, p. 283-292, 1992.
17. Lee Y., Hsu C., Lin M., Liu K., Yin M. Histidine and carnosine delay diabetic deterioration in mice and protect human low density lipoprotein against oxidation and glycation. European Journal of Pharmacology, 513, Issues 1-2, p. 145-150, 2005.
18. Michalik M., Erecinska M. GABA in pancreatic islets: metabolism and function. Biochem. Pharmacol., 44, 1, p.1-9, 1992.
19. Michalik M., Nelson J., Erecinska M. Glutamate production in islets of Langerhans: Properties of phosphate activated glutaminase. Metabolism, 41, 12, p. 1319-1326, 1992.

20. Michalik M., Nelson J., Erecińska M. GABA production in rat islets of Langerhans. *Diabetes*, 42, 10, p. 1506-1513, 1993.
21. Okada Y., Taniguchi H., Shimada C. High concentration of GABA and high glutamate decarboxylase activity in the rat pancreatic islets and human insulinoma. *Science*, 194, p. 620-622, 1976.
22. Park Y-D., Cui Z-Y., Wu G., Park H-S., Park H-J. γ -aminobutyric acid secreted from islet β -cells modulates exocrine secretion in rat pancreas. *World J. Gastroenterol.*, 12, 19, p.3026-3030, 2006.
23. Saifer A. Comparative study of various extraction methods for the quantitative determination of free amino acids from brain tissue. *Anl. Biochem.*, 40, p. 412-423, 1971.
24. Sorenson R.L., Garry D.G., Brelje T. C. Structural and functional considerations of GABA in islets of Langerhans. *Diabetes*, 40, p. 1365-1374, 1991.
25. Stellingwerff T.J., Decombaz J., Harris R.C. Boesch C. Optimizing human in vivo dosing and delivery of β -alanine supplements for muscle carnosine synthesis. *Amino Acids*, 43, Issue 1, p. 57-65, 2012.
26. Tian J. Gamma-aminobutyric acid inhibits T cell autoimmunity and the development of inflammatory responses in a mouse type 1 diabetes model. *J Immunol.*, 173, p. 5298-5304, 2004.
27. Tian J., Dang H., Nguyen An V., Chen Z., Kaufman D.L. Combined therapy with GABA and proinsulin/alum acts synergistically to restore longterm normoglycemia by modulating T-cell autoimmunity and promoting β -cell replication in newly diabetic NOD mice. *Diabetes*, 63, 9, 3128-3134, 2014.

Поступила 19.10.2018



Հայաստանիկենսաբ. հանդես, 1 (71), 2019

ԿԱՆԱԶ ՏՆԿԱՐԿՆԵՐԻ ԲԱՇԽՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՐԵՎԱՆԻ ՏԱՐԲԵՐ ՎԱՐՉԱԿԱՆ ՇՐՋԱՆՆԵՐՈՒՄ և ՄԻԿՐՈԿԼԻՄԱՅԱԿԱՆ ԳՈՏԻՆԵՐՈՒՄ

Ժ.Յ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Ս.Ա. ԿՏՐԱԿՅԱՆ, Գ.Մ. ՉԱՐՈՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Բուսաբանության ինստիտուտ, բույսերի ներմուծման բաժին
botinst@sci.am

Կանաչ տնկարկների առկայության համեմատական վերլուծությամբ պարզաբանված է, որ ընդհանուր առմամբ մայրաքաղաքում (862 հա) և մասնավորապես դրա առանձին վարչական շրջաններում անբավարար է ընդհանուր օգտագործման կանաչապատ տարածքներով ապահովվածությունը: Չափազանց ցածր է նաև այդ ցուցանիշը բնակչության մեկ շնչի հաշվով՝ 7.8 մ², այն դեպքում, երբ միջազգային չափանիշներով Երևանի համար այն պետք է լինի 21 մ² ոչ պակաս: Առավել անմխիթար է վիճակը Էրեբունի և Նորք-Մարաշ վարչական շրջաններում: Երևանում կանաչապատման զարգացման ծրագիր մշակելիս անհրաժեշտ է հաշվի առնել դրա առանձին հատվածներում առկա անբավարար վիճակը և կանաչապատ տարածքների ընդլայնման հնարավորությունները:

Դենդրոկլիմայական պայմաններ – կանաչ տնկարկ – գեղազարդություն – ծառ և թուփ – էկոլոգիական հարմարողականություն

В результате сравнительного анализа имеющихся в наличии зеленых насаждений выявлено, что в общей сложности в Ереване (862 га) и, в частности, в административных районах столицы, обеспеченность озелененными территориями общего пользования недостаточна. Очень низок показатель обеспеченности озелененными территориями общего пользования на душу населения – 7,8 м², тогда как по международным стандартам для Еревана этот показатель должен составлять не менее 21 м². Особенно плохо дело обстоит в административных районах Эребуни и Норк-Мараш. При разработке программы развития озелененных территорий общего пользования Еревана необходимо учитывать наличие неудовлетворительного состояния озеленения отдельных участков и возможность расширения озелененных территорий.

Дендроклиматические условия – зеленые насаждения – декоративность – дерево и куст – экологическая приспособленность

As a result of the comparative analysis of the available green spaces, it was revealed that, in general, the availability of green areas of common use is insufficient in Yerevan (862 hectares) and, in particular, in the administrative districts of the capital. There is a very low rate of security of green areas of common use per capita – 7.8 m², whereas this figure for Yerevan should be at least 21 m² according to international standards. The situation is especially bad in Erebuni and Nork-Marash administrative districts. When developing a program for the development of green areas of common use of Yerevan city, it is necessary to take into account the unsatisfactory state of greening of individual plots and the possibility of expanding green areas.

Dendroclimatic conditions – green spaces – decorative – tree and bush – ecological adaptability

Ժամանակակից քաղաքները, բնակավայրերը և արդյունաբերական կենտրոնները դիտարկվում են որպես տարբեր միկրո- և մեզոկլիմայական պայմաններ ունեցող բարդ էկոհամակարգեր:

Քաղաքային ինտենսիվ կառուցապատման արդյունքում շատ դեպքերում կրճատվում են կանաչ տնկարկների զբաղեցրած տարածքները, նվազում դրանց էկոլոգիական հարմարողականությունը և գեղագարդությունը: Նման իրավիճակներում ավելանում են ջերմականող, փոշի առաջացնող և այլ վնասակար տեխնածին օբյեկտները: Բացի այդ, արդյունաբերական կենտրոնների և մեքենաների արտադատած զազերից ավելանում է մթնոլորտում թունավոր միացությունների, մասնավորապես, ածխաթթու գազի քանակը: Հենց դրանով է պայմանավորված, որ ներկայիս քաղաքներն ու արդյունաբերական կենտրոնները դժվար է պատկերացնել առանց բարձր գեղագարդությամբ օժտված տնկարկների և կանաչ գոտիների, որոնք միաժամանակ բարելավում են շրջակա միջավայրի միկրոկլիմայական և սանիտարահիգիենիկ պայմանները:

Հայտնի է, որ շատ ծառաբույսեր օժտված են փոշեպաշտպան, գազապաշտպան, ծխապաշտպան և աղմկապաշտպան հատկություններով: Գրեթե բոլոր ծառաբույսերին (առաջին հերթին ասեղնատերև տեսակներին՝ գիհի, սոճի, թույա, եղևնի և այլն) բնորոշ է ցնդող կյուլերի (ֆիտոնցիդների) առկայությունը, որոնք օժտված են ամենակարճ ժամանակահատվածում ոչնչացնել օդում առկա մանրէներին: Ծառաբույսերի մի մասն էլ օժտված են գազապաշտպան և աղմկապաշտպան հատկություններով:

Վերջին ավելի քան հարյուրամյա քաղաքաշինության զարգացման ընթացքում Երևանում ստեղծվել են զանազան տիպի կանաչ տնկարկներ, պուրակներ ու զբոսայգիներ, որոնց մեծ մասը կապված են եղել նոր բնակելի թաղամասերի ու միկրոշրջանների, ինչպես նաև փողոցների ու պողոտաների ստեղծման ու կառուցապատման հետ: Արդյունքում 1920թ. ընդամենը 14.2 հա զբաղեցրած կանաչ տարածքների փոխարեն, հետագայում՝ սկսած 1950-ական թվականներից մեծ թափ ստացած կառուցապատմանը զուգահեռ մայրաքաղաքում ստեղծվեցին նոր կանաչազարդ գոտիներ ու այգիներ, որոնցում օգտագործվում էին ավելի քան 200 տեսակի ծառ ու թուփ՝ ներմուծված հյուսիսային կիսագնդի բարեխառն գոտու տարբեր բուսաաշխարհագրական տարածաշրջաններից: Սակայն, ընդհանուր առմամբ դեռևս 1980-ական թվականներին Երևան քաղաքում առկա կանաչ տնկարկների զբաղեցրած տարածքը հեռու էր բավարար համարվելուց և յուրաքանչյուր բնակչի հաշվով միջազգային չափանիշներով սահմանված նորմայից: Բացի դրանից, 20-րդ դարի վերջին հանրապետությունում ստեղծված էներգետիկ ճգնաժամի ծանր տարիներին, բնակչության կողմից վառելիքի հայթայթման նպատակով անսխառնեպ կորուստ կրած անտառային տնտեսության հետ անմասն չմնացին նաև Երևանի կանաչ տնկարկներն ու քաղաքամերձ անտառապուրակները՝ ռեկրեացիոն գոտիները: Արդյունքում արդեն ճգնաժամի ավարտին (1996թ.) մեկ բնակչի հաշվով կանաչապատ տարածքը կրճատվեց հասնելով մինչև 4.5-5.0 մ²:[1, 4]:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրության օբյեկտ են ծառայել Երևան քաղաքի տարբեր տիպի և կատեգորիայի կանաչ տնկարկները, դրանցում օգտագործված գեղագարդ ծառերն ու թփերը: Այդ նպատակով կատարվել է ծառաբույսերի տաքսոնոմիական կազմի գիտական գույքագրում՝ ստացիոնար երթուղային մեթոդով: Ուսումնասիրությունները կատարվել են ինչպես առանձին վարչական շրջանների տարածքներում առկա կանաչ տնկարկներում, այնպես էլ Աշտարակի խճուղում, Եռաբլուրի անտառապուրակում և մի շարք այլ կանաչապատ տարածքներում: Յուրաքանչյուր դեպքում տարբեր սեզոնային ժամկետներում ծառաբույսերից վերցվել են հերբարիումային նմուշներ՝ ճշտելու դրանց տեսակային պատկանելությունը: Այդ նպատակով օգտագործվել են հանրահայտ որոշիչներն ու տեղեկատվական գրական աղբյուրները: [6,8,9,11]:

Ընդհանուր առմամբ ուսումնասիրությունների ընթացքում Երևան տարբեր տիպի կանաչ տնկարկներում առկա մոտ 160 ծառաթփային տեսակներից վերցրել ենք մոտ 100 հերբարիումային նմուշներ և որոշել դրանց տեսակային պատկանելությունը: Վերցված նմուշները պատկանում են Aceraceae, Fabaceae, Fagaceae, Betulaceae, Buxaceae, Pinaceae, Rosaceae, Solanaceae, Platanaceae-ի այլ ընտանիքների:

Առանձին վարչական շրջաններում առկա կանաչ տնկարկների վերաբերյալ տեղեկատվական նյութեր ձեռք են բերվել Երևանի քաղաքապետարանի աշխատակազմի բնապահպանության վարչությունից:

Արդյունքներ և քննարկում: Ներկայումս Երևանի տարբեր վարչական շրջաններում առկա կանաչ տարածքները՝ ներառյալ ընդհանուր և սահմանափակ օգտագործման, ինչպես նաև հատուկ նշանակության կանաչ տնկարկները կազմում են շուրջ 6800 հա, այդ թվում 850 հա՝ ընդհանուր օգտագործման: Մինչդեռ Երևանը, ունենալով ավելի քան մեկ միլիոն բնակիչ, դասվում է շատ խոշոր քաղաքների դասին և, հետևաբար, մեկ բնակչի հաշվով ընդհանուր քաղաքային օգտագործման կանաչ տարածքը, համաձայն ընդունված ստանդարտների, պետք է կազմի 10 մ², իսկ բնակելի գոտում՝ 14մ²: Ընդհանուր օգտագործման համար՝ 24 մ²: Երևանի ռելիեֆը շատ անհարթ է: Դրա ամենացածրադիր կետը գտնվում է ծովի մակարդակից 900 մ, իսկ ամենաբարձրադիրը՝ 1350 մ բացարձակ բարձրության վրա: Ըստ Եուրօյան, այն Զարավային Կովկասի ամենաարիդային շրջաններից է: Կլիման խիստ ցամաքային է և կիսաանապատային՝ բացարձակ նվազագույն ջերմաստիճանի (-28°C) և բացարձակ առավելագույնի (+41.2°C) տատանումը կարող է հասնել ընդհուպ մինչև 68-70°C-ի:

Երևանում կանաչ տնկարկների ընդարձակումը, ինչպես նաև դենդրոկազմը Նոր, բարձր գեղազարդ ծառաբույսերով համալրելը չափազանց դժվար է՝ կապված կիսաանապատային գոտու խիստ ցամաքային կլիմայական պայմանների հետ. շոգ, գրեթե տեղումնազուրկ ամառների և շատ հաճախ ձյան շերտի բացակայությամբ սառնամանիքով ձմեռների, ցածրորակ, սննդանյութերով աղքատ հողաշերտի պատճառով: Այստեղ ձմեռները ըստ Եուրօյան երկու տիպի են. Մերձարևադարձային՝ տաք, երբ բացարձակ նվազագույն ջերմաստիճանը չի իջնում -5-10 (12)°C-ից և տիպիկ հյուսիսային, երբ բացարձակ նվազագույն ջերմաստիճանը հասնում է -20-25(28)°C: Երևանում որպես կանոն գերակշռում են տաք ձմեռները՝ 10-15 տարին մեկ օրինաչափ կերպով հերթափոխվելով տիպիկ հյուսիսային ձմեռներով: Արդյուքում տարիներ շարունակ Էկոլոգիական պայմաններին հարմարված առանձին ծառաբույսերը ոչնչանում և շարքից դուրս են գալիս (*Cedrus deodora* Loud., *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng, *Cupressus sempervirens* f. *pyramidalis* Targ., *Parrotia persica* C.A. Mey և այլն): Ընդհանուր առմամբ Երևան քաղաքը, գտնվելով ծովի մակարդակից 900-ից (Նորազավիթ, Չարբախ) մինչև 1350 մ (Քանաքեռ, Ջրվեժ միկրոշրջաններ) բացարձակ բարձրության սահմաններում, հիպսոմետրիկ կետերի միջև եղած տարբերությունը կազմում է շուրջ 450 մ: Նման իրավիճակում ձևավորվում են որոշակի դենդրոկլիմայական պայմաններ, որտեղ տարբեր աշխարհագրական ծագում և տաքսոնոմիական պատկանելիություն ունեցող ծառաբույսերը բնականաբար դրսևորում են ոչ նմանատիպ Էկոլոգիական հարմարողականություն: Եվ պատահական չէ, որ քաղաքի հարավային ցածրադիր միկրոկլիմայական պայմաններում՝ մինչև 1000 մ բարձրության վրա (Շենգավիթ, Էրեբունի, Մալաթիա-Սեբաստիա, Կենտրոն), կանաչապատման մեջ հանդիպող Լեւոթրանյան ալբիցիան կամ մետաքսածառը (*Albizia julibrissin* Durazz.) ճապոնական իլենին (*Euonymus japonica* L.), հիմալայան մարիին (*Cedrus deodora* Loud.), ճապոնական խեժափիճին (*Larix leptolepis* Gord.) և այլն, որոնք դրսևորում են բավարար Էկոլոգիական հարմարողականություն, բարձրադիր վարչական շրջանների (Ավան, Քանաքեռ-Զեյթուն, Նոր-Նորթ) կանաչապատման մեջ (մինչև 1200-1300 մ), Նույնիսկ բուսաբանական այգու (1200մ) դենդրոհավաքածուների կազմում նշված և մի շարք այլ օտարածին ծառաբույսեր բացակայում են ցածր ձմադրամեկացկանության պատճառով: Քաղաքային բոլոր վարչական շրջանների տարբեր տիպի ու կատեգորիայի կանաչ տնկարկներում մեր կողմից կատարված ուսումնասիրությունների ընթացքում հստակ երևում է դենդրոկազմի այդ առանձնահատկությունը՝ կապված առանձին միկրոշրջանների կլիմայական պայմանների հետ:

Ըստ վերջին՝ 2017թ. գույքագրման տվյալների, Երևան քաղաքի տարբեր վարչական շրջաններում ստեղծվել են Նոր տնկարկներ ու գեղազարդ օջախներ, որի արդյունքում ընդհանուր օգտագործման կանաչապատ տարածքը ներկայումս կազմում է 862 հա, այդ թվում զբոսայգիներ և պուրակներ՝ 213 հա, սիզամարգեր՝ 165հա, ծաղկային օջախներ՝ 7,3հա, Զրազդանի կիրճ՝ 248 հա և անտառապուրակներ՝ 228,6 հա: 2գա-լիորեն բարելավվել է ոռոգման ցանցը, ընդլայնվել և վերանորոգվել են մոտ 75կմ ջրատար խողովակաշար, Նոր պոմպակայաններ և խորքային հորեր: Ներկայումս ոռոգման ցանցի ընդհանուր երկարությունը կազմում է շուրջ 470կմ, իսկ ոռոգելի տարածքը՝ 517հա: Զամաձայն մեր կողմից 2017-2018թթ. կատարված գույքագրման ար-

դյունքների, Երևան քաղաքի տարբեր տիպի և կատեգորիայի տնկարկներում, այդ թվում կենտրոնական փողոցներում և պողոտաներում լայնորեն օգտագործվում են հետևյալ ծառատեսակները. սոսի արևելյան (*Platanus orientalis* L.), հացենի սովորական (*Fraxinus excelsior* L.), պենսիլվանյան (*F. Pennsylvanica* March.), կաղնի ամառային (*Quercus robur* L.), բարդի բուլբե (*Populus bolleana* Lauche), ռոբինիա կեղծակացիա (*Robinia pseudoacacia* L.), ռոբինիա կեղծակացիա գնդաձև (*Robinia pseudoacacia* f. *Compacta hort.*), սոֆորա ճապոնական (*Sophora japonica* L.), Թույա արևմտյան (*Thuja occidentalis* L.) և այլն: Գեղազարդ թփատեսակներից լայն կիրառություն ունեն ասպիրակները (*Spiraea*), սովորական կիպրոսը (*Ligustrum vulgare* L.), կովկասյան սրնգենին (*Philadelphus caucasicus* Koehne.), ֆորսիցիան (*Forsythia*), ճապոնական խենոմելեսը (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lin.), Սովորական եղրևանին (*Syringa vulgaris* L.), սովորական կծոխուրը (*Berberis vulgaris* L.), սև կոտկենին (*Sambucus nigra* L.), մշտադալար տոսախը (*Buxus sempervirens* L.), ցախակեռասները (*Lonicera*), սպիտակ ճապկին (*Cornus alba* L.), արևելյան կենսածառը (*Biota orientalis* Endl.) և այլն: Վերջին շուրջ 50-ամյա պատմության ընթացքում Երևան քաղաքի կանաչապատման պրակտիկայում ընդհանուր առմամբ փորձարկվել է ավելի քան 12 տեսակի ծառաբույս [2, 3, 10], սակայն ներկայումս տարբեր տիպի ու կատեգորիայի տնկարկներում աճում են ընդամենը 250-260 առավել բարձր հարմարողականություն ցուցաբերած գեղազարդ ծառեր ու թփեր և դրանց պարտիզային ձևերը [1, 5, 6, 7]: Ստորև ներկայացվում են Երևան քաղաքի վարչական շրջաններում առկա կանաչ տարածքների վերաբերյալ ամփոփ տվյալներ՝ ընդհանուր տարածքը, բնակչության թվաքանակը, կանաչապատ տարածքը, ոռոգման ցանցի առկայությունը և ծավալները, ինչպես նաև պուրակների, զբոսայգիների և այլ բնույթի կանաչ գոտիների քանակությունը (աղ. 1):

Աղյուսակ 1. Կանաչապատ տարածքների բաշխվածությունը Երևանում ըստ վարչական շրջանների և ուղղածիզ գոտիականության

Վարչական շրջան	Բարձրությունը ծովի մակարդակից, մ	Տարածք, հա	Բնակչություն հազ. մարդ	Կանաչապատ տարածքներ, հա	Ոռոգման ցանցի երկարություն, կմ	Պուրակների և հանգստի գոտիների քանակ, հատ
Աջափնյակ	Մինչև 1000մ	2582	109.3	40.11	33.2	5
Ավան	1200մ-ից բարձր	726	52.9	27.97	28.8	14
Արաբկիր	1000-1200մ	1329	115.0	72.09	74.5	4
Դավթաշեն	1200մ-ից բարձր	647	42.4	31.49	34.3	2
Էրեբունի	1000-1200մ	4749	127.8	20.6	19.5	2
Մայաթիա-Սեբաստիա	1000-1200մ	2516	137.5	90.01	40.07	9
Նոր-Նորք	1200մ-ից բարձր	1411	131.7	65.2	35.1	23
Նորք-Մարաշ	1000-1200մ	476	11.7	1.51	14.8	1
Նուբարաշեն	1000-1200մ	1724	9.8	4.83	6.4	2
Շենգավիթ	Մինչև 1000մ	4060	140.0	62.58	105.3	4
Քանաքեռ-Զեյթուն	1200մ-ից բարձր	773	74.4	44.76	14.3	4
Կենտրոն	1000-1200մ	1335	125.5	49	50.1	18
Հրազդանի կիրճ		-	-	248.85	-	1
Ծիծեռնակաբերդ		-	-	103	15	1
Ընդամենը		22328	107,8	862	471,37	90

Բերված տվյալները վկայում են, որ Երևան քաղաքի թվով 12 վարչական շրջաններից ամենամեծ տարածք զբաղեցնում է Էրեբունին՝ 4749 հա, որի բնակչությունը կազմում է 127800 մարդ: Իսկ ամենափոքր տարածք զբաղեցնում է Նորք-Մարաշ վարչական շրջանը՝ 476 հա տարածքով՝ 11700 բնակչությամբ:

Ինչ վերաբերում է կանաչապատ տարածքներին, ապա ամենաբարձր ցուցանիշ ունի Մալաթիա-Սեբաստիան՝ 90 հա կանաչ տարածքով: Համեմատաբար բարձր է այդ ցուցանիշը Արաբկիրում՝ 72,09 հա, Նոր-Նորթում՝ 65,2հա և Շենգավիթում՝ 62,58հա: Կանաչ տարածքներով աղքատ են Էրեբունիան՝ 20,6 հա, Ավանը՝ 27,97հա և Դավիթաշենը՝ 31,49հա: Կանաչ տնկարկներից գրեթե զուրկ է Նորթ-Մարաշը՝ 1,51հա և Նուբարաշենը՝ 4,83 հա: Անմխիթար է վիճակը չափազանց խիտ բնակեցված Կենտրոն վարչական շրջանում՝ 49 հա: Հատկանշական է, որ կանաչ տարածքների շուրջ 40 %-ը (351,85 հա) զբաղեցնում են Հրազդանի կիրճն ու Ծիծեռնակաբերդի հուշահամալիրի մերձակա զբոսայգին: Կանաչ տնկարկների, պուրակների ու հանգստյան գոտիների թվով առավել հարուստը Նոր-Նորթն է՝ 23հա, այնուհետև Կենտրոնը՝ 18հա:

Ընդհանրացնելով Երևանի կանաչապատ տարածքներով ապահովվածության վերաբերյալ ցուցանիշների վերլուծությունը ըստ վարչական շրջանների, կարելի է եզրակացնել, որ առանց բացառության բոլոր դեպքերում էլ առկա է կանաչապատ տարածքների դեֆիցիտ: Համաձայն միջազգային չափանիշների, սահմանված է, որ տարբեր նշանակության կանաչ գոտիների տեսակարար կշիռը պետք է լինի բաղաձայն զբաղեցրած տարածքի ոչ պակաս 40%-ը, իսկ ընդհանուր օգտագործման համար նախատեսված կանաչ տարածքները յուրաքանչյուր բնակչի հաշվով՝ 21 մ²:

Վարչական շրջանների փաստացի և անհրաժեշտ կանաչապատ տարածքների համեմատական ցուցանիշները բերված են աղ. 2-ում:

Աղյուսակ 2. Փաստացի և անհրաժեշտ կանաչապատ տարածքների համեմատական ցուցանիշները ըստ Երևանի վարչական շրջանների

Վարչական շրջան	Ընդհանուր տարածք, հա	Փաստացի կանաչապատ տարածքներ, հա	Անհրաժեշտ կանաչապատ տարածքներ, հա	Վաճառվածություն, %
Աջափնյակ	2582	40.11	229.53	17.4
Ավան	726	27.97	111.09	25.2
Արաբկիր	1329	72.09	241.5	29.8
Դավթաշեն	647	31.49	89.04	35.4
Էրեբունի	4749	20.6	268.38	7.67
Մալաթիա-Սեբաստիա	2516	90.01	288.75	31.17
Նոր-Նորթ	1411	65.2	276.57	23.5
Նորթ-Մարաշ	476	1.51	24.57	6.14
Նուբարաշեն	1724	4.83	20.58	23.4
Շենգավիթ	4060	62.58	294	21.3
Քանաքեռ-Զեյթուն	773	44.76	156.24	28.64
Կենտրոն	1335	49	263.55	18.6

Աղ. 2-ից պարզ է դառնում, որ Երևանի բոլոր վարչական շրջանների ապահովվածությունը կանաչ տնկարկներով գտնվում է ոչ բարձր վիճակում: Համեմատաբար բարձր են Ավան, Արաբկիր, Դավթաշեն, Մալաթիա-Սեբաստիա և Քանաքեռ-Զեյթուն վարչական շրջանները, որոնց ապահովվածությունը կանաչ տնկարկներով կազմում է 25.2-35.4%: Միջին ապահովվածություն ունեն Աջափնյակ, Նոր-Նորթ, Նուբարաշեն, Շենգավիթ վարչական շրջանները՝ 17.4-23.5%:

Ծայրահեղ ծանր վիճակում են այդ առումով Էրեբունի և Նորթ-Մարաշ վարչական շրջանները, որոնց ապահովվածությունը համապատասխանաբար կազմում են 7.67% և 6.14%: Գերծանաբերված և խիտ բնակեցված Կենտրոն վարչական շրջանում ընդհանուր օգտագործման կանաչ տնկարկներով ապահովվածության ցուցանիշը նույնպես ցածր է՝ կազմելով ընդամենը 18.6%:

Ամփոփելով Երևան քաղաքում կանաչապատ տարածքների առկայության և ըստ վարչական շրջանների դրանց բաշխվածության վերաբերյալ վերլուծությունը, կարելի է եզրակացնել, որ ընդհանուր առմամբ մայրաքաղաքում և մասնավորապես առանձին միկրոշրջաններում անբավարար է կանաչապատման մակարդակը: Չափազանց մտահոգիչ է վիճակը Էրեբունի և Նորթ-Մարաշ վարչական շրջաններում և Նոր-Նորթ, Շենգավիթ վարչական շրջանների որոշ միկրոշրջաններում:

Այդ հանգամանքը անհրաժեշտ է հաշվի առնել մոտակա 3-5 տարիների համար կանաչ տնկարկների վերակառուցման և Երևանի կանաչապատման զարգացման ծրագիր մշակելիս:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Վարդանյան Ժ.Ֆ., Գառնյան Գ.Մ., Գրիգորյան Մ.Մ., Փայտյան Յու. Ե.* Գեղազարդ ծառեր և թփեր կանաչապատման համար, Երևան, 361 էջ, 2015:
2. *Հարությունյան Լ.Վ.* Կանաչապատվող օբյեկտների նախագծման հիմունքները, Երևան, 265 էջ, 1977:
3. *Արутյոյան Լ.Վ.* Интродукция древесных в Армению методом экзотов-индикаторов и дендрологическое районирование ее территории, Бюлл. Бот. Сада АН АрмССР, с. 5-50, 1973.
4. *Արутյոյան Լ.Վ.* Принципы озеленения улиц Еревана, Бюлл. Бот. Сада АН АрмССР, с. 69-86, 1961.
5. *Варданян Ж.А.* Научные основы интродукции древесных растений в Армении, Ереван. Издательство “Гитутюн” НАН РА, 400 с., 2012.
6. *Варданян Ж.А.* Деревья и кустарники Армении в природе и культуре. Ереван, 367с., 2003.
7. *Варданян Ж.А., Григорян А.А.* Актуальные проблемы озеленения г. Еревана, Мастер. межд. науч. конф. “Проблемы современной дендрологии”, М., с. 431-433, 2009.
8. Дендрофлора Кавказа, Тбилиси, т.т. 1-5, 1959-1970.
9. Деревья и кустарники СССР, М.-Л., 1-6, 1949-1962.
10. *Казарян В.О., Арутюнян Л.В., Хуришудян П.А., Григорян А.А., Барсегян А.М.* Научные основы облесения и озеленения Армянской СССР. Ереван, 350с., 1974.
11. *Сосновский Д.И., Махатадзе Л.Б.* Краткий определитель деревьев и кустарников Армянской ССР., Ереван, 102 с., 1950.

Ստացվել է 28.12.2018



Biolog. Journal of Armenia, 1 (71), 2019

DETERMINATION OF THE SPECIES COMPOSITION OF THE DORMOUSE FAMILY (MYOXIDAE) OF ARMENIA THROUGH GENETIC ANALYSIS

H.M. SARGSYAN

*Scientific Center of Zoology and Hydroecology NAS RA
hayk.s.mdd@gmail.com*

In our previous articles we have mentioned about the fact, that the family of dormouse (Myoxidae) is the least studied representatives of rodents not only in Armenia, but also throughout the region. In 1954, S.K. Dahl presented only two types of dormouses, namely edible dormouse (*Glis glis*) and forest dormouse (*Dryomys nitedula*) for the Armenian Mammal's Fauna, but later our scientific group discovered and described species which had never been described before, the garden dormouse (*Eliomys quercinus*).

In this article the goals, methods and results of cytogenetic research on representatives of the dormouse family are presented. The research was conducted in the scope of grant with the Institute of Zoology of the PAN in Warsaw.

Rodent group (Rodentia) – dormouse family (Myoxidae) – edible dormouse (Glis glis) – forest dormouse (Dryomys nitedula) – garden dormouse (Eliomys quercinus)

Մեր նախորդ հոդվածներում մենք նշել ենք, որ քնամկների ընտանիքը (Myoxidae) կրծողների կարգի (Rodentia) ամենաքիչ ուսումնասիրված խմբերից մեկն է ոչ միայն Հայաստանում, այլ նաև ողջ տարածաշրջանում: 1954 թ-ին Դալը, Հայաստանի կաթնասունների ֆաունայի համար, ներկայացրել է քնամկների 2 տեսակ՝ մեծ քնամուկ (*Glis glis*) և անտառային քնամուկ (*Dryomys nitedula*), բայց ավելի ուշ մեր գիտական խումբը հայտնաբերել և բնութագրել է մինչ այդ չբնութագրված տեսակ՝ այգու քնամուկ (*Eliomys quercinus*):

Այս հոդվածում ներկայացվում են Հայաստանի ֆաունայի քնամկների ընտանիքի (Myoxidae) ներկայացուցիչների բջջագենետիկ հետազոտությունների նպատակները, մեթոդները և արդյունքները, որոնք իրականացվել են միասնական գրանտի շրջանակներում Լեհաստանի ԳԱ կենդանաբանության ինստիտուտի հետ համատեղ:

Կրծողների կարգ (Rodentia) – քնամկների ընտանիք (Myoxidae) – մեծ քնամուկ (Glis glis) – անտառային քնամուկ (Dryomys nitedula) – այգու քնամուկ (Eliomys quercinus)

В наших предыдущих статьях мы упоминали о том, что семейство соневых (Myoxidae) является наименее изученным представителем среди грызунов не только в Армении, но и во всем регионе. В 1954 г. С.К. Даль для фауны армянских млекопитающих представил только два типа соневых: соня-полчок (*Glis glis*) и лесная соня (*Dryomys nitedula*), но позже наша научная группа обнаружила и описала вид, который ранее никогда не описывался – садовая соня (*Eliomys quercinus*).

В этой статье представлены цели, методы и результаты цитогенетических исследований представителей семейства соневых, которые мы провели в рамках гранта с Институтом зоологии ПАН в Варшаве.

*Отряд грызунов (Rodentia) – семейство соневых (Myoxidae) – соня-полчок (Glis glis) –
лесная соня (Dryomys nitedula) – садовая соня (Eliomys quercinus)*

As we have mentioned in our previous articles, the family of dormouse (Myoxidae) is the least studied representatives of rodents not only in Armenia, but also throughout the region. In 1954, Dahl presented only two types of dormouses, namely edible dormouse (*Glis glis*) and forest dormouse (*Dryomys nitedula*) for the Armenian Mammals' Fauna, [1]. Later, our scientific group discovered and described by using qualifiers, the garden dormouse (*Eliomys quercinus*), about which we periodically have mentioned in our previous articles [2]. It is well-known, that the standards of the species are typical for the biological species (morphological, physiological, geographical, ecological, biochemical, genetic and other). However, no one of these is absolute and in order to attribute specimen to one or another type it is necessary for specimen to comply with all standards of the kind assigned to it. That is the reason that in the scope of joint grant, our scientific group decided to send the representatives of the dormouse family (Myoxidae), which were hunted according to the license given by the Ministry of Nature Protection of RA, to the Institute of Zoology of the PAN in Warsaw. In the institute the samples with local specialists were undergone cytogenetic research. The cytogenetic researches pursued 2 main goals:

1. Genetically confirm the existence of 2 types of the dormouse family in nature of RA, described for the Armenian Mammal's Fauna, which are edible dormouse (*Glis glis*) and forest dormouse (*Dryomys nitedula*)

2. Genetically confirm the existence of the third type of the dormouse family in nature of RA, described for the Armenian Mammal's Fauna, which is garden dormouse (*Eliomys quercinus*) described by our scientific group.

It necessary to mention that the cytogenetic research has never been done before on the representatives of the family of dormouse of the Armenian Fauna and in essence, the mentioned work itself is a scientific novelty.

Materials and methods. Works were done with interruptions (from 2011 to 2013) and resumed in 2016. During the mentioned period traps and peters were used in order to hunt, fix and mark the animals. The samples of animals prepared, numbered and fixed by us in the field according to accepted standards. Samples were stored in 70 % ethanol solution. In order to decide the accurate affiliation of the type of the numbered and fixed specimen, we used DNA barcoding with our colleagues from the Institute of Zoology of the PAN in Warsaw. Cytochrome C oxidase subunit I (hereafter COI) gene received from the tissues of the sampled specimen has been subjected to a singular analysis [3], and the received digital code of the gene has been compared with the other samples' digital codes available in the international database with the BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). As a result, we have confirmed the species affiliation of the specimen.

Results and Discussion. In total 31 collected and fixed specimen was taken to the Institute of Zoology of the PAN in Warsaw for cytogenetic research: 10 of which were preliminary characterized as Edible dormouse (*Glis glis*) by us through morphometric

DETERMINATION OF THE SPECIES COMPOSITION OF THE DORMOUSE FAMILY (MYOXIDAE) OF ARMENIA THROUGH GENETIC...

measurements, 18 of which as forest dormouse (*Dryomys nitedula*) and 3 of which as garden dormouse (*Eliomys quercinus*). Unfortunately, after laboratory analysis of 31 samples, COI the digital code of the mitochondrial gene has been received only from 23 samples: 9 edible dormouse (*Glis glis*) and 15 garden dormouse (*Eliomys quercinus*). It is necessary to mention, that there is always a chance to receive a negative result. The reason for the negative results can be any mistake made during any period of the work

process either in the field (sample taking and fixing) or in the laboratory (separation of DNA, PCR realization, sequencing). For example, it is not always possible to keep the right portion of the 70 % ethanol for the sample keeping and in the laboratory the reasons for mistakes are too many. For example, not enough amount of DNA or primers, lost of DNA in the cleaning phase, wrong thermal parameters of the PCR reaction, etc. The digital codes, taken during the sequencing of the cytochrome C oxidase subunit I (COI) of the mitochondrial genes of 23 samples, later at computer processing stage, were compared with the other digital codes available in the international database. The results are the following.

Table 1. The results of the cytogenetic study of the family of dormouse

Type	Identification	
	Min	Max
Edible dormouse - <i>Glis glis</i> Linnaeus, 1758	88%	99%
Forest dormouse - <i>Dryomys nitedula</i> Pallas, 1779	86%	98%

As we can see in the table above, the maximum results of the identification of the edible dormouse (*Glis glis*) and forest dormouse (*Dryomys nitedula*) are accordingly 99 % and 98 %, which is pretty much high indicator.

As we already have mentioned the cytogenetic research was aimed to: (a) genetically reconfirm the existence of 2 types of the dormouse family in nature of RA, described for the Armenian Mammal's Fauna, which are edible dormouse (*Glis glis*) and forest dormouse (*Dryomys nitedula*); and (b) genetically reconfirm the existence of 3rd type of the dormouse family in nature of RA, described for the Armenian Mammal's Fauna, which is garden dormouse (*Eliomys quercinus*) described by our scientific group.

As a result of our research, we were able to accomplish only the first objective. Due to some reasons, we were not succeed to get COI mitochondrial gene of garden dormouse during the experiments, which was described by us earlier. Now, we discuss the possibility to resume our experiments with our colleagues from the Institute of Zoology of the PAN in Warsaw. However, although we could reach only one goal, this work has a big scientific value, because the representatives of the family of dormouse (Myoxidae) were subjected to cytogenetic research for the first time.

REFERENCES

1. *Даль С.К.* Животный мир Армянской ССР. 1. Позвоночные животные. Ереван. Изд.-во АН Арм. ССР, с. 4-382, 1954.
2. *Sargsyan H.M.* Determination of the speciec and ecology of the Dormouses (Myoxidae) of Artsakh and north areas of Armenia. Biolog. Journal of Armenia, 70, 2, pp. 113-115.
3. *Hebert P.D., Ratnasingham S. De Waard jr.* Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. Proc. Biol. Sci. 270 Suppl 1, p. 96-99, 2003.

Received on 02.11.2019



Биолог. журн. Армении, 1 (71), 2019

В ПАМЯТЬ О ЗАМЕЧАТЕЛЬНОМ УЧЕНОМ



Замечательный армянский ученый-микробиолог Вилен Гарегинович Никогосян родился 16 июля 1932 г. в Ереване. Окончив в 1951 г. Ереванскую среднюю школу им. 26 Комиссаров, он поступает в Ереванский сельскохозяйственный институт на факультет виноградарства и плодоводства, который успешно заканчивает в 1956 г. Именно в годы учебы формируются основные научные интересы В.Г. Никогосяна, предопределившие всю его дальнейшую творческую судьбу.

Сразу после окончания института Никогосян В.Г. поступает на работу в Научно-исследовательский институт виноделия, виноградарства и плодоводства в качестве препаратора, затем лаборанта в отделе микробиологии и, наконец, заведующего музеем культур микроорганизмов.

В 1961 г. В.Г. Никогосян принимает приглашение академика Э.Г. Африкяна и переходит на работу в Институт микробиологии АН Арм.ССР. Здесь он проработал без малого 55 лет, от лаборанта до заведующего лабораторией.

Первые самостоятельные научные труды ученого были посвящены изучению видового состава лишайников Армянской ССР и их микрофлоры. В период с 1963 по 1967 гг. В.Г. Никогосяном было выявлено более 95 видов лишайников, из которых около 30-ти, произрастающих в Армении, описаны впервые. При этом, некоторые роды и виды лишайников были им описаны впервые не только как представители флоры Кавказа, но и СССР в целом, в том числе новый вид *Dermatocarpon cineritectum* Nikog.sp.nov. По результатам этих исследований ученый публикует более 15 научных трудов, часть из которых сохранили свою актуальность по настоящее время.

В 1967 г. В.Г. Никогосяну была присвоена ученая степень кандидата биологических наук.

Дальнейшие работы В.Г. Никогосяна были посвящены физиолого-биохимическим основам интенсификации биологической фиксации атмосферного азота почвенными олигонитрофильными микроорганизмами. В частности, им были изучены распространение, физиологические особенности (1974 г.) и видовой состав (1976 г.) олигонитрофильных микроорганизмов в почвах Армении и показаны составы синтезируемых ими аминокислот (1976 г.).

Особого внимания заслуживают работы В.Г. Никогосяна, посвященные исследованию свободноживущих азотфиксирующих бактерий. Так, в 1981-1982 гг. ученым опубликован ряд основополагающих трудов о микробиологических процессах круговорота азота в почвах в районе оз. Севан, распространении свободно

живущих азотфиксирующих бактерий в различных почвах Армении, их экологических и биологических свойствах, особенностях определения и особенностях определения и динамике проявления нитрогеназной активности. В.Г. Никогосяном была установлена азотфиксирующая активность культур *Azotobacter chroococcum*, получены их новые мутантные штаммы, разработан метод селекции активных культур ацетиленовым методом и по общему азоту. В дальнейшем эти работы легли в основу получения эффективных биологических стимуляторов роста сельскохозяйственных растений, а по их результатам в 1999 г. В.Г. Никогосяну решением Специализированного совета Института микробиологии НАН РА присуждается ученая степень доктора биологических наук.

Пытливый ум и стремление к новым знаниям, призвание к анализу и обобщению материала всегда отличали В.Г. Никогосяна, что позволило ему стать автором многих рационализаторских предложений, изобретений и около 100 научных трудов в области микробиологии и биотехнологии.

В.Г. Никогосян принимал активное участие в подготовке научных кадров, являясь членом Диссертационного совета по микробиологии и биотехнологии ННЦ “Армбиотехнология” НАН РА.

Многогранная научно-организаторская деятельность В.Г. Никогосяна отмечена многочисленными правительственными наградами и почетными грамотами.

Высокая эрудиция, научная щепетильность, необыкновенная ответственность, обязательность и в то же время интеллигентность, доброжелательное и тактичное отношение к людям лежали в основе заслуженного уважения и авторитета В.Г. Никогосяна среди коллег.

Светлая память о Вилене Гарегиновиче Никогосяне, замечательном человеке, учителе, ученом навсегда сохранится в сердцах его учеников, коллег, друзей, всех, кто знал и работал вместе с ним.

Коллектив ННЦ “Армбиотехнология” НАН РА

«ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆՐԱՅ» -ի
Էլեկտրոնային տարբերակը
և հեղինակների համար կանոնները գետեղված են հետևյալ կայքէջում
<http://www.flib.sci.am/eng/Biology/>

Խմբագրության աշխատակիցներ՝
Ափինյան Ն.Հ., Իսահակյան Ժ.Հ., Սարգսյան Է.Գ.
Խմբագրության հասցեն՝ 0019, Երևան, Մարշալ Բաղրամյան պ. 24 գ, սենյակ 11,
Հեռ. 010 58 01 97; 010 57 21 19, E-mail: bja@ysu.am

Сотрудники редакции:
Апинян Н.А., Исаакян Ж.Г., Саркисян Э.Г.
Адрес редакции: 0019, Ереван, пр. Маршала Баграмяна 24 г, комната 11,
Тел. 010 58 01 97; 010 57 21 19, E-mail: bja@ysu.am

Staff of Editorial office:
Apinyan N.H., Isahakyan Zh.H., Sargsyan E.G.
Address of Editorial office: 0019, Yerevan, Marshal Baghramyan pr. 24 g, room 11,
Tel. 010 58 01 97; 010 57 21 19, E-mail: bja@ysu.am

Հրատ. պատվեր՝ 937
Ստորագրված է տպագրության՝ 01.04.2019:
Թուղթը՝ օֆսեթ. № 1:
5,75 տպ.մամուլ: Տպաքանակ՝ 150:
ՀՀ ԱԱ «Գիտություն» հրատարակչության տպարան:
0019, Երևան, Մարշալ Բաղրամյան պ. 24: