



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 ՀԱՆԴԵՍ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

ՀԱՏՈՐ LXXI, 3, 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. Զ. Եսայան (*պատասխանատու քարտուղար*), Գ. Գ. Գևորգյան, Ա. Զ. Թռչունյան, Լ. Ռ. Մանվելյան, Ս. Խ. Մայրապետյան, Ժ. Զ. Վարդանյան

ԽՄԲԱԳՐԱԿԱՆ ԽՈՐՀՈՒՐԴ

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

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Э.С. Геворкян (*главный редактор*), Р.М. Арутюнян (*заместитель главного редактора*), А.Г. Есаян (*ответственный секретарь*), Г. Г. Геворкян, А.А. Трчунян, Л.Р. Манвелян, С.Х. Маїрапетян, Ж.А. Варданян

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Ю.Т. Алексанян, Ж.И. Акопян, В.П. Акопян,
С.О. Мовсесян, 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. Osipyan

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

• Փորձարարական և տեսական հոդվածներ •

<i>Քալանթարյան Ն.Բ. Chlorellaceae</i> ընտանիքի միաբջիջ կանաչ միկրոօրգանիզմների մոլեկուլային գենետիկական նույնականացումը.....	6
<i>Մայրապետյան Ս.Խ., Թովմասյան Ա.Յ., Ալեքսանյան Ջ.Ս., Թադևոսյան Ա.Յ., Ղալաջյան Լ.Ս., Ստեփանյան Բ.Թ., Ասատրյան Ա.Զ., Դարյադար Մ.Խ.</i> Կալեի (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Sabellica</i> L.) բերքատվությունը և դեղաբիմիական մի շարք ցուցանիշները ջրաշիթային հիդրոպոնիկայի տարբեր մոդուլներում.....	14
<i>Պիպոյան Ս.Խ., Առաքելյան Ա.Ս., Յեպիսյան Մ.Ռ.</i> Հայաստանի Հանրապետության Տավուշի մարզի Ջողասի ջրամբարի ձկնաշխարհը.....	20
<i>Վարդանյան Տ.Վ., Բարսեղյան Ն.Է.</i> Սևանա լճի ամուրյան նրբաձկնիկի <i>Pseudorasbora parva</i> (Temminck et Schlegel, 1846) էկոլոգաձևաբանական բնութագիրը	25
<i>Ստեփանյան Լ. Գ.</i> Մարմարիկ գետի ֆիտոպլանկտոնային համակենցության որակական, քանակական ցուցանիշները և էկոլոգոաշխարհագրական բնութագիրը.....	32
<i>Խաչատրյան Յ.Է., Ղազարյան Կ.Ա., Մովսեսյան Յ.Ս.</i> Ֆիտոռեմեդիացիան որպես ծանր մետաղներով հողերի աղտոտվածության նվազեցման կենսատեխնոլոգիա.....	39
<i>Խալաթյան Ա.Ա., Սայադյան Յ.Յ.</i> “Սորաններ” դենդրոպարկի էկոլոգիական ազդեցությունը Բերդ քաղաքի վրա և պահպանության խնդիրները.....	48
<i>Հովհաննիսյան Գ.Ա.</i> Ձվարանների բաղցկեղային բջիջներում ԻԼ-2 և ՈՒՆԳ-α-ի ակտիվությունը կախված է հիվանդության փուլից.....	53
<i>Քիչմիրյան Ա.Վ. Macrovipera lebetina obtusa</i> (MLO) օձի թույնի դեմ կենդանական ծագման, մոնոկլալենտ հակաթույնի մշակումը և արդյունավետության գնահատումը.....	60
<i>Գևորգյան Է.Ս., Յավրոյան Ժ.Վ., Հակոբյան Ն.Ռ., Հովհաննիսյան Ա.Գ., Սարգսյան Է.Գ.</i> Ցիսպլատինի և էստրադիոլի համատեղ ազդեցությունը առնետի գլխուղեղի բջջակորիզից անջատած ֆոսֆոլիպիդների բաղադրության վրա.....	67
<i>Սողոմոնյան Դ.Ռ., Մաքսակալյան Ն.Ս., Թոքունյան Ա.Յ.</i> Կոլոիդ արծաթի հակաբակտերիային ազդեցության մեխանիզմի մասին. <i>Escherichia coli</i> -ի և <i>Enterococcus faecalis</i> -ի թաղանթակապ պրոտոնային ԱԵՖազի ակտիվության փոփոխությունները.....	73
<i>Հարությունյան Ա.Ա., Ղուկասյան Գ.Տ., Ստեփանյան Գ.Ս., Դանազուլյան Գ.Գ.</i> Տեղակալված 2-(2-արիլվինիլ)պիրիմիդինների և 2-(2-արիլվինիլ)պիրիդոլ[1,2-ա]պիրիմիդինների հակաբակտերիալ հատկությունները.....	79
<i>Խաչատրյան Ա.Ս.</i> Fe^{2+} և Fe^{3+} իոնների ազդեցությունը <i>Leptospirillum ferriphilum</i> CC աճի և Fe^{2+} օքսիդացման վրա	83
<i>Օհանյան Ս.Ա., Ռշտունի Լ.Ռ., Գրաբսկի Յ.Վ., Տիրացույան Ս.Գ., Հովհաննիսյան Ա.Ա.</i> Զրմիական և կանաչ արծաթի նանոմասնիկների հակամանրէային ազդեցությունը հակաբիոտիկների հետ համատեղ	89

•Համառոտ հաղորդումներ•

<i>Մարուքյան Ս.Վ.</i> ԱԵՖ-ազային ակտիվության փոփոխությունը ռենտգենյան ճառագայթա-հարման ենթարկված <i>C.guilliermondii</i> HII-4 խմորասնկերի միտոքոնդրիումներում.....	97
---	----

СОДЕРЖАНИЕ

•Экспериментальные и теоретические статьи•

Калантарян Н.К. Молекулярно-генетическая идентификация одноклеточных зеленых микроводорослей семейства <i>Chlorellaceae</i>	6
Майрапетян С.Х., Товмасын А.О., Алексанян Дж.С., Тадевосян А.О., Калачян Л.М., Степанян Б.Т., Асатрян А.З., Дарядар М.Х. Урожайность и некоторые фармакохимические показатели кале (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Sabellica</i> L.) при различных модулях водоструйной гидропоники.....	14
Пипоян С.Х., Аракелян А.С., Гепинян М.Р. Ихтиофауна Джогасского водохранилища Тавушского региона, Республики Армения	20
Варданян Т.В., Барсегян Н.Э. Морфоэкологические особенности амурского чебачка <i>Pseudorasbora parva</i> (Temminck et Schlegel, 1846) озера Севан.....	25
Степанян Л.Г. Качественные и количественные показатели и эколого-географическая характеристика фитопланктонного сообщества реки Мармарик.....	32
Хачатрян Г.Э., Казарян К.А., Мовсесян А.С. Фиторемедиация как биотехнология уменьшения загрязнения почв тяжелыми металлами	39
Халатян А.А., Саядян О.Я. Экологическое воздействие дендропарка “Сораннер” на город Берд и задачи охраны.....	48
Оганнисян Г.А. Активность ИЛ-2 и ФНО- α при раке яичников зависит от стадии заболевания.....	53
Кишмирян А.В. Разработка моновалентного противоядия животного происхождения против яда змеи <i>Macrovipera lebetina obtusa</i> (MLO) и оценка его эффективности.....	60
Геворгян Э.С., Яворян Ж.В., Акопян Н.Р., Оганесян А.Г., Саргсян Э.Г. Совместное воздействие цисплатина и эстрадиола на содержание фосфолипидов в ядрах клеток головного мозга крыс	67
Согомонян Д.Р., Мнацаканян Н.С., Трчунян А.А. К механизму антибактериального действия коллоидного серебра: Изменения активности мембрано-связанной протонной АТФазы в <i>Escherichia coli</i> и <i>Enterococcus faecalis</i>	73
Арутюнян А.А., Гукасян Г.Т., Степанян Г.М., Данагулян Г.Г. Антибактериальные свойства замещенных 2-(2-арилвинил) пиримидинонов и 2-(2-арилвинил) пиридо[1,2-а]пиримидинов.....	79
Хачатрян А.С. Влияние ионов Fe^{2+} и Fe^{3+} на рост <i>Leptospirillum ferriphilum</i> СС и окисление Fe^{2+}	83
Оганян С.А., Рштуни Л.Р., Грабский О.В., Тиранцян С.Г., Оганесян А.А. Антибактериальное действие химических и зеленых наночастиц серебра совместно с антибиотиками	89

•Краткие сообщения•

Марутян С.В. Изменение АТФ-азной активности в митохондриях дрожжей <i>S. guilliermondii</i> НП-4 облученных рентгеновским излучением	97
--	----

CONTENTS

•Experimental and theoretical articles•

<i>Kalantaryan N.K.</i> Molecular identification of unicellular green microalgae family <i>Chlorellaceae</i>	6
<i>Mairapetyan S.Kh., Tovmasyan A.H., Alexanyan J.S., Tadevosyan A.H., Ghalachyan L.M., Stepanyan B.T., Asatryan A.Z., Daryadar M.Kh.</i> Yield and some pharmacological indices of kale (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>Sabellica</i> L.) in different modules of water stream hydroponics.....	14
<i>Pipoyan S. KH., Arakelyan A.S., Hepinyan M.R.</i> The ichthyofauna of Joghhas reservoir of Tavush region, of Republic of Armenia)	20
<i>Vardanyan T.V. Barseghyan N.E.</i> Morpho-ecological features of stone moroko <i>Pseudorasbora parva</i> (Temminck et Schlegel, 1846) of lake Sevan.....	25
<i>Stepanyan L.G.</i> Qualitative, quantitative parameters and ecological-geographical characteristics of phytoplankton community of Marmarik River	32
<i>Khachatryan H.E., Ghazaryan K.A., Movsesyan H.S.</i> Phytoremediation as a biotechnology of reducing soil pollution by heavy metals.....	39
<i>Khalatyan A.A., Sayadyan H.Y.</i> Ecological impact of “Soranner” dendropark on the city of Berd and the issues of conservation	48
<i>Hovhannisyan G.A.</i> IL-2 and tnf- α activity in ovarian cancer depends on the stage of disease...53	
<i>Kishmiryan A.V.</i> The development and evaluation of effectiveness of animal derived monovalent antivenom against <i>Macrovipera lebetina obtusa</i> (MLO) venom.....	60
<i>Gevorgyan E.S., Yavroyan Zh.V., Hakobyan N.R., Hovhannisyan A.G., Sargsyan E.G.</i> Cisplatin and estradiol joint action on phospholipid composition of nuclear fraction from female rat brain cells.....	67
<i>Soghomonyan D.R., Mnatsakanyan N.S., Trchounian A.H.</i> To the mechanism of antibacterial action of colloidal silver: Changes in membrane-associated proton ATPase activity in <i>Escherichia coli</i> and <i>Enterococcus faecalis</i>	73
<i>Harutyunyan A.A. Gukasyan G.T., Stepanyan G.M., Danagulyan G.G.</i> Antibacterial properties of substituted 2- (2-arylvinyl) pyrimidinones and 2- (2-arylvinyl) pyrido[1,2-a]pyrimidines	79
<i>Khachatryan A.C.</i> Influence of Fe^{2+} and Fe^{3+} on the growth of <i>Leptospirillum ferriphilum</i> CC and oxidation of Fe^{2+}	83
<i>Ohanyan S.A., Rshtuni L.R., Grabski H.V., Tiratsuyan S.G., Hovhannisyan A.A.</i> Antibacterial action of chemical and green silver nanoparticles in combination with antibiotics.....	89

• Short communication •

<i>Marutyan S.V.</i> Change of ATP-ase activity in mitochondria of X-irradiated yeasts <i>C. guilliermondii</i> NP-4	97
--	----



Биол. журн. Армении, 3 (71), 2019

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ЗЕЛЕННЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *CHLORELLACEAE*

Н.К. КАЛАНТАРЯН

Лаборатория альтернативных источников энергии
Научно-производственный центр “Армбиотехнология” НАН РА

С помощью молекулярно-генетических методов с использованием анализа генов рДНК исследованы лабораторные культуры *Chlorella vulgaris* Pa-001 и *Ch. pyrenoidosa* Pa-002, отобранные из различных образцов водных экосистем. В соответствии с современной систематикой удалось определить истинную видовую принадлежность зеленых одноклеточных микроводорослей, как *Parachlorella kessleri*, обладающих высоким биотехнологическим потенциалом.

Микроводоросли – коллекционные культуры – молекулярно-генетическая идентификация – таксономический статус – филогения

Մոլեկուլային-գենետիկական մեթոդների օգնությամբ և ռԴՆԹ գեների վերլուծության օգտագործմամբ անալիզի են ենթարկվել *Chlorella vulgaris* Pa-001 և *Ch. pyrenoidosa* Pa-002 լաբորատոր կուլտուրաները, որոնք ընտրվել են տարբեր ջրային էկոհամակարգերի նմուշներից: Համաձայն ժամանակակից դասակարգման՝ հաջողվել է որոշել կանաչ միաբջջե միկրոօրգանիզմների իրական տեսակային պատկանելիությունը՝ որպես *Parachlorella kessleri*, որն օժտված է բարձր կենսատեխնոլոգիական պոտենցիալով:

Միկրոօրգանիզմներ – կոլեկցիոն կուլտուրաներ – մոլեկուլային-գենետիկական նույնականացում – տաքսոնոմիական կարգավիճակ – ֆիլոգենիա

The laboratory cultures of *Chlorella vulgaris* Pa-001 and *Ch. pyrenoidosa* Pa-002 selected from various samples of aquatic ecosystems have been analyzed by molecular genetic methods and analysis of rDNA genes. In accordance with modern taxonomy, it was possible to determine the true species identity of green unicellular microalgae as *Parachlorella kessleri* with high biotechnological potential.

Microalgae – collection cultures – molecular genetic identification – taxonomic status – phylogeny

Зеленые микроводоросли – обширная группа одноклеточных микроорганизмов, широко распространенная в различных типах пресных и соленых водоемов. Их отличительной особенностью является способность удваивать биомассу за сравнительно короткий период времени и накапливать значительные количества веществ, имеющих значение в жизнедеятельности человека и животных.

Огромное биологическое разнообразие микроводорослей позволяет проводить целевой отбор активных штаммов-продуцентов с заданными свойствами, а

также осуществлять различные генно-инженерные манипуляции с целью повышения их биотехнологического потенциала [11].

Армения, имея уникальные экологические, климатические и географические условия, вместе с тем располагает значительными водными ресурсами. Хорошо известные горячие, теплые и холодные, пресные и минеральные источники, пресноводное озеро Севан, а также щелочноземельные почвы, богатые представителями различных видов микроводорослей. Видовая диагностика одна из ключевых задач в оценке биоразнообразия и экологического мониторинга микроводорослей, заселяющих водные биотопы республики. Точная идентификация служит основой для создания коллекционного фонда культур и дальнейшего фундаментального и практического исследования.

В основе классификации микроводорослей по таксономическим группам заложен ряд морфологических признаков: пигментный и химический состав, строение клеточных оболочек, наличие двигательного аппарата (жгутики, их количество, строение и расположение), содержание питательных веществ и способ размножения. Вместе с тем, виды из таксономически отдалённых групп микроводорослей могут сочетать общие друг для друга характеристики, а разные представители одного и того же вида могут демонстрировать чрезвычайное разнообразие по форме, размеру, структуре, составу и окраске. Известно также, что один и тот же вид может переходить на разные способы размножения в зависимости от окружающих условий.

Таким образом, отсутствие генетического анализа часто приводит к недостоверной и ошибочной таксономической классификации культур, так как известно, что морфологический критерий одноклеточных зачастую не является надежным и позволяет только предварительно диагностировать максимально возможный таксономический статус.

В настоящее время молекулярно-генетические методы анализа применяют во многих фундаментальных и прикладных исследованиях как один из успешных, быстрых и экономически эффективных инструментов оценки биоразнообразия. Зачастую, они являются единственным возможным инструментом в установлении видовой принадлежности у большинства микроводорослей.

С применением молекулярно-генетических инструментов и разработкой эффективных генетических маркеров в идентификации микроводорослей разграничение видов во многих случаях облегчилось. Вместе с тем, оно усложнилось для тех случаев, когда молекулярно-генетические данные несопоставимы с морфологическими признаками. Для микроорганизмов проблема усложнена вследствие их микроскопических размеров. Однако таксономический пересмотр на основе комплексного анализа и с применением генов ядерной рДНК успешно разрешает данную проблему [9].

Основными востребованными генами, используемыми в молекулярной идентификации микроводорослей в зависимости от степени установления таксономического уровня, являются ядерные гены, кодирующие рибосомную РНК (рДНК) (18S рДНК) [3]. Ген 18S рДНК считается самым надёжным молекулярно-генетическим маркером в дифференциации на родовом уровне. У некоторых видов микроводорослей он позволяет проводить диагностику на видовом и штаммовом уровне. Малая субъединица 18S рДНК интенсивно используется для филогенетического анализа и определения разнообразия фитопланктона не только в коллекциях культур, но и образцах экологических проб [8]. Гены 18S рДНК оказались весьма востребованными в анализе некультивируемых или трудно культивируемых микроводорослей благодаря относительно простому способу выделения их из отдельных клеток, а также широко применяются в метагеномном анализе планктона при оценке экологического состояния окружающей среды.

Несмотря на некоторые недостатки, индивидуальные для определённых таксономических групп микроводорослей, гены рибосомного кластера имеют преимущества по сравнению с другими ядерными, митохондриальными и хлоропластными генами и являются наиболее успешными и востребованными в установлении таксономической принадлежности, количественной оценке видовой разнообразия и выявлении эволюционных связей [1, 14].

Лаборатория альтернативных источников энергии НПЦ “Армбиотехнология” НАН РА на протяжении длительного времени занимается вопросами всестороннего исследования микроводорослей. В результате этих работ была создана Коллекция культур микроводорослей, отнесенных, согласно морфологическим признакам, к видам *Chlorella*, *Chlamidomonas*, *Chlorococcum*, *Dunaliella*, *Haematococcus*, *Scenedesmus*, *Neochloris*, *Pandorina*, *Porphyridium* и др., всего более 30 штаммов.

Вместе с тем, отсутствие уверенности в правильной идентификации указанных видов только на основании морфологических признаков послужило поводом для проведения молекулярно-генетических исследований некоторых штаммов микроводорослей, поддерживаемых в коллекции культур лаборатории.

Материал и методика. В работе использовались идентифицированные на основе морфологических признаков альгологически чистые коллекционные штаммы зеленых одноклеточных микроводорослей *Chlorella vulgaris* штамм Pa-001 и *Ch. pyrenoidosa* штамм Pa-002, представляющие порядок Chlorophyceae, выделенные из различных источников водных экосистем Армении. Культуры микроводорослей выращивали в колбах объемом 250 см³ на жидкой питательной среде Тамия, содержащей макроэлементы (г/л): KNO₃ – 2.0, KH₂PO₄ – 0.3, MgSO₄ x 7H₂O – 0.3 и микроэлементы (мг/л): FeSO₄ x 7H₂O – 5.0, Co(NO₃)₂ x 6H₂O – 0.02, CuSO₄ x 5H₂O – 0.01, ZnSO₄ x 7H₂O – 0.04, MnSO₄ x 5H₂O – 1.0, H₃BO₃ – 0.6, (NH₄)MoO₇O₂₄ – 1, ЭДТА – 10.0. pH-7.5, температура культивирования – 24-26°C.

Таксономическое положение культур микроводорослей определяли при помощи молекулярно-генетических методов исследований. Выделение геномной ДНК из клеток микроводорослей проводили в соответствии с протоколом выделения ДНК из растений, грибов и бактерий бензилхлоридным методом, предложенным Zhu *et al.* [16].

Амплификацию последовательностей малой субъединицы проводили при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием пары универсальных эукариотических праймеров для 18S рДНК: прямого F1 (5'-AGCTCGTAGTTGGATTCTG-3') и обратного R1 (5'-AGTCAAATTAAGCCGCAGGC-3'), синтезированных в "HVD Biotech Vertriebs" Ges.m.b.H (Vienna, Austria). Объем амплифицируемой смеси составлял 50 µл. Амплификацию проводили в термочиклере „DNA Engine Tetrad 2 Peltier Thermal Cycler“ (BIO-RAD) со следующим температурным профилем реакции (табл. 1).

Таблица 1. Температурный профиль

Температура, °C	Время	Ген
94	5 мин	18S рДНК
94	30 сек	
55	30 сек	
72	90 сек	
72	10 мин	
4	∞	

Полученные в результате ПЦР ампликоны (рис. 1) визуализировали методом горизонтального электрофореза в 1 %-ном агарозном геле в TBE буфере [4].

Секвенирование (секвенатор: ABI PRISM 3730XL Analyzer, 96 capillary type) амплифицированных последовательностей осуществляли с прямыми и обратными праймерами (табл. 2) в лаборатории “Mastogen” Inc. (Южная Корея).

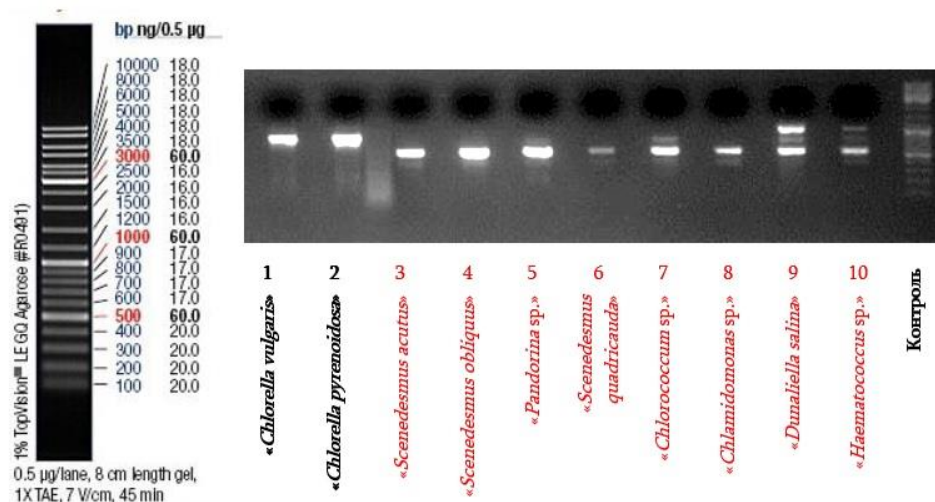


Рис.1. Визуализация ампликонов методом горизонтального электрофореза

Таблица 2. Праймеры, использованные для амплификации и секвенирования ДНК микроводорослей

Название праймера	Сиквенс (5' -> 3')
18F1	AGCTCGTAGTTGGATTCTG
18R1	AGTCAAATTAAGCCGCAGGC
18SU467F	ATCCAAGGAAGGCAGCAGGC
18SU1310R	CTCCACCAACTAAGAACGGC
P45 (F)	ACCTGGTTGATCCTGCCAGT
P47 (R)	TCTCAGGCTCCCTCTCCGGA
MA1 (F)	CGGGATCCGTAGTCATATGCTTGTCTC
MA2 (R)	CGGAATTCCTTCTGCAGGTTACCC
SS5 (F)	GGTGATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTG
SS3 (R)	GATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACC

Хроматограммы, полученные в результате секвенирования, во избежание ошибок и конфликтов визуально оценивали в программах Chromas (v.2.26) и DNA Baser Sequence Assembler (v.4.10). Последовательности, полученные через клонирование, также проверяли на наличие химерных вставок и на положение праймеров. Последовательности полученных фрагментов сопоставлялись с депонированными в GenBank NCBI при помощи алгоритма Blastn [2], позволяющего уточнять видовую принадлежность штаммов, ошибочно идентифицированных морфологически.

Попарное и множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей для каждой идентифицируемой культуры проводили согласно алгоритму Clustal W (v.2.26), встроенного в программу MEGA X [10]. Скорректированные р-дистанции рассчитывали согласно выбранным моделям нуклеотидных замен в программе MEGA X. Оптимальные модели нуклеотидных замен выбирали согласно информационному критерию Акаике (AIC) [5, 12].

Филогенетические деревья строили дистанционными методами кластеризации ближайших соседей (Neighbor-Joining, NJ) [13, 15]. Значимость филогенетических реконструкций оценивали параметрическим бутстрэп-анализом (bootstrap analysis) для NJ и ML в 500 реплик [6]. Для укоренения филогенетических деревьев использованы последовательности внешней группы *Chlamydomonas nivalis* GB1.

Результаты и обсуждение. С учетом морфологических, физиологических и культуральных особенностей штаммы микроводорослей из коллекции культур лаборатории предположительно рода *Chlorella* на видовом уровне были идентифицированы как *Ch. vulgaris* и *Ch. pyrenoidosa* (рис. 2).

Согласно собственным микроскопическим наблюдениям, молодые клетки культур слегка эллипсоидной формы, размерами около 2-3 мкм. Взрослые клетки шаровидные, в диаметре от 8 до 10 мкм. Диаметр клеток с сформированными автоспорами в материнской оболочке колеблется в пределах 8-12 мкм. Молодые клетки наделены тонкой, бесцветной, прозрачной клеточной оболочкой, которая в процессе роста утолщается. Размножение происходит автоспорами. Споры одинакового размера, число которых, как правило, равно четырём. Деление клеток – асинхронное.

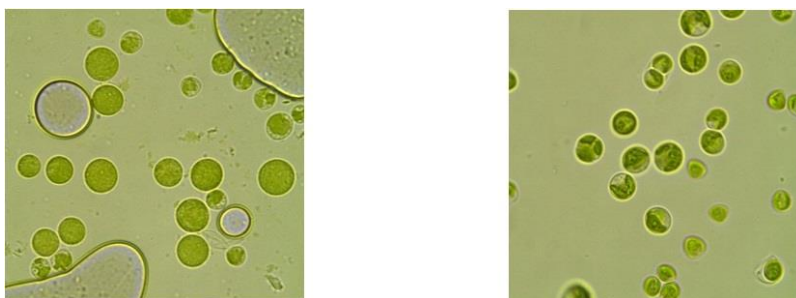


Рис.2. Морфологические признаки культур микроводорослей *Chlorella vulgaris* и *Chlorella pyrenoidosa* (микроскопия, “Leica”, 1000x)

Несмотря на подробное изучение таксономии рода *Chlorella* и видовых комплексов *Ch. vulgaris* и *Ch. pyrenoidosa*, в частности, невозможно было выявить специфические и одновременно надёжные морфологические признаки культур. Штаммы одного и того же риботипа демонстрировали значительную морфологическую изменчивость. Необходимость верификации таксономических статусов *Ch. vulgaris* и *Ch. pyrenoidosa* также заключалась в необычной для продуцентов “эксклюзивности” видов, хранящихся в коллекции лаборатории.

В результате проведённого молекулярно-генетического анализа культур *C. vulgaris* Pa-001 и *C. pyrenoidosa* Pa-002 были секвенированы последовательности 18S рДНК общей длиной по 371 п.н., соответственно, из-за небольшого количества доступных для исследуемого рода последовательностей. Полученные нуклеотидные последовательности двух культур оказались однородными по каждому из анализируемых генов.

Филогенетические положения штаммов *Ch. vulgaris* Pa-001 и *Ch. pyrenoidosa* Pa-002, по данным анализа гена 18S рДНК, представлены на рис. 3 (contig_1) и рис. 4 (contig_2) на основе NJ и ML методов. Доля нуклеотидных различий внутри видов составила 0.010, при этом последовательности анализируемых культур не имели различий, полиморфизм не наблюдался.

Анализ результатов определения нуклеотидной последовательности 18S рДНК штаммов, проведенный с использованием поискового алгоритма megablast, показал, что сиквенс *Ch. vulgaris* и *Ch. pyrenoidosa* не совпадает на 100 % ни с одним из секвенированных видов зеленых микроводорослей, зарегистрированных в базе GenBank, NCBI, однако на 99 % сходен с 9 штаммами различных Chlorophyceae, представляющих различные молекулярные клады семейства Chlorellaceae, рода *Parachlorella kessleri*.

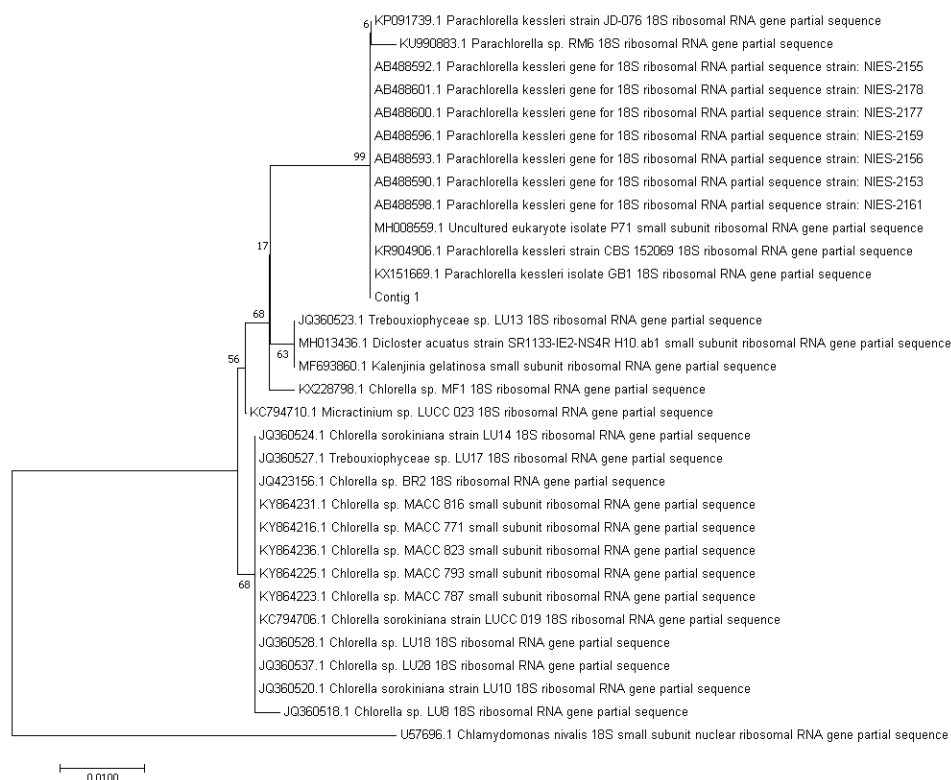


Рис.3. Консенсусное ML-дерево на основе 18S рДНК культуры *Ch. vulgaris* Pa-001 (contig_1), достоверность ветвления указана в виде поддержек ветвей: байесовские апостериорные вероятности, бутстреп-индексы максимального правдоподобия (ML) и ближайшего связывания (NJ). Дерево укоренено последовательностью *Clamydomonas nivalis* U57696.1 в качестве внешней группы.

Были построены филогенетические деревья с использованием методов максимальной правдоподобности (Maximal Likelihood, ML) и ближайших соседей (Neighborhood - Joining, NJ) в филогенетической программе MEGA X для матрицы, состоящей из 30 последовательностей, внешней группы и сиквенса штамма *Clamydomonas nivalis*. На основе Байесова и ML анализов показано, что исследуемые клоны *Ch. vulgaris* Pa-001 и *Ch. pyrenoidosa* Pa-002 с высокой статистической поддержкой сформировали общую кладу с GB1 *Parachlorella kessleri* [7] (код доступа KX151669.1).

Таким образом, анализ нуклеотидных последовательностей 18S рРНК микроводорослей, ранее идентифицированных как *Ch. vulgaris* и *Ch. pyrenoidosa*, показал их видовую принадлежность к штамму *Parachlorella kessleri* внутри того же семейства Chlorellaceae.

В результате проведенной работы с помощью молекулярно-генетических методов с использованием анализа генов рДНК были проанализированы лабораторные культуры, отобранные из различных образцов водных экосистем. В соответствии с современной систематикой удалось определить видовой статус зеленых одноклеточных микроводорослей, обладающих высоким биотехнологическим потенциалом.

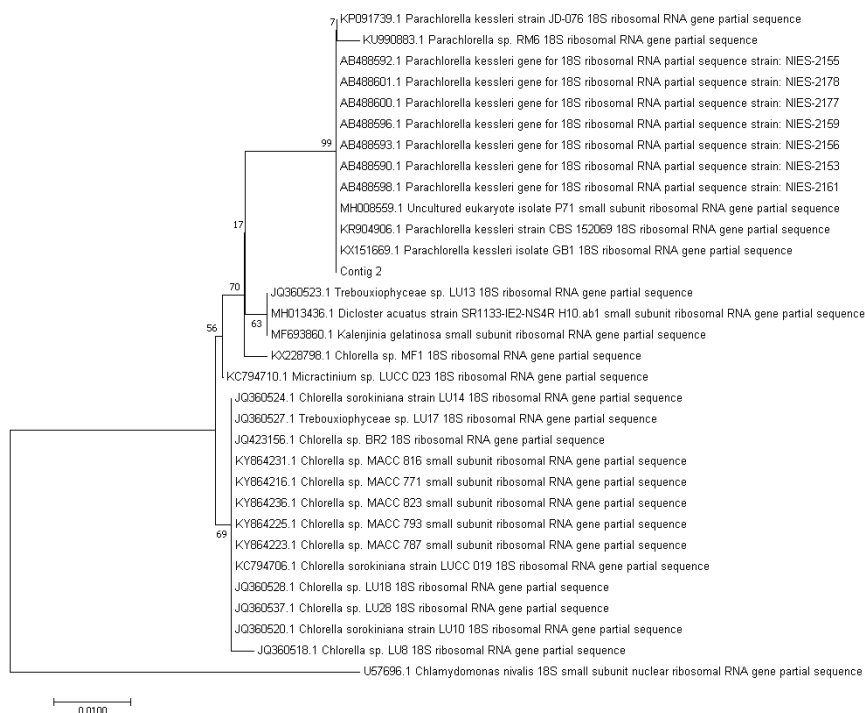


Рис.4. Консенсусное ML-дерево на основе 18S рДНК культуры *Ch. pyrenoidosa* Pa-002 (contig 2), достоверность ветвления указана в виде поддержек ветвей: байесовские апостериорные вероятности, бутстреп-индексы максимального правдоподобия (ML) и ближайшего связывания (NJ). Дерево укоренено последовательностью *Chlamydomonas nivalis* U57696.1 в качестве внешней группы.

Некоторые последовательности генов рДНК, впервые полученные для того или иного изученного вида, смогут помочь в выполнении таксономического упорядочения и изучении родственных связей, а также в прослеживании эволюции данных генов.

Показано, что исследуемые рибосомальные гены рДНК имеют большую разрешающую способность, в отличие от классических методов. Тем не менее, данные гены не могут быть использованы в качестве филогеографических маркеров для изучения внутривидовых различий у микроводорослей по ряду причин, в частности, при выраженном отсутствии внутривидовых различий, а также вследствие внутривидовой гипервариабельности.

Исследование выполнено при поддержке ГКН МОН РА в рамках армяно-белорусского совместного научного проекта № 13РБ-043 в 2014-16 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Adachi M., Sako Y., Ishida Y. Restriction fragment length polymorphism of ribosomal DNA internal transcribed spacer and 5.8S regions in Japanese Alexandrium species (Dinophyceae). Journal of Phycology, 30, p. 857-865, 1994.

2. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J.J. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215, p. 403-410, 1990.
3. Bhattacharya D., Medlin L. The phylogeny of plastids: a review based on comparison of small-subunit ribosomal RNA coding regions, *J. Phycol.*, 31, p. 489-498, 1995.
4. Brody J.R. History and principles of conductive media for standard DNA electrophoresis. *Anal. Biochem*, 333, iss. 1, p. 1-13, 2004.
5. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. ModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9, p. 772, 2012.
6. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*. 39, p. 783-791, 1985.
7. Fott B., Nováková M. A monograph of the genus *Chlorella*. The fresh water species. *Studies in Phycology*. Praha: Academia, p. 10-74, 1969.
8. Hong D.D., Hien H.T., Thu N.H., Anh H.L., Luyen Q.H. Phylogenetic analyses of *Proocentrum* spp. and *Alexandrium* spp. isolated from northern coast of Vietnam based on 18s rDNA sequences. *Journal of Environmental Biology*, 29, 4, p. 535-542, 2008.
9. John U., Litaker R.W., Montresor M., Murray S., Brosnahan M.L., Anderson D.M. Formal revision of the *Alexandrium tamarense* species complex (Dinophyceae) taxonomy: the introduction of five species with emphasis on molecular-based (rDNA) classification. *Protist.*, 165, 6, p. 779-804, 2014.
10. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 35, p. 1547-1549, 2018.
11. Metting F.B. Biodiversity and application of microalgae. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 17, 5-6, p. 477-489, 1996.
12. Posada D., Crandall K.A. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*. 14, p. 817-818, 1998.
13. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 4, p. 406-425, 1987.
14. Scholin C.A., Herzog M., Sogin M., Anderson D.M. Identification of group- and strain-specific genetic markers for globally distributed *Alexandrium* (Dinophyceae). II. Sequence analysis of a fragment of the LSU rRNA gene1. *Journal of Phycology*, 30, 6, pp. 999-1011, 1994.
15. Tamura K., Nei M., Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101, p. 11030-11035, 2004.
16. Zhu Heng, Qu Feng, Zhu Li-Huang. Isolation of genomic DNAs from plants, fungi and bacteria using benzyl chloride. *Oxford University Press, Nucleic Acids Research*, 21, 22, pp. 5279-5280, 1993.

Поступила 20.06.2019



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3 (71), 2019

**ԿԱԼԵԻ (*BRASSICA OLERACEA* VAR. *SABELLICA* L.)
ԲԵՐՔԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ԴԵՂԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ՄԻ ՇԱՐՔ
ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԸ ՋՐԱՇԻԹԱՅԻՆ ՀԻԴՐՈՊՈՆԻԿԱՅԻ ՏԱՐԲԵՐ
ՍՈՂՈՒՆՆԵՐՈՒՄ**

**Ս.Խ ՄԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ա.Հ. ԹՈՎՄԱՍՅԱՆ, Զ.Ս. ԱԼԵՔՍԱՆՅԱՆ,
Ա.Հ. ԹԱԴԵՎՈՍՅԱՆ, Լ.Մ. ՂԱԼԱԶՅԱՆ, Բ.Թ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ,
Ա.Զ. ԱՍԱՏՐՅԱՆ, Մ.Խ. ԴԱՐՅԱՂԱՐ**

ՀՀ ԳԱԱ Գ.Ս. Դավթյանի անվան հիդրոպոնիկայի պրոբլեմների ինստիտուտ
hydrop@netsys.am

Առաջին անգամ Հայաստան է ներմուծվել արժեքավոր տերևային բանջարաբույս՝ գանգուր կաղամբը (կալե) (*Brassica oleracea* var. *Sabellica* L.): Ջրաշիթային (գլանային, ակոսային, համատարած) և դասական հիդրոպոնիկայի պայմաններում հաստատվել է այդ մշակաբույսի աճեցման բարձր արդյունավետությունը և հեռանկարային լինելը:

Տարբեր հիդրոպոնիկական համակարգերում աճեցված կալեի բուսահումքը թարմ բաշով և դեղաբանական մի շարք ցուցանիշներով (վիտամին C, էքստրակտիվ սյուբեր, ֆլավոնոիդներ և դաբաղանյութեր) գերազանցել է հողային ստուգիչին 1,5-1,8 և 1,2-2,3 անգամ, համապատասխանաբար: Ջրաշիթային հիդրոպոնիկական կալեի բուսահումքի արտադրման ռադիոէկոլոգիապես ավելի անվտանգ կենսատեխնոլոգիական մեթոդ է դասական հիդրոպոնիկայի և հողի համեմատ:

Կալե – ջրաշիթային և դասական հիդրոպոնիկա – հող – ^{90}Sr , ^{137}Cs –
դեղաքիմիական ցուցանիշներ

Впервые в Армению ввезено ценное листовое овощное растение кудрявая капуста (кале) (*Brassica oleracea* var. *Sabellica* L.). Изучена и установлена высокая эффективность и перспективность в экспериментальных модулях струйной (цилиндрическая, бороздовая, сплошная) и классической гидропоники.

Кале, полученное в разных гидропонических системах, превышает почвенную культуру по выходу свежего сырья и фармацевтических показателей (витамин C, экстрактивные вещества, флавоноиды и дубильные вещества) соответственно в 1,5-1,8 и 1,2-2,3 раза. Водоструйная гидропоника радиозэкологически более безопасный биотехнологический метод производства растительного сырья, по сравнению с классической гидропоникой и почвой.

Кале – водоструйная и классическая гидропоника – почва – ^{90}Sr , ^{137}Cs –
фармахимические показатели

Valuable leafy green vegetable curly cabbage (kale) /*Brassica oleracea* var. *Sabellica* L./ firstly was introduced in Armenia, and its high productivity and prospectivity were studied and established in water stream hydroponics experimental modules (cylindrical gully and continuous) and classical hydroponics.

Raw material of kale grown in different hydroponic systems has exceeded 1.5-1.8 and 1.2-2.3 times respectively the soil control with fresh weight and pharmacological several indices (vitamin C, extractive substances, flavonoids and tannins). Water stream hydroponics is safer ra-

dio-ecological, biotechnological method for production of raw material than classical hydroponics and soil culture.

Kale – water stream and classical hydroponics – soil – ^{90}Sr , ^{137}Cs – pharmacological indices

Բանջարեղենը մարդկանց սննդում մեծ տեղ է գրավում, կազմելով կերակուրների անբաժանելի մասը: Դրանք մեծ դեր են խաղում մարդու նյարդային համակարգի, մարսողության և այլ օրգանների գործունեության կանոնավորման գործում, ինչպես նաև բարձրացնում են օրգանիզմի դիմադրողականությունը: Առանձնապես մեծ արժեք է ներկայացնում, այսպես կոչված, աղցանային բանջարեղենը, որն օգտագործվում է հիմնականում հում վիճակում: Վերջին տարիներին բանջարանոցային մշակաբույսերի տեսականու մեջ իրենց հաստատուն տեղն են գրավել ոչ ավանդական մշակաբույսերը, որոնք արդեն սպառողական շուկայում ունեն լայն պահանջարկ: Այդպիսի մշակաբույսերի թվին են պատկանում կաղամբազգիներից բրուսեյան, չինական կաղամբները, բրոկոլին և այլն, համարվելով դելիկատեսային մշակաբույսեր, որոնք իրենց սննդային հատկանիշներով առանձնանում են կաղամբի շատ տեսակներից:

Հաշվի առնելով վերը նշվածը, մեր կողմից առաջին անգամ Հայաստան է ներմուծվել արժեքավոր, հեռանկարային տերևավային կանաչ բանջարաբույս՝ գանգուր կաղամբը (կալե) (*Brassica oleracea* var. *sabellica* L.) և նպատակ է դրվել Հիդրոպոնիկայի պրոբլեմների ինստիտուտում (ՀԴԻ) անհող մշակույթի պայմաններում (հիդրոպոնիկա) ուսումնասիրել այս մշակաբույսի աճեցման հնարավորությունը և արդյունավետությունը, ինչպես նաև բացահայտել որակյալ, ռադիոէկոլոգիապես առավել անվտանգ բուսահումքի ստացման օպտիմալ պայմանները:

Փորձերը դրվել են ՀԴԻ ջրաշիթային հիդրոպոնիկայի փորձնական մոդուլներում [2], ինչպես նաև դասական հիդրոպոնիկայի (ԴՀ) և հողային մշակույթի պայմաններում (նկ. 1):



Նկ. 1. Կալեն ջրաշիթային (ա, գ, դ), դասական հիդրոպոնիկական համակարգերի (բ) և հողային (բ) մշակույթի պայմաններում

Նյութ և մեթոդ: Կալեւն պատկանում է կաղամբագիւնների ընտանիքին: Ունի կանաչ կամ մանուշակագույն խուճուճ տերևներ, որոնք չեն ձևավորում կաղամբագլուխ, իր հատկություններով և քիմիական կազմով ավելի մոտ է վայրի կաղամբին: Սննդում օգտագործվում են հիմնականում տերևները: Բույսը ծաղկում և սերմ է տալիս հաջորդ տարում [12, 14]:

Կալեւն պարունակում է մեծ քանակությամբ մսամթերքին համարժեք սպիտակուցներ (4,3 %), փոխարինելի և անփոխարինելի ամինաթթուներ: Կալեւի թարմ տերևներում գերակշռող ամինաթթուներն են՝ գլուտամինաթթուն (ընդհանուր ամինաթթուների պարունակության 12 %), պրովինը (12 %) և ասպարագինաթթուն (10 %): Լեյցինի, լիզինի, վալինի, արգինինի և ալանինի բաժնետեսը 6-8%-ի սահմաններում են, իսկ թիրոզինի, ֆենիլալանինի, տրեոնինի, հիստիդինի, սերինի և գլիցինի բաժնետեսը տատանվում է 3-5% սահմաններում: Ամենափոքր բաժինը կազմում են ծծումբ պարունակող ամինաթթուներ ցիստինը (1,6%) և մեթիոնինը (2 %) [16]: Կալեւն հարուստ է նաև օմեգա-3 ճարպաթթվով, վիտամիններով (A, C, K, PP, B և այլն), հեշտ յուրացվող Ca-ով (120-150 մգ), Mg-ով (34-47 մգ) և այլ հանքային տարրերով (K, P, Na, Fe, Zn, Se, Mn, Cu և այլն): Բույսում առկա յուտեինի շնորհիվ, մարդու աչքը պաշտպանվում է արևի ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներից: Այս բուսատեսակի հաճախակի օգտագործումը սննդակարգում պաշտպանում է մարդու օրգանիզմը մի շարք հիվանդություններից՝ մասնավորապես, շաքարախտից, սրտանոթային, աղեստամոքսային, աչքի (գլաուկոմա), չարորակ ուռուցքներից և այլն [13]: Կալեւն պարունակում է 45 տարբեր տեսակի ֆլավոնոիդներ (սոլֆորաֆան, ինդոլ-3-կարբինոլ և այլն), որոնք ևս ապահովում են այդ մշակաբույսի հակաօքսիդանտային և հակաբորբոքային հատկությունները, բարձրացնում է օրգանիզմի դիմադրողականությունը, իջեցնում է արյան մեջ խոլեստերինի մակարդակը: Կարգավորելով գլյուկոզի մակարդակը, նպաստում է քաշի իջեցմանը: Բույսում պարունակվող մեծ քանակությամբ կալցիումը (2 անգամ ավելի շատ է, քան կաթում) ազդում է ոսկրային բջիջների առաջացման ու թարմացման վրա՝ դրանով իսկ կանխարգելելով ռախիտը, օստեոպորոզը, ատամների փխրունությունը: Այժմ կալեւն լայն տարածում ունի ԱՄՆ-ում, Արևմտյան Եվրոպայում, Ճապոնիայում և մի շարք այլ երկրներում [15, 17, 18, 19]:

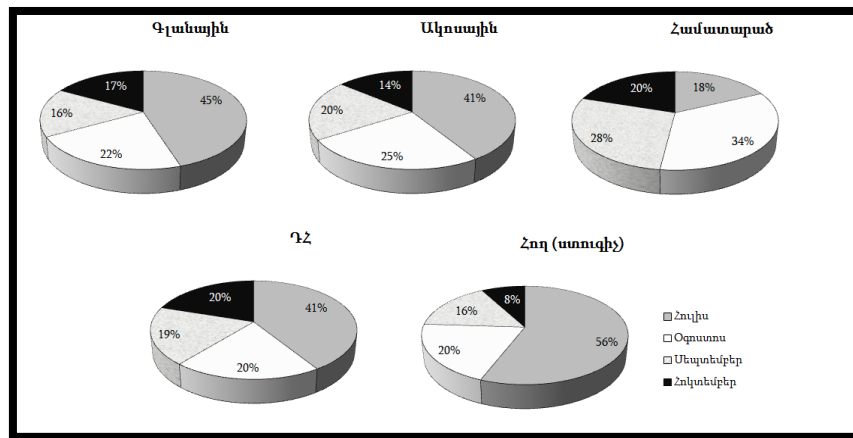
Փորձերը դրվել են ջրաշիթային (գլանային, ակոսային, համատարած), դասական հիդրոպոնիկայում՝ (նկ. 1) 3-15 մմ մասնիկների տրամագծով հրաբխային կարմիր խարամ լցանյութի վրա և հողային մշակությամբ՝ 8 բույս/մ² խտությամբ: Բույսերի սնուցումը կատարվել է Դափթային 0.75 Ն սննդալուծույթով [7]: Ջրաշիթային հիդրոպոնիկայում սննդալուծույթը շիթի ձևով, պարբերաբար, անվերադարձ մղվել է յուրաքանչյուր բույսի արմատաբևակ շերտ օրվա ընթացքում շուրջ 6-20 անգամ (կախված եղանակային պայմաններից), 10-15 վրկ տևողությամբ, մեկանգամյա տրվող լուծույթի չափը կազմել է 20-50 մլ: ԴՅ-ում բույսերը սնուցվել են օրական 1-3 անգամ, հողային մշակությամբ՝ 3-4 օրը 1 անգամ՝ պահպանելով ընդունված բոլոր ազոտոէնիկական կանոնները (հողի փխրեցում, մոլիբդենի մաքրում, պարբերաբար ջրումներ, պարարտացում և այլն) [10]: Տերևների բերքահավաքը կատարվել է հուլիսից հոկտեմբեր ընկած ժամանակահատվածում:

Վեգետացիայի ընթացքում կատարվել են կենսամետրիկ չափումներ, ինչպես նաև կենսա-դեղաքիմիական վերլուծություններ: Բուսահումքում էքստրակտիվ նյութերի, դաբաղանյութերի և խոնավության գնահատումը կատարվել է ըստ ՊՖ XI-ի [6]: Վիտամին C-ի պարունակությունը որոշվել է Երմակովի [9], իսկ ֆլավոնոիդների հանրագումարը (ըստ յուտեոլինի)՝ Գեորգիևսկու մեթոդներով [4]: Փորձամուշներում տեխնածին ռադիոնուկլիդները (ՌՆ) որոշվել են ռադիոքիմիական մեթոդներով՝ ՅՄՓ-1500 փոքր ֆոնային սարքի միջոցով [3]: Սթեխ-ն տրված է համաձայն Ռուսաստանի Դաշնության պետական ստանդարտների [1, 5]: Ստացված արդյունքները ենթարկվել են վիճակագրական մշակման [8]:

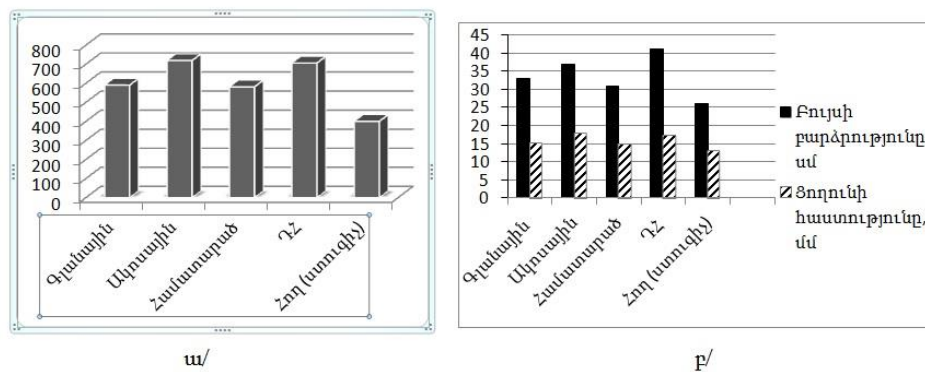
Արդյունքներ և քննարկում: Նկ. 2-ում ներկայացված տվյալների վերլուծությունից պարզվել է, որ վեգետացիայի ընթացքում հիդրոպոնիկական տարբեր համակարգերում, բացառությամբ համատարածի, թարմ բուսահումքի առավելագույն կուտակում (1,6-2.9 անգամ) դիտվել է հուլիսին: Պետք է նշել նաև, որ հողային ստուգիչում հուլիսին այն եղել է բավականին բարձր (2,8-7,0 անգամ):

Հիդրոպոնիկական տարբեր համակարգերի կիրառմամբ ստացված կալեւի թարմ բուսահումքը 1,5-1,8 անգամ գերազանցել է հողային մշակույթին, միաժամանակ ակոսային և դասական հիդրոպոնիկական համակարգերը բերքով, բույսի բարձրությամբ և ցողունի հաստությամբ շուրջ 1,1-1,3 անգամ գերազանցել են փորձարկված հիդրոպոնիկական մյուս տարբերակներին (նկ. 3ա, 3բ):

Անհրաժեշտ է շեշտել, որ աճեցման պայմաններն էական ազդեցություն են ունեցել բուսահումքի դեղաքիմիական ցուցանիշների վրա (աղ. 1): Ջրաշիթային հիդրոպոնիկական բոլոր մոդուլներում արձանագրվել է էքստրակտիվ նյութերի պարունակության բարձրացում (1,2-1,5 անգամ), իսկ ֆլավոնոիդների համեմատաբար բարձր պարունակություն՝ ակոսային համակարգում (10-35 %):



Նկ. 2. Կալեն բուսահումքի թարմ բաշը (%) վեգետացիայի ընթացքում մշակման տարբեր պայմաններում



Նկ. 3. Կալեն թարմ բուսահումքը՝ գ/բույս (ա) և կենսամետրական տվյալները (բ) հիդրոպոնիկական տարբեր համակարգերում և հողում

Հիդրոպոնիկայում դաբաղանյութերի պարունակությունը տատանվել է 2,0-2,2 %-ի սահմաններում, որն աննշան չափով զիջել է հողի նույն ցուցանիշին (2,4 %): Բացահայտված է նաև մշակման պայմանների ազդեցությունը վիտամին C-ի կենսասինթեզի վրա. Գլանային և համատարած հիդրոպոնիկական համակարգերը վիտամին C-ի պարունակությամբ 1,3-1,5 անգամ գերազանցել են ակոսային, դասական և հողային պայմաններին: Շնորհիվ հիդրոպոնիկ բույսերի բարձր բերքատվության, նշված ցուցանիշների ելի առումով հիդրոպոնիկական համակարգերի և հողային բույսերի միջև տարբերությունն էական է. էքստրակտիվ նյութերի դեպքում՝ 1,7-2,3; ֆլավոնոիդների՝ 1,2-2,0; դաբաղանյութերի՝ 1,2-1,6 վիտամին C-ի՝ 1,8-2,2 և β-կարոտինի՝ 1,2-1,7 անգամ:

Բույսերի մշակման եղանակը որոշակիորեն ազդել է բուսահումքում ՌՆ-ի կուտակման վրա (աղ. 2): Այսպես, ջրաշիթային հիդրոպոնիկայում բույսերը ⁹⁰Sr-ի և ¹³⁷Cs-ի պարունակությամբ զիջել են ինչպես դասական հիդրոպոնիկայում (1,2-1,3 և 1,1-1,2 անգամ), այնպես էլ հողում աճեցվածներին (1,8-2,0 և 1,4-1,5 անգամ):

Աղյուսակ 1. Կալեի դեղաքիմիական ցուցանիշները հիդրոպոնիկայում և հողում

Տարբերակ	Էքստրակտիվ նյութեր		Ֆլավոնոիդների հանրագումարը, ըստ յուտեոլինի		Դաբադանյութեր		Վիտամին C		β-կարոտին	
	%	Ելը*	%	Ելը*	%	Ելը*	մգ %	Ելը**	մգ %	Ելը**
Գլանային	34,7±0,9	205	2,8±0,1	16,5	2,0±0,10	11,8	195±2,5	1151	11,2±0,20	66,1
Ակոսային	36,2±0,9	260	3,8±0,15	27,3	2,2±0,10	15,8	134±2,1	964	12,8±0,42	92,0
Համատարած	38,0±1,0	221	3,4±0,15	19,8	2,2±0,12	12,8	189±2,1	1098	11,0±0,21	63,9
ԴՀ	26,2±1,2	185	3,4±0,10	24,0	2,2±0,11	15,5	150±2,5	1059	13,1±0,26	92,5
Հող (ստուգիչ)	28,1±1,4	112	3,4±0,11	13,6	2,4±0,12	9,6	132±2,0	528	13,7±0,42	54,8

* - գ/բույս

** - մգ/բույս

Հիդրոպոնիկ տարբեր համակարգերում կալեի բուսահումքում ^{90}Sr -ի պարունակությունը գերազանցել է ^{137}Cs -ին ընդամենը 1,1-1,2 անգամ, իսկ հողային մշակույթում 1,5 անգամ:

Աղյուսակ 2. ^{90}Sr -ի, ^{137}Cs -ի պարունակությունը և հարաբերական ցուցանիշները կալեի բուսահումքում հիդրոպոնիկայում և հողում

Տարբերակ	⁹⁰ Sr	¹³⁷ Cs	ΓΣ, ⁹⁰ Sr/ ¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr	¹³⁷ Cs
	Բք/կգ			ԿԳ	
Գլանային	9,9	8,7	0,08	22,5	290
Ակոսային	8,8	8,3	0,07	20,0	277
Համատարած	9,5	8,0	0,08	21,6	267
Դասական հիդրոպոնիկա	11,8	9,8	0,08	26,8	327
Հող (ստուգիչ)	17,6	11,9	2,1	2,4	1,2
ՍժԺ [1, 5]	50	130	-	-	-

Հավանաբար, կալեի մեջ ՌՆ-ը ներթափանցել են ինչպես արմատների միջոցով սննդալուծույթից կամ ոռոգիչ ջրից և հողից, այնպես էլ վերգետնյա օրգանների միջոցով արտարմատային եղանակով օդային ավազանից (մթնոլորտային տեղումներ, հիդրո և ատերոզոլներ, փոշի): Պարզվել է, որ կալեն հողից նախընտրել է ^{90}Sr -ը, ^{137}Cs -ի համեմատ, մինչդեռ հիդրոպոնիկայում տեղի է ունեցել հակառակը (աղ. 3): Այդ մասին են վկայում հող – բույս և սննդալուծույթ – սուբստրատ – բույս համակարգերում կալեի համար ^{90}Sr - ^{137}Cs զույգի դիտվող հարաբերակցությունների (Γ -Ն) ($^{90}\text{Sr}/^{137}\text{Cs}$ բույսում $\div$ $^{90}\text{Sr}/^{137}\text{Cs}$ սննդալուծույթում կամ հողում) և կուտակման գործակիցների (ԿԳ) (ՌՆ-ի քանակը բույսում $\div$ ՌՆ-ի քանակը սննդալուծույթում կամ հողում) արժեքները: Այսպես, կալեի համար հողում ^{90}Sr - ^{137}Cs զույգի Γ -Ն > 1 և ^{90}Sr ԿԳ $> ^{137}\text{Cs}$ ԿԳ, իսկ հիդրոպոնիկայում Γ -Ն < 1 -ից և ^{137}Cs ԿԳ $> ^{90}\text{Sr}$ ԿԳ: Սա համընկնում է գրականության տվյալների հետ, համաձայն որի հողում ^{90}Sr -ը գտնվում է իոնափոխանակային, իսկ ^{137}Cs -ը՝ ոչ փոխանակային ձևով [11]:

Այսպիսով, հիդրոպոնիկ տարբեր համակարգերում մշակված կալեն թարմ բուսահումքով և կենսաքիմիական մի շարք ցուցանիշներով (վիտամին C, էքստրակտիվ նյութեր, ֆլավոնոիդներ և դաբադանյութեր) գերազանցել է, իսկ ռադիոքիմիական ցուցանիշներով՝ զիջել հողային մշակույթի նույն ցուցանիշներին: Անկախ մշակման եղանակից, կալեի բուսահումքում վերահսկվող տեխնածին ՌՆ-ի (^{90}Sr , ^{137}Cs) պարունակությունը չի գերազանցել ՍժԺ-ն:

Չործնական առաջարկ: Կալեի բուսահումքի ստացման համար առաջարկվում է ջրաշիթային հիդրոպոնիկ կենսատեխնոլոգիական եղանակը:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Թարմ պտուղ բանջարեղենի տեխնիկական կանոնակարգ. ՀՀ կառավարության դեկտեմբերի 21-ի 1913-Ն որոշում, 2006:
2. Մայրապետյան Ս.Խ. ՀՀ ԳԱԱ Գ.Ս.Դավթյանի անվան հիդրոպոնիկայի պրոբլեմների ինստիտուտը 60 տարում. ՀՀ ԳԱԱ ՀՊԻ Հաղորդումներ, 31, էջ 3-16, 2007:
3. Алексахин Р., Корнеев Н. Сельскохозяйственная радиоэкология. Экология, М., 400 с, 1992.
4. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск: Наука, 336 с., 1990.
5. Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормы (СанПиН 2.3.2.1078-01). М., Минздрав РФ, 164 с., 2002.
6. Государственная фармакопея СССР, XI изд., выпуск 2. М., Медицина, 1990, www.fito.nnov.ru/pharmacopaea
7. Давтян Г.С. Гидропоника. В кн.: Справочная книга по химизации сельского хозяйства. М., Колос, с. 382-385, 1980,
8. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта, М., 351 с., 1985.
9. Ермаков А.Н., Арасимович В.В., Смирнова-Иконникова М.И., Мурри И.К. Методы биохимического исследования растений. М., с. 89, 1952.
10. Майрапетян С.Х. Культура эфиромасличных растений в условиях открытой гидропонии. Ереван, изд. АН АрмССР, 313 с., 1989.
11. Сельскохозяйственная радиоэкология. Под ред. Алексахина Р.М., Корнеева Н.А., М., Экология, 400 с., 1992.
12. Cabbage 1 Scientific Classification and Etymology; Botanical Description. http://academics.hamilton.edu/foodforthought/our_research_files/cabbage_cauliflower_kale.pdf
13. Giacoppo S., Galuppo M., Iori R., De Nicola GR., Cassata G., Bramanti P., Mazzon E. Protective role of (RS)-glucoraphanin bioactivated with myrosinase in an experimental model of multiple sclerosis. CNS Neurosci Ther. Aug; 19, 8, 577-84, 2013.
14. Greeks and Romans Grew Kale and Collards. <http://aggie-horticulture.tamu.edu/archives/parsons/publications/vegetabletravelers/kale.html>
15. Kuntz S., Kunz C. Extracts from *Brassica oleracea* L. convar. acephala var. sabellica inhibit TNF- α stimulated neutrophil adhesion in vitro under flow conditions. Food Funct. Jun; 5, 6, 1082-90, 2014.
16. Lisiewska Z, Kmiecik W, Korus A. The amino acid composition of kale (*Brassica oleracea* L. var. acephala), fresh and after culinary and technological processing. Food Chem., 108, 2, 642-648, 2008.
17. Olsen H., Aaby K., Borge GI. Characterization and quantification of flavonoids and hydroxycinnamic acids in curly kale (*Brassica oleracea* L. Convar. acephala Var. sabellica) by HPLC-DAD-ESI-MSn. J Agric Food Chem. Apr 8;57(7): 2816-2 doi: 10.1021/jf803693t. 2009.
18. Sikora E., Bodziarczyk I. Composition and antioxidant activity of kale (*Brassica oleracea* L. var. acephala) raw and cooked. Acta Sci Pol Technol Aliment. Jul-Sep;11(3):239-48, 2012.
19. Soo Yeon KIM, Sun YOON, Soo Mi KWON, Kye Sook PARK, Yang Cha LEE-KIM. Kale Juice Improves Coronary Artery Disease Risk Factors in Hypercholesterolemic Men. Biomedical and Environmental Sciences, 21, Issue 2, February p. 91-97, 2008.

Ստացվել է 04.06.2019



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3 (71), 2019

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ՏԱՎՈՒՇԻ ՄԱՐԶԻ ԶՈՂԱՍԻ ԶՐԱՄԲԱՐԻ ԶԿՆԱՇԽԱՐՋ

Ս.Խ. ՊԻՊՅԱՆ¹, Ա.Ս. ԱՌԱՔԵԼՅԱՆ², Մ.Ռ. ՀԵՊԻՆՅԱՆ¹

¹Խ. Արուլյանի անվան հայկական պետական մանկավարժական համալսարան
s.pipoyan@gmail.com

²Սևանի իշխանի պաշարների վերականգնման և ձկնաբուծության
գարգացման հիմնադրամ
biology.arakelyan@gmail.com

Առաջին անգամ ուսումնասիրվել է Տավուշի մարզում գտնվող Զողասի ջրամբարի ձկնաշխարհը: Հայտնաբերվել է յոթ ձկնատեսակ՝ արծաթափայլ կարաս, կարպ, կողակ, Կուրի սպիտակածուկ, ամուրյան նրբածուկ, ՀՀ կենդանիների Կարմիր գրքում գրանցված ոսկեգույն ծական և անորոշ տեսակի ծական: Նշված ձկնատեսակներից առավել բազմաքանակ են արծաթափայլ կարասը, կողակը, Կուրի սպիտակածուկը և ամուրյան նրբածուկը, որոնք իրենց արտաքին հատկանիշներով էականորեն չեն տարբերվում Հայաստանի մյուս ջրակալներում տարածված նույն ձկնատեսակներից:

Զողասի ջրամբար – ձկնաշխարհ – ձկնաբանական առանձնահատկություններ

Впервые изучена ихтиофауна Джогасского водохранилища, где обнаружены семь видов рыб – серебряный карась, карп, храмуля, куринская уклейка, амурский чебачок, занесенная в Красную книгу животных Армении золотистая щиповка и щиповка неопределенного вида. Из перечисленных рыб более многочисленны серебряный карась, храмуля, куринская уклейка, амурский чебачок, которые по своим морфологическим характеристикам существенно не отличаются от рыб данных видов, распространенных в других водоемах Армении.

Джогасское водохранилище – ихтиофауна – морфометрические особенности

The Ichthyofauna of Joghaz reservoir in Tavush region has been studied for the first time, where 7 species have been identified: Crucian carp, Common carp, Scraper, Kura bleak, Stone moroko, Golden spined loach registered in RA Red Book of Animals and unidentified type *Cobitis*. The most numerous types of these species are Crucian carp, Scraper, Kura bleak and Stone moroko, which, by their external characteristics, are not substantially different from the same species of fish found in the other freshwaters of Armenia.

Joghaz reservoir – Ichthyofauna – morphological characteristics

Հայաստանի Հանրապետությունում կառուցված 84 ջրամբարների ձկնաշխարհի կազմը լիարժեք ուսումնասիրված չէ և մինչ այժմ կան միայն առանձին տեղեկություններ Սպանդարյանի, Անգեղակոթի, Տոլորսի, Շամբի, Ազատի, Ախուրյանի, Տավուշի, Ապարանի ջրամբարները բնակեցնող ձկնատեսակների մասին [6, 9]:

Մնացած ջրամբարները, այդ թվում և Ջողասի ջրամբարը բնակեցնող ձկների տեսակային կազմի մասին գիտական լիարժեք տվյալները բացակայում են:

Ջողասի ջրամբարը գտնվում է Տավուշի մարզում՝ Ջողաս գետի միջին հոսանքում (Ոսկեպար գետի ստորին հոսանքը)՝ ծովի մակերևույթից մոտ 650 մ բարձրության վրա: Շահագործման է հանձնվել 1980 թ.: Մակերեսը 2,14 կմ² է, առավելագույն խորությունը՝ 60 մ, ջրատարողությունը՝ 45 մլն. մ³, օգտակարը՝ 43 մլն. մ³: Պատվարը հողային է, երկարությունը՝ 1275 մ, բարձրությունը՝ 64 մ [1]:

Ելնելով ջրամբարների ձկների տեսակային կազմի գույքագրման և Հայաստանի Հանրապետության ձկնային պաշարների որոշման ռազմավարական անհրաժեշտությունից, մենք մեր առջև խնդիր ենք դրել պարզել Ջողասի ջրամբարի ձկնաշխարհի ներկայիս տեսակային կազմը և նկարագրել առանձին ձկնատեսակների ձևաբանական առանձնահատկությունները, ինչն էլ հանդիսանում է սույն աշխատանքի նպատակը:

Նյութ և մեթոդ: Սույն աշխատանքի համար նյութ են ծառայել 2018 թ. հուլիս-նոյեմբեր և 2019 թ. ապրիլ-ամիսների ընթացքում Ջողասի ջրամբարից ղնովի ցանցերով հավաքված հետևյալ ձկնատեսակները՝ արծաթափայլ կարասը *Carassius gibelio* (n=56), կողակը *Capoeta capoeta* (n=32), Կուրի սպիտակաձուկը *Alburnus filippii* (n=21), ամուլյան նրբաձուկը *Pseudorasbora parva* (n=38), կարպը *Cyprinus carpio* (n=8), ոսկեգույն ծականը *Sabanejewia aurata* (n=2) և ծական անորոշը *Cobitis* sp. (n=4): Վերոնշյալ ձկներից արծաթափայլ կարասը (n=14, որոնցից՝ 6 արու և 8 էգ), կողակը (n=19, որոնցից՝ 6 արու և 13 էգ), Կուրի սպիտակաձուկը (n=20, որոնցից՝ 9 արու և 11 էգ), ամուլյան նրբաձուկը (n=21, որոնցից՝ 18 արու և 3 էգ) ենթարկվել են ձևաչափական ուսումնասիրությունների: Ձևաչափական չափումները կատարվել են չափակարկիով ձկնաքանության մեջ ընդունված մեթոդների համաձայն [14, 15]: Մեջքի և հետանցքի լողակների վերջին երկու ճառագայթները հաշվվել են որպես մեկ ճառագայթ: Ուսումնասիրված ընտրանքներում արուների և էգերի փոքրաթվության պատճառով ձևաչափական առանձնահատկությունները դիտարկվել են միասին: Ստացված թվային տվյալները մշակվել են ընդունված վիճակագրական մեթոդներով [4], իսկ վիճակագրական հաշվարկները կատարվել են Stat soft statistics 12.5 վերլուծական փաթեթով և MS Excel 2019 համակարգչային ծրագրով: Ուսումնասիրված առանձնյակների տեսակային պատկանելությունը որոշել ենք ըստ Հայաստանի ձկների տեսակների որոշիչի [13], իսկ անվանումները համապատասխանեցվել են ձկների երաշխավորված հայերեն անվանումներին [3]:

Աշխատանքում օգտագործվել են հետևյալ հապավումները: Q – մարմնի զանգվածը (գ), l – մարմնի սառնդարտ երկարությունը (ղնջի ծայրից մինչև թեփուկային ծածկի վերջը) (մմ), l₁ – կողագծի թեփուկների բանակը, l₂ – կողագծից վերև թեփուկների շարքերի բանակը, l₃ – կողագծից ներքև թեփուկների շարքերի բանակը, l₄ – պոչի ցողունի վրա գտնվող թեփուկների բանակը, D – մեջքի լողակի ճյուղավորված ճառագայթների բանակը, A – հետանցքի լողակի ճյուղավորված ճառագայթների բանակը, P – կրծքի լողակի ճյուղավորված ճառագայթների բանակը, V – փորի լողակի ճյուղավորված ճառագայթների բանակը, sp.br.₁ – խոիկային առեղների թիվն առաջին խոիկային աղեղի վրա արտաքինից, sp.br.₂ – խոիկային առեղների թիվն առաջին խոիկային աղեղի հետին մասում, Vert_a – իրանային ողերի բանակը, Vert_c – պոչային ողերի բանակը, Vert – ողերի ընդհանուր բանակը, D_{cris} – մեջքի լողակի վերջին ճյուղավորված ճառագայթի ատամիկների բանակը, A_{cris} – հետանցքի լողակի վերջին ճյուղավորված ճառագայթի ատամիկների բանակը, aO – ղնջի երկարությունը, O – աչքի տրամագիծը, Oop – գլխի հետաքային տարածքը, lc – գլխի երկարությունը, hc – գլխի բարձրությունը, iO – միջաչքային տարածությունը, aD – անտեղորսալ /նախակոնակային/ տարածությունը, aP – ղնջի ծայրից մինչև կրծքի լողակի հիմքի հեռավորությունը, aV – ղնջի ծայրից մինչև փորի լողակի հիմքի հեռավորությունը, aA – ղնջի ծայրից մինչև հետանցքի լողակի հիմքի հեռավորությունը, pD – հետմեջքային /պոստդորսալ/ հեռավորությունը, H – մարմնի ամենամեծ բարձրությունը, dH – մարմնի հաստությունը մեջքի լողակի հիմքի մոտ, h – մարմնի ամենափոքր բարձրությունը, lpc – պոչի ցողունի երկարությունը, dpc – մարմնի հաստությունը պոչի ցողունի հիմքում, lD – մեջքի լողակի հիմքի երկարությունը, hD – մեջքի լողակի ամենամեծ բարձրությունը, lA – հետանցքի լողակի հիմքի երկարությունը, hA – հետանցքի լողակի ամենամեծ բարձրությունը, lP – կրծքի լողակի երկարությունը, lV – փորի լողակի երկարությունը, lP – կրծքի և փորի լողակների հիմքերի միջև ընկած հեռավորությունը, VA – փորի և հետանցքի լողակների միջև ընկած հեռավորությունը, Cs – պոչի լողակի վերին բլթի ամենաերկար ճառագայթի երկարությունը, Cm – պոչի լողակի ամենակարճ ճառագայթի երկարությունը, Ci – պոչի լողակի ստորին բլթի ամենաերկար ճառագայթի երկարությունը, li – աղիների երկարությունը:

Արդյունքներ և քննարկում: Ջողասի ջրամբարում կատարված ուսումնասիրությունների արդյունքում մեր կողմից հայտնաբերվել են հետևյալ ձկնատեսակները՝ արծաթափայլ կարաս *Carassius gibelio* (Bloch, 1783), ծածան *Cyprinus carpio* L., 1758, կողակ *Capoeta capoeta* (Güldenstädt, 1773), Կուրի սպիտակաձուկ *Alburnus filippii* Kessler, 1877,

ամուրյան նրբաձուկ *Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel, 1846), ոսկեգույն ծական *Sabanejewia aurata* (De Filippi, 1863) և ծական *Cobitis* sp., որի տեսակային պատկանելությունը դեռևս լիարժեք պարզաբանված չէ և Հայաստանում միայն վերջերս է նկարագրվել Աղստև գետի ավազանից [12]:

Վերոնշյալ յոթ տեսակներից կողակը և Կուրի սպիտակաձուկը Հայաստանի ջրակայներում լայնորեն տարածված բնիկ ձկնատեսակներ են: Ծածանը Ջողասի ջրամբարում հանդիպում է թեփուկային և հայելային կարպերի ձևերով, որոնք, ամենայն հավանականությամբ, ջրամբար են բաց թողնվել տեղի բնակիչների կամ սիրող ձկնորսների կողմից: Արծաթափայլ կարասը և ամուրյան նրբաձուկը կլիմայավարժված տեսակներ են, որոնց հայտնվելը ջրամբարում նույնպես կարելի է բացատրել տարբեր անձանց կողմից ձկնանյութի անկազմակերպ տարածելու հետ: Ոսկեգույն ծականը ջրամբարում հազվադեպ է հանդիպում, և այս տեսակը գրանցված է Հայաստանի Հանրապետության կենդանիների Կարմիր գրքում որպես անհետացող, ոչ բավարար չափով ուսումնասիրված տեսակ [10]: Ինչ վերաբերում է ծականին, ապա այս տեսակի այստեղ հայտնվելու պատճառների մասին դեռևս վաղ է խոսել, քանի որ Կուր գետի ավազանին պատկանող *Cobitis* ցեղի ներկայացուցիչների տեսակային կազմի և տարածվածության հարցերը դեռևս գիտական քննարկումների առարկա են [12, 16]:

Ստորև ներկայացնում ենք Ջողասի ջրամբարի առանձին ձկնատեսակների ձևաչափական առանձնահատկությունները:

Արծաթափայլ կարաս: Ջողասի ջրամբարում արծաթափայլ կարասն ունի ձևաչափական հետևյալ մերիստիկ բնութագրիչները. II_1 28-32, $M=29.79\pm0.30$; II_2 6-7, $M=6.14\pm0.10$; II_3 5-7, $M=5.93\pm0.13$; II_4 5-8, $M=6.50\pm0.25$, D III-IV 16-19, $M=17.93\pm0.25$; A III 6-7, $M=6.93\pm0.07$; P I 12-17, $M=14.43\pm0.49$; V II 7-9, $M=8.00\pm0.15$; $Vert.$ 29-32, $M=31.00\pm 0.35$, $Sp.br_1$ 39-48, $M=43.14\pm0.82$; $Sp.br_2$ 40-56, $M=49.21\pm1.33$ ($n=14$): Կլանային ատամիկները ուսումնասիրված բոլոր առանձնյակների մոտ միաշարք են՝ 4-4: Արծաթափայլ կարասի ձևաչափական պլաստիկ հատկանիշները բերված են աղ. 1-ում:

Կողակ: Ջողասի ջրամբարում կողակն ունի ձևաչափական հետևյալ մերիստիկ բնութագրիչները. II_1 52-59, $M=56.37\pm0.39$; II_2 8-9, $M=8.84\pm0.09$; II_3 6; II_4 11-14, $M=12.37\pm0.22$ ($n=19$); D IV 8-9 (10), $M=8.74\pm0.13$; A III 5-7, $M=5.84\pm0.14$; V II 8-10, $M=9.26\pm0.13$; P I 14-19, $M=16.16\pm0.33$; $Sp.br_1$ 13-21, $M=16.79\pm0.54$, $Sp.br_2$ 15-25, $M=20.11\pm0.59$, $Vert.$ 47-48, $M=47.68\pm0.11$, որոնցից $Vert.a$ 26-28, $M=27.63\pm0.16$ ՝ ներառյալ Վերերյան ապարատի 4 ողերը, $Vert.c$ 19-21, $M=20.05\pm0.09$ ($n=19$): Ջողասի ջրամբարի կողակի ձևաչափական պլաստիկ հատկանիշները բերված են աղ. 1-ում:

Ամուրյան նրբաձուկ: Ջողասի ջրամբարում ամուրյան նրբաձուկն ունի ձևաչափական հետևյալ մերիստիկ բնութագրիչները. II_1 33-37, $M=35.57\pm0.20$, II_2 4-5, $M=4.86\pm0.08$; II_3 3-4, $M=3.29\pm0.10$; II_4 10-11, $M=10.71\pm0.10$; D III 8, A II-III 6, V II (6)7(8), $M=7.00\pm0.07$; P I 10-13, $M=11.81\pm0.15$, $Sp.br_1$ 7-10, $M=8.24\pm0.15$, $Sp.br_2$ 10-14, $M=11.38\pm0.28$, $Vert.$ 37; $M=37.00\pm0.09$, որոնցից $Vert.a$ ՝ 20, ներառյալ Վերերյան ապարատի 4 ողերը, $Vert.c$ ՝ 17 ($n=21$): Կլանային ատամիկները միաշարք են՝ 5-5:

Ջողազի ջրամբարի ամուրյան նրբաձկան ձևաչափական պլաստիկ հատկանիշները բերված են աղ. 1-ում:

Կուրի սպիտակաձուկ: Ջողասի ջրամբարում Կուրի սպիտակաձուկն ունի ձևաչափական հետևյալ մերիստիկ բնութագրիչները. II_1 53-59, $M=55.25\pm0.46$, II_2 9; II_3 3; II_4 12-17, $M=14.90\pm0.24$; D III 8; A III (11)12, $M=11.95\pm0.05$; P I 11-13, $M=11.95\pm0.08$; V II 7; $Sp.br_1$ 10-17, $M=12.95\pm0.41$, $Sp.br_2$ 15-19, $M=16.30\pm0.25$; $Vert.$ 41-43; $M=42.45\pm0.14$, որոնցից $Vert.a$ 21-22 (23), $M=21.65\pm0.11$, ներառյալ Վերերի ապարատի 4 ողերը, $Vert.c$ 19-22, $M=20.75\pm0.16$ ($n=20$): Կլանային ատամիկները երկշարք են, որոնք կարող են լինել տարբեր համադրությամբ և մեծամասամբ ունեն ատամնաշարերի դասավորության 2.5-5.2, 2.5-4.1, 2.5-4.2 բանաձևերը: Ջողասի ջրամբարի Կուրի սպիտակաձկան ձևաչափական պլաստիկ հատկանիշները բերված են աղ. 1-ում:

Ջողասի ջրամբարի արծաթափայլ կարասի, (մարմնի ձև, բերանի դիրք, այլն) և մարմնի ու լողակների գունավորման առանձնահատկությունների, ինչպես նաև ձևաչափական առանձնահատկությունների համեմատությունը Հայաստանի տարբեր ջրակայներում տարածված նույն տեսակներին պատկանող ձկների հետ [2, 5, 7, 8, 9, 11] ցույց է տալիս, որ Ջողասի ջրամբարի վերոնշյալ ձկներն ականառու կերպով չեն տար-

բերվում մյուս ջրակալներում տարածված նույնատեսակ ձկներից, իսկ հայտնաբերված տարբերությունները կարելի է դիտարկել որպես միջպոպուլյացիոն տարբերություններ:

Աղյուսակ 1. Ջողազի ջրամբարի առանձին ձկնատեսակների ձևաչափական պլաստիկ հատկանիշները

Հատկանիշ	Արծաթափայլ կարաս, n=14				Կողակ, n=19				Ամուրյան նրբածուկ, n=21				Կուրի սպիտակածուկ, n=20			
	M	m	lim		M	m	lim		M	m	lim		M	m	lim	
			min	max			min	max			min	max			min	max
Q	60.45	9.95	11.20	119.30	25.15	3.45	7.20	58.10	3.52	0.21	2.60	5.80	6.38	0.88	2.90	19.50
l	121.79	8.44	74.40	175.70	112.59	5.53	79	151	60.32	0.89	53.90	68.80	80.50	2.77	62.30	118.40
% l																
aO	8.74	0.21	7.14	9.78	7.94	0.12	6.74	8.59	7.70	0.13	6.30	8.84	6.38	0.12	5.63	7.44
O	6.89	0.25	5.35	9.13	4.46	0.10	3.89	5.54	5.26	0.11	3.85	6.11	6.47	0.13	4.98	7.20
Oop	15.89	0.24	14.15	17.24	10.41	0.11	9.57	11.34	11.67	0.24	9.22	13.56	10.84	0.12	10.02	11.91
lc	29.58	0.31	27.56	31.58	21.80	0.26	18.27	23.52	24.74	0.21	22.54	26.45	23.51	0.16	22.23	24.77
hc	23.09	1.29	17.71	28.40	15.49	0.18	13.63	17.05	15.97	0.18	14.43	17.42	14.63	0.15	13.08	15.83
iO	11.58	0.18	10.57	12.73	8.55	0.13	7.59	9.71	9.11	0.09	8.23	10.13	6.21	0.08	5.56	6.91
H	40.16	0.44	38.01	43.46	21.12	0.47	19.36	22.84	23.58	0.27	21.22	26.32	19.76	0.22	17.81	21.53
dH	17.38	0.32	15.38	19.35	13.92	0.19	12.30	15.98	11.75	0.29	9.64	16.03	8.99	0.12	8.05	10.55
H	15.64	0.31	13.88	18.02	10.81	0.11	9.82	11.56	11.66	0.12	10.48	12.71	52.18	0.30	48.94	54.17
aD	51.63	0.47	48.67	55.94	46.65	0.19	45.10	48.41	47.94	0.27	45.50	50.25	38.85	0.87	34.11	53.36
pD	19.86	0.39	17.06	23.20	40.88	0.26	37.71	42.79	40.97	0.37	37.94	43.45	24.67	0.28	22.26	26.59
lpc	15.78	0.32	13.68	17.58	20.12	0.31	17.83	22.75	22.00	0.41	17.68	26.46	10.29	0.13	9.45	11.32
dpc	6.47	0.37	4.40	8.61	2.79	0.10	2.30	3.64	3.60	0.12	2.68	4.92	19.76	0.30	16.13	21.79
lD	36.48	0.53	32.89	39.84	14.64	0.30	12.48	17.39	12.27	0.24	9.94	14.96	13.61	0.19	12.17	15.52
hD	20.01	0.40	17.88	22.83	16.54	0.26	14.66	18.56	20.60	0.32	17.10	23.46	15.82	0.32	12.95	17.99
lA	11.43	0.31	9.40	13.20	7.03	0.14	5.70	8.19	7.96	0.15	6.80	9.27	19.75	0.29	17.06	22.95
hA	17.26	0.29	15.61	19.62	14.32	0.34	11.68	16.39	13.56	0.17	12.25	15.47	15.20	0.27	13.26	17.76
lP	20.27	0.39	17.78	22.68	17.88	0.23	15.56	19.40	16.93	0.26	14.06	18.43	21.11	0.29	18.13	23.95
lV	21.57	0.33	19.16	23.77	16.03	0.21	14.27	17.51	17.66	0.27	15.35	19.55	19.47	0.31	16.93	21.37
PV	21.12	0.34	19.00	23.12	31.47	0.31	28.75	33.03	24.45	0.24	22.11	26.20	23.05	0.20	21.31	24.71
VA	30.08	0.36	27.86	32.28	23.79	0.28	21.50	25.62	22.53	0.20	20.58	23.75	43.65	0.20	41.93	45.45
aP	29.15	0.32	27.27	30.93	22.24	0.21	20.63	23.66	25.55	0.14	24.35	26.80	62.75	0.35	60.13	66.04
aV	48.60	0.34	46.42	50.53	52.24	0.30	49.81	54.49	47.37	1.37	20.52	50.59	22.48	0.55	18.03	25.81
aA	76.86	0.64	73.77	83.07	74.74	0.31	71.76	77.10	70.43	0.33	65.77	73.94	10.92	0.27	9.12	13.12
Cs	26.41*	0.90	20.96	30.41	21.49	0.46	17.66	23.98	24.35	0.35	20.42	27.27	22.25	0.57	18.80	27.76
Cl	16.26	0.44	12.95	18.77	9.97	0.17	8.63	10.92	13.51	0.30	9.77	15.60	9.85	0.20	8.32	11.30
Cm	25.44**	1.21	15.77	31.21	21.82	0.48	18.56	25.91	23.89	0.22	21.78	25.16	2.32	0.12	1.53	4.02
li	334.13	16.45	242.60	447.80	517.21	26.31	286.44	804.82	89.51	2.58	70.46	123.38	79.70	2.19	61.80	95.44
% lc																
aO	29.54	0.66	24.68	33.11	36.28	0.71	30.65	40.75	31.16	0.58	26.77	37.41	26.84	0.60	20.02	30.48
O	23.21	0.74	17.90	29.14	20.48	0.42	17.85	24.36	21.53	0.35	18.49	24.63	27.17	0.57	20.02	30.86
Oop	53.78	0.89	49.32	60.09	47.90	0.76	44.94	60.36	46.86	0.63	39.85	52.00	46.12	0.48	42.66	51.85
hc	-	-	-	-	71.19	1.00	64.32	85.58	64.59	0.78	57.53	72.66	62.27	0.63	57.83	69.12
iO	39.19	0.68	36.62	45.80	38.96	0.71	33.68	44.81	36.90	0.53	33.53	44.96	26.44	0.35	24.00	28.40

Նշումներ. *n=9, **n=11

Ներկայում Ջողազի ջրամբարում առավել մեծաքանակ ձկնատեսակներն են արծաթափայլ կարասը, կողակը, ամուրյան նրբածուկը և Կուրի սպիտակածուկը, որոնք կազմում են որսված ձկների ընդհանուր քանակի շուրջ 91.4 %: Կարպը որսվում է ոչ մեծ քանակով՝ կազմելով որսված ձկների ընդհանուր քանակի 4.8 %: Էլ ավելի փոքրաթիվ է ծականի և ոսկեգույն ծականի որսված առանձնյակների թիվը (ընդհանուրի 3.8 %): Որսացանցերում այս վերջին երկու ձկնատեսակների փոքրաթվությունը հնարավոր է, որ պայմանավորված է նրանց մերձհատակային թափնված կենսաձևի, մարմնի մակերևույթի և ցանցերից հաջողությամբ խույս տալու հետ:

Այսպիսով, Ջողազի ջրամբարում մեր կողմից հայտնաբերվել է յոթ ձկնատեսակ, որոնցից միայն երեք տեսակը՝ կողակը, Կուրի սպիտակածուկն ու ոսկեգույն ծական են բնիկ տեսակներ, իսկ մնացածները կամ կլիմայավարժված են (արծաթափայլ կարաս, ամուրյան նրբածուկ), կամ պարբերաբար ներմուծվում են մանրածկների տեսքով (կարպ), կամ էլ ինքատարածվում են՝ օգտագործելով գետի բնական հոսքը (ծական): Բացի վերոգրյալ ձկնատեսակներից, մենք ենթադրում ենք, որ Ջողասի ջրամբարում հնարավոր է նաև այլ ձկնատեսակների առկայությունը, ինչը ենթադրում է հետագա հետազոտությունների անցկացումը Հայաստանի և Ադրբեջանի պետական սահմանների միջև ընկած այս ջրակալում:

Հեղինակներն իրենց երախտագիտությունն են հայտնում Բերքաբեր գյուղի բնակիչ Թաթուլ Մախլանին ուսումնասիրված նյութի հավաքման և այն սիրահոծար մեզ տրամադրելու համար:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Հայաստանի բնաշխարհ. Հանրագիտարան. «Տիգրան Մեծ» հրատարակչություն, Երևան, 692 էջ, 2006:
2. Վարդանյան Տ.Վ. Սևանա լիճ ներմուծված խոր ձկնատեսակների կենսաբանական և էկոլոգիական առանձնահատկությունները լճի մակարդակի բարձրացման պայմաններում: Սեղմագիր կենս. գիտ. թեկ. գիտ. աստ. հայցման համար, Երևան, 21 էջ, 2013:
3. Պիպոյան Ս.Խ., Գաբրիելյան Բ.Կ., Տիգրանյան Է.Ա., Վարդանյան Տ.Վ., Բարսեղյան Ն.Է., Խաչատրյան Յ.Գ. Հայաստանի ձկների կարգաբանական միավորների հայերեն անվանումները: Հայաստանի կենսաբան. հանդես, 70, 3, էջ 6-12, 2018:
4. Տիգրանյան Է.Ա. Կենսաափսիություն: Ուսումնական ձեռնարկ: Երևան: Կրթության ազգային ինստիտուտ, 332 էջ, 2009:
5. Варданян Т.В., Барсегян Н.Э., Габриелян Б.К. Проникновение амурского чебачка *Pseudorasbora parva* (Temminck Et Schlegel, 1846) в бассейн озера Севан. Мат.-лы международной научной конференции “Биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны Кавказа”, Ереван, с. 92-95, 2011.
6. Егизарян Э.М., Вартанян Л.К., Машиян Р.А. Рыбозооэкономное обследование водохранилищ Воротанского каскада в Армянской ССР. Биолог. журн. Армении, 40, 1, с. 43-48, 1987.
7. Пипоян С.Х. Амурский чебачок *Pseudorasbora parva* (Cyprinidae) в водоемах Арагатской равнины (Армения). Вopr. ихтиологии. 36, 4, с. 549-551, 1996.
8. Пипоян С.Х. Морфометрические и биологические особенности севанской храмули *Carpoeta capoeta sevangi* (Cyprinidae, Pisces) в водоемах Армении. Сб. мат. 53-й юбилейной науч. конф. профессорско-преподавательского состава, аспирантов, соискателей и научных работников (7-9 ноября 2007 г.). “Манкаварж”, Ереван, с.128-131, 2008.
9. Пипоян С.Х. Ихтиофауна Армении: этапы формирования и современное состояние. ISBN 978-3-8473-9977-3, 548 с., 2012.
10. Пипоян С.Х., Аракелян А.С., Креджян Т.Л., Степанян И.Э. Об обнаружении золотистой щиповки *Sabanejewia aurata* (De Filippi, 1863) (Cobitidae, Actinopterygii) в р. Агстев. Биолог. журн. Армении, 68, 4, с. 61-65, 2016.
11. Пипоян С.Х., Машиян Р.А. Морфологическая характеристика серебряного карася (*Carassius auratus gibelio* (Bloch)) различных водоемов Арагатской равнины. Уч. записки ЕГУ, 3, с. 125-131, 1990.
12. Пипоян С.Х., Степанян И.Э., Аракелян А.С., Креджян Т.Л., Калашиян М.Ю. Первая находка щиповки *Cobitis* sp. (Cobitidae, Acanthopterygii) в Армении. Биолог. журн. Армении, 69, 2, с. 46-52, 2017.
13. Пипоян С.Х., Тигранян Э.А. Определитель рыб Армении. Известия аграрной науки. 8, 1, с. 112-116, 2010.
14. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищ. пром-сть, 376 с., 1966.
15. Решетников Ю.С., Попова О.А. О методиках полевых ихтиологических исследований и точности полученных результатов. Труды ВНИРО, 156, с. 114-131, 2015.
16. Naseka A.M. Zoogeographical Freshwater Divisions of the Caucasus as a part of the West Asian Transitional Region. Proceedings of the Zool. Inst. RAS. 314, 4, p. 469-492, 2010.

Ստացվել է 11.06.2019



Биолог. журн. Армении, 3 (71), 2019

**МОРФОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АМУРСКОГО
ЧЕБАЧКА *PSEUDORASBORA PARVA* (TEMMINCK ET SCHLEGEL,
1846) ОЗЕРА СЕВАН**

Т.В. ВАРДАНИЯН, Н.Э. БАРСЕГЯН

*Институт гидроэкологии и ихтиологии ИЦЗГЭ НАН РА
vardtigran@mail.ru, nelka.84@bk.ru*

В бассейне оз. Севан амурский чебачок образует стайные скопления на мелководных, заросших растительностью участках. При обследовании притоков оз. Севан небольшая популяция амурского чебачка была обнаружена лишь в нижнем течении р. Дзкнагет, а также в канале реки Раздан, где он впервые был обнаружен. Применение критерия Стьюдента показало, что 1-, 2-, 3- годовые популяции достоверно отличаются друг от друга. Анализ морфометрических признаков не выявил полового диморфизма.

Озеро Севан – амурский чебачок – распространение – меристические признаки

Ամուրյան նրբաձկնիկը Սևանա լճի ավազանում վտառային կուտակումներ է առաջացնում բուսականությամբ հարուստ ծանծաղուտներում: Սևանա լճի վտակների ուսումնասիրության ժամանակ ոչ մեծ պոպուլյացիա է գրանցվել միայն Ձկնագետ գետի ստորին հոսանքում, ինչպես նաև Հրազդան գետի ջրատարում, որտեղ այն առաջին անգամ հայտնաբերվել է: Ստյուդենտի գործակցի կիրառումը ցույց է տվել, որ 1, 2 և 3 տարեկան պոպուլյացիաները իրարից հավասարի տարբերվում են: Ձևաչափական ցուցանիշների վերլուծությունը ցույց է տվել, որ այս ձկնատեսակում սեռային երկձևություն առկա չէ:

Սևանա լիճ – ամուրյան նրբաձկնիկ – տարածվածություն – մերիստիկ ցուցանիշներ

Stone moroko forms cluster schoolings in those areas of Lake Sevan basin, which shallow and covered by vegetation. As a result of study of lake Sevan' tributaries a small population of stone moroko has been found only in the downstream of the river Dzknaget, as well as in the channel of the Hrazdan River, where it has been first found. Student's t-test shows that 1, 2 and 3 years old populations are significantly different from each other. Sexual dimorphism hasn't been revealed due to morph-metrical analysis.

Lake Sevan – Stone moroko – dissemination – meristic characters

По официальной версии непреднамеренная интродукция амурского чебачка *Pseudorasbora parva* (Temminck et Schlegel, 1846) в Европу произошла в начале 1960-х гг. [1]. Вид был случайно завезен вместе с молодью белого амура из бассейна р. Янцзы (Китай) в рыбоводные пруды Румынии [18]. Вторым центром распространения *P. parva* в водоемы Восточной Европы было оз. Скандарское, находящееся на границе Черногории и Албании, куда он был интродуцирован в 1972 г. в качестве кормового объекта для хищных рыб. К началу 1990-х гг. амурский чебачок широко распространился во всех балканских государствах [19, 20, 21].

Амурский чебачок – единственный представитель этого рода в ихтиофауне России [1]. Естественный ареал этого вида включает воды Китая, Тайваня, Кореи, Японии. В Европейской части России амурский чебачок представлен популяциями в бассейне р. Кубань; на Северном Кавказе в реках Кума и Терек [2, 12]. Имеются данные о выходе чебачка в Азовское море [15]. В настоящее время амурский чебачок встречается во многих водоемах Азии и Европы. На Северном Кавказе этот вид впервые был обнаружен в бассейне р. Кумы [16], а затем в р. Кубани [21]. В начале 1960-х велись работы по интродукции рыб дальневосточного комплекса в водоемы южных областей России, Северного Казахстана, Украины и стран Восточной Европы. Попад в 60-е годы в рыбоводческие пруды Араратской равнины, амурский чебачок активно расселился по естественным водоемам и в настоящее время является одним из широко распространенных и многочисленных видов рыб этого региона [13].

Целью данной работы являлось изучение морфоэкологических показателей амурского чебачка в новых для него условиях – в бассейне оз. Севан.

Материал и методика. Сбор материала проводили в апреле – октябре 2011-2012 гг. Отловы проводили как по оз. Севан, так и по его притокам. Проведен анализ морфоэкологических параметров пойманных рыб.

Проведены измерения следующих морфологических параметров: длина тела (до конца чешуйного покрова) – l относительная: s – длина головы; $г$ – длина рыла; $hс$ – высота головы через затылок; $ро$ – заглазничный отдел головы (посторбитальное расстояние); $о$ – горизонтальный диаметр глаз; $юо$ – ширина лба; H – наибольшая высота тела; h – наименьшая высота тела; fd – длина хвостового стебля; aD – антедорсальное расстояние; pD – постдорсальное расстояние; $P-V$ и $V-A$ – пектоцентрально-анальное и вентроанальное расстояния; IA и hA – длина основания и высота анального плавника; ID и hD – длина основания и высота спинного плавника; IP и IV – длины грудного и брюшного плавников, в процентах от длины головы – s ; $г$ – длина рыла; $юо$ – ширина лба; $о$ – горизонтальный диаметр глаз; $hс$ – высота головы через затылок; $ро$ – заглазничный отдел головы (посторбитальное расстояние). Число лучей в спинном плавнике (D), число лучей в анальном плавнике (A), число чешуи в боковой линии ($l.l.$).

Применялись следующие статистические показатели: среднее арифметическое – M , стандартная ошибка – m , наименьшее и наибольшее значения – lim , среднее квадратическое отклонение – σ , при сравнении двух выборок использовали t – критерий Стьюдента, достоверность различий – t_{ϕ} , уровень значимости – P .

Достоверность различий полученных результатов оценивали по таблице стандартных значений критерия Стьюдента t для уровня значимости $P=0,05$ [10, 14]. Биологические характеристики приведены с использованием стандартных методов, принятых в биологии [17].

Рассчитывался также коэффициент различий (CD) [17]

$$CD = \frac{M_1 - M_2}{SD_1 + SD_2} \geq 1,28,$$

где M_1 и M_2 – среднее значение признаков, SD_1 и SD_2 – стандартные (среднеквадратические) отклонения этих признаков, 1,28 – принятый показатель подвижного различия. Коэффициент различия, в отличие от критерия Стьюдента, оценивает величину различия.

Оценка показателей дисперсий (показатель изменчивости – σ^2) признаков проводилась по таблице стандартных значений критерия F_{st} – Фишера для уровня значимости $P=0,05$. Значение критерия достоверности различий (F) определяли по формуле [10]

$$F = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2}; \quad (\sigma_1^2 \geq \sigma_2^2)$$

где σ_1^2 и σ_2^2 – показатели изменчивости.

Вариационно-статистическая обработка проводилась по общепринятым методикам с использованием компьютерной программы STATISTICA 8.

Результаты и обсуждение. В экспедиции по бассейну оз. Севан было выловлено 706 особей амурского чебачка разных размеров ($l=20-71$ мм). Сравнительный анализ по меристическим признакам показывает, что амурский чебачек из бассейна оз. Севан близок к амурскому чебачку из всех водоемов с некоторыми различиями (табл. 1).

Таблица 1. Меристические признаки амурского чебачка из разных водоемов

Признак	Бассейн оз. Севан	Бассейн р. Рось [9]	Водоемы Евразии [7]	Водоемы Араратской равнины [13]
l.l.	35-39	33-38	33-39	(32) 33-36
D	III 7-8	III 6-8	III 6-8	III 7
A	II-III 6-7	III 5-7	III 5-7	II 6-7

По нашим наблюдениям, в бассейне оз. Севан амурский чебачок образует стайные скопления на мелководных и заросших растительностью участках. При обследовании притоков оз. Севан небольшая популяция амурского чебачка была обнаружена нами лишь в нижнем течении р. Дзкнагет, а также в канале реки Раздан, где он впервые был обнаружен [3, 4]. Анализ морфометрических признаков амурского чебачка из бассейна оз. Севан показал, что половой диморфизм у этого вида не выражен. Применение критерия Стьюдента показало, что в бассейне оз. Севан 1 и 2 годовики отличаются друг от друга по 16 пластическим признакам из 24, 1 и 3 годовики – по 13 пластическим признакам из 24, а 2 и 3 годовики – по 4 пластическим признакам из 24 (табл. 2, 3).

Таблица 2. Показатели пластических признаков амурского чебачка разных возрастных групп (по данным 2011-2012 гг.)

Возраст	1 (n=46)		2 (n=73)		3 (n=9)	
Признаки	M±m	lim	M±m	lim	M±m	lim
В % от l						
г	7,93±0,18	5,26-10,00	7,81±0,11	6,00-9,76	8,15±0,29	6,67-9,68
о	5,94±0,09	5,00-7,90	5,30±0,11	3,64-7,50	4,70±0,08	4,23-5,00
po	10,97±0,28	7,69-18,18	10,97±0,14	8,33-14,63	10,61±0,25	9,68-11,67
с	25,65±0,29	22,50-33,33	24,10±0,17	20,83-28,21	23,26±0,49	21,13-24,62
hc	16,17±0,25	13,16-24,24	15,68±0,21	4,26-18,18	15,98±0,36	15,00-18,46
io	8,77±0,15	6,90-12,12	9,15±0,12	6,98-11,11	9,20±0,25	8,33-10,61
H	21,50±0,30	17,86-30,30	22,30±0,21	18,18-27,08	24,17±0,43	22,54-25,81
h	10,05±0,23	7,14-15,15	10,54±0,15	8,33-18,75	10,96±0,31	9,86-12,90
aD	50,31±0,56	44,74-69,70	48,82±0,23	43,90-55,00	48,07±0,68	45,00-51,61
pD	34,44±0,41	29,03-45,46	36,51±0,31	30,95-42,50	38,08±0,77	33,80-40,32
fd	19,32±0,29	14,29-24,24	20,91±0,27	15,91-27,08	22,58±0,57	20,00-24,62
lD	9,58±0,22	6,25-15,15	11,11±0,17	6,98-14,82	12,90±0,60	9,86-16,13
hD	19,60±0,41	14,71-30,30	21,00±0,21	17,07-25,53	21,04±0,41	18,46-22,58
lA	7,41±0,24	5,13-12,12	7,87±0,17	4,76-11,11	9,41±0,34	7,69-11,29
hA	13,35±0,28	10,00-18,18	14,48±0,25	10,87-25,00	14,81±0,52	12,31-16,67
lP	15,06±0,24	11,11-18,18	15,43±0,22	10,91-22,22	15,81±0,36	14,09-16,92
IV	14,49±0,26	11,43-21,21	14,69±0,19	10,87-18,51	15,49±0,48	12,67-16,92
PV	23,08±0,36	18,18-30,30	23,50±0,27	17,02-28,26	23,18±0,69	20,00-26,76
VA	19,42±0,34	15,15-27,27	20,26±0,20	14,89-25,00	22,02±0,51	20,00-24,62
В % от с						
г	31,05±0,74	20,00-37,50	32,46±0,50	25,00-44,44	35,13±1,34	30,77-40,00
о	23,23±0,38	18,18-30,00	22,01±0,45	14,29-30,00	20,29±0,61	18,75-23,08
po	42,78±0,96	30,00-55,56	45,58±0,58	35,71-60,00	45,80±1,62	40,00-53,85
hc	63,32±0,86	50,00-77,78	65,12±0,93	20,00-80,00	68,90±1,88	62,50-76,92
io	34,21±0,56	22,22-44,44	38,04±0,53	27,27-46,15	39,56±0,78	37,50-43,75

В условиях бассейна оз. Севан с возрастом происходило относительное увеличение следующих признаков – ширина лба, наибольшая высота тела, наименьшая высота тела, постдорсальное расстояние, длины хвостового стебля, длина основания спинного плавника, высота спинного плавника, длина основания анального плавника и высота анального плавника и вектроанальное расстояние. С возрастом чебачка происходило относительное уменьшение горизонтального диаметра глаза, длины головы, антедорсального расстояния.

Таблица 3. Показатели достоверности различий средних значений (t_{ϕ}) и дисперсии (F) пластических признаков амурского чебачка разных возрастных групп ($p=0.05$) (по данным 2011-2012 гг.)

Возрастные группы	1 - 2	1-2	1 - 3	1-3	2 - 3	2-3
Признаки	$t_{st}=1,97$	$F=1,54$	$t_{st}=2,00$	$F=2,76$	$t_{st}=1,99$	$F=2,86$
В % от l						
r	0,60	1,51	0,53	1,83	1,00	1,22
o	4,70	1,49	5,78	6,35	1,86	14,14
po	0,00	2,51	0,56	6,25	0,80	2,49
c	4,95	1,97	3,43	1,79	1,38	1,10
hc	1,46	1,06	0,32	2,54	0,44	2,84
io	1,99	1,01	1,21	1,81	0,13	1,85
H	2,23	1,31	3,73	2,59	2,69	1,98
h	1,86	1,42	1,70	2,84	0,84	2,00
aD	2,78	3,70	1,70	3,49	0,87	1,06
pD	4,05	1,11	3,68	1,46	1,46	1,32
fd	3,86	1,17	4,60	1,33	1,85	1,80
lD	5,55	1,06	5,90	1,48	2,61	1,56
hD	3,33	2,27	1,53	5,04	0,06	2,21
lA	1,61	1,28	3,53	2,55	2,78	1,99
hA	2,94	1,14	2,19	1,46	0,40	1,91
lP	1,12	1,14	1,33	2,18	0,56	2,85
lV	0,64	1,23	1,61	1,48	1,22	1,20
PV	0,95	1,10	0,12	1,37	0,34	1,25
VA	2,29	1,78	3,27	2,28	2,51	1,28
В % от c						
r	1,64	1,40	2,29	1,57	1,50	1,12
o	1,91	1,48	3,25	2,01	1,26	4,41
po	1,66	1,75	1,32	1,79	0,10	1,02
hc	1,32	1,36	2,62	1,08	1,23	2,00
io	4,76	1,17	4,00	2,72	0,93	3,73

При акклиматизации или интродукции рыб происходят изменение и расширение варьирования их пластических признаков, что может рассматриваться как приспособление к новым условиям обитания. Реализация пластических признаков вселенца может рассматриваться как индикатор его условий обитания.

Изучение индивидуальной изменчивости позволяет оценить приспособительные возможности популяций в неустойчивых условиях среды. Сравнительный анализ морфометрических признаков амурского чебачка из бассейна оз. Севан, водоемов Араратской равнины показал, что севанские и араратские популяции достоверно отличаются друг от друга по 21 пластическим признакам из 24, а севанские и азербайджанские популяции – по 7 пластическим признакам из 14 (табл. 4, 5).

Таблица 4. Показатели пластических признаков амурского чебачка из бассейна оз. Севан (наши данные, 2011-2012 гг.), водоемов Араратской равнины [13] и Азербайджана [8]

Признаки	Бассейн оз. Севан 2011-2012 гг (n=129)		Водоемы Араратской равнины 2000 г. (n=120)		Водоемы Азербайджана (n=63)	
	M±m	lim	M±m	lim	M±m	lim
l, см	43,41±0,83	28,00-71,00	48,7±0,05	25,00-86,00	46,3±4,27	39,7-64,7
G, г	1,63±0,11	0,30-0,70	2,62±0,11	0,20-11,30	-	-
В % от l						
г	7,87±0,09	5,26-10,00	7,3±0,05	5,2-8,8	-	-
о	5,48±0,08	3,64-7,90	6,9±0,05	4,7-10,1	-	-
ро	10,94±0,13	7,69-18,18	10,1±0,05	8,4-11,6	-	-
с	24,61±0,16	20,83-33,33	23,6±0,10	20,5-28,3	24,4±0,92	20,6-27,0
hc	15,89±0,15	4,26-24,24	16,0±0,07	14,0-18,2	-	-
io	9,01±0,09	6,90-12,12	8,8±0,05	7,6-10,2	-	-
H	22,13±0,17	17,86-30,30	22,1±0,13	18,18-27,1	21,9±1,23	17,2-24,0
h	10,39±0,12	7,14-18,75	10,09±0,08	8,6-13,5	10,8±0,60	7,7-11,9
aD	49,28±0,25	43,90-69,70	49,8±0,13	45,7-53,2	49,5±1,38	39,5-51,4
pD	35,88±0,25	29,03-45,46	39,9±0,15	35,5-43,7	36,6±1,35	30,2-39,1
fd	20,46±0,21	14,29-27,08	22,8±0,12	18,8-27,4	-	-
ID	10,69±0,15	6,25-16,13	12,1±0,08	10,5-14,7	12,3±0,92	10,3-14,4
hD	20,50±0,20	14,71-30,30	24,2±0,13	20,0-28,0	-	-
lA	7,83±0,14	4,76-12,12	9,1±0,09	7,4-12,4	8,3±0,92	5,7-10,1
hA	14,11±0,18	10,00-25,00	16,6±0,10	13,5-20,6	-	-
lP	15,33±0,15	10,91-22,22	17,4±0,12	13,3-20,7	18,1±1,16	14,7-21,2
IV	14,66±0,15	10,87-21,21	17,4±0,11	14,5-21,0	18,2±1,02	16,0-21,0
PV	23,33±0,20	17,02-30,30	24,5±0,17	18,6-29,4	23,2±1,67	16,0-27,3
VA	20,09±0,18	14,89-27,27	22,7±0,19	15,0-26,7	19,7±1,76	14,2-24,0
В % от с						
г	32,13±0,41	20,00-44,44	30,9±0,20	24,2-40,9	35,8±1,82	31,0-40,0
о	22,31±0,30	14,29-30,00	28,9±0,18	20,9-37,9	30,5±1,75	24,6-33,7
ро	44,55±0,50	30,00-60,00	42,7±0,19	35,9-47,4	40,7±2,12	35,5-46,7
hc	64,73±0,64	20,00-80,00	68,1±0,29	59,1-78,9	-	-
io	36,76±0,40	22,22-46,15	37,6±0,20	30,3-43,7	-	-

Согласно полученным результатам, сравнение выборок амурского чебачка из бассейна оз. Севан и из водоемов Араратской равнины показало, что отличительной особенностью чебачка водоемов Араратской равнины являются малые размеры головы, что, по-видимому, обусловлено более благоприятными условиями обитания, так как при истощении увеличивается относительная масса головы, плавников, костей; уменьшается масса мышц, внутренностей [6]. Меньшие размеры грудных плавников по сравнению с чебачками из водоемов Араратской равнины говорит о достаточном количестве кислорода в воде оз. Севан и его притоков. Меньший диаметр глаза объясняется мутностью воды в водоемах Араратской равнины. У чебачка бассейна оз. Севан длина и высота спинного и анального плавников меньше по сравнению теми же параметрами чебачка из водоемов Араратской равнины. Это свидетельствует о более низкой скорости течения на затопленных территориях. Более длинное рыло у чебачков бассейна оз. Севан свидетельствует о том, что рыба обитает в условиях с более низким температурным режимом. И это обосновано, так как водоемы Араратской равнины находятся южнее и средняя температура воды, соответственно, выше, чем в бассейне оз. Севан.

Таблица 5. Показатели достоверности различий средних значений (t_p) и дисперсии (F) пластических признаков амурского чебачка из разных водоемов ($p=0.05$)

Водоемы	I - II	I - II	I - II	I - III	I - III	I - III
Признаки	tst=1,97	F=1,54	CD	tst=1,97	F=1,85	CD
В % от I						
r	5,37	3,61	0,36	-	-	-
o	15,19	2,58	0,99	-	-	-
po	5,98	7,01	0,42	-	-	-
c	5,22	2,76	0,34	0,29	16,11	0,34
hc	0,64	5,19	0,04	-	-	-
io	2,01	3,47	0,13	-	-	-
H	0,14	1,91	0,01	0,26	24,58	0,01
h	3,46	2,47	0,23	0,90	11,92	0,07
aD	1,79	4,09	0,12	0,21	14,47	0,02
pD	13,43	3,07	0,89	0,71	13,85	0,05
fd	9,66	3,17	0,64	-	-	-
lD	7,97	3,98	0,54	2,37	17,42	0,18
hD	15,36	2,52	1,00	-	-	-
lA	7,60	2,54	0,50	3,31	21,65	0,05
hA	11,77	3,57	0,79	-	-	-
lP	10,68	1,69	0,68	3,31	29,01	0,25
lV	14,98	1,85	0,96	4,78	24,39	0,36
PV	4,39	1,54	0,28	0,11	32,95	0,01
VA	10,17	1,07	0,64	0,31	48,34	0,02
В % от c						
r	2,67	4,41	0,18	2,63	9,87	0,18
o	18,66	2,94	1,23	6,34	16,90	0,47
po	3,38	7,40	0,24	2,35	8,84	0,24
hc	4,70	5,21	0,32	-	-	-
io	1,83	4,39	0,12	-	-	-

Обозначения: I – бассейн оз. Севан, II – водоемы Араратской равнины,
III – водоемы Азербайджана

Примечание: В случаях, когда отсутствуют данные, стоит прочерк

Сравнение морфометрических параметров Амурского чебачка из оз. Севан и водоемов Азербайджана показало довольно большое сходство средних значений большинства исследованных показателей, что указывает на относительную идентичность условий обитания этого вида в сравниваемых водоемах [8].

Таким образом, в бассейне оз. Севан амурский чебачок образует стайные скопления на мелководных и заросших растительностью участках. При обследовании притоков оз. Севан небольшая популяция амурского чебачка была обнаружена лишь в нижнем течении р. Дзкнагет, а также в канале реки Раздан, где он впервые был обнаружен. Анализ морфометрических признаков амурского чебачка из бассейна оз. Севан показал, что полового диморфизма не выявлено. Применение критерия Стьюдента показало, что 1, 2 и 3-годовые популяции достоверно отличаются друг от друга. Сравнительный анализ морфометрических признаков амурского чебачка из бассейна оз. Севан и водоемов Араратской равнины показал, что водоемы Араратской равнины имеют более благоприятные условия обитания для амурского чебачка, хотя и это не является препятствием для быстрого расселения этого вида в новых для него условиях – бассейна оз. Севан. Сравнение морфометрических параметров амурского чебачка из оз. Севан и водоемов Азербайджана показало довольно большое сходство средних значений большинства исследованных показателей, что указывает на относительную идентичность условий обитания этого вида в сравниваемых водоемах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атлас пресноводных рыб России. Под ред. Ю.С. Решетникова. В 2 т. М., Изд-во "Наука", 1, 379 с., 2003.
2. Бозуцкая Н.Г., Кудерский Л.А., Насека А.М., Сподарева В.В. Пресноводные рыбы России за пределами исторических ареалов: обзор типов интродукций и инвазий. Биологические инвазии в водных и наземных экосистемах. М., Изд-во КМК – СПб., с. 155-171, 2004.
3. Варданян Т.В., Барсегян Н.Э., Габриелян Б.К. Проникновение амурского чебачка *Pseudorasbora parva* (Temminck Et Schlegel, 1846) в бассейн озера Севан / Мат.-лы международной научной конференции биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны Кавказа, Ереван, с. 92-95, 2011.
4. Варданян Т.В., Барсегян Н.Э. Структура рыбного населения реки Дззнагет. Малые реки: Экологическое состояние и перспективы развития: материалы докладов II Всероссийской научной конференции с международным участием. Чебоксары, Изд-во "Перфектум", с. 74-77, 2012.
5. Емтыль М.Х., Плотников Г.К. Новый вид в ихтиофауне реки Кубань / Экологические проблемы Ставропольского края и сопредельных территорий. Тезисы докладов краевой научно-практической конференции, Ставрополь, с. 122, 1989.
6. Инструкция по физиолого-биохимическим анализам рыбы. Лиманский В.В., Яржомбек А.А., Бекина Е.Н., Андроников С.Б. М., ВНИИПРХ, 52 с., 1986.
7. Карабанов Д.П., Кодухова Ю.В., Куцоконь Ю.К. Экспансия амурского чебачка *Pseudorasbora parva* (Cypriniformes, Caprinidae), в водоемы Евразии. Вестник зоологии, 44, 2, с. 115-124, 2010.
8. Карабанов Д.П., Кодухова Ю.В., Мустафаев Н. Дж. Амурский чебачок *Pseudorasbora Parva* (Cyprinidae) – новый вид в ихтиофауне Азербайджана. Российский Журнал Биологических инвазий, 1, с. 41-49, 2013.
9. Куцоконь Ю.К. Распространение и морфо-биологические особенности чужеродных видов рыб в бассейне р. Рось (приток р. Днепр). Российский журн. биол. инвазий, 1, с. 19-29, 2010.
10. Лакин Г.Ф. Биометрия, М., Высш. школа, Вып. 2, 343 с., 1973.
11. Майр Э. Принципы зоологической систематики. М., Изд-во "Мир", 454 с., 1971.
12. Пашков А.Н., Плотников Г.К., Шутов И.В. Новые данные о составе и распространении видов-акклиматизантов в ихтиоценозах континентальных водоемов Северо-Западного Кавказа. Изв. ВУЗов. Сев.-Кавказский регион, Прил. № 1 (13), с. 46-52, 2004.
13. Питоян С.Х. Ихтиофауна Армении и этапы ее формирования // дис...д.б.н., НАН РА Научный центр зоологии и гидроэкологии, Ереван, с. 347-347, 2007.
14. Плохинский Н.А. Биометрия. Новосибирск, Изд-во "Наука", 362 с., 1961.
15. Подушка С.Б. Проникновение амурского чебачка *Pseudorasbora parva* в Азовское море. Науч.-техн.бюл.лаб.ихтиол. ИНЭНКО. СПб.: Вып. 1, с. 36-37, 1999.
16. Позняк В.Г. Амурский чебачок в бассейне реки Кумы. Животный мир Предкавказья и сопредельных территорий. Межвуз. сб. науч. тр. Ставроп. государственный пед. Институт. Ставрополь, СГПИ, С. 64-66, 1988.
17. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. М., Изд-во "Пищевая промышленность", 376 с., 1966.
18. Banarese P.M. Pisces – Osteichthyes. E. Acad. R.P. Romine, Bucharest, p. 1-961, 1964.
19. Bianco P.G. Occurrence of the Asiatic gobionid *Pseudorasbora parva* (Temminck and Schlegel) in south-eastern Europe. J. Fish Biol., 32, p. 973-974, 1988.
20. Jankovic D., Karapetkova M. Present status of the studies on range of distribution of Asian fish species *Pseudorasbora parva* (Shlegel) 1842 in Yugoslavia and Bulgaria / Ichthyologia, 24, 1, p. 1-9, 1992.
21. Marinov B. *Pseudorasbora parva* (Shlegel, 1842) (Pisces, Cyprinidae) new representative in Bulgarian ichthyofauna. Hydrobiology, 8, p. 75-78, 1979.
22. Register of International transfers of inland fish species. FAO Fisheries Tech. Paper., Rome: FAO, № 213, 119 p., 1981.

Поступила 16.05.2019



Биолог. журн. Армении, 3 (71), 2019

ՄԱՐՄԱՐԻԿ ԳԵՏԻ ՖԻՏՈՊԼԱՆԿՏՈՆԱՅԻՆ ՀԱՄԱԿԵՑՈՒԹՅԱՆ ՈՐԱԿԱԿԱՆ, ՔԱՆԱԿԱԿԱՆ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԸ ԵՎ ԷԿՈԼՈԳ- ԱՇԽԱՐՀԱԳՐԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Լ.Գ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Կենդանաբանության և հիդրոէկոլոգիայի կենտրոն
Հիդրոէկոլոգիայի և ձկնաբանության ինստիտուտ
listeus@mail.ru

Մարմարիկ գետի հոսքի ամբողջ երկայնքով ուսումնասիրվել են ֆիտոպլանկտոնային համակեցության տեսակային կազմը և քանակական ցուցանիշները: Որոշվել է ջրիմուռների հանդիպման հաճախականությունը, տրվել է էկոլոգոաշխարհագրական բնութագիրը: Կենսաինդիկացիոն մեթոդների հիման վրա գնահատվել է գետի ջրի որակը:

Մարմարիկ գետ – ֆիտոպլանկտոնային համակեցություն – հանդիպման հաճախականություն

Изучены видовой состав и количественные показатели фитопланктонного сообщества по всему течению реки Мармарик. Определена частота встречаемости водорослей, дана их эколого-географическая характеристика. На основе методов биоиндикации была проведена оценка качества речной воды.

Река Мармарик – фитопланктонное сообщество – частота встречаемости

Study of species composition and quantitative parameters of phytoplankton community was done along of the flow of Marmarik River. Frequency of occurrence of algae was determined, ecological and geographical characteristic was carried out. Based on the bio indication methods water quality of the river was assessed.

Marmarik river – phytoplankton community – frequency of occurrence

Ներկայումս մակերևութային ջրերի աղտոտումը հանդիսանում է գլոբալ էկոլոգիական խնդիր, ինչի հետևանքով խիստ արդիական է մոնիտորինգային ուսումնասիրությունների իրականացումը: Հատկապես կարևոր է ջրի որակի հսկողությունը ըստ ջրակենսաբանական ցուցանիշների: Համակեցություններում տեսակային կազմի որակական և քանակական փոփոխությունները կարող են լայն տեղեկություններ հաղորդել ջրի որակի փոփոխության մասին [5]:

Գետերում ջրի որակի գնահատման կարևորագույն գործոններ են հանդիսանում ֆիտոպլանկտոնային համակեցության քանակական և որակական ցուցանիշները, քանի որ ֆիտոպլանկտոնը որպես սննդային շղթայի առաջնային օղակ առաջինն է արձագանքում արտաքին ազդակների փոփոխությանը [14]:

Մարմարիկը Հրազդան գետի աջ վտակն է: Երկարությունը 37 կմ է, ջրհավաք ավազանը՝ 427 կմ²: Մարմարիկ գետի հովտում են գտնվում Հանքավան, Աղավաճոր, Մարմարիկ գյուղերը: Այստեղ տեղակայված են Նաև Հանքավանի և Մեղրաձորի հանքավայրերը, հանքային ջրերի բազմաթիվ ելքեր: Գետի վրա կառուցված է Մարմարիկի ջրամբարը: Ջրերն օգտագործվում են ոռոգման, ռելիեֆացիոն, հիդրոէներգետիկ և արդյունաբերական նպատակներով [3, 13]:

Առաջին անգամ Մարմարիկ գետի հոսքի ամբողջ երկայնքով ջրակենսաբանական համալիր ուսումնասիրություններ են կատարվել 2017 թ. [2]:

Աշխատանքի նպատակն է ուսումնասիրել Մարմարիկ գետի ֆիտոպլանկտոնային համակեցության բանական և որակական ցուցանիշները, տալ Էկոլոգո-աշխարհագրական բնութագիրը, ինչպես նաև, օգտագործելով կենսաինդիկացիոն մեթոդները՝ տալ ջրի որակի գնահատում:

Նյութ և մեթոդ: 2017 թ. կատարվել են Մարմարիկ գետի համալիր սեզոնային (գարուն, ամառ, աշուն) ջրակենսաբանական հետազոտություններ: Ներկա աշխատանքի համար նյութ է հանդիսացել Մարմարիկ գետի վերին, միջին և ստորին հոսանքների ալգոլոգիական նմուշառումները: Նախկին հետազոտություններում նմուշառում է կատարվել միայն գետի վերին և ստորին հոսանքներից [1,10]: Նմուշները վերցվել են գետի մակերևույթային շերտից գարուն, ամառ, աշուն սեզոններին մեկական անգամ:

Փորձանմուշների կոնսերվացումը և մշակումը կատարվել է համաձայն ժամանակակից ջրակենսաբանական մեթոդաբանության [4]: Ջրիմուռների տեսակային կազմի որոշում կատարվել է մի շարք որոշիչների օգնությամբ [7, 8,11,17]: Ջրիմուռների Էկոլոգո-աշխարհագրական և օրգանական աղտոտվածության ինդիկատոր տեսակների բնութագիրը տրվել է ըստ Բարինովայի [6]: Սապրոբայնության գործակիցը որոշվել է ըստ Պանտլե Բուկի բանաձևի [16]:

Աղ. 1-ում ներկայացված են սապրոբայնության տիրույթները ըստ ջրիմուռների սապրոբայնության գործակցի արժեքների [6]:

Աղյուսակ 1. Սապրոբայնության տիրույթները ըստ սապրոբայնության գործակցի արժեքների

Սապրոբայնության տիրույթ	Սապրոբայնության գործակից, S
Քսենոսապրոբ	0-0,5
Օլիգոսապրոբ	0,5-1,5
Մեզոսապրոբ	1,5-3,5
Պոլիսապրոբ	3,5-4,5

Արդյունքներ և քննարկում: Մարմարիկ գետի ֆիտոպլանկտոնի դոմինանտ կազմը ներկայացված է կապտականաչ (Cyanophyta), դիատոմային (Bacillariophyta), կանաչ (Chlorophyta) և Էվգլենային (Euglenophyta) ջրիմուռներով (աղ. 2):

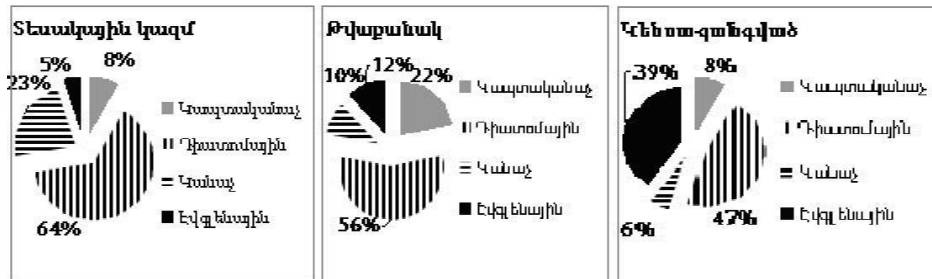
Աղյուսակ 2. Մարմարիկ գետում արձանագրված ջրիմուռների տեսակային կազմը և Էկոլոգո-աշխարհագրական բնութագիրը 2017 թ.

	Վերին հոսանք	Միջին հոսանք	Ստորին հոսանք	G	Sal	E	S	F %
Cyanophyta								
<i>Aphanothece clathrata</i>	+++	+++	+++	k	i	P	β	100
<i>Dactylococcopsis raphidioides</i>	---	---	-+-	-	-	P	-	11
<i>Microcystis aeruginosa</i>	+++	++-	+++	k	hl	P	o-α	89
<i>M. wessenbergii</i>	-++	-++	-+-	k	-	P	o-α	55
<i>Oscillatoria limnetica</i>	---	--+	---	k	-	P-B	o-β	11
<i>Phormidium foveolarum</i>	---	---	-+-	k	-	B,S	β-o	11
Bacillariophyta								
<i>Achnantes microcephala</i>	---	---	-+-	k	i	B	-	11
<i>A. taeniata</i>	---	++-	-+-	-	hl	B	-	44
<i>Amphora ovalis</i>	+--	-+-	-+-	k	i	B	α-β	67
<i>Ceratoneis arcus</i>	+--	+++	++-	a-a	i	B	o-x	67
<i>Cocconeis placentula</i>	++-	+++	-+-	k	i	P-B	o-β	78
<i>C. pediculus</i>	---	-+-	-+-	k	i	B	o-α	33
<i>Cyclotella comta</i>	---	-+	---	k	i	P	β-o	11
<i>C. kutzingiana</i>	---	-+-	-+-	k	-	P-B	β	33
<i>Cymbella ventricosa</i>	+--	--+	-+-	k	i	B	o-β	55
<i>C. prostrata</i>	---	+--	+--	k	i	B	o-α	44
<i>Diatoma hiemale var hiemale</i>	--+	+++	+++	k	hb	P-B	β-o	78
<i>D. hiemale var mesodon</i>	---	-+-	-+-	k	hb	B	o-β	33

<i>D. vulgare</i>	---	--+	-++	k	i	P-B	β	33
<i>D. elongatum</i>	---	-++	-+-	k	hl	P-B	o-β	33
<i>D. tenuis</i>	---	-+-	-+-	b	i	B	β-α	22
<i>D. sp.</i>	++-	---	---	-	-	-	-	11
<i>Epithemia sorex</i>	++-	---	---	k	i	B	o-α	11
<i>Fragilaria capucina</i>	++-	+++	+++	k	i	B	o	89
<i>F. construens</i>	++-	+++	-+-	k	i	P-B	o	55
<i>F. crotonensis</i>	---	-++	-+-	k	hl	P	α-β	33
<i>Gomphonema constrictum</i>	++-	+++	-+-	k	i	B	o	67
<i>G. olivaceum</i>	++-	-++	+++	k	i	B	β-α	67
<i>Melosira varians</i>	++-	+++	-+-	k	hl	P-B	α-β	55
<i>Meridion circulare</i>	---	---	-+-	k	hb	B	o-β	11
<i>Navicula cryptocephala</i>	-+-	+++	-++	k	i	B	x-o	67
<i>N. radiosa</i>	-+-	+++	++-	k	i	B	o	67
<i>N. sp.</i>	++-	---	---	-	-	-	-	11
<i>N. rhyncocephala</i>	-+-	---	---	k	hl	B	β	11
<i>N. pupula</i>	++-	-+-	-+-	k	hl	B	x-o	33
<i>N. distans</i>	---	---	-+-	-	-	-	-	11
<i>Neidium iridis</i>	---	---	-+-	k	hb	B	o-x	11
<i>Nitzschia amphibia</i>	-+-	-+-	---	k	i	P-B	o	22
<i>N. kutzingiana</i>	---	---	-+-	k	hl	B	β	11
<i>N. palea</i>	---	-+-	---	k	i	P-B	o-x	11
<i>N. subtilis</i>	-+-	---	---	k	i	B	o	11
<i>Pinnularia borealis</i>	---	-+-	---	k	i	B	o-β	11
<i>P. viridis</i>	++-	+++	+++	k	i	P-B	o-x	78
<i>P. leptosoma</i>	-+-	-+-	-++	b	i	B	o	44
<i>P. sp.</i>	-+-	---	---	-	-	-	-	11
<i>Rhoicosphenia curvata</i>	---	+++	+++	k	i	P-B	x-o	67
<i>Surirella angustata</i>	---	-+-	-+-	k	i	B	β	22
<i>S. astraea</i>	-+-	+++	+++	k	i	P	β	89
<i>S. biseriata</i>	---	---	-+-	k	i		o-β	11
<i>S. ovata</i>	---	---	-+-	k	i	B	o-α	11
<i>S. robusta</i>	-+-	---	++-	k	hb	P-B	β-o	33
<i>S. sp.</i>	-+-	---	---	-	-	-	-	11
<i>Stauroneis anceps</i>	---	-+-	---	k	i	P-B	x	11
Chlorophyta								
<i>Actinastrum hantzchii</i>	---	-+-	-+-	k	i	P-B	β	22
<i>Ankistrodesmus acicularis</i>	-+-	-+-	-+-	k	i	P	β	33
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	---	---	-+-	k	hb	P-B	β	11
<i>Coelastrum microporum</i>	---	---	-+-	k	i	P-B	β	11
<i>Closterium sp.</i>	---	---	-+-	-	-	-	-	11
<i>Kirchneriella lunaris</i>	---	---	-+-	k	i	P-B	β	11
<i>Lagerheimia genevensis</i>	---	-+-	-+-	k	i	P	β	22
<i>Micractinium pusillum</i>	---	---	-+-	k	-	P-B	β-α	11
<i>Oocystis solitaria</i>	---	---	-+-	k	i	P	β-o	11
<i>Scenedesmus obtusus</i>	---	---	-+-	Ha	-	P-B	β	11
<i>S. quadriquadra</i>	---	-+-	---	k	i	P	β	11
<i>Selenastrum gracile</i>	---	-+-	---	k	-	P-B	o-α	11
<i>Sphaerocystis Schroeteri</i>	---	++-	++-	k	i	P	β-o	22
<i>Staurostrum boreale</i>	---	---	-+-	-	-	-	-	11
<i>Tetraedron incus</i>	---	-+-	---	k	i	P-B	β	11
<i>Tetraedron minimum</i>	---	-+-	-+-	k	i	P-B	β	22
<i>Trebouxia humicola</i>	---	---	++-	-	-	-	-	11
Euglenophyta								
<i>Trachelamonas hispida</i>	---	-+-	-+-	k	i	P-B	β	22
<i>T. oblonga</i>	---	-++	-++	k	i	P	β-α	44
<i>T. volvocina</i>	-+-	+++	+++	k	i	B	β	78

G – աշխարհագրական հարմարվողականություն, Sal – հալոբայություն (աղախության հանդեպ հարմարվողականություն), E – բնակավայրի հարմարվողականություն, S – սապրոբայության գործակից, F – հանդիպման հաճախականություն: +++ հայտնաբերվել է զարուն, ամառ, աշուն սեզոններին, -- չի հայտնաբերվել: k – կոսմոպոլիտ, Ha-հալոարկտիկական, b – բորեալ, a-a – արկտոալպիական, P – պլանկտոնային, B- բենթոսային, i – ինդեֆերենտ, hl – հալոֆիլ, hb – հալոֆոբ:

Որակական և քանակական արժեքներով գերակայել են դիատոմային ջրիմուռները: Ըստ տեսակային կազմի՝ ենթադոմինանտ են եղել կանաչ ջրիմուռները, ըստ թվաքանակի՝ կապտականաչ, ըստ կենսազանգվածի՝ Էվգլենային ջրիմուռները (Նկ. 1): Ընդհանուր առմամբ Մարմարիկ գետի ուսումնասիրված դիտակետերում գրանցվել է ջրիմուռների 73 տեսակ:



Նկ. 1. Մարմարիկ գետում ջրիմուռների տեսակային կազմի, թվաքանակի և կենսազանգվածի տոկոսային հարաբերությունը (2017) թ.

Մարմարիկ գետում դիատոմային ջրիմուռների թվաքանակի և կենսազանգվածի մեծ արժեքները պայմանավորված են եղել շղթայական *Fragilaria capucina*, խոշոր միաբջջի՝ *Amphora ovalis*, *Cocconeis placentula*, *Pinnularia viridis*, *Ceratoneis arcus*, *Rhoicosphenia curvata*, գաղութային՝ *Diatoma hiemale*, և մանրաբջջի, ցենտրիկ՝ *Stephanodiscus astraea*, տեսակներով: Դիատոմային ջրիմուռներից առավել մեծ տեսակային կազմով հանդիպել են *Navicula bory* (6 տեսակ), *Diatoma D.C.* (6 տեսակ), *Surirella Turp.* (6 տեսակ) ցեղերը:

Կապտականաչ ջրիմուռների դոմինանտ կազմը հիմնականում ներկայացված է եղել *Aphanothece clathrata*, *Microcystis aeruginosa*, *M. wessenbergii* տեսակներով: Աշնանը մեծ արժեքներով գրանցվել են *Oscillatoria limnetica* և *Phormidium foveolarum* տեսակները:

Կանաչ ջրիմուռների դոմինանտ կազմը ներկայացվել է *Ankistrodesmus acicularis*, *Lagerheimia genevensis* տեսակներով, վերջինս Հայաստանի ջրային էկոհամակարգերին բնորոշ տեսակ չէ և Մարմարիկ գետում հանդիպում է առաջին անգամ [1, 9, 10, 15]:

Քանակական և տարածական ընդլայնում են ստացել նաև Էվգլենային ջրիմուռները, որոնք արձանագրվել են 3 տեսակով (*Trachelomonas volvocina*, *T. oblonga*, *T. hispida*): Հատկապես *Trachelomonas volvocina*-ն մեծ քանակական արժեքներով արձանագրվել է հետազոտված բոլոր դիտակետերում:

Գետում հանդիպման բարձր հաճախականություն (50-100 %) արձանագրվել է 19 տեսակի համար (աղ. 2) [11]: Այդ տեսակներից են՝ *Microcystis aeruginosa*, *Cocconeis placentula*, *Diatoma hiemale* var *hiemale*, *Fragilaria capucina*, *Trachelomonas volvocina* և այլն: *Aphanothece clathrata* տեսակի համար գրանցվել է 100 % հանդիպման հաճախականություն, այսինքն հանդիպել է բոլոր դիտակետերում, բոլոր սեզոններին (աղ. 1) [12]:

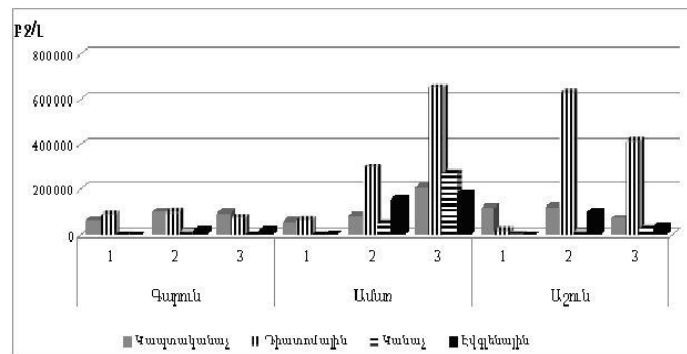
Ըստ կենսածնի՝ ջրիմուռները ավազանի գետերում գերակայել են բենթիկ ջրիմուռները [5], որոնք գետում կազմել են ընդհանուր համակցության 37 %-ը: Պլանկտոնային-բենթիկ տեսակները կազմել են գետի կենսացենոզի՝ 33 %-ը (աղ. 2):

Ըստ աղայության հանդեպ ունեցած հարմարվողականության՝ Մարմարիկ գետում գերակայել են ինդեֆերենտ տեսակները (թաղանթաձև ջրերին բնորոշ տեսակներ)՝ 43 տեսակ [6]: Դրանցից են հանդիպման բարձր հաճախականություն արձանագրած այնպիսի տեսակներ, ինչպիսիք են *Aphanothece clathrata*-ն, *Cocconeis placentula*-ն և *Fragilaria capucina*-ն: Հալոֆիտները (թաղանթաձև ջրերին բնորոշ տեսակներ, որոնք խուսափում են աղերի նույնիսկ փոքր քանակներից) [6] հանդիպել են փոքր տեսակային կազմով՝ 6 տեսակ: Հալոֆիտ տեսակ է դիատոմային ջրիմուռ *Diatoma hiemale* var *hiemale*-ն, որի համար գետում գրանցվել է հանդիպման բարձր հաճախականություն:

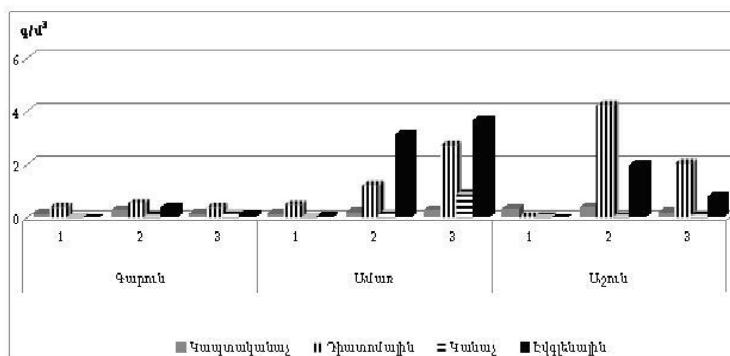
Հալոֆիլները (տարածված են հիմնականում թաղանթաձև ջրամբարներում, հարմարվում են նաև ցածր աղայնություն ունեցող պայմաններին) [5] գետում կազմել են համակցության 11 %-ը: Հալոֆիլ տեսակներ են հանդիպման բարձր հաճախականություն արձանագրած կապտականաչ *Microcystis aeruginosa*-ն և դիատոմային ջրիմուռ *Melosira varians*-ը (աղ. 2):

Ըստ աշխարհագրական գոտու հանդեպ ունեցած հարմարվողականության Մարմարիկ գետում ընդհանուր համակեցության 81 %-ը կազմել են կոսմոպոլիտ (k) տեսակները, ինչը բնորոշ է մեղմ գոտիականության ջրամբարներին: Հանդիպել են նաև հյուսիսային (b), հոլարկտիկական (Ha), արկտոալպիական (a-a) տեսակներ (աղ. 2) [6]:

Գետում արձանագրված տեսակներից օրգանական աղտոտվածության կենսա-ինդիկատոր տեսակներ են 62-ը (համակեցության 85 %-ը) (աղ. 2) [6]: Գերակայել են β մեզոսապրոբ տեսակները, որոնք կազմել են ընդհանուր համակեցության 31 %-ը (աղ. 2): Մարմարիկ գետում ջրիմուռների քանակական արժեքները տատանվել են 130 000-1 322 500 բջ/լ ըստ թվաքանակի և 0.4-7.6 գ/մ³ ըստ կենսազանգվածի (նկ. 2, 3):



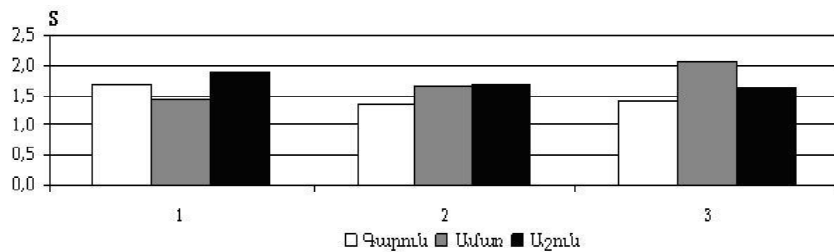
Նկ. 2. Մարմարիկ գետի ֆիտոպլանկտոնային ջրիմուռների թվաքանակի դինամիկան
1 – վերին հոսանք, 2 – միջին հոսանք, 3 – ստորին հոսանք:



Նկ. 3. Մարմարիկ գետի ֆիտոպլանկտոնային ջրիմուռների կենսազանգվածի դինամիկան
1- վերին հոսանք, 2- միջին հոսանք, 3- ստորին հոսանք

Մարմարիկ գետի վերին հոսանքում գրանցվել է ջրիմուռների 30 տեսակ: Գարնանը և ամռանը քանակական առավելություն են ունեցել դիատոմային ջրիմուռները՝ համապատասխանաբար՝ 90 000 և 67 500 բջ/լ ըստ թվաքանակի և 0.39 ու 0.46 գ/մ³ ըստ կենսազանգվածի արժեքներով (նկ. 2,3): Այս խմբում առավել բարձր թվաքանակ և կենսազանգված ապահովել են *Ceratoneis arcus* և *Cocconeis placentula* տեսակները:

Աշնանը գրանցվել է խմբային սուկցեսիա, գերակայել են կապտականաչ ջրիմուռները՝ 120 000 բջ/լ և 0.36 գ/մ³, ինչը պայմանավորված է եղել *Microcystis aeruginosa* տեսակի քանակական գերազանցմամբ՝ 90 000 բջ/լ և 0.27 գ/մ³: Սապրորոբայության գործակցի արժեքները տատանվել են 1.4-1.9 տիրույթում (նկ. 4), ինչը համապատասխանում է օրգանական աղտոտվածության α -օլիգոսապրոբ- β -մեզոսապրոբ մակարդակներին:



Նկ. 4. Մարմարիկ գետում սապրոբայության գործակցի (S) արժեքները
1 – վերին հոսանք, 2 – միջին հոսանք, 3 – ստորին հոսանք

Գետի հոսանքն ի վար ավելացել է ֆիտոպլանկտոնի տեսակային բազմազանությունը և քանակական արժեքները (Նկ. 2, 3):

Մարմարիկ գետի միջին հոսանքում գրանցվել է ջրիմուռների 47 տեսակ: Ջրիմուռների առավելագույն քանակական արժեքներ գրանցվել են աշնանը՝ 870 000 բջ/լ և 6.7 գ/մ³, երբ բարձր քանակական զարգացման են հասել դիատոմային ջրիմուռներ *Pinnularia viridis* (130 000 բջ/լ, 1.3 գ/մ³), *Diatoma hiemale* (85 000 բջ/լ, 0.17 գ/մ³) տեսակները և Էվգլենային ջրիմուռ *Trachelomonas volvocina* տեսակը (95 000 բջ/լ, 1.9 գ/մ³), վերջինս տվյալ ամսին ապահովել է ջրիմուռների մեծ կենսազանգվածը ալգոֆլորայում: Աշնանը քանակական բարձր ցուցանիշներ են գրանցվել նաև կապտականաչ ջրիմուռների խմբում (Նկ. 2,3), որտեղ մեծ մասնաբաժին են ունեցել *Aphanothece clathrata* և *Oscillatoria limnetica* տեսակները: Սապրոբայության գործակցի արժեքները տատանվել են 1.4-1.7 սահմաններում (Նկ. 4)՝ համապատասխանելով օրգանական աղտոտվածության α-օլիգոսապրոբ – β-մեզոսապրոբ մակարդակներին:

Մարմարիկ գետի ստորին հոսանքի պլանկտոնային ֆիտոցենոզում արձանագրվել է ջրիմուռների 58 տեսակ: Գարնանը գրանցվել են ֆիտոպլանկտոնի որակական և քանակական ցուցանիշների նվազագույն արժեքներ: Ֆիտոպլանկտոնի թվաքանակը կազմել է 137 500 բջ/լ, իսկ կենսազանգվածը՝ 0.76 գ/մ³: Արձանագրվել են *Aphanothece clathrata*, *Microcystis aeruginosa*, *Pinnularia viridis*, *Stephanodiscus astraea*, *Sphaerocystis schroeteria*, *Trachelomonas volvocina* տեսակները:

Ամռանը ֆիտոպլանկտոնի քանակական ցուցանիշները ավելացել են մոտ տասնապատ՝ 1 322 500 բջ/լ և 7.3 գ/մ³: Ըստ թվաքանակի գերակայել են դիատոմային (49 %), ըստ կենսազանգվածի՝ Էվգլենային ջրիմուռները (48 %): Դիատոմային ջրիմուռների խմբում առավել բարձր թվաքանակ են ապահովել *Fragilaria capucina*, *Amphora ovalis*, *Stephanodiscus astraea*, *Rhoicosphenia curvata*, *Diatoma hiemale* տեսակները, միևնույն ժամանակ ջրիմուռների խմբում բարձր կենսազանգվածը պայմանավորված է եղել *Trachelomonas volvocina*, *T. hispida* խոշոր միաբջջի տեսակների զարգացմամբ: Քանակական բարձր ցուցանիշներ են գրանցվել նաև կապտականաչ և կանաչ ջրիմուռների խմբերում: Համակենցությունում մեծ մասնաբաժին են ունեցել կապտականաչ *Phormidium foveolarum*, կանաչ՝ *Lagerheimia genevensis*, *Micractinium pusillum*, *Ankistrodesmus falcatus* տեսակները:

Նկատելիորեն բարձրացել է սապրոբայության գործակցի արժեքը (Նկ. 4): Եթե գարնանը գետի ստորին հոսանքում օրգանական աղտոտվածության մակարդակը համապատասխանել է α-օլիգոսապրոբ մակարդակին, ապա ամռանը օրգանական աղտոտվածության մակարդակը դարձել է β-մեզոսապրոբ:

Աշնանը ջրիմուռների քանակական արժեքները նվազել են՝ 560 000 բջ/լ ըստ թվաքանակի և 2.97 գ/մ³ ըստ կենսազանգվածի: Գերակայել են դիատոմային ջրիմուռները (Նկ. 2,3): Գերակա կոմպլեքս կազմող տեսակների փոփոխություն չի արձանագրվել:

Սապրոբայության գործակցի արժեքը նվազել է և համապատասխանել է օրգանական աղտոտվածության β-մեզոսապրոբ մակարդակին:

Այսպիսով 2017թ. կատարված ուսումնասիրությունների ընթացքում Մարմարիկ գետում գրանցվել են ջրիմուռների բարձր քանակական և որակական ցուցանիշներ: Որպես գերակա խումբ հանդես են եկել դիատոմային ջրիմուռները:

Էկոլոգո-աշխարհագրական հարմարվողականության տեսանկյունից գետում առավելություն են ունեցել կոսմոպոլիտ, ինդեֆերենտ տեսակները: Ըստ կենսաձևի, գերակայել

են բեղթիկ ջրիմուռները: Արձանագրված օրգանական աղտոտվածության կենսա-
ինդիկատոր տեսակների կազմում գերակշռել են β մեզոսապրոքները: Բարձր հանդիպման
հաճախականություն է գրանցվել հայտնաբերված տեսակների 26 %-ի համար:

Գետի հոսանքն ի վար ավելացել են ջրիմուռների քանակական արժեքները և տե-
սակային բազմազանությունը: Քանակական և տարածական ընդլայնում է արձանագրվել
Եվգենային ջրիմուռների համար: Հետազոտության ընթացքում հայտնաբերվել է
Lagerheimia genevensis տեսակը, որը բնորոշ է Հայաստանի ջրային էկոհամակարգերին և
Նախկին Ուսումնասիրություններում չի գրանցվել [1, 9, 10, 15]:

Սապրոբայության գործակցի արժեքները տատանվել են 1.4-2.1 սահմաններում,
իսկը համապատասխանում է օրգանական աղտոտվածության α - α խոսապրոքից
(մաքուր)- β - մեզոսապրոք (թույլ աղտոտված) մակարդակներին:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Բաղայան Կ.Լ.* Հրազդան ջրային էկոհամակարգի ֆիտոպլանկտոնային համակեցության
ուսումնասիրությունները, Սեղմագիր, Երևան, 23 էջ, 2006:
2. ՀՀ ԳԱԱ Կենդանաբանության և հիդրոէկոլոգիայի կենտրոնի Հիդրոէկոլոգիայի և ձկնա-
բանության ինստիտուտի տարեկան հաշվետվություն, 2017:
3. *Շահինյան Հ.Վ., Չաքարյան Շ.Ս., Գրուկազարյան Շ.Ա.* Մարմարիկ գետի ավազանի երկ-
րաքիմիական բնութագիրն ըստ հիդրոերկրաքիմիական եվ լիթոերկրաքիմիական աղեղ-
ների ՀՀ ԳԱԱ Տեղեկագիր, Գիտություններ Երկրի մասին, 67, 2-3, էջ 21-33, 2014:
4. *Абакумов В.А.* Руководство по методам гидробиологического анализа поверхност-
ных вод и донных отложений, Л., Гидрометиздат, с. 78-86, 1983.
5. *Баженова О.П.* Видовой состав и эколого-географическая характеристика водорослей среднего Иртыша. Электронный научный журнал “Вестник Омского государственного педагогического университета”, www.omsk.edu, 2006.
6. *Барина С.С., Медведева Л.А., Анисимова О.В.* Биоразнообразие водорослей-индикаторов окружающей среды. Тель Авив: Pilies Studio, 498 с., 2006.
7. *Гамбарян Л., Шагазизян И.* Определитель родов водорослей пресноводных водое-
мов, Ереван, 60 с., 2014.
8. *Процкина-Лавренко А.И., Макарова И.В.* Водоросли планктона Каспийского моря, Л., Наука, 205 с., 1986.
9. *Степанян Л.Г., Гамбарян Л.Р.* Таксономический состав фитопланктона реки Раз-
дан (Армения), Мат.-лы международной научно-практической дистанционной
конференции, (24-25 апреля Днепропетровск), Украина, с.21-23, 2014.
10. *Степанян Л.Г., Гамбарян Л.Р.* Оценка сходства основных показателей фитопланк-
тонного сообщества разнотипных водных экосистем, Биолог. журн. Армении, 68,
4, с. 6-12, 2016.
11. *Царенко П.М.* Краткий определитель хлорококковых водорослей Украинской ССР,
Киев, Наукова Думка, 199 с., 1990.
12. *Юрцев Б.А.* Флора Сунтар-Хаята. Л., 235 с., 1968.
13. Complex Assessment of Climate Change Impacts on Water Resources of Marmarik
River Basin of Armenia, Yerevan, 2009.
http://www.nature-ic.am/res/seminars/SR_marmarik/summary-eng.pdf.
14. *Hassett J.M., Jennett J.C.* Smith Relationship of Algae to Water Pollution and Waste
Water Treatment. Appl. Environ. Microbiol., 41, p. 97-106, 1981.
15. *Khachikyan T.G., Stepanyan L.G.* Species diversity of phytoplankton community in the
main rivers of Lake Sevan catchment basin, 2nd International Young scientists' confe-
rence on biodiversity and wildlife conservation ecological issues, Astract book,
Tsaghkadzor, Armenia, p.106-108, 2018.
16. *Pantle F., Buck H.* Die biologische Überwachung der Gewasser und die Darstellung
der Ergebnisse, Gas- und Wasserfach., 18, 96, 604 p., 1955.
17. *Streble H., Krauter D.* Das Leben im Wassertropfen, Stuttgart, Kosmos, 415 p. 2001.

Ստացվել է 18.04.2019



Биолог. журн. Армении, 3 (71), 2019

ՖԻՏՈՌԵՄԵԴԻԱՑԻԱՆ ՈՐՊԵՍ ԾԱՆՐ ՄԵՏԱՂՆԵՐՈՎ ՀՈՂԵՐԻ ԱՐՏՈՏՎԱԾՈՒԹՅԱՆ ՆՎԱԶԵՑՄԱՆ ԿԵՆՍԱՏԵՆՈՒՈՒԳԻԱ

Ռ.Է. ԽԱԶԱՏՐՅԱՆ¹, Կ.Ա. ՂԱԶԱՐՅԱՆ², Ջ.Ս. ՄՈՎՍԵՅԱՆ²

¹ Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարան, hkhachatryan84@gmail.com

² Երևանի պետական համալսարան, kghazaryan@ysu.am, hasmikmov@ysu.am

Հոդվածում ամփոփված են ծանր մետաղներով աղտոտված հողերի ֆիտորեմեդիացման վերաբերյալ առկա միջազգային փորձն ու բազմաթիվ հետազոտությունների արդյունքները: Նկարագրված են ֆիտորեմեդիացիայի տարբեր մեթոդների առանձնահատկություններն ու դրանց կիրառման հնարավորությունները: Նշվում է նաև ֆիտորեմեդիացիայի գործընթացի հեռանկարի ու ապագա միտումների մասին:

Ծանր մետաղներ – ֆիտորեմեդիացում – ֆիտոէքստրակցում – գերկուտակող բուսատեսակներ

В статье обобщены международный опыт фиторемедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами, а также результаты многочисленных исследований. Описаны особенности различных методов фиторемедиации и возможности их применения. Обсуждаются перспективы процесса фиторемедиации и связанные с ним тенденции.

Тяжелые металлы – фиторемедиация – фитоэкстракция – гипераккумулирующие растения

The international experience concerning heavy metal polluted soils phytoremediation and the results of numerous studies are summarized. The peculiarities of the different methods of phytoremediation and the possibilities of their application are described. The perspectives of the process of phytoremediation and connected future trends are also mentioned.

Heavy metals – phytoremediation – phytoextraction – hyperaccumulating plant species

Ֆիտորեմեդիացիան կենսատեխնոլոգիական մի գործընթաց է, որի ժամանակ օգտագործելով բույսերի գենետիկ ներուժը, հնարավոր է լինում շրջակա միջավայրի բաղադրամասերում նվազեցնել աղտոտիչ նյութերի պարունակությունը կամ տոթսիկ ազդեցությունը: Այն կարելի է կիրառել ծանր մետաղների ու ռադիոնուկլիդների, ինչպես նաև օրգանական աղտոտիչների (օրինակ՝ պոլիցիկլիկ արոմատիկ ածխաջրածիններ, պոլիլորացված բիֆենիլներ, թունաքիմիկատներ և այլն) հեռացման նպատակով [7, 18]:

Ֆիտորեմեդիացիա տերմինը կազմված է երկու բառից՝ «ֆիտո», որը հունարեն նշանակում է բույս, իսկ «ռեմեդիացիա»՝ լատիներենից թարգմանաբար արտահայտում է ուղղելու կամ վտանգը չեզոքացնելու հիմաստ: Բազմաթիվ բուսատեսակներ օժտված են շրջակա միջավայրի բաղադրամասերից տարբեր աղտոտիչներ կլանելու հատկությամբ ու թունագերծելու մեխանիզմներով: Ֆիտորեմեդիացիայի կենսատեխնոլոգիական գործընթացը շրջակա բնական միջավայրի էկոլոգիական վիճակի բարելավման գործում հանդիսանում է համեմատաբար նոր ուղղություն, որը կիրառվում է վերջին երեք տասնամյակների ընթացքում:

Ֆիտոռեմենիացիա (ինչպես նաև ֆիտոռեստրակցիա) հասկացությունը 1983 թ. առաջարկվել է Չեյնի կողմից, որը գիտական հանրության կողմից ընդունվել ու լայն ճանաչում է ստացել [6]: Ֆիտոռեմենիացիայի իրականացումը համեմատած մյուս միջոցառումների հետ ավելի դյուրին է և քիչ ծախսատար: Այն հարմար է կիրառել մեծ տարածքների բարելավման համար, որտեղ գոյություն ունեցող մյուս մեթոդները գործնականորեն բարդ են և տնտեսապես ոչ ձեռնասուր: Երբեմն ֆիտոռեմենիացիայի իրականացման ծախսատարությունը կարող է գոյություն ունեցող մյուս մեթոդների կիրառման ֆինանսական արժեքի 5 %-ից պակաս լինել: Աղտոտված հողատարածքների կանաչապատումը կանխում է էրոզիոն գործընթացներն ու մետաղների տարալվացման վտանգը: Այսպիսով, Էկոլոգիական տեսակետից անվտանգ, տնտեսապես արդյունավետ և գործնականում հեշտ իրականացվող այս միջոցառումը շրջակա բնական միջավայրի Էկոլոգիական վիճակի բարելավման գործում ունի մեծ հեռանկար: Բացի դրանից, արագ աճող և մեծ վերգետնյա կենսազանգված առաջացնող բուսատեսակները, ինչպիսիք են ուռենին, բարդին և յատրոֆան, կարելի է օգտագործել ֆիտոռեմենիացիայի և Էներգիայի արտադրության համար [1]:

Աղյուսակ 1. Ֆիտոռեմենիացիայի տարբեր մեթոդների համառոտ նկարագրությունը

Մեթոդ	Նկարագրություն
1) ֆիտոռեստրակցիա	Աղտոտիչ նյութերի կուտակում բույսերի կանաչ կենսազանգվածում և ճյուղերում
2) ֆիտոֆիլտրացիա	Աղտոտված ջրից աղտոտիչների հեռացում բույսերի միջոցով:
3) ֆիտոստաբիլիզացիա	Բույսերի արմատային համակարգի կողմից հողում աղտոտիչ նյութերի շարժունակության ու մատչելիության սահմանափակում
4) ֆիտոլվատիլիզացիա	Աղտոտիչ նյութերի փոխակերպում անկայուն (ցնդող) ձևերի ու դրանց հետագա արձակում մթնոլորտ:
5) ֆիտոդեգրադացիա	Բույսերի հյուսվածքներում ֆերմենտների ազդեցությամբ օրգանական բյուրեղիկների կենսաքայքայում:
6) ռիզոդեգրադացիա	Հողի արմատաբնակ մանրէների ազդեցությամբ օրգանական բյուրեղիկների քայքայում:
7) ֆիտոդետալիզացիա	Աղակալած հողից ավելորդ աղերի հեռացում աղասեր (աղադիմացկուն) բույսերի միջոցով

Ֆիտոռեստրակցիան (հայտնի է նաև ֆիտոակումուլյացիա և ֆիտոաքսորեցիա անվանումներով) հիմնված է տրանսլոկացիոն գործընթացի վրա, որի ժամանակ հողից կամ ջրից բույսի արմատների կողմից կլանվում են աղտոտիչ նյութեր և կուտակվում վերգետնյա կենսազանգվածում: Ֆիտոռեստրակցիայի տեսանկյունից աղտոտիչների տրանսլոկացիան դեպի բույսի վերգետնյա մաս կարևոր կենսաքիմիական գործընթաց է, բանի որ ստորգետնյա (արմատային) կենսազանգվածի բերքահավաք, որպես կանոն հնարավոր չէ [24]:

Ֆիտոֆիլտրացիան բույսերի միջոցով աղտոտված մակերեսային ու թափոնային հոսքաջրերից աղտոտիչ նյութերի հեռացումն է: Այս դեպքում աղտոտիչները քսորեցվում կամ աղտորեցվում են բույսի արմատների, վերգետնյա կանաչ զանգվածի ու ցողունի կողմից: Արդյունքում աղտոտիչների պարունակությունը նվազում է, իսկ գրունտային ջրերում դրանց շարժումը հասնում նվազագույնի:

Ֆիտոստաբիլիզացիան (ֆիտոհիմոբիլիզացիա) որոշակի բուսատեսակների միջոցով աղտոտված հողում աղտոտիչների կայունացնելն է: Այս մեթոդի կիրառման դեպքում նվազում է շրջակա միջավայրում աղտոտիչների շարժունակությունն ու մատչելիությունը, հետևաբար կանխվում է դրանց միգրացիան դեպի գրունտային ջրեր ու ներթափանցումը սննդային շղթա: Բույսերը կարող են հողի արմատաբնակ շերտում ծանր մետաղների բացասական ազդեցությունը չեզոքացնել արմատների կողմից սորբցիայի, նստվածքների ու համալիր միացությունների առաջացման կամ մետաղների վալենտականության նվազեցման միջոցով: Ծանր մետաղները տարբեր վալենտականության դեպքում ցուցաբերում են տարբեր տոքսիկություն: Բույսերը տարբեր օքսիդավերականգնող ֆերմենտների ազդեցության ներքո ընդունակ են ծանր մետաղների տոքսիկ ազդեցությունը համեմատաբար նվազեցնել: Օրինակ՝ պարզված է, որ եռավալենտ քրոմը /Cr (III)/ ցուցաբերում է ավելի քիչ շարժունակություն ու տոքսիկություն, քան վեցավալենտ քրոմը /Cr (VI)/ [29]:

Ֆիտոտատաբիլիզացիայի գործընթացում ծանր մետաղները կուտակվում են կենսոլյոսում, որի արդյունքում դրանց լվացումն ու գրունտային ջրերի մեջ ներթափանցումը հասնում է նվազագույնի: Ուշագրավ է այն, որ սա խնդրի վերջնական լուծում չի հանդիսանում, քանի որ ծանր մետաղները այնուամենայնիվ մնում են հողում: Այս մեթոդի կիրառման դեպքում սահմանափակվում է ծանր մետաղների շարժունակությունն ու միգրացիոն ընդունակությունը՝ հնարավորինս կառավարելի դարձնելով այդ վտանգավոր աղտոտիչների բացասական ազդեցությունները:

Ֆիտոլուատիլիզացիայի գործընթացում աղտոտիչ նյութերը բույսերի միջոցով կլանվելով հողից, փոխակերպվում են անկայուն (ցնդող) ձևերի, ապա արտազատվում մթնոլորտ: Այս մեթոդը կարող է օգտագործվել օրգանական աղտոտիչների և որոշ ծանր մետաղների, մասնավորապես սնդիկի (Hg) և սելենի (Se) հեռացման նպատակով: Պետք է նշել, որ ֆիտոռեմեդիացիայի այս մեթոդի կիրառումը վիճահարույց է, քանի որ աղտոտիչ նյութերը շրջակա միջավայրի մի բաղադրամասից (հող) տեղափոխվում են մեկ այլ բաղադրամաս (մթնոլորտ): Ելնելով այս հանգամանքից՝ ֆիտոլուատիլիզացիան գործնականում լայն կիրառություն չունի:

Ֆիտոդեգրադացիան օրգանական աղտոտիչների կենսաբալթայման գործընթաց է, որը տեղի է ունենում բուսական օրգանիզմում պարունակվող ֆերմենտների միջոցով, ինչպիսիք են դեհայդգենազան ու օքսիդենազան [27]: Որոշ բուսատեսակներ աղտոտված միջավայրից ընդունակ են կլանելու օրգանական քսենոբիոտիկներ, այնուհետև դրանց բացասական ազդեցությունները չեզոքացնել: Այս տեսանկյունից մի շարք բուսատեսակներ կենսոլորտում ակտիվ մասնակցություն ունեն ինքնամաքման գործընթացներին:

Ուշագրավ է, որ ֆիտոդեգրադացիայի գործընթացը սահմանափակվում է միայն օրգանական աղտոտիչների ազդեցության չեզոքացմամբ, քանի որ ծանր մետաղները կենսաբալթայման չեն ենթարկվում:

Ջետազոտություններով հաստատված է, որ ֆիտոռեմեդիացիայի այս մեթոդը նպատակահարմար է կիրառել բազմաթիվ օրգանական աղտոտիչների, այդ թվում սինթետիկ հերբիցիդների ու ինսեկտիցիդների կենսաբալթայման համար: Հայտնի է, որ գենետիկորեն ձևափոխված որոշ բույսեր, օրինակ՝ տրանսգենային բարդիները, օգտագործվում են հիշյալ նպատակի համար [9]:

Ռիզոդեգրադացիան հողի արմատաբնակ շերտում մանրէների ազդեցությամբ օրգանական աղտոտիչների քայքայումն է: Հողում ռիզոսֆերան տարածվում է արմատների շուրջը մինչև 1 մ և գտնվում է բույսերի անմիջական ազդեցության ներքո [38]: Ռիզոդեգրադացիայի գործընթացում ռիզոսֆերայում տեղի է ունենում աղտոտիչ նյութերի ինտենսիվ քայքայում, որը պայմանավորված է մանրէների մեծ քանակությամբ ու միկրոկենսաբանական բարձր ակտիվությամբ: Ռիզոսֆերայում բույսերի արմատները արտազատելով ածխաջրեր, ամինաթթուներ ու ֆլավոնոիդներ խթանում են միկրոկենսաբանական ակտիվությունը 10-100 անգամ: Հողային միջավայրում արմատների կողմից արտազատված նյութերը ապահովում են մանրէների համար հարուստ սննդային միջավայր, հանդիսանալով ածխածնի ու ազոտի աղբյուր: Միաժամանակ բույսերի արմատները արտազատում են որոշակի ֆերմենտներ, որոնք ընդունակ են հողում քայքայել օրգանական աղտոտիչ նյութեր [17]:

Ֆիտոդեսալինիզացիան հալոֆիտ (աղասեր, աղադիմացկուն) բույսերի միջոցով աղակալած հողից ավելորդ աղերի հեռացումն է: Այս դեպքում հողում մնում է աղերի այն պարունակությունը, որը նպաստավոր է մշակաբույսերի աճին ու զարգացմանը: Օրինակ՝ սվեդա (*Suaeda maritima*) և ծովային դանդուռ (*Sesuvium portulacastrum*) հալոֆիտ բուսատեսակները կարող են մեկ հեկտար աղակալած հողատարածքից չորս ամսվա ընթացքում հեռացնել համապատասխանաբար 504 և 474 կգ նատրիումի քլորիդ: Փաստորեն, *S. maritima* և *S. portulacastrum* բուսատեսակները նպատակահարմար է օգտագործել ուժեղ աղակալած հողերում NaCl-ի հեռացման համար և դրանց մի քանի անգամ մշակության ու բերքահավաքից հետո աղազերծված հողատարածքները կարելի է օգտագործել գյուղատնտեսական մշակաբույսերի աճեցման նպատակով [21]:

Աղտոտված հողից, հատակային նստվածքներից կամ ջրից ծանր մետաղների ու մետալոիդների հեռացման նպատակով իրականացվող ֆիտոդեքստրակցիան հանդիսանում է ֆիտոռեմեդիացիայի հիմնական ու ամենարդյունավետ մեթոդը:

Այն միաժամանակ հեռանկարային ու տնտեսապես շահավետ մեթոդ է, որը ամբողջ աշխարհում ունի գիտագործնական մեծ կիրառություն: Ֆիտոէստրակցիայի արդյունավետությունը կախված է մի շարք գործոններից, որոնցից են հողում ծանր մետաղների շարժունակությունը (մատչելիությունը), հողի հատկությունները, ծանր մետաղների ու օգտագործվող բույսերի տեսակները և այլն:

Բուսատեսակները, որոնք պիտանի են ֆիտոէստրակցիայի գործընթացում օգտագործելու համար, պետք է ունենան հետևյալ բնութագրական ցուցանիշները [11, 13, 25].

- ա) արագ աճեցողություն,
- բ) վերգետնյա մեծ կենսազանգված առաջացնելու ընդունակություն,
- գ) արմատային հզոր համակարգ առաջացնելու ընդունակություն,
- դ) հողից ծանր մետաղների թիրախային տեսակների շատ կուտակման ընդունակություն,
- ե) արմատային համակարգից դեպի վերգետնյա կենսազանգված ծանր մետաղների տրանսլոկացիոն ընդունակություն,
- զ) թիրախային ծանր մետաղների տոքսիկ ազդեցության նկատմամբ տոլերանտություն (դիմացկունություն),
- է) առկա էկոլոգիական ու կլիմայական պայմաններին լավ հարմարվողականություն,
- ը) հիվանդությունների հարուցիչների ու վնասատուների նկատմամբ կայունություն,
- թ) մշակության ու բերքահավաքի մատչելիություն,
- ժ) խոտակեր կենդանիների սնվելու համար ոչ պիտանի, ինչը անհրաժեշտ պայման է սննդային շղթա աղտոտիչների ներթափանցումից խուսափելու համար:

Ֆիտոէստրակցիայի նպատակով օգտագործվող բույսերի տեսակների գենետիկական ներուժը գնահատվում է՝ հաշվի առնելով երկու հիմնական գործոն՝ բույսում կուտակված մետաղների քանակությունը և բույսի առաջացրած կանաչ կենսազանգվածի քանակը [10, 12]:

Այս տեսանկյունից բուսատեսակները բաժանվում են երկու խմբի՝

1) գերկուտակողներ, այսինքն կուտակում են մեծ քանակությամբ ծանր մետաղների թիրախային տեսակներ, սակայն առաջացնում են համեմատաբար քիչ վերգետնյա կենսազանգված,

2) բուսատեսակներ (օրինակ՝ հնդկական մանանեխը), որոնք համեմատաբար գերկուտակողների, թիրախային ծանր մետաղներ քիչ են կուտակում, սակայն առաջացնում են մեծ քանակությամբ վերգետնյա կենսազանգված [22]:

Բույսերի կողմից ծանր մետաղների նպատակային գերկուտակումը համեմատելի է վերգետնյա մեծ կենսազանգվածի առաջացման ընդունակության հետ: Սակայն կարծիք, որ ֆիտոռեմեդիացիայի համար ավելի կարևոր է բույսի գերկուտակման ունակությունը, քան մեծ քանակությամբ վերգետնյա կենսազանգված առաջացնելը: Վերջինս մեկնաբանվում է նրանով, որ ծանր մետաղների գերկուտակման ու համեմատաբար քիչ կենսազանգվածի առաջացման դեպքում ծախսատարությունն ու աշխատատարությունը ավելի պակաս է լինում, քան շատ կենսազանգվածի առաջացման ու ծանր մետաղների քիչ կուտակման դեպքում:

Այն բուսատեսակները, (օրինակ՝ երեքնուկը (*Trifolium spp.*)), որոնք ընդունակ են մեկ վեգետացիայի ընթացքում ապահովել կանաչ կենսազանգվածի մի քանի բերք, ծանր մետաղների ֆիտոէստրակցիայի համար ունեն մեծ կիրառական նշանակություն: Այս տեսանկյունից խոտաբույսերը ավելի նախընտրելի են, քան թփերը կամ ծառերը [2]:

Ծանր մետաղների ֆիտոէստրակցիայի նպատակով օգտագործվում են նաև մշակաբույսեր՝ եգիպտացորեն, գարի և այլն: Այս դեպքում մի քանի անգամ մշակության և վերգետնյա կանաչ կենսազանգվածի հնձման ու հեռացման միջոցով հնարավոր է լինում հողում ծանր մետաղների պարունակությունը նվազեցնել թույլատրելի մակարդակի: Սակայն մշակաբույսերի օգտագործումը ունի որոշակի թերություն, որը պայմանավորված է աղտոտիչների սննդային շղթա ներթափանցման վտանգի հետ: Հետևաբար, ֆիտոռեմեդիացիայի նպատակով կիրառվող մշակաբույսերը, որպես կանոն, պիտանի չեն անասնակերի կամ մարդու սննդի մեջ օգտագործելու համար [14]:

Գերկուտակող են համարվում այն բուսատեսակները, որոնք միավոր վերգետնյա կենսազանգվածում կուտակում են ծանր մետաղների այնքան քանակություն, որը զգալիորեն գերազանցում է միավոր հողում դրանց պարունակությանը [19]: Գերկուտակող (հիպերակուումյատոր) տերմինը առաջին անգամ օգտագործել է Բրուկսը [4], ով բնութագրել է բույսը, որը պարունակել է նիկել ավելի քան 1000 մգ/կգ կամ չոր զանգվածի 0,1 %-ը: Բուսատեսակին գերկուտակող բնորոշում տալու համար պետք է հաշվի առնել միայն վերգետնյա կանաչ կենսազանգվածում (ֆոտոսինթետիկ մակերես) ծանր մետաղներ կուտակելու ունակությունը: Բազմաթիվ հետազոտությունների ու միջազգային պրակտիկայի համաձայն գերկուտակող բուսատեսակները որպես կանոն պետք է կուտակեն չոր զանգվածում ավելի քան 100 մգ/կգ Cd, 1000 մգ/կգ և ավելի Ni, Cu ու Pb, կամ ոչ պակաս քան 10000 մգ/կգ Zn և Mn, երբ դրանք աճում են տվյալ մետաղներով հարուստ հողերում [26]: Ընդհանրապես հայտնի է, որ գերկուտակող բույսերը 100 և ավելի անգամ շատ են կուտակում ծանր մետաղներ, համեմատած մշակաբույսերի կամ սովորական բուսատեսակների, առանց կենսազանգվածի կրճատման: Գերկուտակող բուսատեսակների դեպքում վերգետնյա և ստորգետնյա (արմատային համակարգ) կենսազանգվածներում ծանր մետաղների կուտակման հարաբերակցությունը, այսպես կոչված տրանսլոկացիոն գործակիցը՝ (SQ), մեկից բարձր է: Սակայն, միայն SQ-ն չի կարող օգտագործվել գերկուտակման ունակության պարզաբանման համար, այն կարող է հանդիսանալ լրացուցիչ ցուցանիշ [26]:

Գրականության տվյալների համաձայն 400-ից ավելի բուսատեսակներ հայտնի են որպես մետաղ-գերկուտակողներ, որոնցից ավելի քան 300-ը Ni-գերկուտակողներ են: Հայտնի են նաև 16 Zn-գերկուտակող բուսատեսակներ, որոնք ընդունակ են վերգետնյա չոր զանգվածում կուտակել ավելի քան 10000 մգ/կգ քանակություն: Օրինակ, բույսերի *Brassicaceae* ընտանիքը ներառում է մետաղ-գերկուտակող բազմաթիվ տեսակներ [5]:

Մետաղ-գերկուտակող բույսերը կարելի է օգտագործել ինչպես տոքսիկ ու վտանգավոր ծանր մետաղների ֆիտոռեմեդիացիայի, այնպես էլ թանկարժեք մետաղների (Au, Pd, Pt) ֆիտոարդյունահանման նպատակով: Վերջինիս դեպքում ստացված թանկարժեք մետաղները իրենցից զգալի տնտեսական արժեք են ներկայացնում, ինչը կարող է որոշ չափով մեղմել հողի ֆիտոռեմեդիացիայի նպատակով կատարվող ծախսերը [5]:

Որոշ բուսատեսակներ, ունենալով կոնկրետ ծանր մետաղների գերկուտակման ընդունակություն, հայտնի են որպես բնական մետաղ-գերկուտակողներ: Մյուս կողմից, որոշ բուսատեսակների կոնկրետ ծանր մետաղների կուտակման ընդունակությունը կարելի է մեծացնել գենետիկական մոդիֆիկացիայի միջոցով, գենային ինժեներիայի կիրառմամբ: Համաշխարհային պրակտիկայում որոշ ծանր մետաղների ֆիտոռեմեդիացիայի նպատակով գենետիկորեն մոդիֆիկացված (ձևափոխված) բուսատեսակների կիրառումը ցուցաբերել է խոստումնալից արդյունքներ: Հակառակ դրան, Էկոլոգ գիտնականների մի ստվար զանգված գենետիկորեն մոդիֆիկացված (ձևափոխված) օրգանիզմների Էկոլոգիական վտանգի վերաբերյալ հայտնում են իրենց մտահոգությունը:

Ֆիտոքստրակցիայի արդյունավետությունը կարելի է որոշել կենսակուտակման ու տրանսլոկացիոն գործակիցների քանակական հաշվարկի միջոցով: Այս դեպքում կենսակուտակման գործակիցը ցույց է տալիս ընտրված բուսատեսակի արդյունավետությունը, որը շրջակա միջավայրից իր հյուսվածքներում կուտակում է ծանր մետաղներ:

$$\text{Կենսակուտակման գործակից(ԿԿԳ)} = \frac{\text{պարունակությունը բույսի հյուսվածքում}}{\text{պարունակությունը հողում}}, \quad [30]$$

որտեղ *պարունակությունը բույսի հյուսվածքում* թիրախային մետաղի պարունակությունն է բերքահավաքի ենթարկված բույսի վերգետնյա կենսազանգվածում, *պարունակությունը հողում*՝ նույն մետաղի պարունակությունն է ֆիտոռեմեդիացիայի ենթարկված հողում:

Տրանսլոկացիոն գործակիցը ցույց է տալիս ընտրված բուսատեսակի արդյունավետությունը՝ պայմանավորված արմատային համակարգից վերգետնյա կենսազանգվածում մետաղների կուտակմամբ:

$$\text{Տրանսլոկացիոն գործակից (SQ)} = \frac{\text{պարունակությունը վերգետնյա զանգվածում}}{\text{պարունակությունը ստորգետնյա զանգվածում}}, [30]$$

որտեղ *պարունակությունը վերգետնյա զանգվածում* թիրախային մետաղի պարունակությունն է բույսի վերգետնյա կենսազանգվածում, *պարունակությունը ստորգետնյա զանգվածում*՝ նույն մետաղի պարունակությունն է բույսի արմատային կենսազանգվածում:
Կենսակուտակման գործակիցը (ԿԿԳ) կարելի է արտահայտել տոկոսներով հետևյալ բանաձևի օգնությամբ՝

$$\text{ԿԿԳ (\%)} = \frac{\text{պարունակությունը բույսի հյուսվածքում}}{\text{պարունակությունը հողում}} \times 100, [28]$$

որտեղ *պարունակությունը բույսի հյուսվածքում* թիրախային մետաղի պարունակությունն է բույսի վերգետնյա հյուսվածքներում, *պարունակությունը հողում*՝ նույն մետաղի պարունակությունն է հողում:
Համանման ձևով տրանսլոկացիոն գործակիցը կարելի է արտահայտել հետևյալ բանաձևով՝

$$\text{SQ (\%)} = \frac{\text{պարունակությունը վերգետնյա զանգվածում}}{\text{պարունակությունը ստորգետնյա զանգվածում}} \times 100, [28]$$

որտեղ *պարունակությունը վերգետնյա զանգվածում* թիրախային մետաղի պարունակությունն է բույսի վերգետնյա կենսազանգվածում, *պարունակությունը ստորգետնյա զանգվածում*՝ նույն մետաղի պարունակությունն է բույսի արմատային կենսազանգվածում:

SQ-ի 1-ից բարձր արժեքը վկայում է բույսի արմատային կենսազանգվածից դեպի վերգետնյա կենսազանգված ծանր մետաղների զգալի տրանսլոկացիայի մասին [16]: Հայտնի է, որ կենսակուտակման ու տրանսլոկացիոն գործակիցների 1-ից բարձր ցուցանիշներ ապահովող բուսատեսակները կարող են օգտագործվել ֆիտոէքստրակցիայի համար [16]: Գերկուտակող բուսատեսակների ԿԿԳ-ը որպես կանոն մեծ է 1-ից, իսկ երբեմն կարող է հասնել 50-100-ի [8]:

Հայտնի է, որ բույսերը հողային լուծույթից ծանր մետաղները կլանում ու կուտակում են իրենց արմատներում: Այնուհետև արմատներում կուտակված ծանր մետաղների իոնների մի մասը հիմնականում քսիլեմայի անոթներով տեղափոխվում է վերգետնյա մաս, որտեղ դրանք մեծ մասամբ կուտակվում են վակուոլներում [20]: Վակուոլները իրենցից ներկայացնում են բջջային բաղադրամասեր, որոնք աչքի են ընկնում ցածր նյութափոխանակության ակտիվությամբ: Վակուոլներում ծանր մետաղների կոնսերվացիան հանդիսանում է ցիտոպլազմայի մաս կազմող ցիտոզոլից ավելցուկային մետաղների իոնների հեռացման ուղիներից մեկը, որի արդյունքում բջջային նյութափոխանակության գործընթացների հետ դրանց փոխազդեցությունը նվազում է [3]:

Ծանր մետաղների ֆիտոէքստրակցիայի ամբողջ մեխանիզմը ունի հինգ հիմնական ասպեկտներ.

- 1) հողում ծանր մետաղների հալաթափում (մոբիլիզացիա),
- 2) բույսերի արմատների կողմից մետաղների իոնների կլանում,
- 3) արմատներում կուտակված մետաղների տեղափոխություն (տրանսլոկացիա) բույսերի վերգետնյա հյուսվածքներ,
- 4) բույսի հյուսվածքներում մետաղների իոնների պահեստավորում (կոնսերվացիա),
- 5) ծանր մետաղների նկատմամբ բույսերի հանդուրժողականության (տոլերանտություն) հատկություն:

Ծանր մետաղների նկատմամբ բույսերի հանդուրժողականության հատկությունը առանցքային նախապայման է հանդիսանում մետաղների կուտակման, հետևաբար և ֆիտոռեմեդիացիայի համար [7, 25]: Բույսերի բջիջներում ծանր մետաղների իոններն ակտիվորեն տեղափոխվում են վակուոլների մեջ, որտեղ, պեպտիդների հետ կապվելով,

առաջացնում են խելատային համալիր միացություններ [19]: Հոդային լուծույթից ծանր մետաղների տեղափոխությունը դեպի վակուոլներ վերահսկվում ու կարգավորվում է տարբեր մոլեկուլների միջոցով: Որոշ մոլեկուլներ ապահովում են թաղանթների միջով ծանր մետաղների ներթափանցումը, մյուսները մասնակցում են դրանց համալիր միացությունների առաջացմանն ու կոնսերվացմանը: Հոդային լուծույթից ծանր մետաղների իոնների կլանումը պայմանավորված է բույսերի արմատների պլազմատիկ թաղանթում հատուկ սպիտակուցների կամ H^+ կատիոնի հետ կապակցված սպիտակուցների առկայությամբ [15]: Օրինակ՝ ZIP (ZincRT, IronRT-like Protein) ընտանիքին պատկանող սպիտակուցները նպաստում են Zn^{2+} և Fe^{2+} մետաղների իոնների կլանմանը [7]: Nramp-ը (natural resistance-associated macrophage) սպիտակուցների ևս մեկ ընտանիք է, որը կարևոր դեր է խաղում երկվալենտ մետաղների իոնների տեղափոխման գործում [23]:

Ֆիտոռեմեդիացիան հանդիսանում է ծանր մետաղներով աղտոտված հողատարածքների բարելավմանը նպաստող հեռանկարային միջոցառումներից մեկը, որն այնուամենայնիվ ունի որոշ սահմանափակումներ [7, 18, 25].

- հողից ծանր մետաղների հեռացման ու աղտոտվածության չեզոքացման համար երկարատև ժամանակի անհրաժեշտությունը,

- ծանր մետաղներ գերկուտակող բուսատեսակների մեծամասնության աճի դանդաղ տեմպը ու քիչ վերգետնյա կենսազանգված առաջացնելու ունակությունը,

- հողի տարբեր ֆրակցիաների կողմից ուժեղ կապված մետաղների իոնների անջատման դժվարությունը և բույսի կլանման համար տարբեր աղտոտիչ նյութերի անմատչելիությունը,

- միջոցառումը կիրառելի է միայն ծանր մետաղներով հողի թույլ և միջին աղտոտվածության պայմաններում, քանի որ ուժեղ աղտոտվածության դեպքում բույսերը չեն աճում,

- միջոցառման ոչ պատշաճ իրականացման ու հետևողականության չպահպանման դեպքում առկա է սևողային շղթա աղտոտիչների ներթափանցման վտանգ:

Ինչպես արդեն նշվել է ֆիտոռեմեդիացիան հանդիսանում է համեմատաբար նոր հետազոտական ու կիրառական ուղղություն: Ներկայումս հետազոտությունների մեծ մասը սահմանափակվում է լաբորատոր ու ջերմատնային պայմաններում ուսումնասիրություններով և միայն քիչ դեպքերում է, որ ֆիտոռեմեդիացիայի արդյունավետությունը ուսումնասիրվել է դաշտային պայմաններում: Պարզվել է, որ դաշտային ուսումնասիրությունների արդյունքները կարող են որոշակիորեն տարբերվել լաբորատոր ու ջերմատնային պայմաններում ստացված արդյունքներից, քանի որ իրական պայմաններում միաժամանակ առկա են տարբեր գործոններ: Դաշտային պայմաններում ֆիտոռեմեդիացիոն գործընթացի վրա կարող են ազդել գործոններ, որոնք կապված են՝ ջերմաստիճանի փոփոխության, սևողատարբերի, մթնոլորտային տեղումների ու խոնավության, բույսերի վնասատուների ու հիվանդությունների հարուցիչների, հողում աղտոտիչ նյութերի անհավասարաչափ բաշխման, հողատիպի, հողի pH-ի և ստրուկտուրայի հետ: Թիրախային ծանր մետաղների ֆիտոռեմեդիացիայի նպատակով տարբեր բուսատեսակների օգտագործման արդյունավետությունը դաշտային պայմաններում ուսումնասիրելու դեպքում հնարավոր կլինի նաև տվյալ առաջարկվող տեխնոլոգիան տնտեսապես հիմնավորել ու առևտրայնացնել:

Ներկայումս ֆիտոռեմեդիացիայի նպատակով իրականացվող բազմակողմանի ուսումնասիրությունները առնչվում են գիտության տարբեր ճյուղերի հետ, որտեղ անհրաժեշտ են բազային գիտելիքներ՝ հողի քիմիայի, բույսերի կենսաբանության, էկոլոգիայի և հողի միկրոկենսաբանության, ինչպես նաև գենային ինժեներիայի վերաբերյալ:

Բնական գերկուտակող բուսատեսակների հայտնաբերումից հետո դրանց մոտ անհրաժեշտ հատկանիշները կարող են ընտրվել սելեկցիայի ավանդական մեթոդներով կամ հիբրիդիզացիայի նոր մեթոդների կիրառմամբ, ինչպիսին է պրոտոպլաստների միաձուլումը կամ գենների մանիպուլյացիայի միջոցով, որի դեպքում կոչվում են տրանսգեն բույսեր: Ներկայումս հետազոտությունները տարվում են բույսերում ծանր մետաղների կոնկրետ տեսակների գերկուտակման հատկության գենների հայտնաբերման ու կոդավորման ուղղությամբ: Այդպիսի գենների հայտնաբերումը և գենային ինժեներիայում դրանց օգտագործումը հնարավորություն կտա ստանալ բարձր հանդուրժողականության (տոլերանտության) հատկություն ունեցող բույսեր: Այսպիսով, անհրաժեշտ է տարբեր հատկանշական գծերի մեկտեղումը մեկ բույսի մեջ, որը կարող է լավագույն ձևով ծառայել իր նպատակին:

Գենային ինժեներայում օգտագործվող յուրաքանչյուր գենով պայմանավորված հատկանիշներն ու հատկությունները պետք է ուսումնասիրվեն համակողմանիորեն, որպեսզի ներկայում և ապագայում խուսափենք կենսոլորտում անցանկալի փոփոխություններից ու հետևանքներից: Չնայած բազմաթիվ դժվարությունների ու սահմանափակումների ֆիտոռեմեդիացիան հանդես է գալիս որպես «կանաչ տեխնոլոգիա» կիրառման մեծ հնարավորություններով: Հաշվի առնելով աշխարհում գիտության տարբեր ճյուղերի ինտեգրման ընթացիկ միտումները, կարելի է հուսալ, որ ֆիտոռեմեդիացիայի կիրառական ու կոմերցիոն խնդիրները ապագայում կստանան իրենց լուծումները:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Abhilash, P.C., Powell, J.R., Singh, H.B., Singh, B.K. Plant-microbe interactions: novel applications for exploitation in multipurpose remediation technologies. Trends Biotechnol., 30, 416-420, 2012.
2. Ali, H., Naseer, M., Sajad, M.A. Phytoremediation of heavy metals by *Trifolium alexandrinum*. Int. J. Environ. Sci., 2, 1459-1469, 2012.
3. Assuncao, A.G.L., Schat, H., Aarts, M.G.M. *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation in plants. New Phytol., 159, 351-360, 2003.
4. Brooks R.R., Lee J., Reeves R.D., Jaffrre, T. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. J. Geochem. Explor., 7, 49-57, 1977.
5. Brooks R.R., Chambers, M.F., Nicks, L.J., Robinson, B.H. Phytomining. Trends Plant Sci., 3, 359-362, 1998.
6. Chaney R.L. Plant uptake of inorganic waste constituents. In: Parr, J.F.E.A. (Ed.), Land Treatment of Hazardous Wastes. Noyes Data Corp., Park Ridge, NJ, pp. 50-76, 1983.
7. Clemens S. Developing tools for phytoremediation: towards a molecular understanding of plant metal tolerance and accumulation. Int. J. Occup. Med. Environ. Health 14, 235-239. 2001.
8. Cluis C. Junk-greedy greens: phytoremediation as a new option for soil decontamination. BioTeach J., 2, 61-67, 2004.
9. Doty S.L., Shang Q.T., Wilson A.M., Moore A.L., Newman L.A., Strand S.E. Enhanced metabolism of halogenated hydrocarbons in transgenic plants containing mammalian P450 2E1. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97, 6287-6291, 2007.
10. Ghazaryan K.A., Antonyan S.V., Movsesyan H.S. Copper phytoremediation potential of native plant species growing in the mine polluted areas of South Armenia. 2nd International Conference “Smart Bio”, Kaunas, Lithuania, 3-5 May, p.104, 2018.
11. Ghazaryan K.A., Avetisyan R.E., Zhamharyan H.G. Copper bioaccumulation status and phytoremediation potential of some agricultural plant species growing in polluted agricultural lands of Armenia. 2nd International Conference “Smart Bio”, Kaunas, Lithuania, 3-5 May, p.101, 2018.
12. Ghazaryan K.A., Movsesyan H.S., Khachatryan H.E., Antonyan S.V., Avetisyan R.E. Copper phytoremediation potential of wild plant species growing in the mine polluted areas of Armenia. Proceedings of the Global Symposium on Soil Pollution | FAO HQ | Rome, Italy, 2-4 May, p. 699-709, 2018.
13. Ghazaryan K.A., Movsesyan H.S., Khachatryan H.E., Ghazaryan N.P., Minkina T.M., Sushkova S.N., Mandzhieva S.S. and Rajput V.D. Copper phytoextraction and phytostabilization potential of wild plant species growing in the mine polluted areas of Armenia. Geochemistry: Exploration, Environment, Analysis, <https://doi.org/10.1144/geochem2018-035>, 2018.
14. Ghazaryan K.A., Movsesyan H.S., Khachatryan H.E., Minkina T.M., Sushkova S.N. Copper absorption status of agricultural plant species and their phytoremediation potential. Proceedings of YSU (Chemistry and Biology), 51, 2, p. 106-112, 2017.
15. Greipsson S. Phytoremediation. Nat. Educ. Knowl. 2, 7. 2011.
16. Jamil S., Abhilash P.C., Singh N., Sharma P.N., *Jatropha curcas*: a potential crop for phytoremediation of coal fly ash. J. Hazard. Mater., 172, 269-275, 2009.

17. Kuiper, I., Lagendijk, E.L., Bloembergen, G.V., Lugtenberg, B.J.J. Rhizoremediation: a beneficial plant-microbe interaction. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 17, 6-15, 2004.
18. LeDuc, D.L., Terry, N. Phytoremediation of toxic trace elements in soil and water. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 32, 514-520, 2005.
19. Memon A.R., Schroder P. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 16, 162-175, 2009.
20. Prasad M.N.V. Phytoremediation of metal-polluted ecosystems: hype for commercialization. *Russ. J. Plant Physiol.*, 50, 686-700, 2003.
21. Ravindran K.C., Venkatesan K., Balakrishnan V., Chellappan K.P., Balasubramanian, T. Restoration of saline land by halophytes for Indian soils. *Soil Biol. Biochem.*, 39, 2661-2664, 2007.
22. Robinson B.H., Leblanc M., Petit D., Brooks, R.R., Kirkman, J.H., Gregg, P.E.H. The potential of *Thlaspi caerulescens* for phytoremediation of contaminated soils. *Plant Soil* 203, 47-56, 1998.
23. Seth C.S. A review on mechanisms of plant tolerance and role of transgenic plants in environmental clean-up. *Bot. Rev.* 78, 32-62, 2012.
24. Tangahu B.V., Abdullah S.R.S., Basri H., Idris M., Anuar N., Mukhlisin M., A review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation. *Int. J. Chem. Eng.*, 10, 31 pp. 2011.
25. Van der Ent, A., Baker, A.J.M., Reeves, R.D., Pollard, A.J., Schat, H. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: facts and fiction. *Plant Soil.* 362, 319-334, 2013.
26. Vishnoi S.R., Srivastava P.N. Phytoremediation-green for environmental clean. In: The 12th World Lake Conference, pp. 1016-1021, 2008.
27. Wilson B., Pyatt F.B. Heavy metal bioaccumulation by the important food plant, *Olea europaea* L., in an ancient metalliferous polluted area of Cyprus. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.*, 78, 390-394, 2007.
28. Wu, G., Kang, H., Zhang, X., Shao, H., Chu, L., Ruan, C. A critical review on the bio-removal of hazardous heavy metals from contaminated soils: issues, progress, eco-environmental concerns and opportunities. *J. Hazard. Mater.*, 174, 1-8, 2010.
29. Yadav R., Arora P., Kumar S., Chaudhury A. Perspectives for genetic engineering of poplars for enhanced phytoremediation abilities. *Ecotoxicology*, 19, 1574-1588, 2010.
30. Zhuang, P., Yang, Q., Wang, H., Shu, W. Phytoextraction of heavy metals by eight plant species in the field. *Water Air Soil Pollut.*, 184, 235-242, 2007.

Ստացվել է 05.06.2019



Биолог. журн. Армении, 3 (71), 2019

«ՍՈՐԱՆՆԵՐ» ԴԵՆԴՐՈԴԱՐԿԻ ԵԿՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԲԵՐԴ ԶԱՂԱՔԻ ՎՐԱ ԵՎ ՊԱՅՊԱՆՈՒԹՅԱՆ ԽՆԴԻՐՆԵՐԸ

Ա.Ա.ԽԱԼԱԹՅԱՆ¹, Յ.Յ.ՍԱՅԱԴՅԱՆ²

ՀՀ ՇՍՆ «Արգելոցապարկային համալիր» ՊՈԱԿ,
ԵՊՀ Ֆիզիկական աշխարհագրության և ջրաօդերևութաբանության ամբիոն
khalatyan.artur@mail.ru

Հոդվածը վերաբերում է ՀՀ Տավուշի մարզի Բերդ խոշորացված համայնքի տարածքում գտնվող «Սորաններ» դենդրոպարկի աշխարհագրական և դենդրոլոգիական վերլուծությանը: Ներկայացվում են դենդրոպարկերի էկոլոգիական, գիտակրթական և փորձարարական կարևոր նշանակությունը և դրանց պահպանության խնդիրները:

Դենդրոպարկ – էկոլոգիական ազդեցություն – ծառաթփայլի բուսականություն-պահպանության խնդիրներ

Проведен географический и дендрологический анализ дендропарка "Сораннер", расположенного на территории общины Берда Тавушского марза Республики Армения. Представлена важность экологической, научно-образовательной и экспериментальной значимости дендропарков и проблемы их сохранения.

Дендропарк – экологическое влияние – древесно – кустарниковая растительность – проблемы охраны

The article relates to geographical and dendrological analysis of the "Soranner" Dendropark located in the Berd region of the Tavush Marz of the Republic of Armenia. The ecological, scientific-educational and experimental importance of dendroparks and the issues of their preservation are presented.

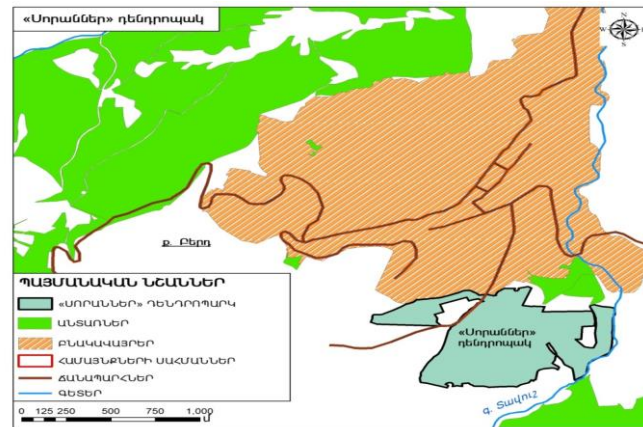
Dendropark – environmental impact – arboreal and shrub vegetation – conservation problems

ՀՀ Տավուշի մարզի Բերդ քաղաքի Սորաններ կամ Սորան կոչվող բարձունքում է գտնվում «Սորաններ» դենդրոպարկը: Դենդրոպարկը հիմնադրվել է 1962 թ., զբաղեցնում է 62,17 հա տարածք և գտնվում է քաղաքի հարավային և հարավ-արևմտյան բարձունքի վրա: Ռելիեֆը անհարթ է, ծովի մակարդակից միջին բարձրությունները՝ 1050-1090մ (Բերդ քաղաքը գտնվում է ծ.մ. 900մ բարձրության վրա) կլիման՝ բարեխառն, լանդշաֆտը՝ լեռնաանտառային: «Սորաններ» դենդրոպարկը Երևանից գտնվում է 202 կմ հեռավորության վրա (Նկ. 1):

«Սորաններ» դենդրոպարկը հիմնադրել և երկար տարիներ ղեկավարել է պետական, հասարակական գործիչ, անտառագետ՝ Հրանտ Արշակի Ավագյանը, ով 1970-ական թվականներին լծվել է նաև «Ջրվեժ» անտառապարկի ստեղծման աշխատանքներին:

«Սորաններ» դենդրոպարկը, ինչպես նաև ՀՀ-ում գործող բոլոր 4 դենդրոպարկերը գտնվում են ՀՀ շրջակա միջավայրի նախարարության «Արգելոցապարկային համալիր» ՊՈԱԿ-ի ենթակայության ներքո:

Դենդրոպարկն, ըստ էության, բուսական աշխարհի ex-situ պահպանության օջախ է, որը ստեղծված է բաց գրունտի պայմաններում և որտեղ իրականացվում է տեղական ու ներմուծված ծառաթփային բույսերի կենդանի հավաքածուների պահպանություն և վերարտադրություն: Այս աշխատանքները իրականացվում են կառավարության լիազորված մարմնի հաստատած կանոնադրության համաձայն:



Նկ. 1. Բերդի “Սորաններ” դենդրոպարկի աշխարհագրական տեղադիրքը

Դենդրոպարկերի հիմնման ժամանակ հաշվի են առնվել բոլոր աշխարհագրական գործոնները՝ տեղադիրքը, կլիման, քամու վարդը, հողի կազմը, լանդշաֆտը: Դենդրոպարկերն ունեն գիտական, գիտաարտադրական և ուսումնական կարևոր նշանակություն, որտեղ հետազոտություններ են կատարվում բույսերի ներմուծման, կլիմայավարժեցման և սելեկցիայի գծով, ինչպես նաև իրականացվում է Էկոլոգիական դիտակց և վերլուծություն [3, 7, 10]:

Մեր հանրապետության բուսաբանական այգիներում, դենդրոպարկերում և տարբեր տիպի և կատեգորիայի կանաչ տնկարկներում աճեցվում են մոտ 1650 անուն ծառեր և թփեր, որոնցից դենդրոպարկերում են գտնվում շուրջ 850 ծառաթփատեսակ և բնափայտային լիաներ [1, 2, 7]:

“Սորաններ” դենդրոպարկի գիտական հավաքածուն ստեղծվել է՝ տնտեսապես արժեքավոր և գեղազարդային ծառաթփային բույսերի հյուսիսային Հայաստանի ստորին անտառային գոտում աճեցման հնարավորության ստուգման և այդ բույսերի մեծածավալ ներմուծման նպատակով [9]:

Դենդրոպարկի բնակլիմայական պայմաններին լավ են հարմարվել գեղազարդ, բարձրարժեք, մշտադալար շատ տեսակները:

Դենդրոպարկը բացի իր բուն գործառնությունից՝ գիտական, ունի նաև ռեկրեացիոն, թանգարանային, առողջարանային բաղադրիչ, իսկ “Սորաններն”, այս դեպքում, ունի նաև ռազմավարական նշանակություն: Այն, գտնվելով բարձունքում և ամբողջապես ծածկված լինելով ծառերով, կարծես հարավից և հարավ-արևմուտքից կենդանի վահան լինի քաղաքի համար: Հաշվի առնելով այս հանգամանքը՝ “Արգելոցապարկային համալիր” ՊՈԱԿ-ի մասնագետների առաջարկով “Սորաններ” դենդրոպարկում աճեցվել և աճեցվում են արագաճ ծառաթփատեսակներ՝ թույա արևմտյան սյունանման (*Thuja occidentalis f. fastigiata* Jaeg), սոճի սովորական (*Pinus silvestris* L.), սոճի դրիմյան (*Pinus pallasiana* Lamb.), գիհի սովորական՝ սյունանման կամ իռլանդական (*Juniperus communis*), կաղամախի կամ բարդի անտառային (*Populoustreamula*), բարդի Նրբագեղ (*Populusgracilis* acrossh) և այլն:

Նյութ և մեթոդ: Աշխատանքի համար Նյութ է ծառայել Բերդի “Սորաններ” դենդրոպարկի տարածքում 2015-2018թթ. կատարված գիտական ուսումնասիրությունների և առկա ցուցակների լրամշակման արդյունքներով ստացված տվյալների հավաքագրումը: Դենդրոպարկի տարածքում գիտական ուսումնասիրությունների հիման վրա կազմվել են հաշվետվություններ, որոնք էլ ներկայացվել են ՀՀ շրջակա միջավայրի նախարարություն: Բերդ քաղաքի քամու վարդի վերլուծությունը իրականացնելիս օգտվել ենք Հայաստանի ազգային ատլաս՝ հատոր Ա, քամու ուղղությունը և արագությունը բաժնից [4]:

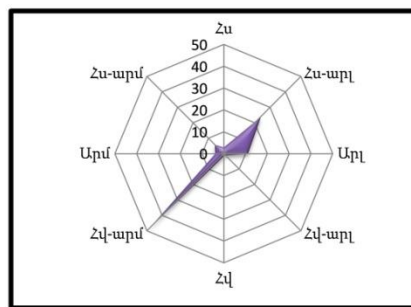
“Սորաններ” դենդրոպարկի քարտեզի կազմման գործընթացում կիրառվել է GIS (ԱՏՀ) համակարգչային ծրագիրը, որի շնորհիվ հնարավոր է եղել ստանալ կարևոր թվային տվյալներ՝ հա, գծմ և այլն:

Արդյունքներ և քննարկում: Դենդրոպարկի դենդրոֆլորան կազմված է շուրջ 30 ընտանիքի 73 ցեղի պատկանող 100 ծառաթփատեսակներից: Դենդրոպարկում առկա տեսակները արդյունք են տասնամյակների ընթացքում կատարված բազմաթիվ ծառաթփատեսակների ռեինտրոդուկցիայի և կլիմայավարժեցման աշխատանքների: Դենդրոպարկի հիմնադրման պարկաշինական աշխատանքների ժամանակ գեղազարդ և արժեքավոր մեծ քանակությամբ ծառաթփատեսակներ են տեղափոխվել Հյուսիսային Անդրկովկասից, մասնավորապես՝ Նալչիկ քաղաքից:

“Արգելոցապարկային համալիր” ՊՈԱԿ-ի կողմից իրականացված դենդրոպարկերի ծառաթփատեսակների քանակական ցուցակների ստեղծման արդյունքում պարզվել է, որ գեղազարդային ասեղնատերևավոր (մշտադալար և տերևաթափ) տեսակները կազմում են ծառաթփատեսակների շուրջ 45-50 %-ը, ինչն ավելի առաձևահատուկ է դարձնում դենդրոպարկերի Էկոլոգիական նշանակությունը [3]:

Դենդրոպարկը գտնվում է Բերդ քաղաքի հարավային և հարավ-արևմտյան հատվածում: Վերջինիս մի փոքր հատված՝ 7,4 հա, քաղաքին Նայող շուրջ 760 գծմ. ճակատով ձգվում է արևմտյան ուղղությամբ, դենդրոպարկի ընդհանուր ճակատային երկարությունը շուրջ 1800գծմ. է: Դենդրոպարկի ճակատային հատվածի մասով ձգվում են երկշերտ, տեղ-տեղ նաև հնգաշերտ ասեղնատերև ծառատեսակներ, հիմնականում սոճի Դրիմյան (*pinus pallasiana* Lamb.) տեսակի: Այդ հատվածը ասեղնատերև ծառատեսակներով գոտիավորել է Բերդ քաղաքի հարավային և հարավ-արևմտյան հատվածի որոշակի հատվածները:

Դենդրոպարկի Էկոլոգիական նշանակությունն էլ ավելի է բարձրանում, հատկապես ասեղնատերև ծառաթփատեսակների առկայության շնորհիվ [5, 8, 10, 11, 12], մասնավորապես “Սորաններ” դենդրոպարկի ծառաթփատեսակային կազմի քանակական տվյալները ցույց են տալիս, որ ընդհանուր ծառաթփատեսակների շուրջ 45-50 % մշտադալար ասեղնատերև են:



Նկ. 2. Բերդ քաղաքի “քամիների վարդը”

Բերդ քաղաքի քամիների վարդի վերլուծությունը (աղ. 1., Նկ. 2.) ցույց է տալիս, որ քամու գերակշռող ուղղությունը հարավ-արևմտյան է, ինչը հնարավոր է դարձնում դենդրոպարկի թարմ և թթվածնով հարուստ օդային հոսքի տեղաշարժը դեպի քաղաքի կենտրոն, որին նպաստում են բարենպաստ աշխարհագրական բաղադրիչները՝ բարձրությունների տարբերությունը, տեղադիրքը, ռելիեֆը, դենդրոպարկի ֆլորիստիկ կազմը [4]:

Բարձրությունների տարբերությունը կազմում է 150մ-ից 200մ (Բերդ քաղաքը գտնվում է 900մ ծ.մ. բարձրության վրա): Հարկ է նաև նշել այն, որ հարավային ուղղությամբ՝ ի տարբերություն հարավ-արևմտյանի, դենդրոպարկի և քաղաքի միջև բնակելի շենք շինությունների քանակը բարձրությունների միջին հատվածում բավականին քիչ է, գրեթե բացակայում է, իսկ հարավ-արևմտյան ուղղությամբ շատ են առանձնատները, ինչը խթան է հանդիսանում, որպեսզի քամին ուղղությունը փոխի հևարավորինս դեպի հարավ:

Աղյուսակ 1. Բերդ քաղաքի միջին տարեկան “քամու վարդ”-ը

Աշխարհագրական ուղղությունը	Արժեքը, %
Հյուսիս	3
Հյուսիս-արևելք	24
Արևելք	11
Հարավ-արևելք	1
Հարավ	1
Հարավ-արևմուտք	50
Արևմուտք	4
Հյուսիս-արևմուտք	6
Քամու արագությունը, (բազմամյա տվյալների միջինը), որի գերազանցման կրկնությունը կազմում է 5 % մ/վ)	6մ/վ

Քաղաքները, բնակավայրերը և արդյունաբերական կենտրոնները դժվար է պատկերացնել առանց գեղազարդ տնկարկների, որոնք միաժամանակ բարելավում են շրջակա միջավայրի միկրոկլիմայական և սանիտարահիգիենիկ պայմանները: Մեր օրերում դա կենսական անհրաժեշտություն է համարվում [1, 2, 5, 6, 9, 12]:

Դենդրոպարկերը՝ լինելով գիտական և գիտափորձական կենտրոններ, որտեղ բաց գրունտում գտնվում են ներմուծված և տեղաձին ծառաբույսերի կենդանի հավաքածուներ, ըստ էության, չեն ծառայում իրենց բուն նպատակին: Հայաստանում դենդրոպարկերի մշակույթի զարգացնելու գրավականներից մեկն էլ եղել է այն, որ մերձակա բնակավայրերի կանաչապատումն իրականացնելիս, հևարավոր է եղել օգտագործել արդեն իսկ կլիմայավարժեցման փուլը հաջողությամբ հաղթահարած արժեքավոր և գեղազարդ ծառափառտեսակային բույսերը:

Դենդրոպարկի հիմնախնդիրն է առնչվում “Ծերացող դենդրոպարկ” հասկացությունը, որը կապվում է նախ և առաջ մասնագետ աշխատակիցների պակասով կամ բացակայությամբ:

Պահպանության հիմնախնդիրները տարբեր են, որոնցից կարելի է առանձնացնել պահպանության աշխատանքների իրականացումը և մասնագետների պակասը: Պահպանության առանձնահատկությունը կայանում է նրանում, որ դենդրոպարկում բացակայում են ենթակառուցվածքները՝ գրասենյակային շենք, պահակատուն, ցանկապատ և այլն: Հարկ է նշել, որ ցանկապատված չեն անգամ շատ խոցելի հատվածները: Բերդ համայնքն ունի քաղաքի կարգավիճակ, բայց և այնպես բնակիչները զբաղվում են անասնապահությամբ, ինչը մեծ վտանգ է ներկայացնում դենդրոպարկին՝ ապօրինի արածեցման տեսքով: Մասնագետների պակասը պայմանավորված է մայրաքաղաքից եղած հեռավորությամբ, ինչպես նաև մասնագետների ցածր վարձատրությամբ:

Հարկ է նշել, որ սա չի կարելի վերագրել ՀՀ-ում գործող այլ դենդրոպարկերին, որտեղ ակտիվ գործունեություն է ընթանում: Գիտակցելով դենդրոպարկերի դերն ու նշանակությունը մեր երկրում՝ ՀՀ ՀՄՆ “Արգելոցապարկային համալիր” ՊՈԱԿ-ը, մասնավորապես գիտության բաժինը վերջին տարիներին իրականացնում է աշխատանքներ դենդրոպարկի երիտասարդացման նպատակով՝ ներմուծելով, տեղափոխելով այլ դենդրոպարկերից ծառափառտեսակներ, իրականացնելով պարկաշինական, լրացման աշխատանքներ, ինչն ավելի է հարստացնում դենդրոպարկում առկա արժեքավոր ասեղնատերև և սաղարթավոր ծառափային բույսերի կենդանի հավաքածուները:

Այս աշխատանքների արդյունքում մենք հնարավորություն կունենանք պահպանել մեր ունեցած արժեքավոր հավաքածուները, ինչպես նաև ընդարձակել դրանք: Անհրաժեշտ է նախաձեռնել բոլոր աշխատանքները, որպեսզի դենդրոպարկերի քանակը չկրճատվի, այլ ընդհակառակը՝ ավելանա: Տարբեր գրական աղբյուրներից մեզ հայտնի է առ այն, որ ժամանակին հիմնադրվել են նաև այլ շատ դենդրոպարկեր, որոնք գործել են, բայց ներկա պահին գոյություն չունեն, օրինակ՝ Բագրատաշենի դենդրոպարկը, որը հիմնադրվել է 1950-ական թվականներին [6]:

Ելնելով վերոգրյալից և հաշվի առնելով դենդրոպարկի աշխարհագրական դիրքը, ծառաթփատեսակների առանձնահատկությունը՝ առաջարկում ենք.

հնարավորության դեպքում դենդրոպարկի տարածքը մեծացնել, մասնավորապես ընդարձակել դեպի արևմուտք, դենդրոպարկի հարավ-արևմտյան ուղղության վերջնական կետից դեպի արևմուտք մոտ 500 գծմ, ճանապարհամերձ հատվածով, հյուսիսահայաց դիրքադրությամբ և իրականացնել ասեղնատերև ծառատեսակներով շարքերի ձևով պարկաշինական աշխատանքներ: Տվյալ հատվածում իրականացնել եռաշերտ կամ հնգաշերտ շախմատաձև ծառատնկում: Այս աշխատանքները իրականացնելու դեպքում հնարավոր կլինի մաքսիմալ գոտիավորել Բերդ քաղաքը հարավային և հարավ-արևմտյան հատվածներում, որի արդյունքում դեպի քաղաք ներթափանցող օդային զանգվածը կունենա էկոլոգիապես մաքուր բաղադրություն: Սա խթան կհանդիսանա, որպեսզի Բերդ քաղաքի օդը հնարավորինս զերծ պահենք աղտոտումներից:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Գրիգորյան Մ.Մ.* Ծառաբույսերի պարտիզային ձևերի առկայությունը Հայաստանի քաղաքների և բնակավայրերի կանաչապատման մեջ և հարստացման հեռանկարները, Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 70, 3, էջ 27-32, 2018:
2. *Գրիգորյան Մ.Մ.* Ծառաբույսերի պարտիզային ձևերը Հայաստանի բուսաբանական այգիներում և դենդրոպարկերում: «Բուսաբանական գիտությունը ժամանակակից աշխարհում» Երևան, էջ 291-295, 2015:
3. *Խալաթյան Ա.Ա.* «Դենդրոպարկերի հիմնադրումը, աշխարհագրական տարածումը և էկոլոգիական նշանակությունը ՀՀ-ում», «Աշխարհագրության երկրաբանության արդի հիմնախնդիրները» Միջազգային գիտաժողովի նյութեր, Երևան, էջ 27-31, 2018:
4. Հայաստանի ազգային ատլաս՝ հատոր Ա, «Գեոդեզիայի և քարտեզագրության կենտրոն» ՊՈԱԿ, Քամու ուղղությունը և արագությունը, Երևան, էջ 57-58, 2007:
5. *Հարությունյան Լ.Վ., Հարությունյան Ս.Լ.* Հայաստանի դենդրոֆլորան, Երևան, 1-ին մաս 1985, 2-րդ մաս 1987:
6. *Նիկողոսյան Լ.Ե.* Բագրատաշենի մարգարիտը, «Հայաստան» հրատարակչություն, Երևան, էջ 7-24, 1978:
7. *Սայադյան Ս.Լ.* Բուսատեսակների հավաքածու (Իջևանի մերձարևադարձային դենդրոլոգիական պարկ (Ծառայգի) /գիտական աշխատություն/ Վանաձոր «ՄԻՄ տպագրություն», էջ 204, 2010:
8. *Վարդանյան Ժ.Հ.* Ծառագիտություն, Երևան, 2005:
9. *Քարտաշյան Ն.Գ., Ֆայվուշ Գ.Մ., Նանագյուլյան Ս.Գ.* Իջևանի ֆլորիստական շրջանի արևելյան հատվածի բույսերի կենսաբազմազանության պահպանության արդի հիմնախնդիրները, Ботаническая наука в современном мире, Материалы международной юбилейной конференций, посвященной 80-летию основания Ереванского ботанического сада, Ереван, с. 9-13, 2015:
10. *Варданян Ж.А.* Научные основы интродукции древесных растений в Армении. "Гитутюн" НАН РА, 398 с.2012.
11. *Деревья и кустарники СССР*, т-1, М.-Л., 1949.
12. *Сосновский Д.Н., Махатадзе Л.Б.* Краткий определитель деревьев и кустарников Армянской ССР, Ереван, 1950.

Ստացվել է 15.05.2019



Biolog. Journal of Armenia, 3 (71), 2019

IL-2 AND TNF- α ACTIVITY IN OVARIAN CANCER DEPENDS ON THE STAGE OF DISEASE

G.A. HOVHANNISYAN

*H. Buniatian Institute of Biochemistry NAS RA, Yerevan, Armenia
gayane90.30@gmail.com*

In present study the changes of immunoregulatory cytokine IL-2 and pro-inflammatory cytokine TNF- α activity in pathophysiology of ovarian cancer has been investigated. IL-2 and TNF- α activity have been determined by the ELISA method in plasma and tissue samples of the primary oncologic patients with different stages of disease (I, II, III). Results obtained have shown that IL-2 and TNF- α levels for both plasma and tumor tissue samples demonstrate stage dependent changes. Data obtained expand the knowledge about the complicity of the stage dependent interplay between host immunity, inflammation and ovarian cancer.

Interleukin-2 – tumor necrosis factor alpha – ovarian cancer – inflammation

Ներկայացված աշխատանքում ուսումնասիրվել են իմունակարգավորիչ ցիտոկին ինտերլեյկին-2-ի և նախաբորբոքային ցիտոկին ուռուցքների նեկրոզի գործոն-ալֆայի ակտիվության փոփոխությունները ձվարանների բաղցկեղի պաթոֆիզիոլոգիայում: Ցիտոկինների ակտիվությունները չափվել են ELISA մեթոդով՝ հիվանդության տարբեր փուլերում գտնվող (I, II, III) առաջնային բաղցկեղային հիվանդների պլազմայի և հյուսվածքային նմուշներում: Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ նշված ցիտոկինների ակտիվության փոփոխությունները և պլազմայի, և հյուսվածքային նմուշներում կախված են հիվանդության փուլից: Այս տվյալներն ընդլայնում են մեր գիտելիքներն իմունային համակարգի, բորբոքման և ձվարանների բաղցկեղի միջև փուլից կախյալ փոխազդեցությունների ողջ բարդության վերաբերյալ:

Ինտերլեյկին-2 – ուռուցքի նեկրոզի գործոն ալֆա – ձվարանների բաղցկեղ – բորբոքում

В статье были изучены изменения активности иммуномодуляторного цитокина ИЛ-2 и противовоспалительного цитокина ФНО-альфа в патофизиологии рака яичников. Активность ИЛ-2 и ФНО-альфа была определена методом ИФА в плазме и в тканях первичных онкобольных с различными стадиями болезни (I, II, III). Полученные результаты показывают, что и в плазме, и в ткани изменения активности ИЛ-2 и ФНО-альфа зависят от стадии заболевания. Полученные данные расширяют знания относительно всей сложности стадиязависимых взаимодействий между иммунной системой, воспалительным процессом и раком яичников.

Интерлейкин-2 – фактор некроза опухолей альфа – рак яичников – воспаление

Ovarian cancer (OC) is the 8th most common type of cancer and is still the deadliest form of all gynecologic malignancies in women worldwide [20]. In Armenia, OC is the 4th leading gynecological cancer with the prevailing age above 45 years [20]. Overall, ovarian cancer patients respond to cytoreductive surgery and platinum and taxane

based combination chemotherapy. However, advanced cases have a high recurrence rate and the 5-year survival rate has remained largely unchanged since the 1980s, being close to 30 % [16]. This, however, is skewed, given the mass of recent evidence suggesting that histological subtypes of ovarian cancer represent unique diseases, but are still treated with a 'one size fits all' approach.

Epidemiological and experimental data have implicated hormonal fluctuations in sex steroids, and androgen exposure in particular, in the pathogenesis of ovarian cancer [12]. Moreover, ovarian cancer cells share a number of estrogen regulated pathways with other hormone-dependent cancers such as breast and endometrial cancer [15]. These pathways were studied in more details already [7, 15]. It is considered that the inflammatory environment caused by repetitive ovulation over the life time of women increases the risk of genetic error and mutation during the repair process, leaving the ovarian surface epithelium susceptible to neoplastic transformation in subsequent ovulation and repair cycles [17]. However, ovarian cancer is a heterogeneous disease and its subtypes are quite different with respect to mutations, origins, marker and prognosis, and respond differently to standard chemotherapy.

The immune system is thought to be an important mediator of ovarian carcinogenesis [4] due to persistent infiltration of immune cells during the rupture and remodeling phases of ovulation. This causes injury to surrounding epithelium, damage DNA through release of reactive oxygen species, or produce cytokines that promote proliferation. Interactions between tumor and host immune system are objectives of special interest among current topics of research. Recent studies also show that anti-tumor immunity is often negated by immune suppressive cells present in the tumor microenvironment. These suppressive immune cells also directly enhance the pathogenesis through the release of various cytokines and chemokines, which together form an integrated pathological network. IL-2 is a potent pro-inflammatory cytokine that is secreted by Th-1 cells and effectively participates in the activation of T cells to produce the cytokines tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interferon gamma (IFN- γ) [4]. Recent studies showed that IL-2 plays a critical role in the differentiation and survival of regulatory T cells, thereby ensuring their significance in the control of the immune response [4]. Thus, IL-2 plays multiple roles in immune functions by contributing to the generation and propagation of antigen-specific immune responses [3]. The ability of IL-2 to expand T cells with maintenance of functional activity has been translated into the first reproducible effective human cancer immunotherapies. Anti-humoral therapy associated with IL-2 administration led to the remission of metastatic renal cell carcinoma in up to 30% of patients and increased the survival of patients with melanoma and acute myeloid leukemia [3]. In these cases, the administration of high doses of IL-2 was associated with improved survival, although, the related adverse effects were considerably severe in most patients [3]. While adoptive transfer of these activated T cells could mediate modest antitumor activity, the inability to grow these cells *ex vivo* severely limited progress, and the lack of human cells with specific antitumor reactivity was a major obstacle to the application of this approach in humans.

In contrast to these immunomodulatory agents that directly increase or decrease specific immune cell subsets, another concept of antitumor immunity that has recently been introduced is the disruption of integrated cytokine networks [10]. The tumor milieu in which ovarian carcinoma develops has been described as one enriched with a broad spectrum of pro-inflammatory cytokines and chemokines. In particular, several of these cytokines (such as TNF- α , IL-1 β , and IL-6) produced by tumor itself or/and activated immune cells, besides stimulating cancer cell growth, have been shown to influence clinical disease status and prognosis, by reducing responsiveness to chemotherapy and

symptoms such as anorexia, altered energy metabolism, anemia, weight loss, depression and fatigue [13].

Recent data show that cytokine antagonists may have a role in the treatment of ovarian cancer. Their action by inhibiting both production and activity of inflammatory cytokines seems to obtain the control of angiogenetic and apoptotic events, the reversal of chemoresistance, the improvement of systemic symptoms and prognosis [21]. Although as suggested by its name, TNF was described initially as a killer of cancer cells, however recent data indicate that TNF can be considered mostly as a pro-tumor cytokine. Numerous studies have shown that anti-TNF drugs reduce tumor growth in different types of malignances. This deleterious effect of TNF was further supported with the results in TNF-knockout mice model that display reduced tumor growth [18]. Currently, clinical trials aimed at inactivating TNF- α in solid tumors are under evaluation. A recent phase I study of the specific TNF- α antagonist etanercept (TNFRII:Fc fusion protein) in ovarian cancer provided biochemical (CA125) and radiological evidence for prolonged disease stabilization in 6/30 patients with advanced disease [21].

Thus, to understand how inflammation and cytokine expression in a tumor microenvironment can impact both host defense against the tumor and tumor cell survival, it is important to continue careful studies of cytokine networking to identify their transcriptional and posttranscriptional regulation. Complex understanding of posttranscriptional regulation of this cytokines, in particular, may lead to more potent drugs that target their expression. Recently we have shown the involvement of Ca²⁺/CaM-dependent protein phosphatase calcineurin (CN) in pathophysiology of ovarian cancer, as well as demonstrated that changes in CN activity in plasma and tumor tissue of patients with primary ovarian cancer depend on stage of disease and degree of tissue differentiation [20]. Considering all abovementioned and the fact that CN participates in the synthesis of several cytokines, including IL-2 and TNF- α , via dephosphorylation and activation of NFAT (nuclear factors of activated T cells) transcription factors [9, 14], we considered advisable to study the changes in IL-2 and TNF- α activity in both tissue and plasma samples from primary ovarian cancer patients depending on the stage of disease.

Materials and methods. *Sample collection and preparation.* The blood and tissue samples from postoperative material of untreated patients with the I (n=6), II (n=7) and III (n=5) stages of primary ovarian cancer were provided by the National Centre of Oncology after V.A. Fanarjyan (NCO MOH RA). The plasma of healthy donors (n=6) and histologically checked healthy parts of remote tissue (n=8) were used as a control. Histological study of the postoperative material was conducted by the Laboratory of Clinical Pathomorphology at the NCO MOH RA. The most cases of ovarian cancer were diagnosed as a moderately and poorly differentiated adenocarcinoma. Age of patients ranged from 45-80, and the average age was 61 years.

Blood (1.5-2 ml) was collected into sodium citrate (3.2 %)-coated vacutainer tubes and centrifugated at 1500 rpm for 10 min. Plasma was separated and stored at -32°C. Tissue samples were homogenized with 5 volumes of 50 mM Tris-HCl, pH 7.5 buffer, containing 0.05 % Triton-X-100, 0.1 mM EDTA, 1 mM dithiothreitol (DTT), protease inhibitors, and centrifugated at 20000×g for 60 min at 4°C. The supernatant was separated and stored at -32°C as well.

The protein content in samples was determined by Bradford assay [2].

TNF- α and IL-2 assays. TNF α and IL-2 levels in plasma and tissue samples were measured using human TNF α ELISA MAX kit (BioLegend Inc., USA) and human IL-2 ELISA MAX kit (BioLegend Inc., USA) according to the manufacturer's recommendation. The optical density was measured in each well at the wavelength of 450 nm using LABLine-022 microplate reader (LABLINE Diagnostics, Austria).

Statistical analysis. Data were analyzed statistically by one-way ANOVA using Origin 61 software. Statistical significance – $p < 0.05$. All data were expressed as mean $\pm$ SEM.

Results and Discussion. As one can see, the significant increase in plasma level of IL-2 of ovarian cancer patients takes place (4.4 fold) in the I stage of disease compared to healthy control group (fig. 1). The statistically significant decreases in plasma levels of IL-2 were observed in II stage (1.7 fold) and III stage (2.6 fold) of disease compared to the I stage.

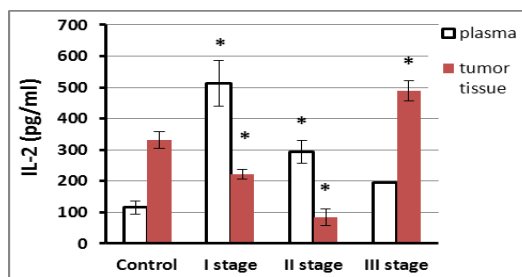


Fig. 1. IL-2 levels in plasma (white) and tumor tissue (red) primary ovarian cancer patients.
*-p<0,05 for the I stage compared to control, and for II, III stages compared to the I stage.

In contrary, as shown in fig.1, tumor tissue level of IL-2 was found to be decreased in the I stage of disease by 1.5 times compared to control group and by 2.6 times in the II stage compared to the I stage. For the III stage of disease the significant increase (2.2 fold) takes place in tissue level of IL-2 compared to the I stage.

As one can see from fig. 2, TNF- α level have shown to be decreased for the first stage of disease in both plasma and tumor tissue samples by 1.18 and 4.5 times respectively compared to the control groups (fig. 2). However, in plasma the decrease in TNF- α level was not statistically significant. Plasma and tissue levels of TNF- α have shown statistically significant increase in the II and III stages of disease compared to the I stage. In plasma of ovarian cancer patients TNF- α level has been shown to be increased by 1.5 and 1.6 times for the II and III stages, respectively, compared to the I stage. Similarly, tumor tissue TNF- α level has been shown to be increased by 4.4 and 5 times for the II and III stages, respectively, compared to I stage.

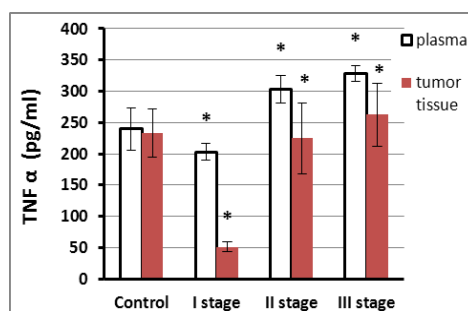


Fig. 2. TNF α levels in plasma (white) and tumor tissue of (red) of primary ovarian cancer patients.

*-p<0,05 for the I stage compared to control, and for II, III stages compared to the I stage.

Immune system is widely integrated in all steps of OC carcinogenesis, including host response to tumor initiation and progression. The main components of host-tumor immune response including pro/anti-inflammatory networks are in part regulated by CD4⁺ helper T-lymphocytes, Th1 and Th2 cells. Th1 cells produce pro-inflammatory cytokines

and drive the cell-mediated immune response, while Th2 cells regulate humoral immunity by expressing anti-inflammatory cytokines. The Th1-Th2 balance is closely correlated with cancer, but the correlation in untreated OC patients remains unconfirmed [8]. IL-2 is a potent pro-inflammatory cytokine secreted by activated macrophages, Th1, DC, CD8⁺ cells. As mentioned above, transcription and expression of IL-2, as well as TNF- α , is regulated by Ca²⁺/CaM/calcineurin/NFAT signaling pathway which has a key role in activation of the immune system [9, 14, 24]. Our data obtained have been indicated that the activity of IL-2 is changed differently in plasma and tumor tissue of OC patients among the subsequent stages of OC development. Via activation of IL-2 expression CN plays a central role in the activation of immunosuppressive T_{reg} cells to produce anti-inflammatory cytokines [22]. However, clinical manipulation of IL-2 levels remains complex as IL-2 can act both as an immune stimulating or suppressive cytokine, depending on the dose. On one hand, low-doses of IL-2 favor T_{reg} survival and suppressive function and lead to a better control of autoimmune and inflammatory diseases [1]. On the other hand, high-dose IL-2 administration in ovarian cancer may result in the conversion of tumor-associated T_{reg} into Th17 cells, relieving T_{reg}-mediated suppression, and contributing to enhance antitumor immunity via changing a non-inflamed tumor into an inflamed tumor, shifting produced cytokines type onto TNF- α and IFN- γ direction, perhaps thereby increasing sensitivity of the tumor to further immune attack [12]. From this point of view the significant increase of plasma IL-2 activity and decrease of tumor tissue IL-2 activity in the I stage of disease may be a protective response of the organism to fight against malignant neoplasm. However, similar chronic activation of the immune system contributes to chronic systemic release of inflammatory cytokines and formation of the chronic inflammatory environment. Thus, the immune system initially playing a protective role for the organism during tumorigenesis, diminishes gradually and eventually this could contribute to tumor progression. Indeed, there are different mechanisms by which tumors evade the control of the immune system. Many types of tumor cells secrete immunosuppressive cytokines (IL-6, IL-10, IL-13) and chemokines that negatively regulate the immune system. In current study increasing tumor tissue activity of IL-2 in the III stage of disease is most probably evidencing the existence of tumor milieu/stage dependent shift from anti-inflammatory T_{regs} towards inflammation favoring Th17. This IL-2 driven exacerbation of inflammation could also lead to overproduction of other pro-inflammatory cytokines, including TNF- α , as the major one. In ovarian cancer, several cytokines associated with cellular immunity were correlated to cancer development and patient prognosis, including TNF- α , IFN- γ , IL-6, and MHC molecules [16]. TNF- α plays a complex role in cancer and tumor immunity because of its pleiotropic effect and the fact that it has two receptors. It is now recognized that the expression of TNF receptor 2 (TNFR2) is more limited than that of TNF receptor 1 (TNFR1). New evidence suggests that the TNFR1 drives a predominantly pro-inflammatory program whereas TNFR2 primarily initiates immune modulation and tissue regeneration via boosting T_{regs} and effector T cells to produce IL-2 and promotes the sensitivity of T_{regs} to IL-2 [6]. TNF- α production in the ovarian cancer microenvironment has been recognized for decades, with tumor-infiltrating macrophages likely to be the major source [23]. Numerous reports have demonstrated abnormally high levels of TNF- α in the blood of OC patients. Within groups of patients with the same tumor type, higher levels of TNF- α correlated with more advanced tumor stage and shorter survival time. However, circulating TNF- α is not always detectable in cancer patients and can vary among individual patients over time and the course of disease [5]. Charles et al. demonstrated the importance of TNF- α in promoting tumor growth and in the progression of ovarian malignancies. It was found that in mice TNF- α exerts the effect

markedly in a time-dependent and dose-dependent manner [6]. The initial exposure to TNF transiently abrogates T_{reg} suppressive functions, whereas longer exposures restore their suppressive activity. This means that short-term stimulation of TNF- α mimics the early phases of the inflammatory reaction, thus allowing effector T cells to escape from the inhibition mediated by T_{regs} , presumably favoring elimination of the pathogens. However, long-term exposure to TNF may facilitate the activation and expansion of T_{regs} , restoring their suppressive capabilities, thus limiting excessive inflammation. In the present study, we have found that activity of TNF- α was displaying an initial decrease followed by up wording tendency in ovarian tumor epithelium. The initial decline for TNF- α activity in the I stage of disease indirectly indicates the activation of anti-inflammatory pathways via activation of T_{reg} population, however, further increase of TNF- α levels for II and III stages is more likely to display continuous fluctuations between T_{reg} and Th17 with an increasing prevalence of Th17 with their pro-inflammatory effects. Whether T_{reg} -IL-2-TNF- α -Th17 interactions are prompting T_{reg} activation or favoring Th17 differentiation due to complicacy of interactions in the frame of current research is hard to purpose. Although at this stage of the research existing data are not sufficient to evidence for dysregulation in Ca^{2+} /CaM/CN/NFAT-TNF- α signaling pathway in a tumor microenvironment, however, this may indicate that posttranscriptional regulation most probably could take place.

Thus, further studies aiming at understanding how IL-2 and TNF- α are regulated in tumor context most probably would determine how they could be involved in effective anticancer therapy for OC.

Acknowledgment. The study was conducted in the frame of the project #16A1f10 supported by the State committee of science MES RA. We thank to National Center of Oncology MH RA, particularly the Laboratory of Clinical Pathomorphology (head S. Davtyan), for the provided oncological samples.

REFERENCES

1. Ballesteros-Tato A. Beyond regulatory T cells: the potential role for IL-2 to deplete T-follicular helper cells and treat autoimmune diseases. *Immunotherapy*. 11, 6, 1207-1220, 2014.
2. Bradford M.M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72, 248-254, 1976.
3. Capobianco P.M., Cassiano C.G., Furini da Cruz A.A., Melo de Storti M.L. Domingos C.R.B., Machado R.L.D. Human Interleukin 2 (IL-2) Promotion of Immune Regulation and Clinical Outcomes: A Review. *J. Cytokine Biol.*, 1, 2, DOI: 10.4172/2576-3881.1000109 2016.
4. Charbonneau B., Goode L.E., Kalli R.K., Knutson L.K., DeRycke S.M. The immune system in the pathogenesis of ovarian cancer. *Immunol.* 33, 2, 137-164, 2013.
5. Charles A.K., Kulbe H., Soper R., Escorcio-Correia M., Lawrence T. The tumor-promoting actions of TNF- α involve TNFR1 and IL-17 in ovarian cancer in mice and humans. *J. Clin. Invest.* 119, 301-3023, 2009.
6. Dobrzycka B., Terlikowski J. S., Kowalczyk O., Kinalski M. Circulating levels of TNF- α and its soluble receptors in the plasma of patients with epithelial ovarian cancer. *Eur. Cytokine Netw.*, 20, 3, 131-4, 2009.
7. Espey A.L. Ovulation as an inflammatory reaction – A hypothesis. *Biology of reproduction*, 22, 73-106, 1980.
8. Hao C.J., Li J., Liu P., Li X. L., Hu Y. Q., Sun J.C., Wei Y. Effects of the balance between type 1 and type 2 T helper cells on ovarian cancer. *Genetics and Molecular Research*, 15, 2, gmr.15027936, 2016.

9. Jain J., McCaffrey P.G., Miner Z., Kerppola T.K., Lambert J.N., Verdine G.L., Curran T., Rao A. The T-cell transcription factor NFATp is a substrate for calcineurin and interacts with Fos and Jun. *Nature*, 365, 352-355, 1993.
10. Knutson L.K., Karyampudi L., Lamichhane P., Preston C. Targeted immune therapy of ovarian cancer. *Cancer Metastasis Rev* DOI 10.1007/s10555-014-9540-2, 2014.
11. Leveque L., Deknuydt F., Bioley G., Old J.L., Matsuzaki J.W. Odunsi K., Ayyoub M., Valmori D. Interleukin 2-mediated conversion of ovarian cancer-associated CD4+ Regulatory T cells into proinflammatory interleukin 17-producing helper T cells. *J. Immunother*, 32, 101-108, 2009.
12. Lukanova A., Kaaks R. Endogenous Hormones and Ovarian Cancer: Epidemiology and Current Hypotheses. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 14, 1, 98-107, 2005.
13. Macciò A., Madeddu C. Inflammation and ovarian cancer. *J. Cytokine*, 58, 133-147, 2012.
14. McCaffrey G.P., Perrinot A.B., Soderlings R.T., Rao A. NFATp, a T lymphocyte DNA-binding protein that is a target for calcineurin and immunosuppressive drugs. *The journal of biological chemistry*. 268, 5, 3747-3752, 1993.
15. Mungenast F., Thalhammer T. Estrogen biosynthesis and action in ovarian cancer. *Front. Endocrinol.*, 5, doi: 10.3389/fendo.2014.00192, 2014.
16. Nozomu Y., Michael S.A., Kazunori O., Yukihiro H., Misato S. Nagata Ch., Iida Y., Takakura S., Yamada K., Tanaka T., Okamoto A. Cytokine gene expression signature in ovarian clear cell carcinoma. *International journal of oncology*, 4, 1, 1094-1100, 2012.
17. Ramus J.S., Gayther A.S. The Contribution of BRCA1 and BRCA2 to Ovarian Cancer. *Molecular Oncology*, 3, 138-150, 2009.
18. Salomon L.B., Leclerc M., Tosello J., Ronin E., Piaggio E. and Cohen L.J. Tumor Necrosis Factor α and Regulatory T Cells in Oncoimmunology. *Front. Immunol.*, 9, 444, 2018.
19. Sarukhanyan F.P., Hovhannisyan G.A., Hunanyan O.V., Zakaryan H.H., Barkhudaryan N.H. The study of calcineurin activity in pathophysiology of ovarian cancer. *Biolog. Journal of Armenia*, 69, 3, 159-163, 2017.
20. Statistical yearbook. Health and Healthcare, Yerevan, 2018.
21. Szlosarek W.P., Grimshaw J.M., Kulbe H., Wilson L. J., Wilbanks D.G. Burke F., Balkwill R.F. Expression and regulation of tumor necrosis factor A in normal and malignant ovarian epithelium. *Mol Cancer Ther.*, 5, 2, 382-90, 2006.
22. Whitehouse G., Graya E., Mastoridis S., Merritt E., Kodala E., Yang H.M.G., Danger R., Mairal M., Christakoudi S., Lozano J.J., Macdougall C.I., Tree M. I. T., Sanchez-Fueyo A., Martinez-Llordela M. IL-2 therapy restores regulatory T-cell dysfunction induced by calcineurin inhibitors. *PNAS*, 114, 27, 7083-7088, 2017.
23. Yang S., Wang J., Brand D.D., Zheng G.S. Role of TNF-TNF Receptor 2 Signal in Regulatory T Cells and its Therapeutic implications. *Front. Immunol.*, 9, 784. doi: 10.3389/fimmu.2018.00784, 2018.
24. Zelante T., Fric J., Wong A.Y.W., Ricciardi-Castagnoli P. Interleukin-2 production by dendritic cells and its immunoregulatory functions. *Front. Immun.*, 3, 161, doi: 10.3389/fimmu.2012.00161, 2012.
25. www.wcrf.org/dietandcancer/cancer-trends/ovarian-cancer-statistics

Received on 11.06.2019



Biolog. Journal of Armenia, 3 (71), 2019

THE DEVELOPMENT AND EVALUATION OF EFFECTIVENESS OF ANIMAL DERIVED MONOVALENT ANTIVENOM AGAINST MACROVIPERA LEBETINA OBTUSA (MLO) VENOM

A.V. KISHMIRYAN

*L. A. Orbeli Institute of Physiology NAS of the Republic of Armenia,
Laboratory of Toxinology and Molecular Systematics
akishmiryan@gmail.com*

The article describes the processing and development of animal-derived monovalent antivenom against MLO venom according to several protocols, which is a significant problem for public health and the Ministry of Health of Armenia. The developed product is already showing quite high effectiveness and after several experiments, it will be possible to derive the antivenom satisfying international standards which will be much cheaper and accessible compared with Market rivals.

Snake venom – vipers – antivenom – gyurza – Macrovipera lebetina obtusa

Հոդվածում նկարագրված է մի շարք պրոտոկոլների համադրությամբ MLO օձի թույնի դեմ կենդանական ծագման, մոնոկլոնալ հակաթույնի մշակումը և ստացումը, ինչը բավականին արդիական խնդիր է ներկայիս ՀՀ առողջապահության համար: Ստացված արգասիքը ցուցաբերում է բավականին բարձր արդյունավետություն և որոշակի կլինիկական փորձարկումներից հետո հնարավոր կլինի ստանալ միջազգային ստանդարտների համապատասխանող բուժամիջոց, որն ավելի մատչելի և հասանելի կլինի մրցակից պատրաստուկներից:

Օձի թույն – իժեր – հակաթույն – գյուրզա – Macrovipera lebetina obtusa

В статье описана разработка и получение моновалентного противоядия животного происхождения против яда змей MLO с использованием сочетания нескольких протоколов, что является актуальной проблемой для нынешнего здравоохранения РА. Полученный продукт показывает довольно высокую эффективность и уже после определенных клинических испытаний можно будет получить соответствующее международным стандартам лекарственное средство, которое будет более доступным по сравнению с конкурентными препаратами.

Змеиный яд – гадюки – противоядие – гюрза – Macrovipera lebetina obtu

The struggle against snake bites is one of the most important problems imposed on public health [6,11], every year several thousand people die because of snake bites, more than that remain lifelong disabled. World Health Organization classifies snake bites as a neglected tropical disease, that is more prevailing in Asia, Sub-Saharan Africa,

Latin America, and Oceania. The only scientifically proven treatment for snake bites is the injection of specific antitoxins [11]. General classes of snake antivenom production developed around a decade ago with very little innovation, mainly related to the introduction of modern technical equipment. Snake antivenoms represent immunoglobulins derived from serum of immunized animals (complete immunoglobulin molecules or Fab fragments, $F(ab')_2$ [5].

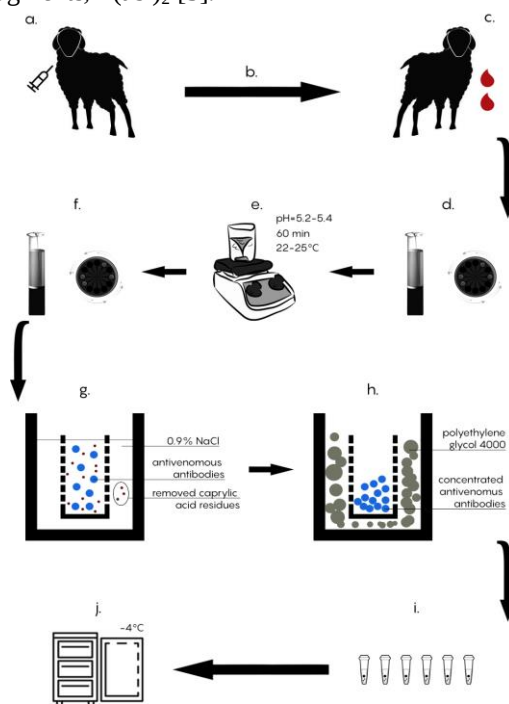


Fig. 1. The stages of specific antivenom development against MLO venom:
a) hyperimmunization; b) 2-week break; c) blood harvesting; d) serum separation;
e) precipitation with caprylic acid; f) supernatant separation; g) supernatant dialysis;
h) dialysate concentration; i) separate into the eppendorf vials; j) storage.

Viperidae snake bites produce notable morbidity and mortality and have a significant impact on health care. These snakes are widespread throughout Eurasia, especially Southeast (the Caucasus including Armenia, Turkey, Iran, etc.).

In Armenia, the majority of snake bites are due to *Macrovipera lebetina obtusa* (MLO), which is a subtype of viper family [2,4,10]. According to the data provided by the Ministry of Health of Armenia (MOHA), during timeframe of January to June of 2019, there were recorded 49 cases of snake bites with one mortal case. Despite this devastating impact on public health, MOHA does not purchase and provide medical institutions in Armenia with antivenoms. For a period of several years, antivenom of quite high quality produced by Institute of Immunology of Zagreb were available in Yerevan [7], unfortunately, the institution stopped production of the antivenom. Currently, antivenom is available only in two medical institutions in Armenia: Muratsan University Hospital and Armenia Medical Center. The available antivenom is imported by a private organization (Armen Farm) from Uzbekistan and according to it's itinerary, it is a polyvalent antivenom against *Vipera lebetina*, *Echis carinatus* and *Naja oxiana*

snake bites. *Vipera lebetina* snake involves 5 subspecies (*M. l. Cernovi*, *M. l. lebetina*, *M. l. obtuse*, *M. l. transmediterranea*, *M. l. turanica*) [1], which differs in their venom composition. Taking into account the fact that in Uzbekistan, there is only one subtype of viper (*M. l. turanica*), also frequent dissatisfaction of clinicians with the effect of antitoxin, there is huge concern regarding the quality and effectiveness of currently available antivenom.

Considering these facts, implementation of the production of Armenian antivenom and development of antivenom production guidelines will have a significant impact on public health.

This article represents methodological protocol of antivenom (AV) development against MLO snake, it corresponds to already quite effective protocol of antivenom production against *Vipera ammodytes* [3] and satisfies WHO current instructions of antivenom production (fig.1) [11].

Materials and methods. *The development of animal-derived experimental antivenom against MLO venom (MLOv).* The animals are chosen according to their availability, the ease and expenses of their care and nutrition and also according to the probability of the antivenom to cause anaphylactic reactions. The animals were medically examined against various infections and diseases. The optimal method of development and production of the animal-derived experimental antivenom implemented on 1.5-2 years-old male sheep (40kg) in accordance with the Council Directive 2010/63/EU of the European Parliament, the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, and approved by the Committee of Ethics of Yerevan State Medical University (YSMU) (Yerevan, Armenia).

The animal was kept in constant light (07.00-19.00) and temperature ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) and provided with food and water according to its needs. To minimize stress, the animal was under continuous nursing.

Hyperimmunization

The hyperimmunization of the animal was done with subcutaneous injections of multiple and increasing dosages of venom of *Macrovipera lebetina obtusa* snake. The MLO venom bought from Latoxan (France). Hyperimmunization included two stages. During the first stage, the animal was injected with MLO venom; to decrease the chance of tissue damage with venom and adjuvant, the injections made in two different anatomical regions. The corresponding dosages of venom dissolved into adjuvant, sodium alginate (Medisar LLC). The use of adjuvant increases the antibody formation, due to the fact, that adjuvant makes venom depots and slows venom absorption into the systemic circulation, giving the immune system opportunity to constantly produce antibodies [8].

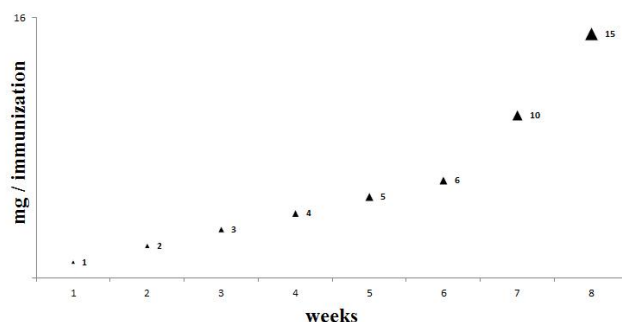


Fig. 2. 1st stage of hyperimmunization of the ovine with MLO venom

The solutions envisaged for hyperimmunization, were repaired immediately before the injection. In the room temperature sodium alginate dissolved into the 0.9% NaCl until reaching the

1.25% (mass/volume) during 15 min. Thereafter MLO venom dissolved into the 1.5 ml of the solution (fig. 2). During the second stage of hyperimmunization, the MLO venom without adjuvant was injected into animal multiple times. The venom dissolved into sodium chloride 0.9% solution and injected according to fig. 3. After the last injection, 2-week break was taken to allow the organism to produce enough quantity of antibodies.

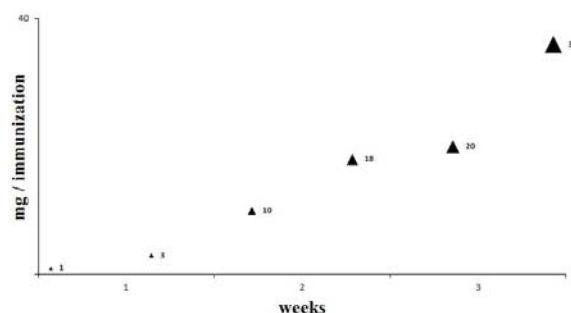


Fig. 3. 2-nd stage of hyperimmunization of the ovine with MLO venom

Thereafter, 1-2 times a week 100-150 ml of blood was collected using aseptic equipment to avoid sample contamination. The collected blood immediately centrifuged for 15 min in 3000 rpm, the blood cells were separated, and the serum kept in the freeze (maximum 2 weeks) until the antibodies separated and purified.

To conserve the adequate titer of antibodies in animal, subsequently, they were immunized according to the second stage of hyperimmunization.

The separation and purification of antibodies using caprylic acid

The serum containing IgG antibodies were subsequently processed by caprylic acid to separate these antibodies. During this stage, every 100 ml serum slowly mixed with 5.27 ml caprylic acid (5 % w/v, analytical grade, ≥ 99.5 %, Carl Roth) with magnetic stirrer in room temperature (22-25°C). The mixing was continued for one hour and maintaining solution pH in 5.2-5.4 range using 4N NaOH. Subsequently, this solution centrifuged for 15 min in 3000 rpm (BECKMAN, GS-6R centrifuge) and the sediment was separated. To separate this sediment from the remnants of caprylic acid it was dialyzed for 36 hours using 1.35 L 0.9 % NaCl, during this time the NaCl solution changed every 9 hours. Dialysis subsequent yield purified IgG antibodies which were condensed 3 times using polyethylene glycol 4000. The final condensed solution containing IgG antibodies were divided in eppendorf vials and refrigerated (-4°C) until subsequent experiments.

The assessment of effectiveness and cross-reactivity of monovalent antivenom developed against MLO venom

In the scope of evaluating the effectiveness of antivenom, 5LD₅₀ dosage of MLO venom lethality was neutralized with antivenom [7]. The experiments were undertaken on the white mice (18-20 g) grown in the vivarium of Institute of Physiology after L. Orbeli. Experimental animals were divided into 5 groups of four mice. Mice of control group injected with exclusively venom solution, the rest of groups injected with 5LD₅₀ dosage of venom pre-incubated with different dilutions of antivenom (Dilution Factor (DF): 8, 4, 2, and without dilution). Each mouse in the control group was injected with 5LD₅₀ dosage (92 µg/mouse) of venom [7] dissolved in 0.5 ml of 0.9% sodium chloride solution. In case of the rest groups, the same dosage dissolved into 250 µl 0.9% sodium chloride solution, thereafter mixed with above-mentioned dilutions of antivenom in 1:1 ratio and incubated for 30 minutes in 37°C. Centrifugation (5 min, 3000 g) and separation of the sediment was undertaken, and each mouse was injected with 0.5 ml of this solution. During a 24-hour period after injections mice were observed to record the lethal cases.

The Spearman-Kärber method [12] used to calculate the median effective dose (ED₅₀), which constitute the amount of undiluted antiserum (in mL) efficient for neutralizing the lethality of used venom dose in 50 % of animals.

Using ED₅₀ value, Protective efficacy (R) was calculated and represent the amount of LD₅₀ possible to be neutralized with 1 ml of undiluted antivenom.

Immunodiffusion Assay

Double diffusion test according to Ouchterlony and Nilsson [9] used to study antigenic relationships between the different antigens. Holes 5 mm in diameter were blown in horizontal gels containing 1.2% agarose in 1× PBS. Protein fractions of several types of viper venom and cobra venom (20 µl) were placed in the peripheral wells and AV in the central well. Diffusion was let to proceed for 24 h at 37 °C. The gel was then cleaned with saline and dried. The precipitin line was visualized with Coomassie Brilliant Blue.

Results and Discussion. As already mentioned, we have evaluated the effectiveness of our developed antivenom to neutralize lethal dosage of MLO venom, the data is shown in fig. 4. The mice in control group were dead immediately after injection of 5LD₅₀ dosage of venom, whereas in the groups where antivenom was used, the percentage of mortality decreased opposite to the dilution of the antivenom, particularly the antivenom diluted 2 times displayed complete neutralization of venom lethal toxicity. The ED₅₀ of this antivenom compiles **0.05257 ml/mouse** or **2.6285 ml/kg**. This data allowed calculating the antivenom Protective efficacy (R), which equals to **76**.

	Injection volume (ml/mouse)	Antivenom volume (ml/mouse)	Number of mice			Percentage of deaths (%)
			Died	Lived	Total	
MLOv+AV	0.5	0.25	0	4	4	0
+AV (DF=2)	0.5	0.125	0	4	4	0
+AV (DF=4)	0.5	0.625	2	2	4	50
+AV (DF=8)	0.5	0.03125	3	1	4	75
MLOv	0.5	-	4	0	4	100

The ED₅₀ was calculated according to Spearman and Karber [13]:

$$ED_{50} = \log ED_{50} = \log X_{100} - \frac{\log DF}{n} - (\sum t - n/2)$$

$$= -1.2925$$

$$ED_{50} = 10^{-1.2925} = \boxed{0.05257 \text{ ml/mouse}^*}$$

$$= \boxed{2.6285 \text{ ml/kg}^*}$$

ED₅₀ = the 50% effective dose. $\log X_{100}$ = log dose giving 100% survival and having 100% survival for all higher doses. $\log DF$ = the log dilution factor (the log dose interval is constant). n = # mice used at each dose level. t = #mice alive at each dose level. Σ = the sum of mice surviving at every dose level.

*The ED₅₀ is the effective volume of AV that will protect 50% of the mouse population when injected with 5LD₅₀S.

$$R = (T_v - 1)/ED_{50}$$

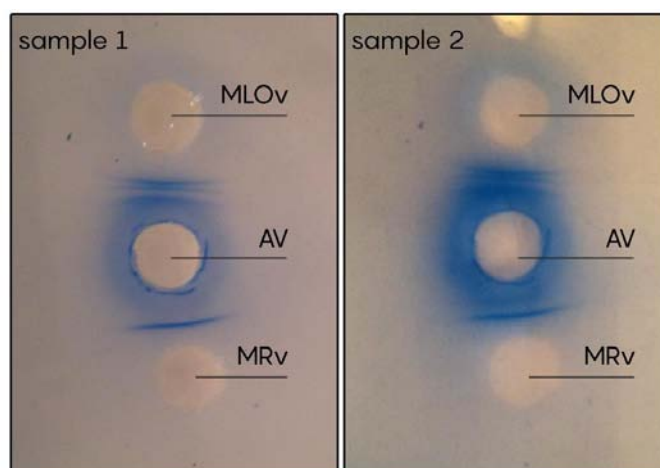
$$= (5 - 1)/0.05247$$

$$= \mathbf{76}$$

T_v - is the amount of LD₅₀ injected one mouse

Fig. 4. Effective dose fifty (ED₅₀ = ml/mouse(ml/kg)/5LD₅₀) assay of AV

The results of experiments of AV cross-reactivity are shown in fig. 5. It is evident that when anti-MLO IgG experimented against crude MLO venom, a wide pattern shown in fig. 5 (top well) was obtained pointing coalescence of antigens. Whereas the same AV was tested against the venom of *Montivipera raddei* one precipitin line was formed.



Pic. 5. Agar gel diffusion (AGD) test using autoclaved extraction antigens and different snake venoms. AV: antiserum against MLO, MLOv: *Macrovipera lebetina obtusa* venom, MRv: *Montivipera raddei* venom.

Obtained results indicated that the antivenom against development MLO venom described in this article display quite high effectiveness and target the components of viper venom that complicate the toxic potential of venom. Yet these results are still not enough for the final assessment of the effectiveness of the product and some several set of pre-clinical investigations are need to be implemented before the clinical trial, we could insist already that the production of antivenom in Armenia is necessary, especially taking into consideration that it is not only cheaper and accessible, than its' imported versions, but also have the specificity and quality corresponding to international standards.

Acknowledgments

I want to thank the director of Institute of Physiology after L. Orbeli, Dr. N. M. Ayvazyan, under the guidance of whom these investigations were undertaken.

REFERENCES

1. Aaspõllu Anu & Siigur, Juri. Biochemistry and pharmacology of proteins and peptides purified from the venoms of the snakes *Macrovipera lebetina* subspecies. *Toxicon.*, 158, 10.1016/j.toxicon.2018.11.294, 2018.
2. Ayvazyan N.M., Ghazaryan N.A. Lipid bilayer condition abnormalities following *Macrovipera lebetina obtusa* snake envenomation. *Toxicon.* 60, 607-613, 2012.
3. Căpitănescu, C., C.S. Turculeț, Z. Niculescu, A. Căpitănescu, V. Strâmbu, G. Manole, B. Ștolică, C. Cirstoveanu, E. Galatescu. Ovine antivenom for *Vipera ammodytes*. *Proc. Rom. Acad. Series B.* 3, 155-61, 2008.

4. Göçmen B., Arikan H., Ozbel Y., Mermer A., Çiçek K. Clinical, physiological and serological observations of a human following a venomous bite by *Macrovipera lebetina lebetina* (Reptilia: Serpentes). *Türkiye Parazitol. Derg.* 30, 158-162, 2006.
5. Gutiérrez J.M., León G., Lomonte B., Angulo Y. Antivenoms for snakebite envenomings. 2011.
6. Kasturiratne A., Wickremasinghe R., de Silva N., Gunawardena K., Pathmeswaran A., Premaratna R., Savioli L., Lalloo D., de Silva J., The Global Burden of Snakebite: a literature analysis and modelling based on regional estimates of envenoming and deaths. *PLoS Med.* 5, e218, 2008.
7. Kurtović, T., Lang Balijs, M., Ayvazyan, N., Halassy, B. Parasppecificity of *Vipera ammodytes*-specific antivenom towards *Montivipera raddei* and *Macrovipera lebetina obtusa* venoms. *Toxicon.*, 78, 103-112, 2014.
8. León, G., Sánchez, L., Hernández, A., Villalta, M., Herrera, M., Segura, Á., Estrada, R., Gutiérrez, J.M. Immune response towards snake venoms. *Inflamm. Allergy – Drug Targets*, 10, 381-398, 2011.
9. Ouchterlony O. Diffusion-in-gel methods for immunological analysis. *Prog Allergy.* 5, 1-78, 1958.
10. Sanz L., Ayvazyan N., Calvete J.J. Snake venomomics of the Armenian mountain vipers *Macrovipera lebetina obtusa* and *Vipera raddei*. *J. Proteomics*, 71, 198-209, 2008.
11. WHO (World Health Organization), Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins. WHO, Geneva, 2016.
12. World Health Organization Progress in the characterization of venoms and standardization of antivenoms. *Who Offset Publ.*, 58, 1-44, 1981.

Received on 01.08.2019



Biolog. Journal of Armenia, 3 (71), 2019

CISPLATIN AND ESTRADIOL JOINT ACTION ON PHOSPHOLIPID COMPOSITION OF NUCLEAR FRACTION FROM FEMALE RAT BRAIN CELLS

E.S. GEVORGYAN, Zh.V. YAVROYAN, N.R. HAKOBYAN,
A.G. HOVHANNISYAN, E.G. SARGSYAN

Yerevan State University, Chair of Biophysics
gevorgyan_emil@yahoo.com

The *in vivo* action of antitumor drug cisplatin and sex hormone estradiol on content of total phospholipids and their individual fractions in nuclei from rat brain cells was investigated. It was shown that these drugs manifested an opposite effect of decreasing (in case of cisplatin) and increasing (in case of estradiol) the total phospholipid content while the content of individual phospholipids expressed distinct alterations. The joint action of these two drugs on the whole restored the baseline level of phospholipids content. The obtained results are discussed in terms of antagonistic effects of studied drugs.

Cisplatin – estradiol – nuclei from rat brain cells – phospholipid

Ուսումնասիրվել է հակաքաղցկեղային դեղամիջոց ցիսպլատինի և սեռական հորմոն էստրադիոլի *in vivo* ազդեցությունը առնետի գլխուղեղի բջջակորիզից անջատած ընդհանուր ֆոսֆոլիպիդների և դրանց առանձին ֆրակցիաների բաղադրության վրա: Ցույց է տրված, որ այդ նյութերը հակառակ ազդեցություն են ունենում՝ փոքրացնելով (ցիսպլատինի դեպքում) և մեծացնելով (էստրադիոլի դեպքում) ընդհանուր ֆոսֆոլիպիդների բաժանակը, միևյուրեւ առանձին ֆոսֆոլիպիդների պարունակությունը ենթարկվում է տարաբնույթ փոփոխությունների: Այս երկու նյութերի համատեղ ազդեցությունը ընդհանուր առմամբ վերականգնում է ֆոսֆոլիպիդների բաղադրության ստուգիչ մակարդակը: Ստացված արդյունքները քննարկվում են ուսումնասիրվող նյութերի հակամարտ ազդեցության առումով:

Ցիսպլատին – էստրադիոլ – առնետի գլխուղեղի բջջակորիզ – ֆոսֆոլիպիդ

Исследовано *in vivo* влияние противоопухолевого препарата цисплатина и полового гормона эстрадиола на содержание общих фосфолипидов и их отдельных фракций в ядрах клеток головного мозга крыс. Показано, что эти вещества имеют противоположное действие. Цисплатин уменьшает содержание, а эстрадиол, наоборот, повышает содержание общих фосфолипидов, а содержание отдельных его фракций изменяется по-разному. Совместное воздействие этих веществ в общем восстанавливает контрольный уровень содержания фосфолипидов. Полученные результаты обсуждаются в аспекте антагонизма действия изучаемых веществ.

Цисплатин – эстрадиол – ядра клеток головного мозга крыс – фосфолипид

More than two decades ago the increase of phospholipid content in some nuclear fractions (nuclear membranes, nuclear matrix and chromatin) of rat brain cells after the *in vivo* action of estradiol has been shown [1, 2]. The augmentation of total phospholipid

content was accompanied by distinct changes of individual phospholipid fractions, particularly by increasing the monophosphoinositides content and decreasing the content of triphosphoinositides or by alteration of ratio of choline-content phospholipids: sphingomyelin and phosphatidylcholine. Thus, estradiol *in vivo* action in concentrations and exposition that lead to activation of biosynthetic processes resulted to the appreciable metabolic alterations in rat brain cells [1, 2].

Simultaneously, our recent data showed that the *in vivo* action of antitumor drug cisplatin decreased the content of phospholipids and neutral lipids in nuclear membrane and chromatin fractions from rat brain cells [6, 7]. These results indicate that cisplatin excites universal changes in lipid metabolism in nuclear membranes and chromatin appreciably reducing the absolute quantities almost of all individual phospholipid and neutral lipid fractions available in preparations.

The opposite effects on phospholipid composition of estradiol and cisplatin may have a definite interest bearing in mind that steroid hormones in some cases participate in chemotherapy work. Steroids can be used as part of treatment to help in destroying cancer cells and make chemotherapy more effective. They may help in reducing an allergic reaction of patients to certain drugs, in low doses they may be used as anti-sickness drugs to improve the appetite of patients. At the same time the sex steroids have a very important role reducing some negative side effects of cisplatin such as nephrotoxicity or neurotoxicity [8, 12]. So, these two drugs manifesting an opposite effects on nuclear lipid composition in rat brain cells simultaneously are useful in treating many types of cancer, in chemotherapy, expressing an identical effect. This was the main motive which causes us to study the joint action of cisplatin and estradiol on phospholipid composition of nuclear fraction from rat brain cells.

Materials and methods. The investigation was performed on adult female albino rats (120-150 g weight). The animals were divided into 4 groups. The group 1 was a control group of animals without treatment. Animals of group 2 and group 4 received a single dose of cisplatin (8 mg/kg). Cisplatin was injected peritoneal. Exposition time for cisplatin was 24 hours. The group 3 was treated with estradiol (200 mcg/kg, injected peritoneal). Exposition time for estradiol was 4 hours. Animals from the group 4 were received the same single dose of estradiol within 20 hours after the cisplatin injection (4 hours before decapitation). All animals were killed by decapitation through appropriate time. Then, animals were sacrificed, and the brain tissue was extracted from each group of animals and used for isolation of nuclei by the method of Blobel and Potter [4]. Phospholipids of brain nuclei were extracted by Bligh and Dayer [1]. The fractionation of phospholipids was performed by micro thin layer chromatography (microTLC) using 6x9 cm² plates with silicagel L and chloroform – methanol – water in ratio 65:25:4 as a dividing mixture. After the chromatography the plates were dried up at room temperature and were treated by 15.6 % CuSO₄ in 8 % phosphoric acid. Then the elaborated plates were heated at 180°C for 15 min. The quantitative estimation of separated and specific lipid phospholipids was carried out by special computer software Fujifilm Science Lab 2001 Image Gauge V42, which was designed for densitometry. Obtained results were treated by statistics.

Results and Discussion. Cisplatin *in vivo* action reliably decreases the total amounts of phospholipids in nuclear fraction preparations from rat brain cells by 26.4 % (tab. 1, fig.1). On the contrary, the estradiol separate injection leads to increase in total amount of phospholipids in studied preparations by 28.6 % (tab. 1, fig.1). However the combined injection of cisplatin and estradiol restored the baseline value of phospholipids amount (tab. 1, fig.1). The results confirm that in case of separate action cisplatin and estradiol exhibit opposite effects on total amount of nuclear phospholipids, whereas in case of their joint action a cumulative effect was revealed.

Table 1.

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

Variants	phospholipids content mcg/g tissue
Baseline	1400.00±80.00
Cisplatin	*1030.00 ±62.00
Estradiol	*1800.00±42.00
Cisplatin+ Estradiol	1300.00±51.00

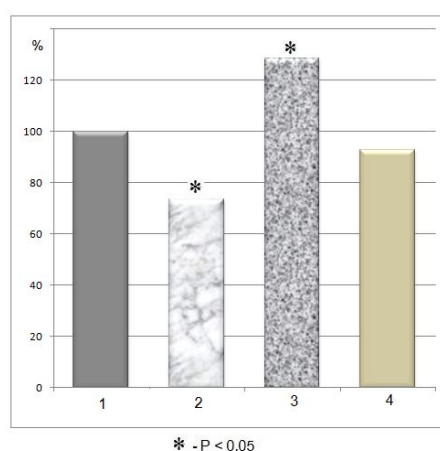


Fig. 1. Changes of total phospholipids content in nuclear preparation of rat brain cells after the cisplatin and estradiol separate and joint treatment.

1 – baseline, 2 – after the cisplatin separate action, 3 – after the estradiol separate action, 4 – after joint action of cisplatin and estradiol

The fractionation of total phospholipids from nuclear preparations of rat brain cells in baseline and after the cisplatin and estradiol separate and joint treatment showed the presence of seven individual phospholipids (fig. 2).

It should be noted that the major fractions in all studied groups were phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine (58.4-63.4 % of total phospholipid content). The relative content (in percentage) of all seven phospholipid individual fractions of four studied groups varied distinctly (tab. 2). Among the major fractions the changes of phosphatidylethanolamine relative content were more than that for phosphatidylcholine (the difference was 4.9 % vs. 3.3 %). The most appreciable changes among the minor phospholipid fractions were observed in case of phosphatidylinositol (the difference was 5.2 %) (tab. 2).

It is obvious that the obtained changes in percentage content do not represent the reality of alteration in real content of phospholipid individual fractions after the drugs action. In order to clear up this problem the absolute quantities of individual phospholipids (in micrograms per gram of brain tissue) in nuclear fraction preparations before and after the drugs injection were determined (tab. 3).

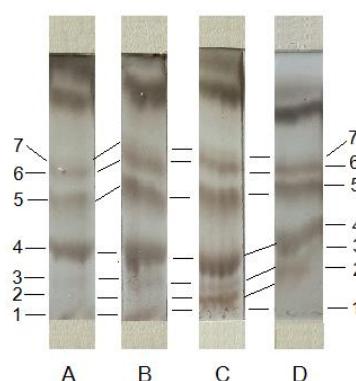


Fig. 2. Chromatograms of fractionation of phospholipids from rats brain nuclear fractions by microTLC method.

A – baseline; B – after the cisplatin separate action; C – after the separate action of estradiol;

D – after the cisplatin and estradiol joint action.

1 –phosphatidylserine, 2 – sphingomyelin, 3 – phosphatidylinositol,
4 – phosphatidylcholine, 5 – phosphatidylethanolamine, 6 – cardiolipin,
7 –phosphatidic acid

Table 2.

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

N	Phospholipids	Baseline	Cisplatin injection	Estradiol injection	Cisplatin and Estradiol joint injection
1	Phosphatidylserine	6.4±0.7	4.5±0.3	5.2±0.3	5.7±0.1
2	Sphingomyelin	7.8±1.2	8.0±0.4	9.2±0.4	8.0±0.2
3	Phosphatidylinositol	9.5±0.3	7.6±0.3	6.3±0.4	4.3±0.2
4	Phosphatidylcholine	34.9±1.8	33.0±1.1	32.1±0.1	35.4±0.6
5	Phosphatidylethanolamine	23.5±1.5	27.9±0.7	28.4±0.6	28.0±0.6
6	Cardiolipin	11.5±1.8	12.0±0.6	13.6±0.4	13.5±0.3
7	Phosphatidic acid	6.4±0.8	7.0±0.6	5.2±0.3	5.1±0.2
Total content		100	100	100	100

The results showed the reliable decreases in the content of all individual phospholipids after cisplatin injection. Moreover, the content of phosphatidylserine, phosphatidylinositol and phosphatidylcholine was diminished more than it of total phospholipids (tab. 3). These results are consequences of deep and multiform transformation of nuclear lipid metabolism caused by antitumor drug cisplatin and correspond to our previous data [6, 7].

In contrast to cisplatin action the estradiol treatment leads to diverse changes of individual phospholipids content. The quantity of four phospholipid fractions was significantly increased, the content of phosphatidylserine and phosphatidic acid was increased negligible while the phosphatidylinositol content was even decreased (tab. 3). These results all in all coincide with our previous data and confirm the activation of lipid metabolism by steroid hormone in nuclear fraction of rat brain cells [1].

Table 3.

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

Phospholipids	Baseline	Cisplatin injection	Estradiol injection	Cisplatin and Estradiol joint injection
Phosphatidylserine	90.00±3.13	*46.20±1.78	92.21±4.42	*73.45±1.82
Sphingomyelin	109.00±3.60	*82.40±2.00	*163.37±8.00	104.00±2.34
Phosphatidylinositol	134.00±2.12	*78.20±1.75	*111.52±6.11	*55.53±3.11
Phosphatidylcholine	487.00±4.26	*340.00±3.30	*566.40±1.87	460.35±7.27
Phosphatidylethanolamine	330.00±4.60	*287.00±2.60	*502.68±9.69	*364.00±4.10
Cardiolipin	160.00±4.00	*123.60±2.47	*240.72±7.31	*176.00±3.37
Phosphatidic acid	90.00±3.30	*72.60±2.53	93.10±4.76	*66.70±3.00

*-p<0,05

Cisplatin and estradiol joint action manifested the tendency of restoring the baseline content of all phospholipid fractions but in various measure (tab. 3). Thus, for example, the quantities of sphingomyelin and phosphatidylcholine were fully restored, while the quantities of cardiolipin and phosphatidylethanolamine differed from their baseline content only by 10 %. The quantity differences in case of phosphatidylserine, phosphatidic acid and phosphatidylinositol were much more (18 %, 26 % and 59 % correspondingly). These results demonstrate the antagonistic effects of cisplatin and estradiol concerning the lipid metabolic pathways in nuclear fractions of rat brain cells. It is characteristic that the only phospholipid fraction that decreased its quantity during both cisplatin and estradiol separate and joint action was phosphatidylinositol: the pivotal phospholipid of phosphoinositide signaling pathway. Thus the further study of quantity changes of polyphosphoinositides under the *in vivo* action of mentioned drugs seems to be much remarkable.

The mechanism of joint action of two biological active drugs is rather complex action especially if both cisplatin and estradiol are capable to provoke deep metabolic changes in brain cells. It is well known that lipid metabolism is regulated by multiple signaling pathways and generates a variety of bioactive lipid molecules [11]. Lipid metabolism participates in the regulation of many cellular processes such as cell growth, proliferation, differentiation, apoptosis, chemotherapy response and drug resistance etc. [10]. Therefore, the significance of the joint action of two drugs leading to deep differences in lipid metabolism is difficult to overestimate. At first site, the opposite to cisplatin action effect of estradiol seems to be negative concerning the cisplatin antitumor activity but at the same time it was shown that sex steroids are able to diminish some negative side effects of cisplatin [5, 9]. So, the joint action of cisplatin and steroid hormones must face to thorough investigation in various studies of diverse processes proceed in cell nuclei.

REFERENCES

1. Геворкян Э.С., Явроян Ж.В., Аризуни И.Г., Акопян Н.Р., Демирханян Л.О. Действие эстрадиола на состав фосфоинозитидов ядерных мембран клеток головного мозга крыс. Укр. Биохим.журнал. 70, 1, 53-58, 1998.
2. Геворкян Э.С., Акопян Н.Р., Аризуни И.Г., Явроян Ж.В., Демирханян Л.О. Действие эстрадиола на состав фосфолипидов хроматина клеток головного мозга крыс. Вестник МАНЭБ, 9, 8, 191-194, 2004.

3. *Bligh E.G., Dyer W.J.* A rapid method of total lipid extraction and purification". Canadian Biochem. Physiol., 37, pp. 911-917, 1959.
4. *Blobel G., Potter V.R.* Nuclei from rat liver: Isolation method that combines purity with high yield. Science, 154, pp.76-79. 1966.
5. *Dayem A.A., Hossain M. K., Lee S.B., Kim K., Saha S. K., Yang G.-M., Choi H.Y., Cho S.-G.* The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Biological Activities of Metallic Nanoparticles Int. J. Mol. Sci., 120,18, 1-21, 2017.
6. *Gevorgyan E.S.,Yavroyan Zh.V., Hakobyan N.R.,Hovhannisyan A.G.* Cisplatin *in vivo* influence on lipid content of chromatin in rat brain cells, Proceedings of the Yerevan State University, 51, 1, pp.21-26, 2017.
7. *Gevorgyan E.S.,Yavroyan Zh.V., Hakobyan N.R.,Hovhannisyan A.G., Sargsyan E.G.* *In vivo* action of cisplatin on lipid content in nuclear membranes from rat brain cells Biolog. Journal of Armenia, 70, 1, pp.16-21, 2018.
8. *Ghamesi M., Nematbakhsh M., Pezeshki Z., Soltani N., Moeini M., Talebi A.* Nephroprotective effect of estrogen and progesterone compination on cisplatin-induced nephrotoxicity in ovariectomized female rats. Indian J. Nephrol., 26, 3, pp.167- 175.doi: 10.4103/0971-4065.160337, 2016.
9. *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 research., 33, 3, pp. 791-800, 2013.
10. *Huang Ch., Freter C.* Lipid Metabolism, Apoptosis and Cancer Therapy. Int. J. Mol. Sci, 16, pp. 924-949; doi:10.3390/ijms16010924, 2015.
11. *Stone J.B., DeAngelis L.M.* Cancer Treatment-Induced Neurotoxicity: A Focus on Newer Treatments, Nat. Rev. Clin. Oncol., 13, 2, pp. 92-105, 2016.
12. *Zaki S.M., Mohamed E.A., Motawie A.G., Abdel Fattah S.,* N-acetylcysteine versus progesterone on the cisplatin-induced peripheral neurotoxicity. Folia Morphol., 77, 2, pp. 234-245, 2018.

Received on 11.06.2019



Biolog. Journal of Armenia, 3 (71), 2019

TO THE MECHANISM OF ANTIBACTERIAL ACTION OF COLLOIDAL SILVER: CHANGES IN MEMBRANE-ASSOCIATED PROTON ATPASE ACTIVITY IN *ESCHERICHIA COLI* AND *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

D.R. SOGHOMONYAN¹, N.S. MNATSAKANYAN², A.H. TRCHOUNIAN^{1,2,3}

¹Yerevan State University, Research Institute of Biology;

²Yerevan State University, Department of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology;

³Russian-Armenian University, Department of Medical Biochemistry and Biotechnology;
Trchounian@ysu.am

It has been shown that colloidal silver (Ag nanoparticles, Ag NPs) significantly inhibited membrane-associated ATPase activity of *Escherichia coli* ATCC25922 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, which was enhanced in the presence of *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide, inhibitor of the proton F_0F_1 -ATPase. The effects depended on concentration of Ag NPs. It is suggested that the F_0F_1 -ATPase, a key enzyme of bacterial membranes, could be a target for Ag NPs, and alterations of its functions might be a mechanism for antibacterial action of these NPs.

*Silver nanoparticles – antibacterial action – bacteria – proton ATPase –
N,N'-dicyclohexylcarbodiimide*

Ցույց է տրվել, որ կոլոիդային արծաթը (Ag նանոմասնիկները) զգալիորեն արգելակում է *Escherichia coli* ATCC25922-ի և *Enterococcus faecalis* ATCC 29212-ի թաղանթներին կապակցված ԱՇՖ-ազի ակտիվությունը, որը ուժեղացվել է պրոտոնային F_0F_1 -ԱՇՖ-ի ապգելակիչ *N,N'*-երկցիկլոհեքսիլկարբոդիմիդի առկայությամբ: Արդյունքները կախված էին Ag նանոմասնիկների կոնցենտրացիայից: Ենթադրվում է, որ բակտերիային թաղանթների հիմնական ֆերմենտ F_0F_1 -ԱՇՖ-ը կարող է լինել Ag նանոմասնիկների թիրախ, և դրա գործառնության խանգարումը կարող է լինել այդ նանոմասնիկների հակաբակտերիային ներգործողության մեխանիզմը:

*Արծաթի նանոմասնիկներ – հակաբակտերիային ներգործողություն – բակտերիաներ – պրոտոնային
ԱՇՖ – *N,N'*-երկցիկլոհեքսիլկարբոդիմիդ*

Было показано, что коллоидное серебро (наночастицы (НЧ) Ag) значительно ингибирует мембраносвязанную АТФ-азную активность *Escherichia coli* ATCC25922 и *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, которая усиливается в присутствии дициклогексилкарбодиимида ингибитора протонной F_0F_1 -АТФазы. Эффекты зависели от концентрации НЧ Ag. Предполагается, что F_0F_1 -АТФаза, ключевой фермент бактериальных мембран, может быть мишенью для НЧ Ag, а подавление ее функций – механизмом антибактериального действия этих НЧ.

*Наночастицы серебра – антибактериальное действие – бактерии – протонная АТФаза –
N,N'-дициклогексилкарбодиимид*

The growing resistance of pathogens to antibiotics requires the development of alternative approaches. It is necessary to search for compounds with high biological activity, which could successfully compete with antibiotics and chemotherapeutic agents for their antibacterial properties.

Currently, materials of small (nano) size are considered promising, among which much attention is paid to nanoparticles (NPs) of transition metals and, in particular, silver (Ag) [14, 17]. The effects of these nanoparticles (NPs) on various microorganisms attract much attention, since NPs can be used as an alternative to antibiotics [14, 17]. The antibacterial effect of colloidal Ag on various Gram-negative and Gram-positive bacteria, including *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis*, has been shown [8, 11, 14]. Here numerous factors such as structure, shape, size of the NPs, synthesis reaction, type of stabilizer, etc., are important, which can lead to different effects [14, 17]. Moreover, these NPs can suppress antibiotic-resistant strains of *E. coli* [4]. It is interesting that Ag NPs can be used for protection of dairy products [1] and cleaning drinking water [8], as shown.

The mechanisms of inhibitory action of Ag NPs on bacteria, however, remain unclear. It is assumed that Ag NPs can adsorb on the surface of bacteria, penetrate cell walls and plasma membranes into the cell, alter their structure and functions and bind to proteins and nucleic acids [4, 14, 16]. Some changes in membrane transport and membrane-associated enzymatic activity, especially proton ATPase activity, the key enzyme of bioenergetic value [2, 3, 9, 13], are suggested. These ways can be dramatic ones leading to cells damaged and died.

Therefore, the aim of the present study was to investigate the activity of the membrane-associated proton ATPase under the influence of Ag NPs on *E. coli* and *E. faecalis*. This would lead to revealing some mechanisms of antibiotic action of Ag NPs.

Materials and methods. *Colloidal silver, bacteria and nutrient media, membrane vesicles.* The studies used colloidal Ag, known under the trade name "Silverton" ("Tonus-Les" Lab, Armenia), obtained by electrochemical synthesis [5]. The concentration of colloidal Ag was determined by the flame method (acetylene - air) using an atomic absorption spectrophotometer (Shimadzu series AA-7000 / AAS, Japan).

Bacteria *E. coli* ATCC 25922 and *E. faecalis* ATCC 29212, wild types, from the American Type Culture Collection (ATCC) were used. Bacteria were grown in peptone (Roth, Germany) or triptone (Roth, Germany) medium, glucose (20 mM) was added, under anaerobic conditions at pH 7.3 and 7.0 and 37 °C to the stationary phase, as described earlier [3, 4, 9, 13-15].

Membrane vesicles were obtained by lysing cell using lysozyme (Roth, Germany) with ethylenediaminetetraacetic acid (10 mM) and subsequent osmotic shock according to the method of Konings and Kabak [6] The amount of protein in membrane vesicles was determined by the method of Lowry [7] using serum bovine albumin (Sigma, USA) as a standard.

Determination of ATP-ase activity of bacterial membranes. Membrane-associated ATPase activity was determined by the amount of inorganic phosphate (P_{inorg}) that was released after membrane reaction of membrane vesicles (50-90 µg protein/ml) with ATP (Tris-salt, Sigma, USA) (3 mM) by Tausky and Shorr's colorimetric method [12] using a spectrophotometer (GENESIS 100, Thermo Scientific, Germany) [3, 13, 15]. The assay mixture was 50 mM Tris-Cl buffer (pH 7.5), containing 1 mM $MgSO_4$ and 100 mM KCl. The corrections were made for blanks without ATP or membrane vesicles. ATPase activity was expressed in nmol P_{inorg} /min per µg protein.

To determine the ATPase activity of the proton F_0F_1 -ATPase, *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCCD) (Sigma, USA), which is an inhibitor of this ATPase in the bacteria studied [2, 3, 9, 13], was used. The membrane vesicles were pre-incubated with DCCD (0.1 mM) for 10 min. DCCD was dissolved in ethanol, however small amount of this solvent (final concentration of <1 %) had no effect on ATPase activity.

It should be noted that the membrane vesicles obtained by the above method [6] are right-side-out and not largely accessible to ATP, but they serve as a convenient model for determining membrane-associated ATPase activity [3, 15], as it was shown that they determined up to 80 % of the total and F_0F_1 -ATPase activity of inverted or in-site-out vesicles [3, 13].

Data processing. The results were processed statistically with the help of the Microsoft Excel 2013 program, while the reliable ones accepted the difference, when the Student's criteria of accuracy (P) was <0.05.

Results and Discussion. To study the effect of Ag NPs on ATPase activity of membrane vesicles, before introducing ATP, membrane vesicles were pre-incubated with different concentrations of colloidal Ag for 10 min at 37 °C, so that the final concentration of Ag NPs in solution was 10 mg/l or 20 mg/l.

The results obtained have shown that Ag NPs have a suppressive effect on the ATPase activity of *E. coli* membrane vesicles (fig. 1). With increasing concentration of NPs, an increase in the effect was observed (fig. 1). The inhibiting effect of Ag NPs was greatly enhanced after the addition of DCCD. Thus, the inhibitory effect of 10 mg/l Ag NPs in the presence of DCCD increased ~1.5-fold (fig. 1). The same was observed when DCCD was added to 20 mg/l Ag NPs; in this case membrane ATPase activity decreased by ~1.7-fold (fig. 1).

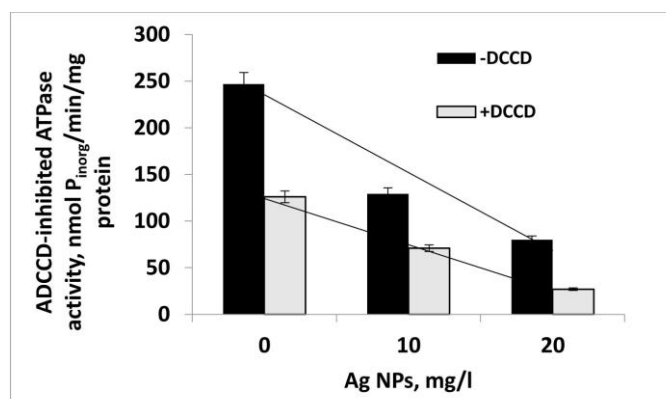


Fig. 1. ATPase activity of *E. coli* ATCC 25922 membrane vesicles treated with different concentrations of colloidal Ag, in the absence and presence of DCCD. For details, see Materials and methods.

In the case of *E. faecalis* ATCC 29212, the same effects have been observed as in *E. coli*, with the only difference being that in this case the effect of both Ag NP and the combined effect of Ag NP and DCCD were more pronounced (fig. 1). An increase of the inhibitory effect was observed in both cases: with elevated concentration of Ag NPs and in combination with DCCD (fig. 2). With *E. faecalis*, the suppressive effect of Ag NPs after the addition of DCCD was also enhanced. Thus, the suppressive effect of 10 mg/l Ag NPs in the presence of DCCD increased by ~1.9-fold (fig. 2), which was almost twice as much as in the case of *E. coli* with the same concentrations of Ag NP. The same was observed with a combination of 20 mg/l Ag NPs with DCCD; in this case, the ATPase activity of the membrane vesicles decreased by ~1.9-fold.

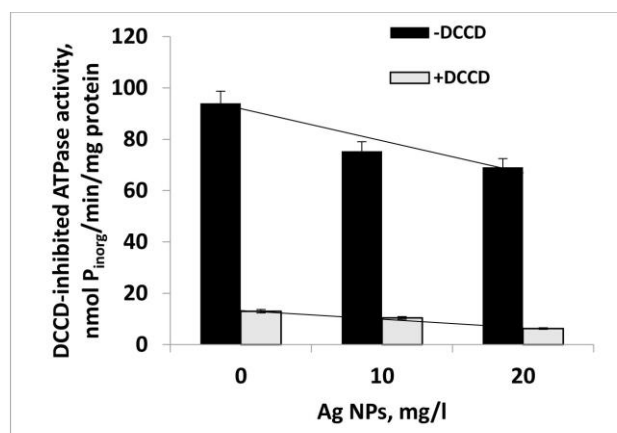


Fig. 2. ATPase activity of *E. faecalis* ATCC 29212 membrane vesicles treated with different concentrations of colloidal Ag (Ag NPs), in the absence and presence of DCCD. For details, see Materials and methods.

From the obtained results, the inhibition of the F_0F_1 -ATPase activity of the membrane vesicles of both bacteria was calculated, caused by exposure to only DCCD (fig. 3). To determine the DCCD-sensitive ATPase activity of the membrane vesicles, calculated the difference between the ATPase activity values, caused by the exposure of Ag NPs, and the ATPase activity value, due to the combined exposure of Ag NPs and DCCD were calculated. From these results it can be seen that DCCD had an inhibitory effect on the F_0F_1 -ATPase activity of both bacteria. Moreover, when processing membranes only by DCCD, the DCCD-sensitive ATPase activity was much greater than when processing membranes pre-treated with Ag NPs (fig. 3). It turned out that Ag NPs led to a decrease in DCCD-sensitive ATPase activity, but in combination with DCCD they caused a stronger inhibition of ATPase activity than each of these agents solely (comp. figs. 1-3). By increasing the concentration of colloidal Ag, the combined inhibitory effect on ATPase activity can be enhanced, and in the enhancement of the combined inhibitory effect, the proportion arriving at DCCD, on the contrary, decreased, which indicated that the gain was provided by increasing the concentration of Ag NPs. Besides, the concentration of 10 mg/l Ag NPs was optimal to significantly inhibit ATPase activity (fig. 3).

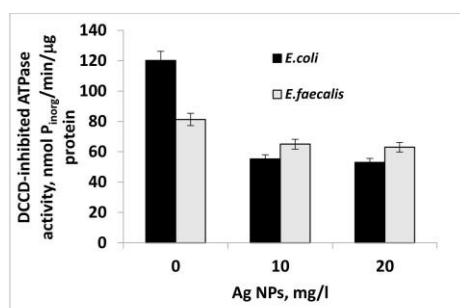


Fig. 3. DCCD-inhibited ATPase activity of *E. coli* ATCC 25921 and *E. faecalis* ATCC 29212 membrane vesicles treated with different concentrations of colloidal Ag (ag NPs). For details, see Materials and methods.

From this, it can be assumed that the mechanism of the antibacterial activity of Ag NPs may involve the same functional subunits of the F_0F_1 -ATPase complex, or the same molecular mechanisms as those affected by DCCD were targeted. It is possible that Ag NPs, as well as DCCD, which interact with the “c” subunit of F_0 complex [2, 9, 13, 15], led to conformational changes, causing a decrease in membrane-associated ATPase activity.

It should be noted that in our work the idea was put forward that the membrane-associated proton F_0F_1 -ATPase serves as an important target of the cell for many physical and chemical factors, such as the electromagnetic field of extremely high frequencies and antibiotics [10], and the alteration of its structure and activity can cause antibacterial action.

Thus, it can be concluded that Ag NPs significantly inhibit membrane-associated ATPase activity, including the F_0F_1 -ATPase, which can lead to impaired membrane functions and death of bacterial cells.

REFERENCES

1. Мнацаканян Н., Трчунян А. Консервация сметаны коллоидным серебром. Пищевая промышленность (Москва), 2, 20-23; ISSN: 0235-2486, 2017.
2. Azzi, A., Casey, R.P., & Nalęcz M.J. The effect of *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide on enzymes of bioenergetic relevance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Bioenergetics*, 768, 3-4, 209-226, 1984.
3. Blblulyan S., & Trchounian A. Impact of membrane-associated hydrogenases on the F_0F_1 -ATPase in *Escherichia coli* during glycerol and mixed carbon fermentation: ATPase activity and its inhibition by *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide in the mutants lacking hydrogenases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 579, 67-72, 2015.
4. Gabrielyan L., Hakobyan L., Hovhannisyan A., & Trchounian A. Effects of iron oxide (Fe_3O_4) nanoparticles on *Escherichia coli* antibiotic-resistant strains. *Journal of Applied Microbiology*, 126, 4, 1108-1116, 2019.
5. Khaydarov, R. A., Khaydarov, R. R., Gapurova, O., Estrin, Y., Scheper T. Electrochemical method for the synthesis of silver nanoparticles, *Journal of Nanoparticles Research*, 11, 1193-1200, 2009.
6. Konings W.N., & Kaback, H.R. Anaerobic transport in *Escherichia coli* membrane vesicles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 70, 12, 3376-3381, 1973.
7. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., & Randall, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275, 1951.
8. Mnatsakanyan N., & Trchounian A. Nanocomposite filter made from porous mineral tuff with absorbed silver nanoparticles and its application for disinfection of water. *Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua*, 67, 2, 127-136, 2018.
9. Mnatsakanyan N., Baqramyan K., Vassilian A., Nakamoto R.K., & Trchounian A. F_0 cysteine, bCys21, in the *Escherichia coli* ATP synthase is involved in regulation of potassium uptake and molecular hydrogen production in anaerobic conditions. *Bioscience Reports*, 22, 3-4, 421-430, 2002.
10. Soghomonyan D., Trchounian K., & Trchounian A. Millimeter waves or extremely high frequency electromagnetic fields in the environment: what are their effects on bacteria? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 4761-4771, 2016.
11. Sondi I., & Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for gram-negative bacteria. *Journal of Colloid Interface Science*, 275, 177-182, 2004.
12. Taussky H.H., & Shorr E. A microcolorimetric method for the determination of inorganic phosphorus. *Journal of Biological Chemistry*, 202, 2, 675-685, 1953.

13. Trchounian A.A., & Vassilian A.V. Relationship between the F₀F₁-ATPase and the K⁺-transport system within the membrane of anaerobically grown *Escherichia coli*. N, N'-dicyclohexylcarbodiimide-sensitive ATPase activity in mutants with defects in K⁺-transport. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 26, 5, 563-571, 1994.
14. Trchounian A., Gabrielyan L., & Mnatsakanyan N. Nanoparticles of various transition metals and their applications as antimicrobial agents. Saylor Y, IrbyV, editors. *Metal Nanoparticles: Properties, Synthesis and Applications*, Hauppauge NY, USA: Nova Science Publ, pp. 161-211, 2018.
15. Vardanyan Z., & Trchounian A. Fe (III) and Fe (II) ions different effects on *Enterococcus hirae* cell growth and membrane-associated ATPase activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 417, 1, 541-545, 2012.
16. Vardanyan, Z., Gevorgyan, V., Ananyan, M., Vardapetyan, H., & Trchounian, A. Effects of various heavy metal nanoparticles on *Enterococcus hirae* and *Escherichia coli* growth and proton-coupled membrane transport. *Journal of Nanobiotechnology*, 13, 1, 69. 2015.
17. Wang L., Hu C., & Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 1227-1249. 2017.

Received on 14.07.2019



Biol. Journal of Armenia, 3 (71), 2019

ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF SUBSTITUTED 2- (2-ARYLVINYL) PYRIMIDINONES AND 2- (2-ARILVINYL) PYRIDO[1,2-a]PYRIMIDINES

A.A. HARUTYUNYAN^{a,b} *, G.T. GUKASYAN^a, H.M. STEPANYAN^b,
G.G. DANAGULYAN^{a,b}

^a Armenian-Russian University,

^b Scientific-technological center of organic and pharmaceutical chemistry of NAS of RA
harutyunyan.arthur@yahoo.com

The antibacterial properties of new pyrimidines, styryl derivatives of pyrimidines and pyrido[1,2-a]pyrimidines were studied with respect to four strains of gram-positive and gram-negative bacteria. It has been established that individual pyrimidines and their styryl derivatives, as well as styryl derivatives of pyrido[1,2-a]pyrimidines, show some activity in relation to the bacterial strains used. An attempt was made to compare the antibacterial properties of the compounds with known integral molecular descriptors: lipophilicity, molecular polarizability, molecular refraction and molar volume, obtained using the ACD / ChemSketch software (version ACD / Labs 6.00).

Styrylpyrimidines – styryl derivatives of pyrido[1,2-a]pyrimidines – antibacterial activity – molecular descriptors – structure – activity

Յետազոտվել են նոր պիրիմիդինների, նրանց ստիրիլածանցյալների և պիրիդո[1,2-*a*] պիրիմիդինների հակաբակտերիային հատկությունները գրամդրական և գրամբացասական բակտերիաների չորս շտամների նկատմամբ: Հաստատվել է, որ նշված շարքերի միացությունները ցուցաբերում են որոշակի ակտիվություն: Փորձ է արվել համեմատել միացությունների հակաբակտերիային հատկությունները հայտնի ինտեգրալային մոլեկուլային դեսկրիպտորների՝ լիպոֆիլության, մոլեկուլային ռեֆրակցման և մոլյար ծավալի հետ, ստացված ACD / ChemSketch (տարբերակ ACD / Labs 6.00) ծրագրային փաթեթի օգնությամբ:

*Ստիրիլպիրիմիդիններ – պիրիդո[1,2-*a*]պիրիմիդինների – ստիրիլածանցյալներ – մոլեկուլային դեսկրիպտորներ – կառուցվածք – ակտիվություն*

Изучены антибактериальные свойства новых пиримидинов, стирилпроизводных пиримидинов и пиридо[1,2-*a*]пиримидинов в отношении четырех штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Было установлено, что отдельные пиримидины и их производные, а также производные производных пиридо[1,2-*a*]пиримидинов обладают некоторой активностью в отношении используемых бактериальных штаммов. Была предпринята попытка сравнить антибактериальные свойства соединений с известными интегральными молекулярными дескрипторами: липофильностью, молекулярной поляризуемостью, молекулярной рефракцией и молярным объемом, полученными с использованием программного продукта ACD / ChemSketch (версия ACD / Labs 6.00).

*Стирилпиримидины – стирилпроизводные пиридо[1,2-*a*]пиримидинов – антибактериальная активность – молекулярные дескрипторы – структура – активность*

Since pyrimidines and condensed pyrimidines (purines) are the most common in nature among a large number of nitrogenous heterocycles and are also the basis of a significant number of drugs, the structural analogues of pyrimidines continue to attract attention in the search for physiologically active compounds.

Earlier, we studied the antibacterial properties of some pyrimidines and condensed azaheterocycles, which allowed us to identify several promising compounds [2].

The purpose of this work was to study the antibacterial activity of substituted pyrimidines and their styryl derivatives **1a-c**, **2a-j** and pyrido[1,2-a]pyrimidines **3a-e** [1,3,4] and to compare the experimental data obtained on the antibacterial activity of compounds with frequently used integral molecular descriptors with a clear physicochemical interpretation [6]. The latter are selected as lipophilicity (logP), molecular polarizability (MR), molecular refraction (MR) and molar volume (MV), obtained using the computer program ACD / ChemSketch (version ACD / Labs 6.00).

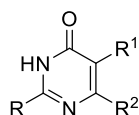
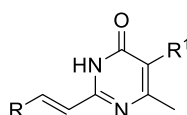
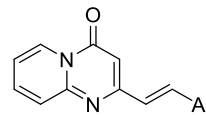
Lipophilicity (logP) is an important characteristic of a chemical compound, characterizing its solubility, absorption, distribution, metabolism, excretion and, ultimately, pharmacological activity.

Molecular polarizability (MR) of a molecule characterizes the ability of its electronic system to be distorted under the action of an external electric field and plays an important role in modeling many molecular properties and biological activity.

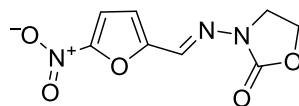
Molecular refraction (MR) characterizes the compactness of the molecule and expresses the measure of the volume occupied by a single atom or cluster (group) of atoms.

The molar volume (MV) is mainly used as an indicator of membrane permeability and passive diffusion in drug design studies.

Comparison and collation of experimental data on antibacterial activity with calculated physicochemical descriptors of the studied compounds and the control highly active drug furazolidone is interesting from the point of view of the rational design of drugs.

**1a-e****2a-k****3a-e**

1a-e: R, R¹, R² = : Me, 2-ClC₆H₄, Me (**a**); Me, 2,4-Me₂C₆H₃, Me (**b**); OH, CHO, CH=CHPh (**c**); OH, CHO, CH=CH(2-HOC₆H₄) (**d**); OH, CH₂OH, CH=CHPh (**e**). **2a-k:** R, R¹ = : 4-NMe₂C₆H₄, (CH₂)₂Me (**a**); 4-NO₂C₆H₄, (CH₂)₄Me (**b**); 4-BrC₆H₄, (CH₂)₄Me (**c**); 4-NMe₂C₆H₄, (CH₂)₄Me (**d**); 4-BrC₆H₄, CH₂CH₂CH(Me)₂ (**e**); 4-BrC₆H₄, Bn (**f**); 3-BrC₆H₄, CH₂(4-MeOC₆H₄) (**g**); 4-NO₂C₆H₄, CH₂(2,4-Me₂C₆H₃) (**h**); 4-NO₂C₆H₄, CH₂(2-ClC₆H₄) (**i**); 3-C₅H₄N, CH₂CH₂COOH (**j**); 4-HOC₆H₄, CH₂CH₂COOH (**k**). **3a-e:** Ar = 4-BrC₆H₄ (**a**); 4-NO₂C₆H₄ (**b**); 2-F C₆H₄ (**c**); 2,4-Cl₂C₆H₃ (**d**); 2-ClC₆H₄ (**e**).



Furazolidone

Materials and methods. The antibacterial activity of the compounds was studied by the methods of “diffusion in agar” using the described method [5]. In the experiments, standard reference strains of microorganisms were used (L.A. Tarasevich State Research Institute for Standardization and Control of Medical Biological Preparations, Russia): two strains of gram-positive staphylococcus (*Staphylococcus aureus* 209p and *S. aureus* 1) and gram-negative rods (*Shigella flexneri* 6858, *Escherichia coli* 0-55) differing in sensitivity to antibacterial drugs.

Results and Discussion. It has been established that the majority of the studied pyrimidines exhibit weak antibacterial properties with respect to all test strains.

Table 1.

Antibacterial activity and calculated physicochemical descriptors of compounds **1a-e**, **2a-k**, **3a-e** and control antibacterial drug furazolidone (**F**).

Com- pounds	Antibacterial activity (mm). ^a / Strains ^b				log P	MR 0±.5sm 3	MP ±0.5 10 ⁻²⁴ sm ³	MV (sm ³).
	A	B	C	D				
1a	11	10	15	10	2.73±0.63	68.54	27.17	199.1±7.0
1b	11	11	14	11	3.06±0.62	72.79	28.85	220.2±7.0
1c	9	9	11	0	0.78±0.75	68.85	27.29	165.4±3.0
1d	16	14	20	10	0.80±0.75	70.74	28.04	163.9±3.0
1e	0	0	0	0	1.57±0.40	68.47	27.14	177.4±3.0
2a	10	10	13	10	4.71±0.67	90.57	35.90	279.3±7.0
2b	11	10	13	10	5.05±0.65	92.65	36.73	275.6±7.0
2c	12	13	15	14	6.16±0.69	94.55	37.48	282.8±7.0
2d	10	10	13	10	5.77±0.67	99.79	39.56	311.5±7.0
2e	0	0	0	0	5.98±0.69	94.36	37.40	281.9±7.0
2f	10	10	0	0	5.76±0.69	101.40	40.19	287.3±7.0
2g	10	10	0	0	5.62±0.68	107.21	42.50	309.0±7.0
2h	20	10	15	12	5.57±0.66	108.35	42.95	310.4±7.0
2i	0	0	0	0	5.24±0.66	104.10	41.27	289.4±7.0
2j	0	0	11	0	1.52±0.64	78.10	30.96	222.1±7.0
2k	12	11	11	11	2.23±0.64	80.51	31.91	230.8±7.0
3a	10	10	10	0	3.09±0.53	84.05	33.32	230.0±7.0
3b	13	15	15	14	1.97±0.42	82.15	32.57	222.7±7.0
3c	10	10	10	0	2.25±0.53	76.36	30.27	220.3±7.0
3d	10	10	10	12	3.11±0.41	85.69	33.97	236.0±7.0
3e	10	10	10	0	2.57±0.40	81.09	32.15	226.7±7.0
F	25	24	24	24	-0.04±0.41	50.61	20.06	135.5±7.0

a. The diameter of the zone of no microbial growth (mm).

b. Strains: **A.** *S. aureus* 209p, **B.** *S. aureus* 1, **C.** *S. flexneri* 6858, **D.** *E. coli* 0-55.

2,6-Dimethylsubstituted pyrimidines **1a**, **1b**, which differ in electronic properties and sizes of substituents in the side chain, nevertheless showed almost the same level of activity. In the series of styryl derivatives of 2,4-pyrimidinediones, it was observed that the introduction of a 2-hydroxygroup into the phenyl ring (compounds **1c** and **1d**) leads to a noticeable increase, and the reduction of the aldehyde function to hydroxymethyl – to a complete loss of antibacterial activity (compounds **1c** and **1e**). Among 2-styrylpyrimidines **2a-2k**, most of the compounds have a weak, and 4-nitro derivative **2h** – is somewhat more pronounced antibacterial activity, while derivatives **2e**, **2i**, **2j** are completely devoid of antibacterial properties. In the series of substituted 5-pentylpyrimidines **2b**, **2c**, **2d**, weak antibacterial activity is determined, apparently, by a substituent in the position 5-rings and practically does not depend on the electronic characteristics of substituents in the styryl

group. However, in the series of pyrimidines **1a-1e**, **2a-2k**, no relation was observed between the values of the various descriptors of the compounds and the antibacterial activity.

Pyrido[1,2-a]pyrimidine derivatives **3a**, **3c-f** are weak, and compound **3b** – slightly more pronounced antibacterial activity, with the exception of the lipophilicity coefficient (logP), the remaining molecular descriptors of the compounds have similar values. At the same time, all studied compounds were significantly inferior in activity to the control drug furazolidone ($d = 24-25$ mm).

Thus, in the series of pyrimidines and styryl derivatives of pyrimidines and pyrido[1,2-a]-pyrimidines, individual derivatives have some antibacterial properties, although the influence of substituents in different positions of heterocycles is not distinct and predictable. At the same time, there are no interrelations between the values of the lipophilicity coefficient (logP), molecular polarizability (MR), molecular refraction (MR) and molar volume (MV), and antibacterial properties of the studied pyrimidines and pyrido[1,2-a]pyrimidines.

The research was carried by the funds allocated under the subsidy of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation to finance research activities at Russian-Armenian University.

REFERENCES

1. Gukasyan G.T. Heterocyclic compounds with a nodal nitrogen atom. Synthesis of 2-styryl derivatives of pyrido[1,2-a]pyrimidine. Chem. J. Armenia, 70, 3, p. 412-416, 2017.
2. Harutyunyan A. A. Studies in the field of the pyrimidines and polycyclic azaheterocycles synthesis. The dissertation abstract of the doctor of chemical sciences. Republic of Armenia, Yerevan, 2017.
3. Harutyunyan A.A., Avakimyan J.A., Stepanyan H.M. Antibacterial properties of some polycyclic heterocycles based on pyrimidine and benzimidazole. Biolog. Journ. of Armenia, 68, 2, p. 88-91, 2016.
4. Harutyunyan A.A., Ghukasyan G.T., Grigoryan A.S., Danagulyan G.G. Synthesis of styryl derivatives of pyrimidines and of pyrido [1, 2-a] pyrimidine. Org. Med. Chem. II. 3,1, p.1, 2017.
5. Pershin G.N. Methods of experimental chemotherapy. M., Medicine, p. 507-533, 1971.
6. Xue L., Bajorath J. Molecular descriptors in chemoinformatics, computational combinatorial chemistry and virtual screening. Comb. Chem. High Throughput Screen., 3, 5, p. 363-72, 2000.

Received on 15.05.2019



Biol. Journal of Armenia, 3 (71), 2019

INFLUENCE OF Fe^{2+} AND Fe^{3+} ON THE GROWTH OF *LEPTOSPIRILLUM FERRIPHILUM* CC AND OXIDATION OF Fe^{2+}

A.C. KHACHATRYAN

SPC "Armbiotechnology" of NAS of Armenia, Laboratory of Geomicrobiology
anna.khachatryan.92@bk.ru

In the paper kinetics of ferrous iron oxidation by isolated *Leptospirillum ferriphilum* CC was studied in conical flasks on rotary shaker. The effect of initial ferrous iron concentration on bacterial growth and substrate oxidation was studied in the concentration range of 50-400 mM $\text{FeSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$. The highest specific growth (0.41-0.48 h^{-1}) and Fe^{2+} oxidation rates (6.0-6.2 mM/l h) were detected at ferrous ion concentrations of 100-200 mM. At higher concentrations, the growth of bacteria and Fe^{2+} oxidation suppression was observed, reaching maximum values at 400 mM Fe^{2+} . The maximum specific growth rate (μ_{max}) of bacteria and half saturation constant (Ks) determined using Monod equation were 6.2mM /h, and 0.83 h^{-1} , respectively. It was shown that Fe^{2+} oxidation competitively inhibited by Fe^{3+} and the inhibition constant (Ki) was 61.95 mM. The comparison of kinetic parameters obtained for *L. ferriphilum* with other bacteria indicates the high potential of *L. ferriphilum* CC in leaching processes of ores and concentrates for biogenic regeneration of concentrated ferric iron.

Leptospirillum ferriphilum – iron oxidation kinetics – specific growth rate – saturation constant

Հոդվածում ուսումնասիրվել է երկարժեք երկաթի օքսիդացման կինետիկան մեկուսացված *Leptospirillum ferriphilum* CC-ի մոտ 250 մլ էրլենմեյերի կոլբաներում թափահարման պայմաններում: Երկարժեք երկաթի սկզբնական կոնցենտրացիաների ազդեցությունը բակտերիայի աճի և սուբստրատի օքսիդացման վրա ուսումնասիրվել է $\text{FeSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 50-400 մՄ կոնցենտրացիաների միջակայքում: Բակտերիայի աճի առավելագույն տեսակարար արագությունը (0.41-0.48 ժ^{-1}) և սուբստրատի օքսիդացման առավելագույն արագությունը (6.0-6.2 մՄ/լ ժամ) դիտվել է $\text{FeSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ -ի 100-200 մՄ կոնցենտրացիայի պայմաններում: Ավելի բարձր կոնցենտրացիաների դեպքում դիտվել է բակտերիայի աճի և երկաթի օքսիդացման ճնշում, որն առավելագույն մեծության է հասել 400 մՄ-ի դեպքում: Մոնոյի հավասարման կիրառմամբ որոշված բակտերիայի աճի առավելագույն տեսակարար արագության (μ_{max}) և հագեցման հաստատունի (K_s) արժեքները կազմել են 6.2 մՄ/ժ, և 0.83 ժ^{-1} համապատասխանաբար: Ցույց է տրվել, որ եռարժեք երկաթի իոնները մրցակցորեն ճնշում են երկարժեք օքսիդացումը, ճնշման հաստատունը (K_i) կազմել է 61.95 մՄ: *L. ferriphilum*-ի և այլ բակտերիաների կինետիկական պարամետրերի համեմատությունը վկայում է առաջինի մեծ ներուժի մասին հանքաքարերի և խտանյութերի տարրալուծման գործընթացում՝ եռարժեք երկաթի կենսածին վերականգնման համար:

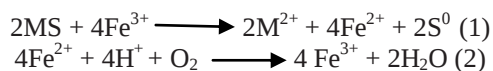
Leptospirillum ferriphilum – երկաթի օքսիդացման կինետիկա – աճի տեսակարար արագություն – հագեցման հաստատուն

В статье изучали кинетику окисления железа у выделенного нами *Leptospirillum ferriphilum* CC в 250 мл конических колбах, в условиях встряхивания. Влияние начальных концентраций двухвалентного железа на рост

бактерии и окисление субстрата изучали при содержании в среде 50-400 мМ $\text{FeSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$. Наибольшее значение удельной скорости роста ($0.41\text{-}0.48 \text{ ч}^{-1}$) и скорости окисления железа ($6.0\text{-}6.2 \text{ мМ ч}^{-1}$) наблюдалось при концентрации 100-200 мМ железа. При более высоких концентрациях железа наблюдалось подавление роста бактерии и окисления Fe^{2+} , которое достигало максимума при 400 мМ. Максимальное значение удельной скорости роста (μ_{max}) и константа насыщения (Ks), определенные из уравнения Моно, составляли 6.2 мМ ч^{-1} и 0.83 ч^{-1} соответственно. Ионы Fe^{3+} конкурентно ингибировали окисление Fe^{2+} , константа ингибирования (Ki) составляла 61.95 мМ. Сравнение кинетических параметров *L. ferriphilum* и других бактерий показало высокий потенциал *L. ferriphilum* для регенерации концентрированных растворов Fe^{3+} в процессах выщелачивания руд и концентратов.

Leptospirillum ferriphilum – кинетика окисления железа – удельная скорость роста – константа насыщения

Bioleaching is an environmentally friendly microbiological technology that is applied worldwide for processing of mineral raw materials and recovery of copper, uranium and gold. It is considered that the main mechanism of bacterial attack on the metal sulfides is an indirect contact mechanism. According to this mechanism metal sulfide oxidation occurs by ferric ion and the role of microorganisms refers to the oxidation of ferrous ion and regeneration of ferric ion. The importance of microbiological ferrous iron oxidation in bioleaching of sulfide minerals is well known, and widely reported in the literature [3, 13]. During bioleaching processes, the sulfide minerals are chemically oxidized by ferric iron (Fe^{3+}) (Eq. 1). Resulted ferrous iron (Fe^{2+}) then is regenerated biologically by microorganisms (Eq. 2) [13, 14].



Therefore, the influence of Fe^{3+} and Fe^{2+} ions on the growth of bacteria and Fe^{2+} oxidation activity often determines the intensity of metals leaching processes [5, 7, 9].

The most important microorganisms involved in the regeneration of Fe^{3+} iron, responsible for the oxidation of exposed sulfide minerals are Fe^{2+} oxidizing bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*, *L. ferriphilum*, *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, *Acidimicrobium ferrooxidans*. Currently, the mechanism and kinetics of Fe^{2+} oxidation is well studied mainly in *At. ferrooxidans*.

The study of kinetics of Fe^{2+} oxidation by *L. ferriphilum* is of great interest from the point of their wide use for leaching of metals from mineral raw materials.

In this paper the influence of Fe^{2+} and Fe^{3+} ions on the kinetics of Fe^{2+} oxidation by isolated *L. ferriphilum* CC [15] was studied.

Materials and methods. Object of investigation. In this study iron oxidizing bacteria *Leptospirillum ferriphilum* str. CC with optimal temperature of the growth of $37\text{-}40^\circ\text{C}$, isolated in Armenia from bioleaching pulp of copper concentrate was used [15].

Culture preparation. *L. ferriphilum* CC was grown in Mackintosh medium, containing 20 g/l of $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ as an energy source [8]. In the logarithmic phase of the growth the bacterial cells were collected by centrifugation at 6000 g 10 min. Biomass collected was resuspended in the same medium without Fe^{2+} . Number of viable cells was determined by the method of tenfold dilution. The most probable number (MPN) of cells was calculated using the Mac-Credy tables (1). The maximum specific growth rate (μ_{max}) of bacteria was determined using Monod equation.

Influence of ferrous and ferric ions. The kinetics of ferrous ion oxidation by *L.ferriphilum* CC was studied in Mackintosh medium with ferrous ion (Fe^{2+}) in the concentration range of 50-400 mM. The influence of Fe^{3+} ions on the growth rate and ferrous ion oxidation by *L.ferriphilum* CC was studied at the concentrations from 2 to 100 mM.

Pyisico-chemical analysis. Ferrous (Fe (II)) and ferric (Fe (III)) ions were determined by the complexometric method with EDTA (1).

Saturation constant (K_m) was determined by the method of Lineweaver–Burk. The inhibition constant (K_i) was calculated from the equation $K_i = i / (K_p / K_m - 1)$ [12].

The pH was measured with a pH 121 pH meter-millivoltmeter.

Experiments were performed in triplicate. The data presented in the text are formed on the average from repeated experiments with $\pm 2\%$ variation of Fe^{2+} .

Results and Discussion. *The effect of substrate concentration.* Ferrous iron oxidation by *L.ferriphilum* CC was carried out on the rotary shaker. Kinetics of bacterial growth and iron oxidation is well described by Monod equation. Applying the Monod equation to the data obtained (fig. 1), ferrous iron bio-oxidation can be described by the parameters $\mu_{\max}$ and $V_{\max}$ as 0.488 h^{-1} and 3.2 mM , respectively. Studies carried out showed that the growth of *L. ferriphilum* CC and the activity of Fe^{2+} oxidation depend on the concentration of the latter in the medium.

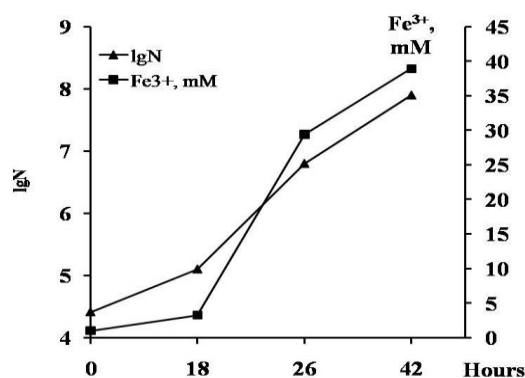


Fig. 1. Dynamics of growth and iron oxidation by *L.ferriphilum* CC (Fe^{2+} - 70mM, t -37°C, 180 rpm)

Below is a quantitative characteristic of bacterial growth and ferrous iron oxidation depending on the initial concentration of Fe^{2+} in the medium (tab.1).

As can be seen from tab. 1, maximal values of specific growth (0.41 - 0.48 h^{-1}) and Fe^{2+} oxidation rates (6.0 - 6.2 mM/l h) were detected at ferrous ion concentrations of 100-200 mM. At higher concentrations, the growth of bacteria and Fe^{2+} oxidation suppression was observed, reaching maximum values at 400 mM Fe^{2+} . At a concentration of 50 mM Fe^{2+} in the medium, limitation by the substrate occurred. Thus, the optimal concentrations of Fe^{2+} for the growth of *L. ferriphilum* CC are its initial concentrations of 100-200 mM.

The effect of ferric ion concentration. The tolerance of metal leaching bacteria to high Fe^{3+} concentrations is important in indirect tank leaching applications. Ferric ion (Fe^{3+}), being the product of Fe^{2+} oxidation, as iron oxidizing chemolithotrophic bacteria grow, it accumulates in the medium. Therefore, the effect of the initial concentrations of Fe^{3+} on the oxidation of Fe^{2+} can be studied only during the first hours (10-17 h) of the cultivation of bacteria, while the amount of oxidized Fe^{2+} is insignificant. Results obtained are presented in tab.2.

Table 1.
Growth characteristics of *L.ferriphilum* str. CC at different initial concentrations of Fe^{2+}

Concentration of Fe^{2+} , mM	Specific growth rate ($\mu_{\max}$), h^{-1}	Fe^{2+} oxidation rate ($V_{\max}$), mM/ h
50mM	0,31	1.7
100mM	0,48	6.2
200mM	0,41	6.0
300mM	0,28	4.6
400mM	0,09	3.7

Table 2.
Growth of *L. ferriphilum* CC and oxidation of Fe^{2+} at different initial concentrations of Fe^{3+}

Concentration of Fe^{3+} , mM	Specific rate of growth ($\mu_{\max}$), h^{-1}	Fe^{2+} oxidation rate ($V_{\max}$), mM/1 h
2.0 mM	0,35	6.5mM
20.0 mM	0,32	6.1mM
50.0 mM	0,26	5.5mM
75.0mM	0,19	3.2mM
100.0 mM	0,16	1.9mM

As the presented data show, in the presence of elevated concentrations of Fe^{3+} ions, inhibition of the growth of *L. ferriphilum* CC and Fe^{2+} oxidation was observed. Inhibition is expressed in the decrease of the specific growth rate and Fe^{2+} ion oxidation rate (tab. 2, fig. 2). Furthermore, the inhibition degree increases with increasing the initial concentration of Fe^{3+} . The correlation between ferrous ion oxidation rate by *L. ferriphilum* CC and dynamics of changes in pH of the medium was detected (consumption of H^+ ions and increase of pH) (fig. 2c). At low values of Fe^{3+} , more active consumption of H^+ protons has been observed, which are necessary for the oxidation of Fe^{2+} (Eq. 2).

The study of the kinetic parameters of the oxidation of Fe^{2+} has shown that the affinity of *L. ferriphilum* CC to the substrate increases in the presence of Fe^{3+} ions in the medium. Thus, the value of the saturation constant (K_m) for Fe^{2+} oxidation in *L. ferriphilum* CC was 0.83 mM FeSO_4 in the absence of Fe^{3+} , while increased to 1.5mM FeSO_4 at the initial concentration of 50.0 mM $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ in the medium. It is concluded that like *S. thermosulfidooxidans* [16] and *At. ferrooxidans* [6, 7], Fe^{3+} ions competitively inhibit the oxidation of Fe^{2+} in *L. ferriphilum* CC. The inhibition constant (K_i) was 61.95 mM $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$.

Thus, the optimal concentrations of Fe^{2+} for the growth of *L. ferriphilum* CC are in the range of 100-200mM FeSO_4 . Higher concentrations of Fe^{2+} inhibit the growth of bacteria and oxidation of Fe^{2+} . The saturation constant for Fe^{2+} is less than that of *S.thermosulfidooxidans* (3.4-4.1mM) (16) and *At. ferrooxidans* (1.34 mM Fe^{2+}) [6, 10, 11]. Thus, by the affinity for Fe^{2+} , *L. ferriphilum* CC considerably exceed *At. ferrooxidans*.

Fe^{3+} ions, like *At.ferrooxidans*, competitively inhibit the growth of *L. ferriphilum* CC and Fe^{2+} oxidation [2, 4, 6, 7]. The inhibition constant of *L. ferriphilum* CC is 61.95mM. It should be noted that Fe^{3+} at a concentration of 36 mM inhibits the growth of *At. ferrooxidans* causing cell lysis [4].

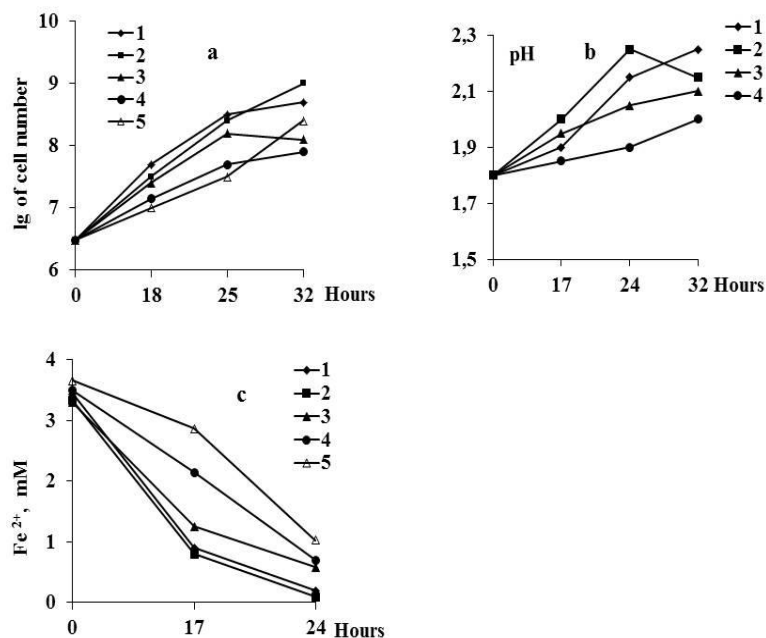


Fig. 2. Dynamics of growth of *L. ferriphilum* CC (b), oxidation of Fe^{2+} (a) and changes in pH at Fe^{3+} initial concentration (c) of: 1 - 2; 2 - 20.0; 3 - 50.0; 4 - 75.0 and 5-100.0 mM

Fe^{2+} oxidation proceeds in the presence of 100 mM $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (40 g Fe^{3+}/L) allowing to use successfully *L. ferriphilum* CC in biogenic regeneration of concentrated Fe^{3+} sulfate solutions for biohydrometallurgical applications.

REFERENCES

1. Biotechnology of metals. Manual/ Eds. G.I., Karavaiko, G. Rossi, A.D Agate, S.N Groudev, Z.A. Avakyan. M., Centre for International Projects GKNT, 350 c., 1988.
2. Boom M., Ras C., Heijnen J.J. The ferrous iron oxidation kinetics of Thiobacillus ferrooxidans in batch cultures. Appl. Microbiol. Biotechnol., 51, 813-819, 1999.
3. Bousecker K. Bioleaching: Metal solubilization by microorganisms. FEMS Microbiol Rev., 20, 591-604, 1997.
4. Curutchet G., Pogliani C., Donati E., Tedesco P. Effect of iron (III) and its hydrolysis products (jarosites) on Thiobacillus ferrooxidans growth and on bacterial leaching. Biotechnol. Lett., 14, 329-334, 1992.
5. Dorofeev A.G., Pivovarova T.A., Karavaiko G.I. Kinetics of ferrous ion oxidation by Thiobacillus ferrooxidans: the effect of products of arsenopyrite oxidation on pH of the medium. Microbiology, 59, 2, 205-212, 1990.
6. Kovalenko T.V., Karavaiko G.I., Piskunov V.P. The effect of Fe^{3+} on ferrous ion oxidation by Thiobacillus ferrooxidans at different temperatures. Microbiology, 51, 1, p.156-160, 1982.

7. *Lizama H.M., Suzuki I.* Synergetic Competitive Inhibition of ferrous Iron Oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans* by Increasing Concentration of Ferric Iron and Cells. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 10, 2588-2591, 1989.
8. *Makintosh M.E.* Nitrogen Fixation by *Thiobacillus ferrooxidans*. *J. Gen. Microbiol.* 105, 215-218, 1978.
9. *Nikolov L.N., Karamanev D.G.* Kinetics of the Ferrous Iron Oxidation by Resuspended Cells of *Thiobacillus Ferrooxidans*. *Biotechnol. Prog.* 8, 3, p. 252-255, 1992.
10. *Norris P.R., Barr D.W., Hinson D.* Iron and mineral oxidation by acidophilic bacteria: affinities for iron and attachment to pyrite. In: P.R.Norris, D.P. Kelly (ed.), *Biohydrometallurgy, proceedings of international symposium. Science and Technology Letters.* - Kew, Surrey, UK, p. 43-59, 1988.
11. *Penev K., Karamanev D.* Batch kinetics of ferrous iron oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* at moderate to high total iron concentration. *Biochemical Engineering Journal.* 50, 54-62, 2010.
12. *Pirt S.J.* Principles Of Microbe and Cell Cultivation, John Wiley & Sons, 1975.
Rawlings D.E. Heavy metal mining using microbes. *Annu. Rev. Microbiol.*, 56, 65-91, 2002.
13. *Rohwerder T., Gehrke T., Kinzler K., Sand W.* Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: Fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 63, 239-248, 2003.
14. *Vardanyan A., Stepanyan S., Vardanyan N., Markosyan L., Sand W., Vera V., Zhang R.* Study and assessment of microbial communities in natural and commercial bioleaching systems, *Minerals Engineering*, 81, 167-172, 2015.
15. *Vardanyan N.* Ecology, biological peculiarities of chemolithotrophic bacteria and perspectives of application for bioleaching of metals in Armenia. Thesis of dissertation for Science of Doctor. 2007.

Received on 23.05.2019



Biolog. Journal of Armenia, 3 (71), 2019

ANTIBACTERIAL ACTION OF CHEMICAL AND GREEN SILVER NANOPARTICLES IN COMBINATION WITH ANTIBIOTICS

S.A. OHANYAN, L.R. RSHTUNI, H.V. GRABSKI, S.G. TIRATSUYAN,
A.A. HOVHANNISYAN

Russian-Armenian University, Institute of Biomedicine and Pharmacy,
Department of Medical Biochemistry and Biotechnology
ashkhen.hovhannisyanyan@rau.am

In the work the synergistic antibacterial activity of chemical silver nanoparticles (AgNPs) in combination with tetracycline and ampicillin, as well as green AgNPs with benzylpenicillin were studied. The tests were performed against the wild strain *E. coli* DSM 1116. Both chemical as well as green AgNPs exhibited antibacterial effect depended on concentration. Our results suggest that chemical AgNPs form complexes with ampicillin and tetracycline. Dose-dependent inhibition of *E. coli* growth is observed for AgNPs only and in complexes with tetracycline. The synergistic antibacterial effect is likely due to enhanced bacterial binding by AgNPs, which is assisted by tetracycline. The inhibitory effect of green AgNPs with benzylpenicillin on the growth of *E. coli* exhibits at concentration of 0.5 mg/ml, has a synergistic effect, which reduces the dose of the antibiotic by 8 times. This concentration of silver nanoparticles is not cytotoxic.

*Chemical and green silver nanoparticles – ampicillin – benzylpenicillin –
tetracycline – E. coli DSM 1116*

Աշխատանքում ուսումնասիրվել է քիմիական նանոմասնիկների հակամանրէային ազդեցությունը ամպիցիլինի և տետրացիկլինի հետ համատեղ, ինչպես նաև կանաչ նանոմասնիկների ազդեցությունը բենզիլպենիցիլինի հետ: Ուսումնասիրություններն իրականացվել են *E. coli* DSM 1116 վայրի շտամի վրա: Արծաթի ինչպես քիմիական այնպես էլ կանաչ նանոմասնիկները ցուցաբերում են կոնցենտրացիայից կախված հակամանրէային ակտիվություն: Արդյունքները ցույց են տալիս, որ արծաթի նանոմասնիկները հակաբիոտիկների հետ առաջացնում են համալիրներ: *E. coli*-ի աճի արգելակումն արծաթի նանոմասնիկների և տետրացիկլինի համալիրի հետ կրում է չափաբաժնից կախյալ բնույթ: Արծաթի նանոմասնիկների և տետրացիկլինի համակցված ազդեցությունը կրում է սիներգիստիկ բնույթ: Կանաչ նանոմասնիկների արգելակիչ ազդեցությունը բենզիլպենիցիլինի հետ նույնպես սիներգիստիկ է, սկսած 0.5 մգ/մլ-ից, ինչն ութ անգամ նվազեցնում է հակաբիոտիկի չափաբաժինը: Նանոմասնիկների այս կոնցենտրացիաները ցիտոտոքսիկ չեն:

*Արծաթի քիմիական և կանաչ նանոմասնիկներ – ամպիցիլին – տետրացիկլին – բենզիլպենիցիլին –
E. coli DSM 1116*

В работе изучалась совместная антибактериальная активность химических наночастиц серебра (AgNP) с ампициллином и тетрациклином, а также зеленых AgNP с бензилпенициллином. Исследования проводились на диком штамме *E. coli* DSM 1116. Как химические, так и зеленые AgNPs проявляли антибактериальный эффект в зависимости от концентрации. Результаты показывают, что химические AgNPs образуют комплексы с ампициллином и тетрациклином. Дозозависимое ингибирование роста *E. coli* наблюдается

только для AgNP и в комплексах с тетрациклином. Синергетический антибактериальный эффект проявляется при комбинированном действии AgNP с тетрациклином. Ингибирующее действие зеленых AgNPs с бензилпенициллином на рост *E. coli* проявляется начиная с концентрации 0.5 мг/мл, имеет синергетическое действие, которое снижает дозу антибиотика в 8 раз. Эта концентрация наночастиц серебра не цитотоксична.

*Химические и зеленые наночастицы серебра – ампициллин – тетрациклин –
бензилпенициллин – E. coli DSM 1116*

Infectious diseases are one of the leading causes of death worldwide. World health organization (WHO) expressed serious concern about the continued development of multidrug resistance of bacteria, among which *E. coli* has extreme priority [9]. The lack of new antimicrobials is associated with an increase in antibiotic resistance [7, 10, 13]. This has triggered worldwide initiatives to develop new and more effective antimicrobial compounds, as well as new delivery and targeting strategies [14, 21], including nanostructured materials. Nanoparticles, such as silver nanoparticles (AgNPs) [2, 5, 17, 19] can be used to deliver antimicrobial compounds and they can also serve as antipathogenic agents, as well as inhibit biofilm formation and stop population threshold (quorum sensing), thus suppress the expression of pathogenicity genes and multidrug resistance. Other strategies include the combined use of herbal antimicrobials and nanoparticles [4, 16] to overcome toxicity problems. NPs synthesized using plant extracts (green NPs) are less toxic in comparison to other methods. The use of green NPs can reduce the toxicity and side effects associated with high systemic concentrations of drugs [8, 12, 20]. β -lactam antibiotics of different generations are intensively studied for their biological and organic aspects. As for the bio-inorganic chemistry of these antibiotics, that is, their interaction with metals and the ability to form complexes have not been adequately studied. It has been shown that the combination of amoxicillin with AgNPs has greater bactericidal activity against *Escherichia coli* than when they are used separately [11, 15, 18]. Synergistic effects between AgNPs and polymyxin B have been shown for Gram-negative *E. coli* [3, 22].

It is known that tetracycline inhibits the binding of aminoacyl-tRNA to the A site of the ribosome and can alter the cytoplasmic membrane of bacteria, causing leakage of intracellular contents, such as nucleotides from the cell [8].

In this study we examined the antibacterial mechanism of two different classes of conventional antibiotics: β -lactam benzylpenicillin (BP), ampicillin (Amp) and polyketide tetracycline (Tet) in combination with chemical and green AgNPs, against the wild strain of Gram negative bacteria *Escherichia coli* DSM 1116.

Materials and methods. As a colloid solution of AgNPs we used “Biocidal Additive” produced by Concern “Nano-industry” (Moscow, Russia). Chemical AgNPs had a spherical shape with a diameter of 4 to 24 nm, stabilized by 3-(trimethylsilyl)-1-propanesulfonic acid sodium salt (DSS). *E. coli* DSM 1116 wild-type bacterium (Russian-Armenian university collection) has been used for the experiments, which is a natural lysogenic strain stored at a temperature of 3-5°C. Laboratory stock of *E. coli* strain was grown in peptone (2 % peptone, 0.5 % NaCl) medium buffered with 0.1 M K_2HPO_4 (pH 7.5), and 0.2 % glucose was added. For the preparation of the solid medium a 1.5 % agar was added to the liquid medium [17]. The bacterial growth rate was determined by measuring the changes in optical density (OD) of bacterial suspension at a wavelength of 625 nm and monitored every hour till 8 h and at 24 h.

Plant extract of *Ocimum araratum* was added to the silver nitrate solution. The transition of Ag^+ to Ag^0 was confirmed by the alteration of the color of the solution from colorless to brown. SEM (SEMLEO-1430 VP, Carl Zeiss, Germany) was used for the detection of the forms and types of NPs. The UV-Vis absorption spectra were recorded using a spectrophotometer from 200 nm to 700 nm after mixing for 0, 2 and 24 h relative to deionized water. The results indicate that AgNPs were formed during the “green” synthesis.

Susceptibility of bacteria to NPs and antibiotics were observed on the basis of standardized agar diffusion zones (halos), which can indicate bacterial growth inhibition [6]. Bacterial suspension of 100 μ l was disseminated on plates; disks with deposited NPs were placed on agar and incubated in 37 °C for 24 h. After the incubation agar halos were observed and diameters were measured using “Image Repair 3” programme [17].

To allow full exposure of bacteria to the antibiotic or the antibiotic in combination with AgNPs the sample mixtures were gently shaken in the incubator shaker at 25 °C for either 30 min or 2 h. Thereafter, aliquots were transferred and evenly spread onto tryptic agar plates at about 1×10^8 cells/plate. All plates were incubated for 24 h at 37 °C. Colony Forming Units (CFUs) were counted with a plate counter. AgNPs and antibiotics were tested separately as controls. Each concentration was tested with four plates and the average values were recorded as CFU/plate.

Each experiment was repeated 8 to 12 times. The graphs and diagrams show the arithmetic mean and their standard errors ($p < 0.05$).

Results and Discussion. Chemical AgNPs have a characteristic absorption at around 395 nm, while Amp has no absorption in the range of 300–700 nm (fig. 1). The addition of Amp to AgNPs solution causes a reduction in AgNPs’ extinction at 395 nm. This demonstrates that Amp forms a complex with AgNPs, which leads to aggregation of AgNPs. Complex formation was observed with a precipitation and color change when the two solutions were mixed. On the absorption spectra, the AgNPs peak is completely lost. All optical density measurements were made with respect to deionized water and DSS. Note that all spectra also were measured after incubation for 24 hours under dark conditions.

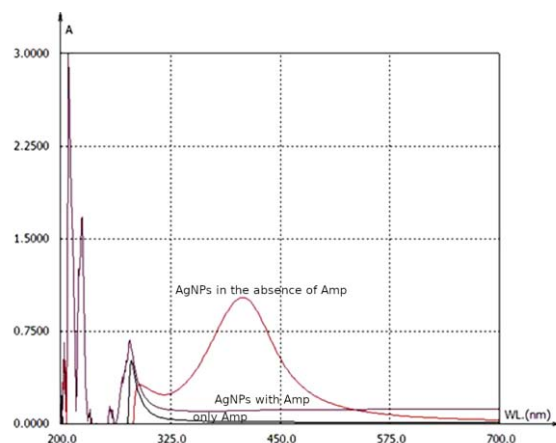


Fig. 1. UV–Vis spectra of chemical AgNPs in the absence and presence of Amp, only Amp.

Tet has an absorption extending to 500 nm and interferes with the absorption peak of AgNPs at high concentrations.

To obtain green silver NP, a 50 % ethanol extract of *Ocimum araratum* was chosen due to the fact that the preliminary screening of antiradical activity (ARA) and total content of flavonoids (TCF) of different extracts revealed the maximum value for this particular extract. Further, the physical characteristics of the obtained NPs were investigated using SEM (data not shown) and spectral analysis (fig. 2).

The effect of chemical AgNPs on the growth of the *E. coli* bacterium was investigated by disc-diffusion. Both AgNPs and Amp inhibit the growth of *E. coli* DSM 1116. When combined with a β -lactam antibiotic – Amp, the growth inhibition at the

highest concentration of Amp is less than 35 % (fig. 3). AgNPs at a concentration of 0.105 $\mu\text{g/ml}$ exhibited weak antibacterial effect, and a strong antibacterial effect at a concentration of 0.21 $\mu\text{g/ml}$.

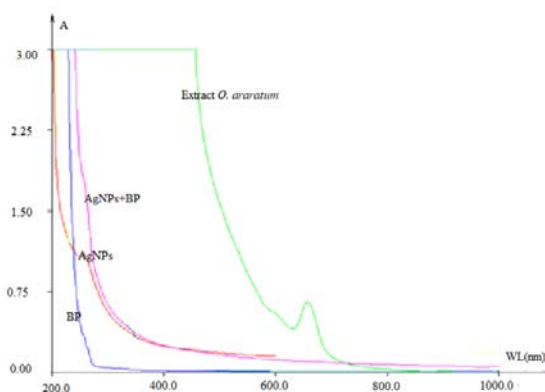


Fig. 2. UV-Vis spectra of tested samples (*O. araratum* extract; AgNPs; BP; AgNPs+BP).

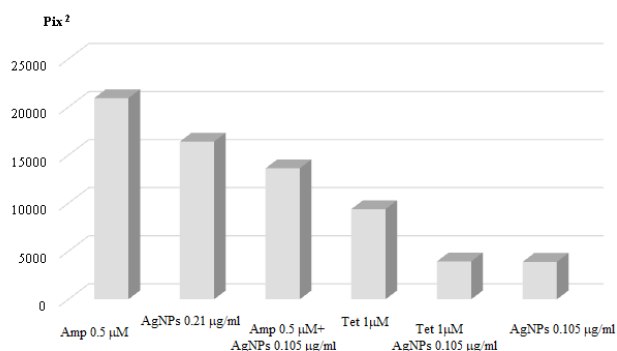


Fig. 3. Areas of inhibition zones under the influence of AgNPs and antibiotics on *E. coli*, $p < 0.05$.

Therefore, there is no synergistic effect of Amp when combined with AgNPs against *E. coli* DSM 1116, the effect of Amp decreased. AgNPs in combination with Tet reduced its antibacterial properties (fig. 3). The investigation of green AgNPs action on the growth of the *E. coli* bacterium by disc-diffusion method revealed that AgNPs at concentrations of 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml and 1 mg/ml and dispersed in peptone, suppressed the growth with lysis zones 99071; 103847; 154519 pixel² (fig.4). Extract of *O. araratum* did not possess antibacterial properties. The effect of green AgNPs and NPs stabilized in the extract on the growth of *E. coli* confirmed that the lysis zones were mediated only by the action of AgNPs.

AgNPs and AgNPs stabilized in the extract, as well as antibiotics (separately and in combination with AgNPs) on the formation of *E. coli* CFU were also investigated.

AgNPs without extract and stabilized in the extract at high concentrations (0.5 mg/ml – 1 mg/ml) completely suppressed the growth of CFU of *E. coli*. But at a concentration of 0.25 mg/ml, the activity of AgNPs against the growth of *E. coli* microcolonies was 7.5 times higher compared to the effect of stabilized NPs.

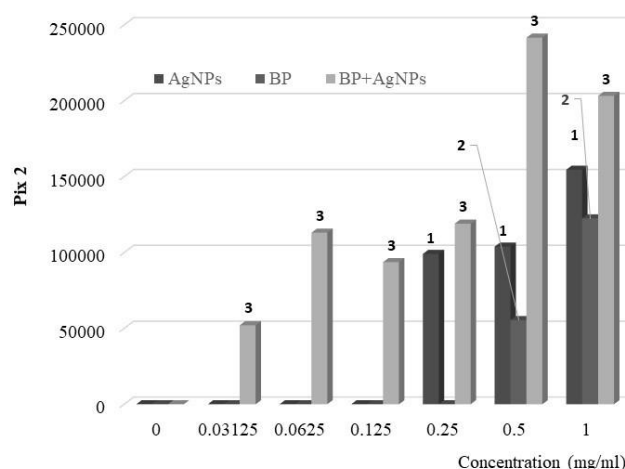


Fig. 4. Areas of lysis zones of *E. coli* under influence of AgNPs (1) and BP (2) and AgNPs combined with BP (3), $p < 0.05$.

Exposure to chemical AgNPs alone at 0.21 $\mu\text{g/ml}$ and 0.105 $\mu\text{g/ml}$ causes 35 % and 24 % inhibition of CFU (fig. 5). However, the combination of Tet with 0.105 $\mu\text{g/ml}$ AgNPs causes 22 % decrease of CFU in the bacteria. Tet itself does not have an inhibitory effect on CFU. The number of colonies increased when AgNPs (0.105 $\mu\text{g/ml}$) were combined with Amp (0.5 $\mu\text{g/ml}$).



Fig. 5. CFU of *E. coli* after exposure to Tet or Amp combined with AgNPs: control, AgNPs, Amp, Amp + AgNPs, Tet + AgNPs (from left to right).

Benzylpenicillin, regardless of the concentration, does not inhibit the growth of the formation of *E. coli* CFU. The effect of AgNPs in combination with BP at high concentrations completely inhibited the growth of colonies. BP, at a concentration of 0.25 mg/ml, in combination with AgNPs suppressed the growth of microcolonies (fig. 6). AgNPs in combination with BP showed high activity against bacterial growth, while BP did not.

Growth of *E. coli* bacteria in suspension under the influence of antibiotics and AgNPs are described in [17]. Amp did not inhibit the growth of *E. coli*. Tet slows down the bacterial growth (5 and 10 μM) and completely inhibited the growth of *E. coli* at concentrations of 20 and 50 μM . The inhibition by Tet is concentration dependent. AgNPs either did not suppress growth, and with increasing concentration (50 to 100 μM), the growth was suppressed.

The growth kinetics of *E. coli* was carried out with the addition of AgNPs and antibiotics at various concentrations.

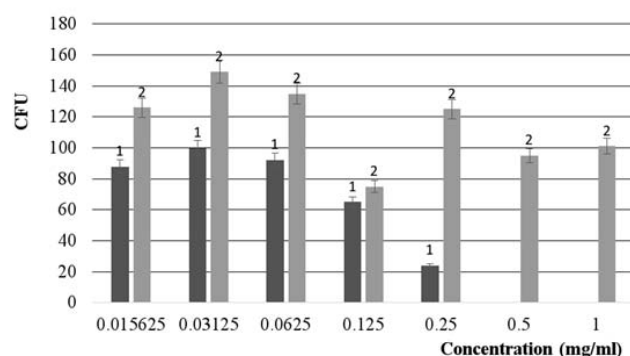


Fig. 6. The action of AgNPs without (1) and with BP (2) CFUs of *E. coli*, $p < 0.05$.

According to literature data, the duration of the log phase determines the antibacterial activity of the substance [1]. The log phase of the control sample lasted 2 hours, for BP – 3 hours, AgNPs – 4 hours. Consequently, the most active is AgNPs, then BP (fig. 7).

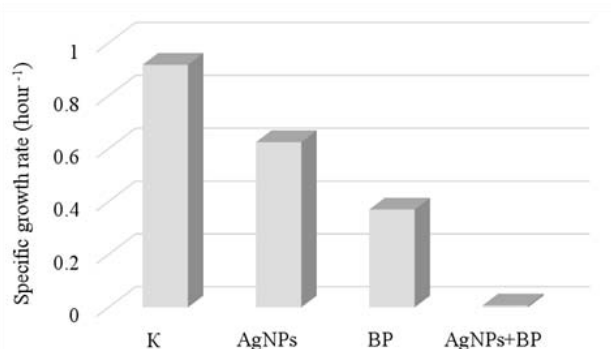


Fig. 7. Combined action of green AgNPs and BP on the kinetic of growth of bacteria, $p < 0.05$.

Thus the antibacterial properties chemical AgNPs in combination with Amp are reduced. In addition to precipitation, the characteristic peak of the NPs disappears completely. The instability of the Amp molecule leads to a very rapid decrease in its effectiveness against bacteria. In the case of AgNPs in combination with Tet the antibacterial effect was reduced by disk-diffusion method, but the effect of the latter is enhanced by the growth of CFU. We hypothesize that the combined antibacterial activity correlates with the complex formation between AgNPs and antibiotics. Amino group in Amp allows the penetration into the outer membrane of Gram-negative bacteria. Our results showed that AgNPs are the most active in combination with the tested antibiotics and can exhibit both an indifferent and a synergistic dose-dependent effect with a decrease in the MIC of antibiotics. It is important to note that synergistic effects of AgNPs in combination with non tropic antibiotics (Tet, Amp and BP) against *E. coli* bacteria are observed. The AgNPs concentrations are very low and not cytotoxic for human erythrocytes.

REFERENCES

1. Цыганова С.В. Фазы адаптационных процессов микроорганизмов на модели роста *E. coli* на различных питательных средах Новые фармакологические средства в ветеринарии. Мат.-лы XIX Международной науч. практ. конф. СПб, 52-53, 2007.
2. Ali S.G., Ansari M.A., Khan H.M., Jalal M., Mahdi A.A., Cameotra S. Crataeva nurvala nanoparticles inhibit virulence factors and biofilm formation in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Basic Microbiol., 57, 3, 193-203, 2017, doi: 10.1002/jobm.201600175.
3. Allahverdiyev A., Kon K., Abamor E., Bagirova M., Rafailovich M. Coping with antibiotic resistance: combining nanoparticles with antibiotics and other antimicrobial agents. Expert Rev. Anti. Infect. Ther., 9, 11, 1035-52, 2011, doi: 10.1586/eri.11.121.
4. Ansari M.A., Khan H.M., Khan A.A., Cameotra S.S., Alzohairy M.A. Anti-biofilm efficacy of silver nanoparticles against MRSA and MRSE isolated from wounds in a tertiary care hospital. Indian J. Med. Microbiol., 33, 1, 101, 2015, doi: 10.4103/0255-0857.148402.
5. Barapatre A., Aadil K., Jha H. Synergistic antibacterial and antibiofilm activity of silver nanoparticles biosynthesized by lignin-degrading fungus. Bioresour Bioprocess, 3, 1, 8, 2016, doi: 10.1186/s40643-016-0083-y.
6. Bauer A., Kirby W., Sherris J., Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol., 45, 493-499, 1966.
7. Cerceo E., Deitelzweig S.B., Sherman B.M., Amin A.N. Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections in the Hospital Setting: Overview, Implications for Clinical Practice, and Emerging Treatment Options. Microb Drug Resist., 22, 5, 412-431, 2016, doi: 10.1089/mdr.2015.0220.
8. Chopra I., Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology and epidemiology of bacterial resistance. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 65, 2, 232-260, 2005.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute M100S. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, ed. 27, 2017.
10. Davies J., Davies D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 74, 3, 417-433, 2010, doi: 10.1128/MMBR.00016-10.
11. Deng H., McShan D., Zhang Y., Sinha S., Arslan Z., Ray P. C., Yu H. Mechanistic Study of the Synergistic Antibacterial Activity of Combined Silver Nanoparticles and Common Antibiotics. Environ. Sci. Technol., 50, 16, 8840-8848, 2016, doi: 10.1021/acs.est.6b00998.
12. Dorobantu L., Fallone C., Noble A., Veinot J., Ma G., Goss G., Burrell R. Toxicity of silver nanoparticles against bacteria, yeast, and algae. J. Nanopart. Res., 17, 4, 172-185, 2015, doi: 10.1007/s11051-015-2984-7.
13. Fazeli H., Moghim S., Zare D. Antimicrobial Resistance Pattern and Spectrum of Multiple-drug-resistant *Enterobacteriaceae* in Iranian Hospitalized Patients with Cancer. Adv. Biomed. Res., 7, 69, 2018, doi: 10.4103/abr.abr_164_17.
14. Gholipourmalekabadi M., Nezafati N., Hajibaki L., Mozafari M., Moztarzadeh F., Hesarak S., Samadikuchaksaraei A. Detection and qualification of optimum antibacterial and cytotoxic activities of silver-doped bioactive glasses. IET Nanobiotechnol, 9, 4, 209-214, 2015.
15. Ghosh S., Patil S., Ahire M., Kitture R., Kale S., Pardesi K., Cameotra S., Bellare J., Dhavale D., Jabgunde A. Synthesis of silver nanoparticles using *Dioscorea bulbifera* tuber extract and evaluation of its synergistic potential in combination with antimicrobial agents. Int. J. Nanomedicine, 7, 483-496, 2012, doi: 10.2147/IJN.S24793.
16. Kalishwaralal K., Barath Mani Kanth S., Pandian S.R., Deepak V., Gurunathan S. Silver nanoparticles impede the biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. Colloids Surf B Biointerfaces, 79, 2, 340-344, 2010, doi: 10.1016/j.colsurfb.2010.04.014.
17. Khachatryan A., Khasaryan Sh., Tiratsuyan S., Hovhannisyan A. Antibacterial effect of silver and iron oxide Fe₃O₄ nanoparticles in combination with antibiotics on *E. coli*. BioNanoScience, 2019, doi: 10.1007/s12668-019-00640-0.
18. Li P., Li J., Wu C., Wu Q., Li J. Synergistic effect of β -lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. Nanotechnology, 16, 9, 1912-1917, 2005, doi: 10.1088/0957-4484/16/9/082.

19. Liu H., Zhao Y., Zhao D., Gong T., Wu Y., Han H., Xu T., Peschel A., Han S., Qu D. Antibacterial and anti-biofilm activities of thiazolidione derivatives against clinical staphylococcus strains. *Emerg. Microbes Infect.*, 4, 1, 1-6, 2015.
20. Liu L., Yang J., Xie J., Luo Z., Jiang J., Yang Y.Y., Liu S. The potent antimicrobial properties of cell penetrating peptide-conjugated silver nanoparticles with excellent selectivity for gram-positive bacteria over erythrocytes. *Nanoscale.*, 7, 9, 3834-3840, 2013.
21. Pissuwan D., Valenzuela S.M., Cortie M.B. Therapeutic possibilities of plasmonically heated gold nanoparticles. *Trends Biotechnol.*, 24, 2, 62-67, 2006, doi: 10.1016/j.tibtech. 2005.12.004.
22. Sondi I., Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J. Colloid Interface Sci.*, 275, 1, 177-182, 2004, doi: 10.1016/j.jcis.2004.02.012.

Received on 17.05.2019



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 3 (71), 2019

ԱՇՖ-ԱՉԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՇՆՏՁԵՆՅԱՆ ՃԱՌԱԳԱՅԹԱՅԱՐՄԱՆ ԵՆԹԱՐԿՎԱԾ *CANDIDA GUILLIERMONDII* ՈՒՄ-4 ԽՄՈՐԱՍՆԿԵՐԻ ՄԻՏՈՔՈՆԴՐԻՈՒՄՆԵՐՈՒՄ

Ս.Վ. ՄԱՐՈՒԹՅԱՆ

ԵՊՀ կենսաբիմիայի, մանրէաբանության և կենսատեխնոլոգիայի ամբիոն
marsed@ysu.am

Իրականացվել է *Candida guilliermondii* ՈՒՄ-4 խմորասնկերի միտոքոնդրիումներում ընդհանուր ԱՇՖ-ազային ակտիվության փոփոխության ուսումնասիրում ռենտգենյան ճառագայթահարման ազդեցությամբ: Ցույց է տրվել, որ ռենտգենյան ճառագայթահարման ազդեցությամբ դրսևորվում է ընդհանուր ԱՇՖ-ազային ակտիվության անկում ճառագայթահարված խմորասնկերի համեմատությամբ, ինչը բացատրվում է խմորասնկերի նյութափոխանակության ինտենսիվության ընդհանուր անկումով:

Խմորասնկեր – ռենտգենյան ճառագայթահարում – միտոքոնդրիումներ –
ԱՇՖ-ազային ակտիվություն

Исследовались изменения общей АТФ-азной активности в митохондриях дрожжей *Candida guilliermondii* ОУМ-4 под влиянием рентгеновского облучения. Показано, что при рентгеновском облучении происходит падение общей АТФ-азной активности по сравнению с необлученными дрожжами, что объясняется снижением общей интенсивности метаболизма дрожжей.

Дрожжи – рентгеновское облучение – митохондрии – АТФ-азная активность

The investigation of changes in total ATP-ase activity in mitochondria of yeasts *Candida guilliermondii* NP-4 under influence of X-irradiation was performed. It has been shown that under influence of X-irradiation the decrease of total ATP-ase activity takes place in comparison with non-irradiated yeasts, which can be explained with the decrease of whole metabolic activity of yeasts.

Yeasts – X-irradiation – mitochondria – ATP-ase activity

Իոնացնող ճառագայթման ազդեցությամբ բջջում առաջանում են բազմազան վնասվածքներ, որոնք խաթարում են բջջի նյութափոխանակությունը և չվերականգնվելու դեպքում կարող են հանգեցնել նրա մահվան: Այդ վնասվածքների վերականգնման համար էներգիայի կարիք է զգացվում, որի հիմնական աղբյուրը բջջում ԱՇՖ-ն է: Այն ճեղքվում է ԱՇՖ-ազ ֆերմենտով (K_F 3.6.1.3), որը կատալիզում է ԱՇՖ-ից ֆոսֆորական թթվի մեկ կամ երկու մնացորդների անջատումը, ինչի արդյունքում անջատված էներգիան օգտագործվում է բջջի կողմից՝ ցանկացած ակտիվություն դրսևորելու համար: Ցույց է տրվել, որ իոնացնող ճառագայթման ազդեցությամբ բջջում փոխվում է թաղանթային ֆոսֆոլիպիդների մետաբոլիզմը, ինչը հանգեցնում է թաղանթ-կախյալ ԱՇՖ-ազների ակտիվության արգելակման [2]: Այս տեսակետից հետաքրքրություն է ներկայացնում ռենտգենյան ճառագայթահարման ենթարկված միկրոօրգանիզմներ:

րում ԱԵՖ-ազի ակտիվության փոփոխության ուսումնասիրումը և հետաթրեսային վոերականգնողական գործընթացներում ԱԵՖ-ազի դերի բացահայտումը:

Աշխատանքի նպատակն է եղել ուսումնասիրել ԱԵՖ-ազային ակտիվության փոփոխությունը ռենտգենյան ճառագայթահարման ազդեցությանը ենթարկված *Candida guilliermondii* HII-4 խմորասնկային բջիջների միտոքոնդրիումներում:

Նյութ և մեթոդ: Հետազոտության օբյեկտ են հանդիսացել *C. guilliermondii* HII-4 խմորասնկերը, որոնք աճեցվել են 2 %-անոց քաղցու ազար պարունակող փորձանոթներում, թերմոստատում, 48 ժ տևողությամբ, 30°C ջերմաստիճանի պայմաններում:

Սննդամիջավայրի պատրաստումը և խմորասնկային կենսազանգվածի ստացումը – խմորասնկային բջիջներն աճեցվել են հեղուկ սննդամիջավայրում [4], թափահարող սարքի վրա (200-250 պտ/ր), որն ապահովում է անհրաժեշտ ատրագիան: Խմորասնկերն աճեցվել են 4000 Lx լուսավորության և 30°C ջերմաստիճանի պայմաններում: 24-ժամյա ինկուբացիայից հետո խմորասնկային կենսազանգվածը կուտորալ միջավայրից առանձնացվել է ցենտրիֆուգման միջոցով (4000 պտ/ր արագությամբ, 10 ր տևողությամբ, ցենտրիֆուգ. ԱՄԻ-1): Խմորասնկային բջիջների կենսազանգվածի կշիռը որոշվել է Նեֆելոմետրիկ եղանակով:

Խմորասնկային բջիջների ճառագայթահարումը ռենտգենյան ճառագայթներով իրականացվել է $\lambda=1.54 \cdot 10^{-8}$ մմ ալիքի երկարության դեպքում, 1080 կԳրեյ/ժ հզորությամբ, 360 կԳրեյ ընդհանուր չափաբաժնով:

Խմորասնկերի միտոքոնդրիումային ֆրակցիայի ստացումն իրականացվել է տարբերակված ցենտրիֆուգման եղանակով [3]: Խմորասնկային կենսազանգվածը նախ սառեցվել է սառցախցիկում (-10°C, 24 ժ), որից հետո մամլվել է Ֆրենչ մամլիչով: Այնուհետև իրականացվել է խմորասնկային հոմոգենատի տարբերակված ցենտրիֆուգում 0.25 Մ սախարոզի միջավայրում, 0°C ջերմաստիճանում, հետևյալ հերթականությամբ. 1. 3000 g, 10 ր տևողությամբ, 2. Վերստվածքը՝ 15000 g, 15 ր տևողությամբ, 3. վերստվածքը՝ 30000 g, 20 ր տևողությամբ (Beckman L2 ցենտրիֆուգ): Ստացված նստվածքը, որն իրենից ներկայացնում է խմորասնկերի միտոքոնդրիումային ֆրակցիան, ենթարկվել է հոմոգենացման ապակյա հոմոգենիզատորում, 0.05 մոլ tris-HCl բուֆերով (pH=8.5)՝ միտոքոնդրիումային թաղանթները կտրելու նպատակով:

ԱԵՖ-ազային ակտիվության որոշումը խմորասնկային միտոքոնդրիումների հոմոգենատում իրականացվել է ըստ անջատված անօրգանական ֆոսֆորի քանակության [1]:

Փորձի յուրաքանչյուր փուլ կրկնվել է առնվազն 5 անգամ, որոշվել են տվյալների միջին քառակուսային շեղումները, որոնց արժեքները բերված են աղյուսակում: **Տվյալների վիճակագրական մշակումն** իրականացվել է Statistica 10.0 համակարգչային ծրագրով, տվյալները համարվել են հավաստի $p < 0.05$ արժեքի դեպքում:

Աղյուսակներ և քննարկում: Ռենտգենյան ճառագայթահարման ենթարկված և չճառագայթահարված խմորասնկերի միտոքոնդրիումներում ընդհանուր ԱԵՖ-ազային ակտիվությունն ուսումնասիրվել է բջիջների աճի տարբեր փուլերում՝ սկզբնական պահին՝ լատենտ փուլում, աճի 16-րդ ժամում՝ լոգարիթմական փուլում և աճի 22-րդ ժամում՝ ստացիոնար փուլում: Խմորասնկերի աճի տարբեր փուլերում դրսևորվել է ԱԵՖ-ազային ակտիվության տարբեր ուժգնություն (աղ. 1):

Աղյուսակ 1. Ռենտգենյան ճառագայթահարման ենթարկված *C.guilliermondii* HII-4 խմորասնկերի միտոքոնդրիումներում ԱԵՖ-ազային ակտիվությունը աճի տարբեր փուլերում (մկգ P/մգ սպիտակուց, $n=5$, $p<0.05$)

Աճի փուլերը	Տարբերակ	Չճառագայթահարված խմորասնկեր	Ճառագայթահարված խմորասնկեր
Սկզբնական փուլ ($t=0$ ժ)		2.3±0.2	1.7±0.1
Լոգարիթմական փուլ ($t=16$ ժ)		6.8±0.6	5±0.4
Ստացիոնար փուլ ($t=22$ ժ)		3±0.3	1.5±0.08

Այսպես, աճի սկզբնական փուլի համեմատությամբ աճի լոգարիթմական փուլում ԱԵՖ-ազային ակտիվությունն աճում է 3 անգամ, իսկ աճի ստացիոնար փուլին

մոտենալիս դիտվում է ԱՆՖ-ազային ակտիվության անկում 2.2 անգամ: Ըստ երևույթին, խմորասնկերի կենսական ցիկլի լոգարիթմական փուլը, որն ուղեկցվում է բջիջների ինտենսիվ աճով, բնութագրվում է նյութափոխանակության բարձր ինտենսիվությամբ, ինչի համար բջիջները կարիք ունեն ենթոքիայի մեծ քանակության, ուստի ԱՆՖ-ի հիդրոլիզի աստիճանն այս փուլում ավելի բարձր է, քան սկզբնական պահին, որը համապատասխանում է աճի լատենտ կամ հանգստի փուլին, երբ նյութափոխանակության ինտենսիվությունն այս փուլում համեմատաբար ցածր է: Աճի ստացիոնար փուլին մոտենալիս դրսևորվում է խմորասնկերի աճի դանդաղում, ուստի նյութափոխանակության ինտենսիվությունը և, հետևաբար, ենթոքիայի կարիքը նվազում է, և լոգարիթմական փուլի համեմատությամբ ընկնում է նաև ԱՆՖ-ի հիդրոլիզի ուժգնությունը, թեև լատենտ փուլի համեմատությամբ այն մնում է բարձր:

Ռենտգենյան ճառագայթահարման ենթարկված խմորասնկերի միտոքոնդրիումներում, ինչպես և սպասվում էր, աճի սկզբնական փուլում, այսինքն՝ ճառագայթահարումից անմիջապես հետո, դրսևորվում է ԱՆՖ-ազային ակտիվության անկում չճառագայթահարված խմորասնկերի համեմատությամբ 1.35 անգամ, ինչը կարող է բացատրվել իոնացնող ճառագայթահարման արդյունքում խմորասնկերի կենսական ակտիվության և նյութափոխանակության ինտենսիվության ընդհանուր անկումով: Աճի լոգարիթմական փուլում, երբ ճառագայթահարված բջիջները սկսում են բուռն կիսվել, ԱՆՖ-ազային ակտիվությունը սկսում է աճել և 16-րդ ժամում մոտ 3 անգամ գերազանցում է աճի սկզբնական պահին դիտվող արժեքին: Աճի ստացիոնար փուլում ճառագայթահարված խմորասնկային բջիջների ԱՆՖ-ազային ակտիվությունն ընկնում է և աճի 22-րդ ժամում մոտավորապես ստանում է լատենտ փուլին բնորոշ արժեք, իսկ լոգարիթմական փուլի համեմատությամբ այն փոքրանում է 3.3 անգամ: Կարելի է ենթադրել, որ լոգարիթմական փուլի էքսպոնենցիալ և գծային աճի փուլերում, երբ ճառագայթահարված բջիջները մասամբ վերականգնվում են և սկսում բավական բուռն աճել, սննդամիջավայրում աստիճանաբար առաջանում է սննդանյութերի պակաս, որի հետևանքով բջիջների բազմացման ինտենսիվությունն ընկնում է, և փոքրանում է նաև ԱՆՖ-ի պահանջը:

:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Борисова Г.Г., Чукина Н.В., Киселева И.С., Малева М.Г.* Биохимия. Практикум, Екатеринбург, изд-во Урал. ун-та, 116 с., 2017.
2. *Дагбашян С.С.* Некоторые стороны патогенеза легочных осложнений при ионизирующем облучении и в стадии развития признаков лейкемии. Медицинская наука Армении, # 4, стр. 40-48, 2005.
3. *Егорова М.В., Афанасьев С.А.* Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: современные методические приемы. Сибирский медицинский журнал, 26, 1, Выпуск 1, стр. 22-28, 2011.
4. *Марутян С.В., Навасардян Л.А., Бадалян Г.Г., Шагинян М.А.* Влияние рентгеновского облучения на структуру ДНК дрожжей *C. guilliermondii* НП-4. Химия и химическая технология, 59, вып.3, стр. 90-94, 2016.

Ստացվել է 07.06.2019

«ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆՐԵՍ» -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՝ 963
Ստորագրված է տպագրության՝ 03.09.2019:
Թուղթը՝ օֆսեթ. № 1:
6,25 տպ.մամուլ: Տպաքանակ՝ 150:
ՀՀ ԱԱ «Գիտություն» հրատարակչության տպարան:
0019, Երևան, Մարշալ Բաղրամյան պ. 24: